

Potensi Daun Keji beling (*Strobilanthus crispus*) sebagai Antibakteri dan Antibiofilm terhadap Bakteri *Cutibacterium acnes*

1. Artikel di submit ke Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research (30-05-2023)
2. Revisi pertama (6 November 2023)
 - Komen Reviewer A
 - Komen Reviewer B
3. Revisi kedua (31 desember 2023): revisi minor
4. Artikel diterima (16 April 2024)
 - Full paper

**1. Artikel di submit ke Journal of Pharmaceutical Science
and Clinical Research (30-05-2023)**

jurnal.uns.ac.id/jpscr/author/submission/74341

GmailYouTubeMapsBusiness Manager -...

HomeAboutCategoriesCurrentArchivesAnnouncementsStatisticsEditorial TeamJournal ContactUser Home

Accreditation



User

You are logged in as...
sumi_2324

» My Journals

» My Profile

» Log Out

Notifications

View (23 new)

Manage

Visitors

ID 213,927

US 5,161

SG 3,411

IN 1,365

CA 123

GB 123

VN 115

TW 114

Home / User / Author / Submissions / #74341 / Summary

#74341 Summary

SummaryReviewEditing

Submission

Authors

Sumi Wijaya, Inggar Dwi Kuncahyani, Lisa Soegianto

Title

Potensi Daun Keji beling (Strobilanthus crispus) sebagai Antibakteri dan Antibiofilm terhadap Bakteri Cutibacterium acnes

Original file

74341-209481-1-SM.doc 2023-05-30

Supp. files

74341-209596-1-SP.doc 2023-05-31

Submitter

Sumi Wijaya

Date submitted

May 30, 2023 - 05:11 PM

Section

Articles

Editor

Dinar Sari Wahyuni

Abstract Views

765

Status

ISSN

2503-331X (Online)

ISSN No:

2503-331X

Online Submission

Focus and Scope

Author Guidelines

Peer Reviewers

Publication Ethics

Copyright Notice

Article Processing Charges

Article Template

Citation Analysis Scopus

Indexed by:

Google Scholar

SINTA S2

DOAJ | DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS

2. Revisi pertama (6 November 2023)

- **Komen Reviewer A**
- **Komen Reviewer B**

Potensi Daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) sebagai Antibakteri dan Antibiofilm terhadap Bakteri *Cutibacterium acnes*

Abstrak: *Cutibacterium acnes*, merupakan salah satu mikroorganisme permanen pada permukaan stratum korneum, dimana populasinya mewakili 20-70% dari mikroorganisme yang banyak ditemukan pada kondisi muka berjerawat. Pembentukan biofilm dari mikroorganisme ini merupakan salah satu faktor yang mengakibatkan obat anti jerawat tidak efektif dalam bekerja. *Strobilanthus crispus* (Keji Beling) merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi cukup tinggi dalam pengobatan tradisional, khususnya sebagai antibakteri. Penelitian ini akan menguji kemampuan ekstrak etanol daun Keji Beling sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Ekstrak etanol daun Keji beling di dapatkan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode Difusi Sumuran dengan Diameter Hambat Pertumbuhan (DHP) sebagai parameter pengukuran digunakan sebagai metode pengujian untuk aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol daun Keji beling pada konsentrasi 50% memberikan DHP $7,21 \pm 0,103$ mm. Aktivitas antibiofilm diuji dengan menggunakan metode mikrodilusi pada rentang konsentrasi ekstrak 0,06 % - 30%. Hasil menunjukkan 1,88% ekstrak etanol daun Keji Beling telah mampu memberikan persentase penghambatan pembentukan biofilm sebesar $98,23 \pm 0,230\%$, dimana hasil ini menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan klindamisin $10\mu\text{g}/100\mu\text{L}$. Skrinning fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol daun Keji Beling menunjukkan adanya flavonoid, alkaloid dan tanin, yang di duga menunjukkan potensi sebagai antibiofilm.

Commented [PCP1]: Delete bermakna

Kata kunci: *Strobilanthus crispus*; *Cutibacterium acnes*; antibakteri; antibiofilm

Abstract. -The potential of Keji Beling Leaves (*Strobilanthus crispus*) as Antibacterial and Antibiofilm against *Cutibacterium acnes*.- *Cutibacterium acnes*, is one of the commensal bacteria on the surface of the stratum corneum, where it's population represents 20-70% of the microorganisms that are commonly found in acne condition. The formation of biofilms from these microorganisms is one of the cause anti-acne drugs ineffective. *Strobilanthus crispus* (Keji Beling) is a potential plant in traditional medicine, especially as an antibacterial. This study will examine the ability of the ethanol extract of Keji Beling leaves as an antibacterial and anti-biofilm against *Cutibacterium acnes*. The ethanol extract of Keji Beling leaves was obtained using maceration method with 96% ethanol as a solvent. Well Diffusion method was used for antibacterial testing using Inhibition Zone Diameter (IZD) as a parameter. The ethanol extract of Keji beling leaves at a concentration of 50% gave a IZD of 7.21 ± 0.103 mm. Anti-biofilm activity was tested using the micro dilution method at an extract concentration range of 0.06% - 30%. The results showed the ethanol extract of Keji Beling leaves inhibited the biofilm formation as much as $98.23 \pm 0.230\%$ at the concentration 1.88%, which was not significantly different from clindamycin $10\mu\text{g}/100\mu\text{L}$. Phytochemical screening performed on the ethanol extract of Keji Beling leaves showed the presence of flavonoids, alkaloids and tannins, which potential as anti-biofilms.

Keywords: *Strobilanthus crispus*; *Cutibacterium acnes* ; antibacterial; antibiofilms

1. Pendahuluan

Jerawat atau yang biasa disebut sebagai acne vulgaris merupakan suatu gangguan pada kulit yang umumnya ditandai dengan adanya nodul, papul, pustule dan komedo pada beberapa area tubuh manusia (Taleb *et al.*, 2018). Penyakit ini merupakan penyakit paling umum ke -8 yang dijumpai dan merupakan jenis penyakit kulit terbanyak ke -2, dimana penyakit ini kerap terjadi pada remaja pada usia 16-19 tahun hingga dewasa usia 30 tahun (Wardani, 2020; Taleb *et al.*, 2018). Prevalensi tertinggi umumnya dijumpai lebih tinggi pada pria (95%-100%), bila dibandingkan dengan wanita (83%-85%) (Zai *et al.*, 2019).

Faktor penyebab jerawat diantaranya adalah keturunan atau gen, keadaan psikis, ras, hormonal maupun karena infeksi bakteri. Terjadinya jerawat pada manusia, secara umum terbagi menjadi tiga tahapan yaitu (1) meningkatnya produksi sebum, (2) terjadinya hiperproliferasi keratinosit dan (3) kolonisasi bakteri penyebab jerawat (Wardani, 2020). *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan beberapa bakteri yang memiliki peran dalam penyakit ini (Fissy *et al.*, 2014).

Cutibacterium acnes merupakan flora normal yang umumnya dapat dijumpai pada kulit manusia, dimana dengan adanya peningkatan sebum dapat mengakibatkan jumlah bakteri ini ikut meningkat. Peningkatan jumlah bakteri ini akan menjadi patogen dan menimbulkan lesi inflamasi pada kulit (Feuillolay *et al.*, 2016; Wardani, 2020). *Cutibacterium acnes* telah dibuktikan dapat membentuk biofilm, dimana pembentukan biofilm oleh mikroorganisme anaerob fakultatif Gram-positif ini menunjukkan indikasi keterlibatan dalam kegagalan pengobatan antibiotik (Coenye *et al.*, 2022). Biofilm sendiri merupakan kumpulan mikroorganisme yang melekat satu sama lain pada suatu permukaan. Lapisan biofilm ini bertindak sebagai pelindung bagi mikroba dari dunia luar, termasuk menghalangi penetrasi antibiotik ke dalam mikroba (Linfante *et al.*, 2017).

Tanaman herbal sejak jaman dulu secara turun temurun telah banyak digunakan oleh nenek moyang kita sebagai alternatif pengobatan dalam mengatasi berbagai macam jenis penyakit. Salah satunya adalah daun Keji Beling. Daun Keji Beling ini dalam masyarakat, terdapat digunakan sebagai salah satu obat tradisional dalam upaya mengatasi jerawat. Daun Keji Beling mempunyai beragam kandungan diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin (Fardiyah *et al.*, 2020). Keji Beling telah banyak digunakan masyarakat dalam pengobatan, antara lain sebagai antibakteri, antioksidan, antilithiasis, antidiabetes, antiangiogenesis, antikanker serta aktivitas penyembuhan luka (Ng *et al.*, 2021).

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri dan antibiofilm ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) dengan menggunakan metode difusi sumuran dan mikrodilusi terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*, diharapkan melalui hasil penelitian ini dapat

Commented [PCP2]: Informasi ttg Cutibacterium dan biofil harap ditambah

Commented [PCP3]: Tanpa titik, spasi

Commented [PCP4]: Penulisan nenek

Commented [PCP5]: Yang dalam

Commented [PCP6]: Untuk mengatasi

Commented [PCP7]: Informasi penggunaan keji beling sbg anti bakteri perlu ditambahkan, kemudian ditambah informasi terutama thd bakteri jenis apa saja

dibuktikan potensi daun Keji Beling yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan antibiofilm, sehingga dapat dimanfaatkan dalam pengobatan jerawat.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah simplisia daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) kering yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Sampel telah dideterminasi dan specimen kering telah di dokumentasikan oleh Laboratorium Botani Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Cutibacterium acnes* ATCC 11827 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan, Surabaya, Jawa Timur. Media bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) (Merck, Germany) dan *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) (Merck, Germany). Pembanding yang digunakan adalah Klindamycin (Clyndamycin 150, Dexa Medica, Indonesia) dengan konsentrasi 2µg/20µL, [Bahan]-bahan kimia yang dipergunakan merupakan bahan kimia dengan grade pharmaceutical.

Commented [PCP8]: bahan

Commented [PCP9R8]: Sebutkan bahan-bahan kimia yang digunakan

2.2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat-alat gelas laboratorium, timbangan analitis (Sartorius TE 214 S, Germany), waterbath (Thermostatic waterbath DHH-6 XMTD 294), Laminar Air Flow (LAF) (Type V-130, Indonesia), autoklaf (All America Model 25x, USA), inkubator (Memmert and Binder, Germany), oven (Memmert, Germany), mikroskop (Olympus, Germany), microplate reader (Thermofisher Scientific OY, Finlandia).

2.3. Metode Penelitian

2.3.1. Pembuatan ekstrak etanol daun Keji Beling

Simplisia kering yang diperoleh dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan menggunakan pengayak berukuran mesh 40. Pengamatan organoleptis, susut pengeringan dan penetapan kadar abu akan dilakukan pada serbuk simplisia kering sebelum dilakukan proses ekstraksi. Serbuk simplisia yang telah diperoleh di timbang sebanyak 500 gram dan direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 1 L hingga menjadi massa basah selama 4 jam. Selanjutnya massa basah dipindahkan ke tabung perkolator dan ditambahkan [pelarut] sehingga semua simplisia terendam, lalu didiamkan selama 24 jam. Tahapan selanjutnya adalah penetesan filtrat dengan kecepatan aliran 40 tetes tiap menit dengan secara teratur ditambahkan pelarut baru. Total seluruh pelarut yang digunakan dalam tahapan ekstraksi adalah 2,8 L (perbandingan 1:

Commented [PCP10]: Sebutkan pelarut yang digunakan

5,6). Ekstrak cair yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan *waterbath* suhu 60°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang di peroleh ditimbang untuk menghitung rendemen hasil, dilakukan pengamatan organoleptis dan pengamatan kadar air. Ekstrak kental kemudian disimpan dalam wadah tertutup sebelum digunakan pada pengujian selanjutnya.

2.3.2. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kondisi KLT yang digunakan: fase diam silika gel F254, fase gerak etil asetat : asam format : air (perbandingan 8:1:1), konsentrasi ekstrak 10% dan volume penotolan 10µl.

Commented [PCP11]: Unt tahap kerja skrining fitokimia harap diperjelas unt setiap golongan senyawa, flavonoid, alkaloid, tanin

2.3.3. Uji aktivitas antibakteri metode difusi (Kusuma *et al.*, 2020)

Metode difusi sumuran dipilih untuk pengujian aktivitas antibakteri. Suspensi bakteri *Cutibacterium acnes* yang telah setara dengan ½ McFarland I dipipet sebanyak 0,1 mL lalu ditambah dengan 10 mL media BHIA 50°C lalu dituang ke dalam cawan petri steril dan dirotasi. Pra-pengeraman dilakukan selama 1,5 – 2 jam pada suhu 37°C. Cawan petri dibagi menjadi 5 lubang sumuran dengan diameter 6,0 mm. Lima lubang sumuran tersebut berisi 20 µL ekstrak etanol daun Keji Beling 30%, 40% dan 50%; klindamisin 2µg/20µL dan akuades steril. Cawan petri yang telah berisi sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan daerah hambatan pertumbuhan dilakukan dengan mengukur daerah jernih disekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong. Diameter zona bening diukur dalam satuan milimeter (mm) dengan cara dibagi menjadi dua garis yaitu diameter zona vertikal dan diameter zona horizontal, kemudian diukur dan dirata – rata.

Commented [PCP12]: Dimasukkan dlm teks

Commented [PCP13]: Harap diperjelas, 0,5 McFarland I setara dengan berapa CFU/ml bakteri

2.3.4. Uji aktivitas antibiofilm metode mikrodilusi (Kim *et al.*, 2021)

Pengujian aktivitas antibiofilm dilakukan dengan metode mikrodilusi menggunakan *microplate U-bottom 96 well*. Kelompok sampel yang diujikan yaitu kelompok ekstrak (0,06 % - 30 %), kelompok pembanding dan kelompok kontrol negatif. Microplate yang telah berisi sampel diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, isi sumuran dibuang dan dibilas 3 kali dengan air mengalir. Masing – masing sumuran diberi kristal violet 0,1% sebanyak 200 µL dan didiamkan selama 15 menit pada suhu ruang. Microplate dicuci atau dibilas dengan air mengalir sebanyak 2 kali. Masing-masing sumuran diberi Tween 2% sebanyak 200 µL dan didiamkan selama 15 menit. Microplate dimasukkan dalam *microplate reader* dan dibaca densitas optik pada λ 599 nm. Hasil absorbansi yang didapatkan akan digunakan dalam perhitungan untuk mendapatkan persentase penghambatan biofilm.

Commented [PCP14]: Dimasukkan dalam teks

3. Hasil dan Pembahasan

Simplisia daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) yang digunakan dalam penelitian ini diamati karakteristik daun yang meliputi ukuran, bentuk, ujung bawah dan atas, tepi dan permukaan daun (Tabel 1). Pengamatan makroskopis dan mikroskopis juga dilakukan terhadap serbuk daun Keji Beling, dimana hasil pengamatan yang berupa fragmen-fragmen pengenalan dibandingkan dengan Farmakope Herbal Indonesia (2017), untuk memastikan serbuk daun yang diperoleh adalah serbuk daun Keji Beling (Gambar 1).

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopis daun Keji Beling

Parameter	Hasil Pengamatan	Pustaka*	Keterangan
Simplisia Kering			
Ukuran	Panjang daun: 7 – 8,5 cm Lebar daun: 4 – 5,4 cm	Panjang daun: 5 – 8 cm (tanpa tangkai) Lebar daun: 2 – 5 cm	Sesuai
Bentuk daun	Lonjong	Lonjong	Sesuai
Pangkal daun	Meruncing	Meruncing	Sesuai
Ujung daun	Meruncing	Meruncing	Sesuai
Tepi daun	Bergerigi	Bergerigi	Sesuai
Permukaan daun	Kasar ditumbuhi rambut halus	Kasar ditumbuhi rambut halus	Sesuai
Serbuk Simplisia			
Warna	Hijau tua	Hijau tua sampai hitam kelabu	Sesuai
Bau	Aromatis lemah	Lemah	Sesuai

(*)(Kementerian Kesehatan RI, 2017)

Hasil pengamatan mikroskopis serbuk simplisia daun Keji Beling menunjukkan adanya fragmen-fragmen pengenalan yang sesuai dengan yang terdapat pada Farmakope Herbal Indonesia Edisi 2 (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Pengamatan terhadap susut pengeringan dan kadar abu total dapat dilihat pada Tabel 2 dan hasil yang didapatkan telah sesuai dengan yang terdapat pada pustaka yang diacu.



Gambar 1. Hasil pengamatan mikroskopis dalam media kloralhidrat-Floroglusin HCl pada perbesaran 10x40

Ket: a. sistolit (kristal kalsium karbonat); b. trikoma multiseluler glanduler; c. stomata bidiasitik; d. berkas pembuluh; e. epidermis atas dengan sistolit.

Tabel 2. Hasil standarisasi simplisia daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*)

Parameter	Hasil Pengamatan(%)	Pustaka*	Keterangan
Susut Pengeringan	9,124 ± 0,106	Tidak lebih dari 10%	Sesuai
Kadar Abu Total	19,711 ± 0,313	Tidak lebih dari 20,4%	Sesuai

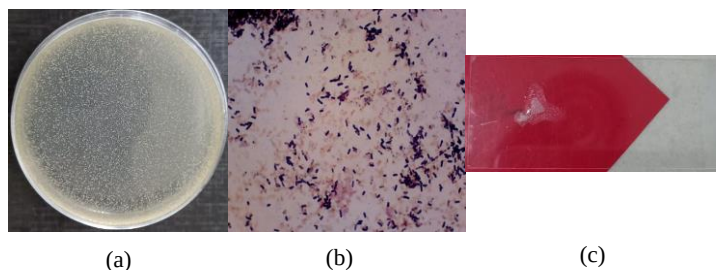
(*) (Kementerian Kesehatan RI, 2017)

Berat ekstrak kental yang diperoleh adalah 49,6 gram dengan rendemen sebesar 9,92%. Hasil pengamatan menyatakan bahwa ekstrak daun Keji Beling berbentuk ekstrak kental, berwarna hitam kehijauan, memiliki rasa pahit dan berbau aromatis lemah. Pengujian kadar air yang dilakukan didapatkan hasil sebesar 13,478 ± 0,319%, hasil ini telah sesuai seperti yang tertera pada monografi ekstrak daun Keji Beling pada Farmakope Herbal Indonesia edisi II (2017) yaitu tidak lebih dari 30%. Hasil kadar air ekstrak etanol daun Keji Beling menunjukkan hasil yang >10%, hal ini diduga karena keberadaan sistolit yang banyak terdapat pada tanaman keluarga Acanthaceae. Kristal kalsium karbonat yang merupakan komponen penyusun sistolit adalah garam yang pada dasarnya memiliki karakteristik menyerap kelembapan dari udara.

Hasil uji KLT ekstrak etanol daun Keji Beling menunjukkan positif mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin. Pengujian flavonoid dilakukan menggunakan penampak noda AlCl_3 dan menunjukkan hasil positif berupa noda berfluoresensi hijau kekuningan pada pengamatan UV 366 nm. Uji alkaloid menunjukkan hasil positif setelah disemprot penampak noda *dragendrof* dan memberikan warna noda merah kecoklatan pada pengamatan visual. Uji

Commented [PC15]: Harap ditampilkan di cara kerja

tanin dilakukan menggunakan penampak noda FeCl_3 dan menghasilkan noda hitam pada pengamatan visual. Hasil uji KLT ekstrak etanol daun Keji Beling telah sesuai dengan penelitian terdahulu (Fardiyah *et al.*, 2020).



Gambar 2. (a) Makroskopis *Cutibacterium acnes*, (b) Mikroskopis *Cutibacterium acnes*, (c) Uji biokimia katalase *Cutibacterium acnes*

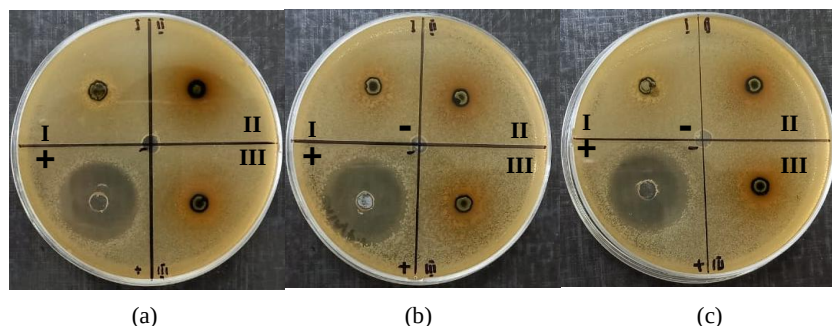
Tabel 3. Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis *Cutibacterium acnes*

	Pemeriksaan	Hasil Pengamatan	Pustaka(*)	Keterangan
Makroskopis	Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Sesuai
	Warna koloni	Putih agak kuning	Putih agak kuning	Sesuai
	Tepi koloni	Bergerigi	Bergerigi	Sesuai
	Kenaikan permukaan	Cembung	Cembung	Sesuai
	Tekstur koloni	Basah, <i>semi-opaque</i> , halus	Basah, <i>semi-opaque</i> , halus	Sesuai
	Ukuran koloni	1 – 2 mm	1 – 2 mm	Sesuai
Mikroskopis	Bentuk sel	Batang pendek	Bulat, batang pendek	Sesuai
	Susunan sel	Tunggal, berpasangan, membentuk huruf V dan Y	Tunggal, berpasangan atau rantai pendek membentuk huruf V atau Y	Sesuai
	Warna sel	Biru ungu	Biru ungu	Sesuai
	Reaksi Gram	Gram positif	Gram positif	Sesuai
	Ukuran sel	0,5 – 0,8 mm	0,5 – 0,8 mm	Sesuai

(*) (Ahmed *et al.*, 2020; Mustarichie *et al.*, 2020; Stefan *et al.*, 2019)

Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 3. Pada uji biokimia katalase menunjukkan adanya gelembung atau busa, sehingga mengindikasikan bahwa *Cutibacterium acnes* memiliki enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). Hasil pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia katalase sesuai dengan pustaka yang diacu (Ahmed *et al.*, 2020; Mustarichie *et al.*, 2020; Stefan *et al.*, 2019).

Commented [PCP16]: Uji biokimia katalase harap dimasukkan dlm metode



Gambar 3. Hasil uji daya antibakteri ekstrak etanol daun Keji Beling, pembandingan klindamisin dan akuades steril terhadap *Cutibacterium acnes*

Ket: a. Replikasi 1, b. Replikasi 2, c. Replikasi 3, I: Ekstrak etanol daun Keji Beling 30%, II: Ekstrak etanol daun Keji Beling 40%, III: Ekstrak etanol daun Keji Beling 50%, +: Klindamisin 2µg/20µL, sebagai kontrol positif, -: Akuades steril sebagai kontrol negatif

Tabel 4. Hasil pengukuran diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP) ekstrak etanol daun Keji Beling (EEDKB), pembandingan klindamisin dan akuades steril terhadap *Cutibacterium acnes*

Keterangan	Replikasi 1 (mm)	Replikasi 2 (mm)	Replikasi 3 (mm)	Rata-rata DHP (mm) ± SD
EEDKB 30%	-	-	-	-
EEDKB 40%	-	-	-	-
EEDKB 50%	7,10	7,30	7,24	7,21 ± 0,103
Klindamisin 2µg/20µl	26,6	24,75	25,2	25,52 ± 0,965
Akuades steril	-	-	-	-

Dari hasil pengujian (Gambar 3 dan Tabel 4) diperoleh bahwa ekstrak etanol daun Keji Beling pada konsentrasi 30% dan 40% tidak memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan tidak terdapatnya Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP) terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Pada konsentrasi 50% memberikan DHP rata – rata $7,21 \pm 0,103$ mm terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Tidak terbentuknya daerah jernih di sekitar lubang sumuran pada konsentrasi 30% dan 40% diduga karena ekstrak etanol daun Keji Beling mempunyai kadar metabolit sekunder yang lebih rendah dibandingkan kandungan pada konsentrasi 50%, sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes*. Hal ini sejalan dengan penelitian Suproborini *et al.* (2022) yang menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak maka jumlah metabolit sekunder juga akan semakin besar. Berdasarkan pada hasil yang diperoleh menunjukkan hasil DHP dari ekstrak etanol daun Keji Beling yang diperoleh termasuk dalam kategori sedang, dimana *Cutibacterium acnes* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga

dapat memberikan stabilitas struktural yang tinggi dan lebih mudah mengalami resistensi terhadap tekanan osmotik dan mekanik (Sangani *et al.*, 2015). Pembanding klindamisin memberikan DHP rata – rata $25,52 \pm 0,965$ mm terhadap *Cutibacterium acnes* , hal ini dikarenakan klindamisin memiliki sifat bakteriostatik melalui penghambatan sintesis protein mikroorganisme dengan mengikat RNA pada subunit 50s ribosom bakteri, sehingga klindamisin mampu memberikan efek *post-antibiotik* yang panjang, menurunkan produksi toksin, mengikat opsonisasi mikroba dan fagositosis (Hong *et al.*, 2014).

Tabel 5. Persentase penghambatan biofilm *Cutibacterium acnes* oleh ekstrak daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*)

Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (% b/v)	% Penghambatan Biofilm
30	$100 \pm 0,378$
15	$100 \pm 0,338$
7,5	$100 \pm 0,029$
3,75	$99,15 \pm 0,203$
1,88	$98,23 \pm 0,230$
0,94	$93,58 \pm 0,149$
0,47	$91,17 \pm 0,451$
0,24	$89,94 \pm 0,740$
0,12	$88,98 \pm 0,526$
0,06	$85,81 \pm 0,137$

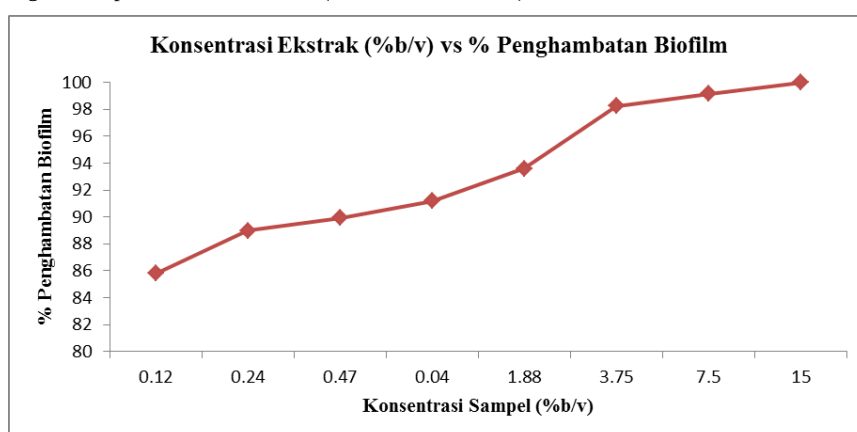
Tabel 6. Persentase penghambatan biofilm *Cutibacterium acnes* oleh antibiotik klindamisin

Kadar Klindamisin	% Penghambatan Biofilm
10 µg/100µl	$97,00 \pm 0,624$

Ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) memiliki kemampuan menghambat pembentukan biofilm *Cutibacterium acnes* . Pada konsentrasi 0,06% menunjukkan hasil penghambatan biofilm sebesar $85,81 \pm 0,137$ % dan terus mengalami peningkatan hingga konsentrasi 30%. Teori yang dikemukakan oleh Sangani *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa mekanisme penghambatan pertumbuhan biofilm dapat dengan cara menembus dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu sinyal – sinyal komunikasi (*quorum sensing*) antar bakteri yang berperan dalam pembentukan biofilm atau menginaktivasi gen – gen pada bakteri yang memicu sistesis EPS. Pada pengujian antibakteri konsentrasi 30% tidak terdapat Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP), namun pada pengujian antibiofilm terdapat persen penghambatan biofilm, hal ini disebabkan karena antibiofilm hanya dapat menghambat atau mengurangi pembentukan biofilm bakteri dan tidak untuk membunuh bakteri *Cutibacterium acnes* .

Commented [PCP17]: Kepanjangan dari

Hasil pengujian antibiofilm menggunakan pembanding klindamisin dilakukan pada konsentrasi 10µg/100µl dan menghasilkan persentase penghambatan sebesar $97,00 \pm 0,624$ %. Ekstrak etanol daun Keji Beling mulai konsentrasi 1,88% hingga konsentrasi 30% memberikan persen penghambatan biofilm lebih besar dibandingkan persen penghambatan biofilm oleh klindamisin pada konsentrasi 10µg/100µl (Tabel 5 & 6). Klindamisin memiliki kemampuan meningkatkan opsonisasi dan fagositosis bakteri melalui penghambatan sintesa protein bakteri dan menyebabkan kerusakan dinding sel sehingga menurunkan *adhesi* bakteri ke sel host dan menghambat pembentukan biofilm (Luchian *et al.*, 2021).



Gambar 4. Grafik persentase penghambatan biofilm *Cutibacterium acnes* oleh ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) pada beberapa konsentrasi

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri melalui 3 hal yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel yang berakibat keluarnya senyawa intraseluler bakteri (Górniak *et al.*, 2019). Alkaloid sebagai antibakteri bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Kemampuannya disebabkan karena alkaloid akan membentuk ikatan hidrogen dengan komponen penyusun peptidoglikan sehingga dinding sel tidak terbentuk dan sel akan mati (Alibi *et al.*, 2021). Tanin memiliki kemampuan dalam menginaktivkan adhesin sel mikroba dan menargetkan pada polipeptida dinding sel, akibatnya pembentukan dinding sel bakteri menjadi tidak sempurna dan mengalami lisis akibat tekanan osmotik (Kaczmarek, 2020).

Melalui beberapa penelitian tidak terlihat dengan jelas bagaimana flavonoid dapat mencegah terbentuknya biofilm, namun adanya dugaan bahwa flavonoid dapat berinteraksi dengan permukaan dinding sel bakteri dan mencegah terbentuknya formasi biofilm (Górniak *et*

Commented [PCP18]: tiga

Commented [PCP19]: Dengan cara membentuk.....

Commented [PCP20]: mentargetkan

al., 2019). Penelitian dengan menggunakan bakteri Gram positif lain yaitu *Staphylococcus aureus* menunjukkan flavonoid dapat menghambat transkripsi AgrA dan RNAlII sehingga pembentukan biofilm dapat digagalkan (Guzzo *et al.*, 2020). Alkaloid dapat mengganggu proses pelekatan satu sel dengan sel ~~yang~~ lain, yang mengakibatkan proses pembentukan biofilm terhambat (Lahiri *et al.*, 2019). Tanin merusak integritas ~~dari~~ dinding sel dengan merusak ikatan peptidoglikan, selain itu, tanin dapat mengurangi pembentukan biofilm pada konsentrasi sampel dibawah konsentrasi yang menimbulkan kadar hambat minimum (Dong *et al.*, 2018).

Commented [PCP21]: .

Commented [PCP22]: Selain

Commented [PCP23]: Sebesar berapa

4. Kesimpulan

Ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) terbukti menunjukkan potensi sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap *Cutibacterium acnes*. Aktivitas antibakteri ditunjukkan melalui besaran daerah hambatan pertumbuhan sebesar 7,21 mm pada konsentrasi ekstrak etanol 50%. Ekstrak etanol daun Keji Beling memberikan persen penghambatan biofilm yang lebih besar dibandingkan persen penghambatan biofilm oleh klindamisin pada konsentrasi 1,88%. Golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) adalah flavonoid, alkaloid dan tanin. Untuk penelitian selanjutnya, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perlakuan pra-ekstraksi dan perbedaan metode ekstraksi terhadap kemampuan dalam menghambat pertumbuhan biofilm bakteri *Cutibacterium acnes*, serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode uji bioautografi untuk mengetahui senyawa mana yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes*.

Deklarasi Konflik Kepentingan

“Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini”.

Daftar Pustaka

- Ahmed, M. E., Ahmed, Z. M., & Thamer, A. (2020). The Evolutionary Effects of Bacillin and S-Pyocin Bacteriocin and Their Effects on *Cutibacterium acnes* and Fungi. *Biochem. Cell. Arch.*, 20(2), 3645–3649.
- Alibi, S., Crespo, D., & Navas, J. (2021). Plant-Derivatives Small Molecules with Antibacterial Activity. *Antibiotics*, 10(3), 231. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030231>
- Coenye, T., Spittaels, K.-J., & Achermann, Y. (2022). The role of biofilm formation in the pathogenesis and antimicrobial susceptibility of *Cutibacterium acnes*. *Biofilm*, 4, 100063. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2021.100063>

Commented [PCP24]: Penulisan referensi harap diseuaikan dg guidance for author dr jurnal ybs

- Dong, G., Liu, H., Yu, X., Zhang, X., Lu, H., Zhou, T., & Cao, J. (2018). Antimicrobial and anti-biofilm activity of tannic acid against *Staphylococcus aureus*. *Natural Product Research*, 32(18), 2225–2228. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1366485>
- Fardiyah, Q., Suprpto, Kurniawan, F., Ersam, T., Slamet, A., & Suyanta. (2020). Preliminary Phytochemical Screening and Fluorescence Characterization of Several Medicinal Plants Extract from East Java Indonesia. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 833(1), 012008. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/833/1/012008>
- Feuillolay, C., Pecastaings, S., Gac, C. L., Fiorini-Puybaret, C., Luc, J., Joulia, P., & Roques, C. (2016). A *Myrtus communis* extract enriched in myrtucummulones and ursolic acid reduces resistance of *Cutibacterium acnes* biofilms to antibiotics used in acne vulgaris. *Phytomedicine*, 23(3), 307–315. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.11.016>
- Fissy, S. O. F., Sari, R., & Pratiwi, L. (2014). Efektivitas Gel Anti Jerawat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) terhadap *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(2), 193–201.
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 241–272. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>
- Guzzo, F., Scognamiglio, M., Fiorentino, A., Buommino, E., & D'Abrosca, B. (2020). Plant Derived Natural Products against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: Antibiofilm Activity and Molecular Mechanisms. *Molecules*, 25(21), 5024. <https://doi.org/10.3390/molecules25215024>
- Wardani, H. N. (2020). Potensi Ekstrak Daun Sirsak Dalam Mengatasi Kulit Wajah Berjerawat. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(4), 563–570.
- Hong, W., Zeng, J., & Xie, J. (2014). Antibiotic drugs targeting bacterial RNAs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(4), 258–265. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2014.06.012>
- Kaczmarek, B. (2020). Tannic Acid with Antiviral and Antibacterial Activity as A Promising Component of Biomaterials—A Minireview. *Materials*, 13(14), 3224. <https://doi.org/10.3390/ma13143224>
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim, Y.-G., Lee, J.-H., & Lee, J. (2021). Antibiofilm activities of fatty acids including myristoleic acid against *Cutibacterium acnes* via reduced cell hydrophobicity. *Phytomedicine*, 91, 153710. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153710>
- Kusuma, I. W., Rahmini, Arung, E. T., Pramono, A. Y., Erwin, & Supomo. (2020). Biological activities and phytochemicals of *Hyptis capitata* grown in East Kalimantan, Indonesia. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8(2), 58–64. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80210>
- Lahiri, D., Dash, S., Dutta, R., & Nag, M. (2019). Elucidating the effect of anti-biofilm activity of bioactive compounds extracted from plants. *Journal of Biosciences*, 44(2), 52. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9868-4>
- Linfante, A., Allawh, R. M., & Allen, H. B. (2017). The Role of *Cutibacterium acnes* Biofilm in Acne Vulgaris. *Journal of Clinical & Experimental Dermatology Research*, 09(01). <https://doi.org/10.4172/2155-9554.1000439>

- Luchian, I., Goriuc, A., Martu, M. A., & Covasa, M. (2021). Clindamycin as an Alternative Option in Optimizing Periodontal Therapy. *Antibiotics*, 10(7), 814. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070814>
- Mustarichie, R., Sulistyaningsih, S., & Runadi, D. (2020). Antibacterial Activity Test of Extracts and Fractions of Cassava Leaves (*Manihot esculenta* Crantz) against Clinical Isolates of *Staphylococcus epidermidis* and *Cutibacterium acnes* Causing Acne. *International Journal of Microbiology*, 2020, e1975904. <https://doi.org/10.1155/2020/1975904>
- Ng, M. G., Ng, C. H., Ng, K. Y., Chye, S. M., Ling, A. P. K., & Koh, R. Y. (2021). Anticancer Properties of *Strobilanthes crispus*: A Review. *Processes*, 9(8), 1370. <https://doi.org/10.3390/pr9081370>
- Sangani, M. H., Moghaddam, M. N., & Mahdi, M. (2015). *Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles on pseudomonas aeruginosa bioRfeiclmeivefdo:rAmp. t2i2o,n2014*; Accepted: Jul. 12, 2014 Vol. 1, No. 5, Autumn 2014, page 298-30. 2(2).
- Stefan, R., Hobden, J. A., Miller, S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Detrick, B., Mitchell, T. G., Sakarani, J. A., Hotez, P., & Mejia, R. (2019). *Jawetz, Melnick & Adelbreg's: Medical Microbiology* (28th ed.). McGraw Hill.
- Suproborini, A., Laksana, M. S. D., & Martiningsih, S. H. (2022). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Strobilanthes crispus* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Pharmaceutical Science and Medical Research*, 5(1), 25–32.
- Taleb, M. H., Abdeltawab, N. F., Shamma, R. N., Abdelgayed, S. S., Mohamed, S. S., Farag, M. A., & Ramadan, M. A. (2018). *Origanum vulgare* L. Essential Oil as a Potential Anti-Acne Topical Nanoemulsion—In Vitro and In Vivo Study. *Molecules*, 23(9), 2164. <https://doi.org/10.3390/molecules23092164>
- Yurlina Zai, Agnes Yohana Kristino, Sri Lestari Ramadhani Nasution, & Oliviti Natali. (2019). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Bakteri *Cutibacterium acnes*. *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*, 6(1), 59–64. <https://doi.org/10.31289/biolink.v6i1.2244>

Potensi Daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) sebagai Antibakteri dan Antibiofilm terhadap Bakteri *Cutibacterium acnes*

Abstrak: *Cutibacterium acnes*, merupakan salah satu mikroorganisme permanen pada permukaan stratum korneum, dimana populasinya mewakili 20-70% dari mikroorganisme yang banyak ditemukan pada kondisi muka berjerawat. Pembentukan biofilm dari mikroorganisme ini merupakan salah satu faktor yang mengakibatkan obat anti jerawat tidak efektif dalam bekerja. *Strobilanthus crispus* (Keji Beling) merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi cukup tinggi dalam pengobatan tradisional, khususnya sebagai antibakteri. Penelitian ini akan menguji kemampuan ekstrak etanol daun Keji Beling sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Ekstrak etanol daun Keji beling di dapatkan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode Difusi Sumuran dengan Diameter Hambat Pertumbuhan (DHP) sebagai parameter pengukuran digunakan sebagai metode pengujian untuk aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol daun Keji beling pada konsentrasi 50% memberikan DHP $7,21 \pm 0,103$ mm. Aktivitas antibiofilm diuji dengan menggunakan metode mikrodilusi pada rentang konsentrasi ekstrak 0,06 % - 30%. Hasil menunjukkan 1,88% ekstrak etanol daun Keji Beling telah mampu memberikan persentase penghambatan pembentukan biofilm sebesar $98,23 \pm 0,230\%$, dimana hasil ini menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna dengan klindamisin $10\mu\text{g}/100\mu\text{L}$. Skrinning fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol daun Keji Beling menunjukkan adanya flavonoid, alkaloid dan tanin, yang di duga menunjukkan potensi sebagai antibiofilm.

Kata kunci: *Strobilanthus crispus*; *Cutibacterium acnes*; antibakteri; antibiofilm

Abstract. -The potential of Keji Beling Leaves (*Strobilanthus crispus*) as Antibacterial and Antibiofilm against *Cutibacterium acnes*.- *Cutibacterium acnes*, is one of the commensal bacteria on the surface of the stratum corneum, where it's population represents 20-70% of the microorganisms that are commonly found in acne condition. The formation of biofilms from these microorganisms is one of the cause anti-acne drugs ineffective. *Strobilanthus crispus* (Keji Beling) is a potential plant in traditional medicine, especially as an antibacterial. This study will examine the ability of the ethanol extract of Keji Beling leaves as an antibacterial and anti-biofilm against *Cutibacterium acnes*. The ethanol extract of Keji Beling leaves was obtained using maceration method with 96% ethanol as a solvent. Well Diffusion method was used for antibacterial testing using Inhibition Zone Diameter (IZD) as a parameter. The ethanol extract of Keji beling leaves at a concentration of 50% gave a IZD of 7.21 ± 0.103 mm. Anti-biofilm activity was tested using the micro dilution method at an extract concentration range of 0.06% - 30%. The results showed the ethanol extract of Keji Beling leaves inhibited the biofilm formation as much as $98.23 \pm 0.230\%$ at the concentration 1.88%, which was not significantly different from clindamycin $10\mu\text{g}/100\mu\text{L}$. Phytochemical screening performed on the ethanol extract of Keji Beling leaves showed the presence of flavonoids, alkaloids and tannins, which potential as anti-biofilms.

Keywords: *Strobilanthus crispus*; *Cutibacterium acnes* ; antibacterial; antibiofilms

1. Pendahuluan

Jerawat atau yang biasa disebut sebagai acne vulgaris merupakan suatu gangguan pada kulit yang umumnya ditandai dengan adanya nodul, papul, pustule dan komedo pada beberapa area tubuh manusia (Taleb *et al.*, 2018). Penyakit ini merupakan penyakit paling umum ke -8 yang dijumpai dan merupakan jenis penyakit kulit terbanyak ke -2, dimana penyakit ini kerap terjadi pada remaja pada usia 16-19 tahun hingga dewasa usia 30 tahun (Wardani, 2020; Taleb *et al.*, 2018). Prevalensi tertinggi umumnya dijumpai lebih tinggi pada pria (95%-100%), bila dibandingkan dengan wanita (83%-85%) (Zai *et al.*, 2019).

Faktor penyebab jerawat diantaranya adalah keturunan atau gen, keadaan psikis, ras, hormonal maupun karena infeksi bakteri. Terjadinya jerawat pada manusia, secara umum terbagi menjadi tiga tahapan yaitu (1) meningkatnya produksi sebum, (2) terjadinya hiperproliferasi keratinosit dan (3) kolonisasi bakteri penyebab jerawat (Wardani, 2020). *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan beberapa bakteri yang memiliki peran dalam penyakit ini (Fissy *et al.*, 2014).

Cutibacterium acnes merupakan flora normal yang umumnya dapat dijumpai pada kulit manusia, dimana dengan adanya peningkatan sebum dapat mengakibatkan jumlah bakteri ini ikut meningkat. Peningkatan jumlah bakteri ini akan menjadi patogen dan menimbulkan lesi inflamasi pada kulit (Feuillolay *et al.*, 2016; Wardani, 2020). *Cutibacterium acnes* telah dibuktikan dapat membentuk biofilm, dimana pembentukan biofilm oleh mikroorganisme anaerob fakultatif Gram-positif ini menunjukkan indikasi keterlibatan dalam kegagalan pengobatan antibiotik (Coenye *et al.*, 2022). Biofilm sendiri merupakan kumpulan mikroorganisme yang melekat satu sama lain pada suatu permukaan. Lapisan biofilm ini bertindak sebagai pelindung bagi mikroba dari dunia luar, termasuk menghalangi penetrasi antibiotik ke dalam mikroba (Linfante *et al.*, 2017).

Tanaman herbal sejak jaman dulu secara turun temurun telah banyak digunakan oleh nenek moyang kita sebagai alternatif pengobatan dalam mengatasi berbagai macam jenis penyakit. Salah satunya adalah daun Keji Beling. Daun Keji Beling ini dalam masyarakat, terdata digunakan sebagai salah satu obat tradisional dalam upaya mengatasi jerawat. Daun Keji Beling mempunyai beragam kandungan diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin (Fardiyah *et al.*, 2020). Keji Beling telah banyak digunakan masyarakat dalam pengobatan, antara lain sebagai antibakteri, antioksidan, antilithiasis, antidiabetes, antiangiogenesis, antikanker serta aktivitas penyembuhan luka (Ng *et al.*, 2021).

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri dan antibiofilm ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) dengan menggunakan metode difusi sumuran dan mikrodilusi terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*, diharapkan melalui hasil penelitian ini dapat

Commented [DW1]: 3 paragraf tentang jerawat → dijadikan satu

Commented [DW2]: Tambahkan paragraph dg antibiofilm dan urgensinya dalam artikel ini!

Commented [DW3]: tipo

Commented [DW4]: tambahkan gap analisis dengan jelas!

Commented [DW5]: Penelitian ini sudah dilakukan! Kenapa dilakukan lagi?

dibuktikan potensi daun Keji Beling yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan antibiofilm, sehingga dapat dimanfaatkan dalam pengobatan jerawat.

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah simplisia daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) kering yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Sampel telah dideterminasi dan specimen kering telah di dokumentasikan oleh Laboratorium Botani Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Cutibacterium acnes* ATCC 11827 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan, Surabaya, Jawa Timur. Media bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) (Merck, Germany) dan *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) (Merck, Germany). Pembanding yang digunakan adalah Klindamycin (Clyndamycin 150, Dextra Medica, Indonesia) dengan konsentrasi 2µg/20µL, Bahan-bahan kimia yang dipergunakan merupakan bahan kimia dengan grade pharmaceutical.

2.2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat-alat gelas laboratorium, timbangan analitis (Sartorius TE 214 S, Germany), waterbath (Thermostatic waterbath DHH-6 XMTD 294), Laminar Air Flow (LAF) (Type V-130, Indonesia), autoklaf (All America Model 25x, USA), inkubator (Mettler and Binder, Germany), oven (Mettler, Germany), mikroskop (Olympus, Germany), microplate reader (ThermoFisher Scientific OY, Finlandia).

2.3. Metode Penelitian

2.3.1. Pembuatan ekstrak etanol daun Keji Beling

Simplisia kering yang diperoleh dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan menggunakan pengayak berukuran mesh 40. Pengamatan organoleptis, susut pengeringan dan penetapan kadar abu akan dilakukan pada serbuk simplisia kering sebelum dilakukan proses ekstraksi. Serbuk simplisia yang telah diperoleh di timbang sebanyak 500 gram dan direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 1 L hingga menjadi massa basah selama 4 jam. Selanjutnya massa basah dipindahkan ke tabung perkulator dan ditambahkan pelarut sehingga semua simplisia terendam, lalu didiamkan selama 24 jam. Tahapan selanjutnya adalah penetesan filtrat dengan kecepatan aliran 40 tetes tiap menit dengan secara teratur ditambahkan pelarut baru. Total seluruh pelarut yang digunakan dalam tahapan ekstraksi adalah 2,8 L (perbandingan 1:

5,6). Ekstrak cair yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan *waterbath* suhu 60°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang di peroleh ditimbang untuk menghitung rendemen hasil, dilakukan pengamatan organoleptis dan pengamatan kadar air. Ekstrak kental kemudian disimpan dalam wadah tertutup sebelum digunakan pada pengujian selanjutnya.

2.3.2. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kondisi KLT yang digunakan: fase diam silika gel F254, fase gerak etil asetat : asam format : air (perbandingan 8:1:1), konsentrasi ekstrak 10% dan volume penotolan 10µl.

Commented [DW6]: Tambahkan metode penelitian semua yg ada di bagian hasil!
Pengamatan mikroskopis, PK susut pengeringan dan abu total tidak ada di metode!

2.3.3. Uji aktivitas antibakteri metode difusi (Kusuma *et al.*, 2020)

Metode difusi sumuran dipilih untuk pengujian aktivitas antibakteri. Suspensi bakteri *Cutibacterium acnes* yang telah setara dengan ½ Mc Farland I dipipet sebanyak 0,1 mL lalu ditambah dengan 10 mL media BHIA 50°C lalu dituang ke dalam cawan petri steril dan dirotasi. Pra-pengeraman dilakukan selama 1,5 – 2 jam pada suhu 37°C. Cawan petri dibagi menjadi 5 lubang sumuran dengan diameter 6,0 mm. Lima lubang sumuran tersebut berisi 20 µL ekstrak etanol daun Keji Beling 30%, 40% dan 50%; klindamisin 2µg/20µL dan akuades steril. Cawan petri yang telah berisi sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan daerah hambatan pertumbuhan dilakukan dengan mengukur daerah jernih disekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong. Diameter zona bening diukur dalam satuan milimeter (mm) dengan cara dibagi menjadi dua garis yaitu diameter zona vertikal dan diameter zona horizontal, kemudian diukur dan dirata – rata.

2.3.4. Uji aktivitas antibiofilm metode mikrodilusi (Kim *et al.*, 2021)

Pengujian aktivitas antibiofilm dilakukan dengan metode mikrodilusi menggunakan *microplate U-bottom 96 well*. Kelompok sampel yang diujikan yaitu kelompok ekstrak (0,06 % - 30 %), kelompok pembanding dan kelompok kontrol negatif. Microplate yang telah berisi sampel diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, isi sumuran dibuang dan dibilas 3 kali dengan air mengalir. Masing – masing sumuran diberi kristal violet 0,1% sebanyak 200 µL dan didiamkan selama 15 menit pada suhu ruang. Microplate dicuci atau dibilas dengan air mengalir sebanyak 2 kali. Masing-masing sumuran diberi Tween 2% sebanyak 200 µL dan didiamkan selama 15 menit. Microplate dimasukkan dalam *microplate reader* dan dibaca densitas optik pada λ 599 nm. Hasil absorbansi yang didapatkan akan digunakan dalam perhitungan untuk mendapatkan persentase penghambatan biofilm.

3. Hasil dan Pembahasan

Simplisia daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) yang digunakan dalam penelitian ini diamati karakteristik daun yang meliputi ukuran, bentuk, ujung bawah dan atas, tepi dan permukaan daun (Tabel 1). Pengamatan makroskopis dan mikroskopis juga dilakukan terhadap serbuk daun Keji Beling, dimana hasil pengamatan yang berupa fragmen-fragmen pengenalan dibandingkan dengan Farmakope Herbal Indonesia (2017), untuk memastikan serbuk daun yang diperoleh adalah serbuk daun Keji Beling (Gambar 1).

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopis daun Keji Beling

Parameter	Hasil Pengamatan	Pustaka*	Keterangan
Simplisia Kering			
Ukuran	Panjang daun: 7 – 8,5 cm Lebar daun: 4 – 5,4 cm	Panjang daun: 5 – 8 cm (tanpa tangkai) Lebar daun: 2 – 5 cm	Sesuai
Bentuk daun	Lonjong	Lonjong	Sesuai
Pangkal daun	Meruncing	Meruncing	Sesuai
Ujung daun	Meruncing	Meruncing	Sesuai
Tepi daun	Bergerigi	Bergerigi	Sesuai
Permukaan daun	Kasar ditumbuhi rambut halus	Kasar ditumbuhi rambut halus	Sesuai
Serbuk Simplisia			
Warna	Hijau tua	Hijau tua sampai hitam kelabu	Sesuai
Bau	Aromatis lemah	Lemah	Sesuai

(*)(Kementerian Kesehatan RI, 2017)

Hasil pengamatan mikroskopis serbuk simplisia daun Keji Beling menunjukkan adanya fragmen-fragmen pengenalan yang sesuai dengan yang terdapat pada Farmakope Herbal Indonesia Edisi 2 (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Pengamatan terhadap susut pengeringan dan kadar abu total dapat dilihat pada Tabel 2 dan hasil yang didapatkan telah sesuai dengan yang terdapat pada pustaka yang diacu.



Gambar 1. Hasil pengamatan mikroskopis dalam media kloralhidrat-Floroglusin HCl pada perbesaran 10x40

Ket: a. sistolit (kristal kalsium karbonat); b. trikoma multiseluler glanduler; c. stomata bidiasitik; d. berkas pembuluh; e. epidermis atas dengan sistolit.

Tabel 2. Hasil standarisasi simplisia daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*)

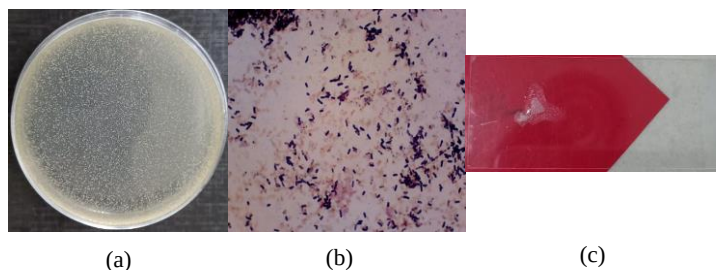
Parameter	Hasil Pengamatan(%)	Pustaka*	Keterangan
Susut Pengeringan	9,124 ± 0,106	Tidak lebih dari 10%	Sesuai
Kadar Abu Total	19,711 ± 0,313	Tidak lebih dari 20,4%	Sesuai

(*) (Kementerian Kesehatan RI, 2017)

Berat ekstrak kental yang diperoleh adalah 49,6 gram dengan rendemen sebesar 9,92%. Hasil pengamatan menyatakan bahwa ekstrak daun Keji Beling berbentuk ekstrak kental, berwarna hitam kehijauan, memiliki rasa pahit dan berbau aromatis lemah. Pengujian kadar air yang dilakukan didapatkan hasil sebesar 13,478 ± 0,319%, hasil ini telah sesuai seperti yang tertera pada monografi ekstrak daun Keji Beling pada Farmakope Herbal Indonesia edisi II (2017) yaitu tidak lebih dari 30%. Hasil kadar air ekstrak etanol daun Keji Beling menunjukkan hasil yang >10%, hal ini diduga karena keberadaan sistolit yang banyak terdapat pada tanaman keluarga Acanthaceae. Kristal kalsium karbonat yang merupakan komponen penyusun sistolit adalah garam yang pada dasarnya memiliki karakteristik menyerap kelembapan dari udara.

Hasil uji KLT ekstrak etanol daun Keji Beling menunjukkan positif mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin. Pengujian flavonoid dilakukan menggunakan penampak noda AlCl_3 dan menunjukkan hasil positif berupa noda berfluoresensi hijau kekuningan pada pengamatan UV 366 nm. Uji alkaloid menunjukkan hasil positif setelah disemprot penampak noda *dragendrof* dan memberikan warna noda merah kecoklatan pada pengamatan visual. Uji

tanin dilakukan menggunakan penampak noda FeCl_3 dan menghasilkan noda hitam pada pengamatan visual. Hasil uji KLT ekstrak etanol daun Keji Beling telah sesuai dengan penelitian terdahulu (Fardiyah *et al.*, 2020).



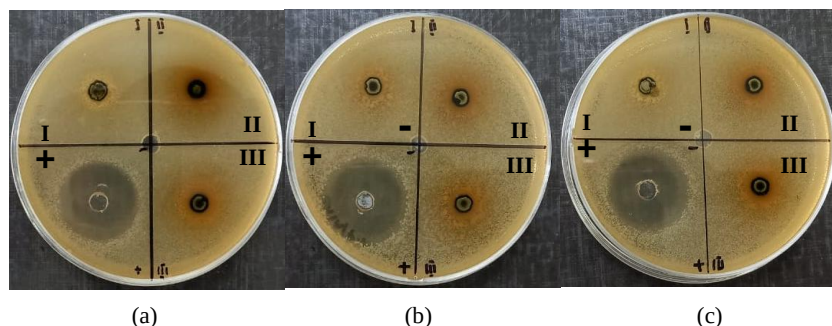
Gambar 2. (a) Makroskopis *Cutibacterium acnes*, (b) Mikroskopis *Cutibacterium acnes*, (c) Uji biokimia katalase *Cutibacterium acnes*

Tabel 3. Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis *Cutibacterium acnes*

	Pemeriksaan	Hasil Pengamatan	Pustaka(*)	Keterangan
Makroskopis	Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Sesuai
	Warna koloni	Putih agak kuning	Putih agak kuning	Sesuai
	Tepi koloni	Bergerigi	Bergerigi	Sesuai
	Kenaikan permukaan	Cembung	Cembung	Sesuai
	Tekstur koloni	Basah, <i>semi-opaque</i> , halus	Basah, <i>semi-opaque</i> , halus	Sesuai
	Ukuran koloni	1 – 2 mm	1 – 2 mm	Sesuai
Mikroskopis	Bentuk sel	Batang pendek	Bulat, batang pendek	Sesuai
	Susunan sel	Tunggal, berpasangan, membentuk huruf V dan Y	Tunggal, berpasangan atau rantai pendek membentuk huruf V atau Y	Sesuai
	Warna sel	Biru ungu	Biru ungu	Sesuai
	Reaksi Gram	Gram positif	Gram positif	Sesuai
	Ukuran sel	0,5 – 0,8 mm	0,5 – 0,8 mm	Sesuai

(*) (Ahmed *et al.*, 2020; Mustarichie *et al.*, 2020; Stefan *et al.*, 2019)

Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 2 dan Tabel 3. Pada uji biokimia katalase menunjukkan adanya gelembung atau busa, sehingga mengindikasikan bahwa *Cutibacterium acnes* memiliki enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). Hasil pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia katalase sesuai dengan pustaka yang diacu (Ahmed *et al.*, 2020; Mustarichie *et al.*, 2020; Stefan *et al.*, 2019).



Gambar 3. Hasil uji daya antibakteri ekstrak etanol daun Keji Beling, pembanding klindamisin dan akuades steril terhadap *Cutibacterium acnes*

Ket: a. Replikasi 1, b. Replikasi 2, c. Replikasi 3, I: Ekstrak etanol daun Keji Beling 30%, II: Ekstrak etanol daun Keji Beling 40%, III: Ekstrak etanol daun Keji Beling 50%, +: Klindamisin 2µg/20µL, sebagai kontrol positif, -: Akuades steril sebagai kontrol negatif

Tabel 4. Hasil pengukuran diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP) ekstrak etanol daun Keji Beling (EEDKB), pembanding klindamisin dan akuades steril terhadap *Cutibacterium acnes*

Keterangan	Replikasi 1 (mm)	Replikasi 2 (mm)	Replikasi 3 (mm)	Rata-rata DHP (mm) ± SD
EEDKB 30%	-	-	-	-
EEDKB 40%	-	-	-	-
EEDKB 50%	7,10	7,30	7,24	7,21 ± 0,103
Klindamisin 2µg/20µl	26,6	24,75	25,2	25,52 ± 0,965
Akuades steril	-	-	-	-

Dari hasil pengujian (Gambar 3 dan Tabel 4) diperoleh bahwa ekstrak etanol daun Keji Beling pada konsentrasi 30% dan 40% tidak memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan tidak terdapatnya Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP) terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Pada konsentrasi 50% memberikan DHP rata – rata $7,21 \pm 0,103$ mm terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Tidak terbentuknya daerah jernih di sekitar lubang sumuran pada konsentrasi 30% dan 40% diduga karena ekstrak etanol daun Keji Beling mempunyai kadar metabolit sekunder yang lebih rendah dibandingkan kandungan pada konsentrasi 50%, sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes*. Hal ini sejalan dengan penelitian Suproborini *et al.* (2022) yang menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak maka jumlah metabolit sekunder juga akan semakin besar. Berdasarkan pada hasil yang diperoleh menunjukkan hasil DHP dari ekstrak etanol daun Keji Beling yang diperoleh termasuk dalam kategori sedang, dimana *Cutibacterium acnes* merupakan bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga

dapat memberikan stabilitas struktural yang tinggi dan lebih mudah mengalami resistensi terhadap tekanan osmotik dan mekanik (Sangani *et al.*, 2015). Pembanding klindamisin memberikan DHP rata – rata $25,52 \pm 0,965$ mm terhadap *Cutibacterium acnes*, hal ini dikarenakan klindamisin memiliki sifat bakteriostatik melalui penghambatan sintesis protein mikroorganisme dengan mengikat RNA pada subunit 50s ribosom bakteri, sehingga klindamisin mampu memberikan efek *post-antibiotik* yang panjang, menurunkan produksi toksin, mengikat opsonisasi mikroba dan fagositosis (Hong *et al.*, 2014).

Tabel 5. Persentase penghambatan biofilm *Cutibacterium acnes* oleh ekstrak daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*)

Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (% b/v)	% Penghambatan Biofilm
30	$100 \pm 0,378$
15	$100 \pm 0,338$
7,5	$100 \pm 0,029$
3,75	$99,15 \pm 0,203$
1,88	$98,23 \pm 0,230$
0,94	$93,58 \pm 0,149$
0,47	$91,17 \pm 0,451$
0,24	$89,94 \pm 0,740$
0,12	$88,98 \pm 0,526$
0,06	$85,81 \pm 0,137$

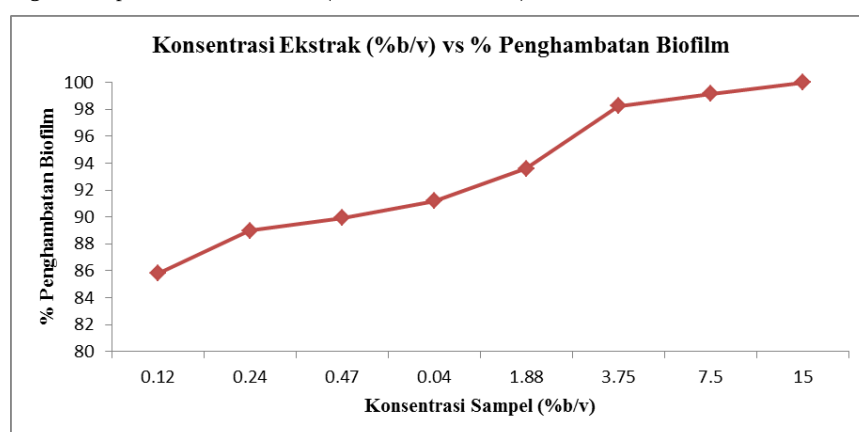
Tabel 6. Persentase penghambatan biofilm *Cutibacterium acnes* oleh antibiotik klindamisin

Kadar Klindamisin	% Penghambatan Biofilm
10 µg/100µl	$97,00 \pm 0,624$

Commented [DW7]: Tidak perlu dibuat tabel hanya 1 nilai saja

Ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) memiliki kemampuan menghambat pembentukan biofilm *Cutibacterium acnes*. Pada konsentrasi 0,06% menunjukkan hasil penghambatan biofilm sebesar $85,81 \pm 0,137$ % dan terus mengalami peningkatan hingga konsentrasi 30%. Teori yang dikemukakan oleh Sangani *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa mekanisme penghambatan pertumbuhan biofilm dapat dengan cara menembus dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu sinyal – sinyal komunikasi (*quorum sensing*) antar bakteri yang berperan dalam pembentukan biofilm atau menginaktivasi gen – gen pada bakteri yang memicu sintesis EPS. Pada pengujian antibakteri konsentrasi 30% tidak terdapat Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP), namun pada pengujian antibiofilm terdapat persen penghambatan biofilm, hal ini disebabkan karena antibiofilm hanya dapat menghambat atau mengurangi pembentukan biofilm bakteri dan tidak untuk membunuh bakteri *Cutibacterium acnes*.

Hasil pengujian antibiofilm menggunakan pembanding klindamisin dilakukan pada konsentrasi 10µg/100µl dan menghasilkan persentase penghambatan sebesar $97,00 \pm 0,624 \%$. Ekstrak etanol daun Keji Beling mulai konsentrasi 1,88% hingga konsentrasi 30% memberikan persen penghambatan biofilm lebih besar dibandingkan persen penghambatan biofilm oleh klindamisin pada konsentrasi 10µg/100µl (Tabel 5 & 6). Klindamisin memiliki kemampuan meningkatkan opsonisasi dan fagositosis bakteri melalui penghambatan sintesa protein bakteri dan menyebabkan kerusakan dinding sel sehingga menurunkan *adhesi* bakteri ke sel host dan menghambat pembentukan biofilm (Luchian *et al.*, 2021).



Gambar 4. Grafik persentase penghambatan biofilm *Cutibacterium acnes* oleh ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) pada beberapa konsentrasi

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri melalui 3 hal yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi, sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel yang berakibat keluarnya senyawa intraseluler bakteri (Górniak *et al.*, 2019). Alkaloid sebagai antibakteri bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri. Kemampuannya disebabkan karena alkaloid akan membentuk ikatan hidrogen dengan komponen penyusun peptidoglikan sehingga dinding sel tidak terbentuk dan sel akan mati (Alibi *et al.*, 2021). Tanin memiliki kemampuan dalam menginaktifkan adhesin sel mikroba dan menargetkan pada polipeptida dinding sel, akibatnya pembentukan dinding sel bakteri menjadi tidak sempurna dan mengalami lisis akibat tekanan osmotik (Kaczmarek, 2020).

Melalui beberapa penelitian tidak terlihat dengan jelas bagaimana flavonoid dapat mencegah terbentuknya biofilm, namun adanya dugaan bahwa flavonoid dapat berinteraksi dengan permukaan dinding sel bakteri dan mencegah terbentuknya formasi biofilm (Górniak *et*

al., 2019). Penelitian dengan menggunakan bakteri Gram positif lain yaitu *Staphylococcus aureus* menunjukkan flavonoid dapat menghambat transkripsi AgrA dan RNAIII sehingga pembentukan biofilm dapat digagalkan (Guzzo *et al.*, 2020). Alkaloid dapat mengganggu proses pelekatan satu sel dengan sel yang lain, yang mengakibatkan proses pembentukan biofilm terhambat (Lahiri *et al.*, 2019). Tanin merusak integritas dari dinding sel dengan merusak ikatan peptidoglikan, selain itu, tanin dapat mengurangi pembentukan biofilm pada konsentrasi sampel dibawah konsentrasi yang menimbulkan kadar hambat minimum (Dong *et al.*, 2018).

4. Kesimpulan

Ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) terbukti menunjukkan potensi sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap *Cutibacterium acnes*. Aktivitas antibakteri ditunjukkan melalui besaran daerah hambatan pertumbuhan sebesar 7,21 mm pada konsentrasi ekstrak etanol 50%. Ekstrak etanol daun Keji Beling memberikan persen penghambatan biofilm yang lebih besar dibandingkan persen penghambatan biofilm oleh klindamisin pada konsentrasi 1,88%. Golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol daun Keji Beling (*Strobilanthus crispus*) adalah flavonoid, alkaloid dan tanin. Untuk penelitian selanjutnya, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perlakuan pra-ekstraksi dan perbedaan metode ekstraksi terhadap kemampuan dalam menghambat pertumbuhan biofilm bakteri *Cutibacterium acnes*, serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode uji bioautografi untuk mengetahui senyawa mana yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes*.

Deklarasi Konflik Kepentingan

“Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini”.

Daftar Pustaka

- Ahmed, M. E., Ahmed, Z. M., & Thamer, A. (2020). The Evolutionary Effects of Bacillin and S-Pyocin Bacteriocin and Their Effects on *Cutibacterium acnes* and Fungi. *Biochem. Cell. Arch.*, 20(2), 3645–3649.
- Alibi, S., Crespo, D., & Navas, J. (2021). Plant-Derivatives Small Molecules with Antibacterial Activity. *Antibiotics*, 10(3), 231. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030231>
- Coenye, T., Spittaels, K.-J., & Achermann, Y. (2022). The role of biofilm formation in the pathogenesis and antimicrobial susceptibility of *Cutibacterium acnes*. *Biofilm*, 4, 100063. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2021.100063>

Commented [DW8]: Tambahkan ucapan terimakasih!

- Dong, G., Liu, H., Yu, X., Zhang, X., Lu, H., Zhou, T., & Cao, J. (2018). Antimicrobial and anti-biofilm activity of tannic acid against *Staphylococcus aureus*. *Natural Product Research*, 32(18), 2225–2228. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1366485>
- Fardiyah, Q., Suprpto, Kurniawan, F., Ersam, T., Slamet, A., & Suyanta. (2020). Preliminary Phytochemical Screening and Fluorescence Characterization of Several Medicinal Plants Extract from East Java Indonesia. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 833(1), 012008. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/833/1/012008>
- Feuillolay, C., Pecastaings, S., Gac, C. L., Fiorini-Puybaret, C., Luc, J., Joulia, P., & Roques, C. (2016). A *Myrtus communis* extract enriched in myrtucummulones and ursolic acid reduces resistance of *Cutibacterium acnes* biofilms to antibiotics used in acne vulgaris. *Phytomedicine*, 23(3), 307–315. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.11.016>
- Fissy, S. O. F., Sari, R., & Pratiwi, L. (2014). Efektivitas Gel Anti Jerawat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) terhadap *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(2), 193–201.
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 241–272. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>
- Guzzo, F., Scognamiglio, M., Fiorentino, A., Buommino, E., & D'Abrosca, B. (2020). Plant Derived Natural Products against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: Antibiofilm Activity and Molecular Mechanisms. *Molecules*, 25(21), 5024. <https://doi.org/10.3390/molecules25215024>
- Wardani, H. N. (2020). Potensi Ekstrak Daun Sirsak Dalam Mengatasi Kulit Wajah Berjerawat. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(4), 563–570.
- Hong, W., Zeng, J., & Xie, J. (2014). Antibiotic drugs targeting bacterial RNAs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(4), 258–265. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2014.06.012>
- Kaczmarek, B. (2020). Tannic Acid with Antiviral and Antibacterial Activity as A Promising Component of Biomaterials—A Minireview. *Materials*, 13(14), 3224. <https://doi.org/10.3390/ma13143224>
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim, Y.-G., Lee, J.-H., & Lee, J. (2021). Antibiofilm activities of fatty acids including myristoleic acid against *Cutibacterium acnes* via reduced cell hydrophobicity. *Phytomedicine*, 91, 153710. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153710>
- Kusuma, I. W., Rahmini, Arung, E. T., Pramono, A. Y., Erwin, & Supomo. (2020). Biological activities and phytochemicals of *Hyptis capitata* grown in East Kalimantan, Indonesia. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8(2), 58–64. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80210>
- Lahiri, D., Dash, S., Dutta, R., & Nag, M. (2019). Elucidating the effect of anti-biofilm activity of bioactive compounds extracted from plants. *Journal of Biosciences*, 44(2), 52. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9868-4>
- Linfante, A., Allawh, R. M., & Allen, H. B. (2017). The Role of *Cutibacterium acnes* Biofilm in Acne Vulgaris. *Journal of Clinical & Experimental Dermatology Research*, 09(01). <https://doi.org/10.4172/2155-9554.1000439>

- Luchian, I., Goriuc, A., Martu, M. A., & Covasa, M. (2021). Clindamycin as an Alternative Option in Optimizing Periodontal Therapy. *Antibiotics*, 10(7), 814. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070814>
- Mustarichie, R., Sulistyaningsih, S., & Runadi, D. (2020). Antibacterial Activity Test of Extracts and Fractions of Cassava Leaves (*Manihot esculenta* Crantz) against Clinical Isolates of *Staphylococcus epidermidis* and *Cutibacterium acnes* Causing Acne. *International Journal of Microbiology*, 2020, e1975904. <https://doi.org/10.1155/2020/1975904>
- Ng, M. G., Ng, C. H., Ng, K. Y., Chye, S. M., Ling, A. P. K., & Koh, R. Y. (2021). Anticancer Properties of *Strobilanthes crispus*: A Review. *Processes*, 9(8), 1370. <https://doi.org/10.3390/pr9081370>
- Sangani, M. H., Moghaddam, M. N., & Mahdi, M. (2015). *Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles on pseudomonas aeruginosa bioRfeiclmeivefdo:rAmp. t2i2o,n2014*; Accepted: Jul. 12, 2014 Vol. 1, No. 5, Autumn 2014, page 298-30. 2(2).
- Stefan, R., Hobden, J. A., Miller, S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Detrick, B., Mitchell, T. G., Sakarani, J. A., Hotez, P., & Mejia, R. (2019). *Jawetz, Melnick & Adelbreg's: Medical Microbiology* (28th ed.). McGraw Hill.
- Suproborini, A., Laksana, M. S. D., & Martiningsih, S. H. (2022). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Strobilanthes crispus* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Pharmaceutical Science and Medical Research*, 5(1), 25–32.
- Taleb, M. H., Abdeltawab, N. F., Shamma, R. N., Abdelgayed, S. S., Mohamed, S. S., Farag, M. A., & Ramadan, M. A. (2018). *Origanum vulgare* L. Essential Oil as a Potential Anti-Acne Topical Nanoemulsion—In Vitro and In Vivo Study. *Molecules*, 23(9), 2164. <https://doi.org/10.3390/molecules23092164>
- Yurlina Zai, Agnes Yohana Kristino, Sri Lestari Ramadhani Nasution, & Oliviti Natali. (2019). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Bakteri *Cutibacterium acnes*. *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*, 6(1), 59–64. <https://doi.org/10.31289/biolink.v6i1.2244>

3. Revisi kedua (31 desember 2023): revisi minor

JP 389

MY 369

PH 262

TH 169

CN 137

NL 128

AU 105

DE 102

RU 99

BR 96

TL 94

TR 88

Pageviews: 610,063

FLAG counter

Reviewer A 74341-227491-1-RV.doc 2023-10-31

Editor Decision

Decision

Accept Submission 2024-04-16

Notify Editor

Editor/Author Email Record 2024-04-16

Editor Version

74341-209539-1-ED.doc2023-05-31

74341-209539-2-ED.doc2024-02-28

74341-209539-3-ED.doc2024-03-22

74341-209539-4-ED.doc2024-04-16

Author Version

74341-235443-1-ED.doc2023-12-31

74341-235443-2-ED.doc2024-03-01

74341-235443-3-ED.doc2024-03-07

74341-235443-4-ED.doc2024-03-27

Delete

Delete

Delete

Delete

Upload Author Version

Choose File

No file chosen

Upload

DUAJ OPEN ACCESS JOURNALS

GARUDA

INDEX COPERNICUS INTERNATIONAL

Dimensions

Plagiarism Checker

turnitin

Reference Manager

MENDELEY

zotero

Journal Content

Search

Search Scope

4. Artikel diterima (16 April 2024)

- Full paper**



Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D, Apt. <sumi@ukwms.ac.id>

[JPSCR] Editor Decision of Your Manuscript (Accepted)

Dinar Sari C. Wahyuni <jurnal@mail.uns.ac.id>

Tue, Apr 16, 2024 at 10:49 PM

Reply-To: Dinar Sari Cahyaningrum Wahyuni <dinarsari_cw@staff.uns.ac.id>

To: Sumi Wijaya <sumi@ukwms.ac.id>

The following message is being delivered on behalf of Journal of
Pharmaceutical Science And Clinical Research.

JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research
Yth. Sumi Wijaya

Bersama ini kami sampaikan bahwa manuskrip JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research dengan judul "Potensi Daun Keji Beling (*Strobilanthes crispus*) sebagai Antibakteri dan Antibiofilm terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*" dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterbitkan pada Jurnal JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research.

Manuskrip tersebut akan kami terbitkan pada nomor terdekat. Sehubungan dengan hal tersebut, author dikenai biaya penggantian pengelolaan naskah sebesar Rp. 1.000.000,- (satu juta rupiah).

Apabila author menghendaki jurnal versi cetak, maka akan dikenai biaya pengganti ongkos cetak sebesar Rp. 250.000,- per-eksemplar.

Adapun teknis pembayarannya adalah sebagai berikut:

1. Author mendaftar melalui link berikut http://bit.ly/JPSCR_2021,
2. Login pada laman tersebut
3. Pada laman home isilah nama produk: Article Processing Charge (APC)

JPSCR

4. Isilah checklist sesuai keperluan.
5. Cetak invoice
6. Pilih metode pembayaran
7. Ikuti petunjuk yang tertera untuk melakukan pembayaran.
8. Bukti pembayaran dikirimkan ke alamat email jpscr@mipa.uns.ac.id;
cc: dinarsari_cw@mipa.uns.ac.id.

Demikian pemberitahuan ini Kami sampaikan. Atas kerjasama Bapak/Ibu Kami ucapkan terima kasih.

Salam,

Dr. apt. Dinar Sari C. Wahyuni, M.Si.

Editor in Chief

JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research

<https://jurnal.uns.ac.id/jpscr>

Dinar Sari Cahyaningrum Wahyuni

Pharmacy Department, Universitas Sebelas Maret (Scopus Author ID:

55662571700)

dinarsari_cw@staff.uns.ac.id

Journal of Pharmaceutical Science And Clinical Research

<https://jurnal.uns.ac.id/index.php/jpsrc>

Potensi Daun Keji beling (*Strobilanthus crispus*) sebagai Antibakteri dan Antibiofilm terhadap Bakteri *Cutibacterium acnes*

*The Potential of Keji Beling Leaves (*Strobilanthus crispus*) as Antibacterial and Antibiofilm against *Cutibacterium acnes**

Sumi Wijaya, Inggar Dwi Kuncahyani dan Lisa Soegianto*

Program Studi S1-Farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Surabaya,
Indonesia

*Corresponding author: lisa-s@ukwms.ac.id

Diterima: 30 Mei 2023; **Disetujui:** 16 April 2024; **Dipublikasi** 01 Mei 2024

Abstrak

Cutibacterium acnes, merupakan salah satu mikroorganisme permanen pada permukaan stratum korneum, dimana populasinya mewakili 20-70% dari mikroorganisme yang banyak ditemukan pada kondisi muka berjerawat. Pembentukan biofilm dari mikroorganisme ini merupakan salah satu faktor yang mengakibatkan obat anti jerawat tidak efektif dalam bekerja. *Strobilanthus crispus* (keji beling) merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi cukup tinggi dalam pengobatan tradisional, khususnya sebagai antibakteri. Penelitian ini akan menguji kemampuan ekstrak etanol daun keji beling sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Ekstrak etanol daun keji beling di dapatkan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode Difusi Sumuran dengan Diameter Hambat Pertumbuhan (DHP) sebagai parameter pengukuran digunakan sebagai metode pengujian untuk aktivitas antibakteri. Ekstrak etanol daun keji beling pada konsentrasi 50% memberikan DHP $7,21 \pm 0,103$ mm. Aktivitas antibiofilm diuji dengan menggunakan metode mikrodilusi pada rentang konsentrasi ekstrak 0,06 % - 30%. Hasil menunjukkan 1,88% ekstrak etanol daun keji beling telah mampu memberikan persentase penghambatan pembentukan biofilm sebesar $98,23 \pm 0,230\%$, dimana hasil ini menunjukkan hasil yang tidak berbeda dengan klindamisin $10\mu\text{g}/100\mu\text{L}$. Skrining fitokimia yang dilakukan pada ekstrak etanol daun keji beling menunjukkan adanya flavonoid, alkaloid dan tanin, yang di duga menunjukkan potensi sebagai antibiofilm.

Kata kunci: Antibakteri; Antibiofilm; *Cutibacterium acnes*; *Strobilanthus crispus*

Abstract

Cutibacterium acnes is one of the commensal bacteria on the surface of the stratum corneum, where it is population represents 20-70% of the microorganisms commonly found in acne. Forming biofilms from these microorganisms is one of the causes of anti-acne drugs being ineffective. *Strobilanthus crispus* (keji beling) is a potential plant in traditional medicine, especially as an antibacterial. This study aimed to determine the ability of the ethanol extract of keji beling leaves as an antibacterial and anti-biofilm against *Cutibacterium acnes*. The ethanol extract of keji beling leaves was obtained using the maceration method with 96% ethanol as a solvent. Well Diffusion method was used for antibacterial testing using Inhibition Zone Diameter (IZD) as a parameter. The ethanol extract of keji beling leaves was at a

concentration of 50% giving an IZD of 7.21 ± 0.103 mm. Anti-biofilm activity was tested using the microdilution method at an extract concentration range of 0.06% - 30%. The results showed that the ethanol extract of keji beling leaves inhibited the biofilm formation as much as $98.23 \pm 0.230\%$ at the concentration of 1.88%, which was not significantly different from clindamycin $10\mu\text{g}/100\mu\text{L}$. Phytochemical screening performed on the ethanol extract of keji beling leaves showed the presence of flavonoids, alkaloids, and tannins, which can potentially be anti-biofilms.

Keywords: Antibacterial; Antibiofilm; *Cutibacterium acnes*; *Strobilanthus crispus*

1. PENDAHULUAN

Jerawat atau yang biasa disebut sebagai acne vulgaris merupakan suatu gangguan pada kulit yang umumnya ditandai dengan adanya nodul, papul, pustule dan komedo pada beberapa area tubuh manusia (Taleb *et al.*, 2018). Penyakit ini merupakan penyakit paling umum ke -8 yang dijumpai dan merupakan jenis penyakit kulit terbanyak ke -2, dimana penyakit ini kerap terjadi pada remaja pada usia 16-19 tahun hingga dewasa usia 30 tahun (Wardani, 2020; Taleb *et al.*, 2018). Prevalensi tertinggi umumnya dijumpai lebih tinggi pada pria (95%-100%), bila dibandingkan dengan wanita (83%-85%) (Yurlina *et al.*, 2019). Faktor penyebab jerawat diantaranya adalah keturunan atau gen, keadaan psikis, ras, hormonal maupun karena infeksi bakteri. Terjadinya jerawat pada manusia, secara umum terbagi menjadi tiga tahapan yaitu (1) meningkatnya produksi sebum, (2) terjadinya hiperproliferasi keratinosit dan (3) kolonisasi bakteri penyebab jerawat (Wardani, 2020). *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan beberapa bakteri yang memiliki peran dalam penyakit ini (Fissy *et al.*, 2014).

Cutibacterium acnes merupakan flora normal yang umumnya dapat dijumpai pada kulit manusia, dimana dengan adanya peningkatan sebum dapat mengakibatkan jumlah bakteri ini ikut meningkat. Peningkatan jumlah bakteri ini akan menjadi patogen dan menimbulkan lesi inflamasi pada kulit (Feuillolay *et al.*, 2016; Wardani, 2020). *Cutibacterium acnes* telah dibuktikan dapat membentuk biofilm, dimana pembentukan biofilm oleh mikroorganisme anaerob fakultatif Gram-positif ini menunjukkan indikasi keterlibatan dalam kegagalan pengobatan antibiotik (Coenye *et al.*, 2022). Biofilm sendiri merupakan kumpulan mikroorganisme yang melekat satu sama lain pada suatu permukaan. Lapisan biofilm ini bertindak sebagai pelindung bagi mikroba dari dunia luar, termasuk menghalangi penetrasi antibiotik ke dalam mikroba (Linfante *et al.*, 2017). Studi yang dilakukan menunjukkan *Cutibacterium acnes* memiliki empat karakterisasi pola biofilm yaitu (1) perlekatan bakteri pada dinding folikel; (2) perlekatan pada batang rambut; (3) penyebaran ke lumen folikel rambut; dan (4) terbentuknya biofilm di tengah-tengah folikel rambut, tanpa keterikatan yang terlihat pada dinding folikel (Jahns dan Alexeyev, 2014).

Tanaman herbal sejak jaman dulu secara turun temurun telah banyak digunakan oleh nenek moyang kita sebagai alternatif pengobatan dalam mengatasi berbagai macam jenis penyakit. Salah satunya adalah daun keji beling yang dalam masyarakat digunakan sebagai salah satu obat tradisional untuk mengatasi jerawat. Daun keji beling mempunyai beragam

kandungan diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin (Fardiyah *et al.*, 2020). Keji beling telah banyak digunakan masyarakat dalam pengobatan, antara lain sebagai antibakteri, antioksidan, antilithiasis, antidiabetes, antiangiogenesis, antikanker serta aktivitas penyembuhan luka (Ng *et al.*, 2021). Aktivitasnya sebagai antibakteri ditunjukkan pada beberapa penelitian sebagai berikut: (1) ekstrak etanol daun keji beling 25% memberikan Daerah Hambat pertumbuhan (DHP) sebesar 10 mm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Suproborini *et al.*, 2022); (2) ekstrak etanol daun keji beling pada *Staphylococcus epidermidis* konsentrasi 10% (DHP 15,10 mm), 25% (DHP 16,40 mm), dan 50% (DHP 18,86 mm) (Adriana *et al.*, 2023); (3) ekstrak etanol daun keji beling memberikan Kadar Hambat Minimum (KHM) 200 mg/mL pada bakteri *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* (Lim *et al.*, 2015); (4) ekstrak etanol daun keji beling pada konsentrasi 25% memberikan DHP sebesar 10 mm pada bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Suproborini *et al.*, 2023); (5) nano partikel ekstrak air daun keji beling 2 % memberikan DHP 18 mm pada bakteri *Escherichia coli* (Samsulkahar *et al.*, 2023). Penelitian tentang potensi daun keji beling terhadap *Cutibacterium acnes* belum pernah dilakukan.

Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan uji aktivitas antibakteri dan antibiofilm ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthus crispus*) dengan menggunakan metode difusi sumuran dan mikrodilusi terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Serbuk simplisia kering dan ekstrak etanol daun keji beling yang akan digunakan terlebih dahulu akan distandarisasi untuk menjamin identitas, kualitas dan keamanan dari bahan baku yang digunakan. Diharapkan melalui hasil penelitian ini, daun keji beling dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai salah satu bahan aktif sediaan topikal dalam pengobatan jerawat.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah simplisia daun keji beling (*Strobilanthus crispus*) kering yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Sampel telah dideterminasi dan specimen kering telah di dokumentasikan oleh Laboratorium Botani Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *Cutibacterium acnes* ATCC 11827 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan, Surabaya, Jawa Timur. Media bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) (Merck, Germany) dan *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) (Merck, Germany). Pembanding yang digunakan adalah Klindamycin (Clyndamycin 150, Dexa Medica, Indonesia) dengan konsentrasi 2µg/20µL. Bahan-bahan kimia (etanol, etil asetat, asam format, tween, kristal violet) merupakan bahan kimia dengan grade pharmaceutical.

2.2. Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alat-alat gelas laboratorium, timbangan analitis (Sartorius TE 214 S, Germany), waterbath (Thermostatic waterbath DHH-6 XMTD 294), Laminar Air Flow (LAF) (Type V-130, Indonesia), autoklaf (All America Model

25x, USA), inkubator (Memmert and Binder, Germany), oven (Memmert, Germany), mikroskop (Olympus, Germany), microplate reader (Thermofisher Scientific OY, Finlandia).

2.3. Metode penelitian

2.3.1. Pembuatan simplisia kering daun keji beling

Daun keji beling yang digunakan diperoleh dari Balai Materia Medika Indonesia Batu Jawa Timur. Daun yang diperoleh di sortasi basah, lalu diangin-anginkan dan dikeringkan sampai kering. Pemeriksaan makroskopis dilakukan pada daun segar untuk memastikan daun yang digunakan adalah daun keji beling.

2.3.2. Pembuatan ekstrak etanol daun keji beling

Simplisia kering yang diperoleh dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan menggunakan pengayak berukuran mesh 40. Pengamatan organoleptis, mikroskopis, susut pengeringan dan penetapan kadar abu akan dilakukan pada serbuk simplisia kering sebelum dilakukan proses ekstraksi. Serbuk simplisia yang telah diperoleh di timbang sebanyak 500 gram dan direndam dalam pelarut etanol 96% sebanyak 1 L hingga menjadi massa basah selama 4 jam. Selanjutnya massa basah dipindahkan ke tabung perkulator dan ditambahkan etanol 96% sehingga semua simplisia terendam, lalu didiamkan selama 24 jam. Tahapan selanjutnya adalah penetesan filtrat dengan kecepatan aliran 40 tetes tiap menit dengan secara teratur ditambahkan pelarut baru. Total seluruh pelarut yang digunakan dalam tahapan ekstraksi adalah 2,8 L (perbandingan 1: 5,6). Ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *waterbath* suhu 60°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang di peroleh ditimbang untuk menghitung rendemen hasil. Ekstrak kental kemudian disimpan dalam wadah tertutup sebelum digunakan pada pengujian selanjutnya.

2.3.3. Standarisasi ekstrak

Standarisasi ekstrak yang dilakukan meliputi pengamatan organoleptis susut pengeringan dan kadar abu total. Metode pengerjaan standarisasi dilakukan sesuai dengan prosedur yang terdapat pada standarisasi parameter ekstrak (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

2.3.4. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kondisi KLT yang digunakan: fase diam silika gel F254, fase gerak etil asetat:asam format:air (perbandingan 8:1:1), konsentrasi ekstrak 10% dan volume penotolan 10µL. Plat KLT yang sdah dieluasi, dikeringkan, kemudian diamati dan didokumentasikan pada pengamatan visible, UV 254 nm dan UV 366 nm. Penampak noda *dragendorff* digunakan untuk alkaloid, FeCl₃ untuk tanin, AlCl₃ untuk flavonoid dan *Liebermann burchard* untuk golongan terpenoid.

2.3.5. Pemeriksaan bakteri uji

Pemeriksaan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia katalase dilakukan pada bakteri uji yang digunakan pada penelitian ini. Pemeriksaan mikroskopis yang dilakukan meliputi

pengamatan terhadap bentuk, tepi, kenaikan permukaan, warna, ukuran dan tekstur koloni yang terbentuk pada media BHIA yang digunakan. Pemeriksaan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan pewarnaan Gram untuk melihat bentuk sel, susunan sel dan warna sel. Uji biokimia katalase dilakukan dengan menambahkan H_2O_2 3% pada kaca obyek yang telah berisi 1 ose koloni bakteri, kemudian diamati ada atau tidak nya gelembung oksigen.

2.3.6. Uji aktivitas antibakteri metode difusi

Metode difusi sumuran dipilih untuk pengujian aktivitas antibakteri. Suspensi bakteri *Cutibacterium acnes* yang telah setara dengan $\frac{1}{2}$ Mc Farland I ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) dipipet sebanyak 0,1 mL lalu ditambah dengan 10 mL media BHIA 50°C lalu dituang ke dalam cawan petri steril dan dirotasi. Pra-pengeraman dilakukan selama 1,5 – 2 jam pada suhu 37°C. Cawan petri dibagi menjadi 5 lubang sumuran dengan diameter 6,0 mm. Lima lubang sumuran tersebut berisi 20 μL ekstrak etanol daun keji beling 30%, 40% dan 50%; klindamisin 2 μg /20 μL dan akuades steril. Cawan petri yang telah berisi sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan daerah hambatan pertumbuhan dilakukan dengan mengukur daerah jernih disekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong. Diameter zona bening diukur dalam satuan milimeter (mm) dengan cara dibagi menjadi dua garis yaitu diameter zona vertikal dan diameter zona horizontal, kemudian diukur dan dirata – rata (Kusuma *et al.*, 2020).

2.3.7. Uji aktivitas antibiofilm metode mikrodilusi

Pengujian aktivitas antibiofilm dilakukan dengan metode mikrodilusi menggunakan *microplate U-bottom 96 well*. Kelompok sampel yang diujikan yaitu kelompok ekstrak (0,06 % - 30 %), kelompok pembanding dan kelompok kontrol negatif. Microplate yang telah berisi sampel diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, isi sumuran dibuang dan dibilas 3 kali dengan air mengalir. Masing – masing sumuran diberi kristal violet 0,1% sebanyak 200 μL dan didiamkan selama 15 menit pada suhu ruang. Microplate dicuci atau dibilas dengan air mengalir sebanyak 2 kali. Masing-masing sumuran diberi Tween 2% sebanyak 200 μL dan didiamkan selama 15 menit. Microplate dimasukkan dalam *microplate reader* dan dibaca densitas optik pada λ 599 nm. Hasil absorbansi yang didapatkan akan digunakan dalam perhitungan untuk mendapatkan persentase penghambatan biofilm (Kim *et al.*, 2021).

3. Hasil dan pembahasan

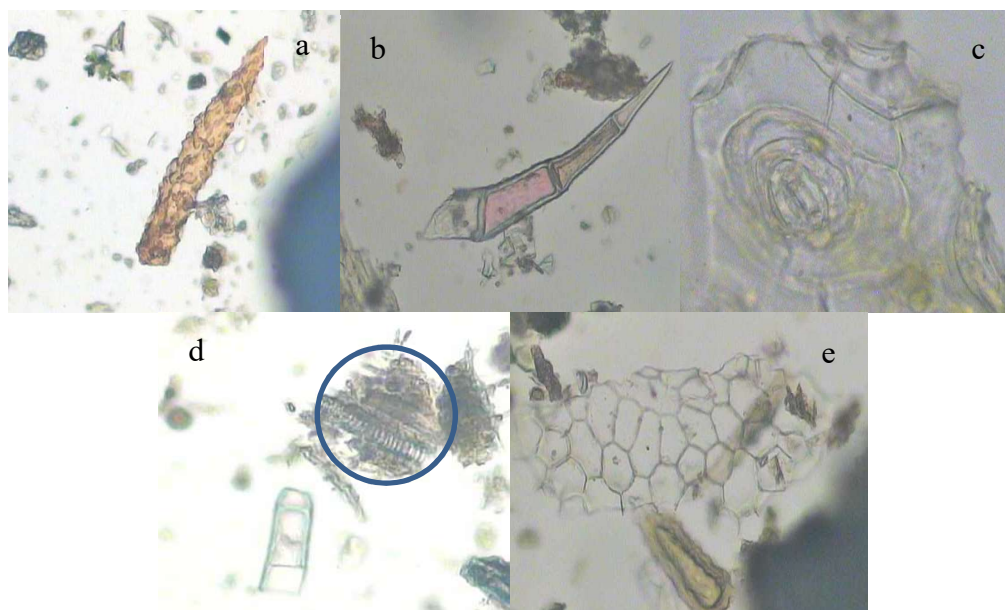
Daun keji beling (*Strobilanthus crispus*) yang digunakan dalam penelitian ini diamati karakteristik daunnya yang meliputi ukuran, bentuk, ujung bawah dan atas, tepi dan permukaan daun (Tabel 1). Pengamatan makroskopis (Tabel 1) dan mikroskopis (Gambar 1) juga dilakukan terhadap serbuk kering daun keji beling, dimana hasil pengamatan yang berupa fragmen-fragmen pengenal dibandingkan dengan Farmakope Herbal Indonesia (2017), untuk memastikan serbuk daun yang diperoleh adalah serbuk daun keji beling (Gambar 1).

Hasil pengamatan mikroskopis serbuk simplisia daun keji beling menunjukkan adanya fragmen-fragmen pengenal yang sesuai dengan yang terdapat pada Farmakope Herbal

Indonesia Edisi 2 (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Pengamatan terhadap susut pengeringan dan kadar abu total (Tabel 2) dan hasil yang didapatkan telah sesuai dengan pustaka yang diacu.

Tabel 1. Hasil pengamatan makroskopis daun keji beling dan hasil pengamatan makroskopis simplisia kering daun keji beling. Keterangan: *= Sumber pustaka dari Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Parameter	Hasil Pengamatan	Pustaka*	Keterangan
Simplisia Kering			
Ukuran	Panjang daun: 7 – 8,5 cm Lebar daun: 4 – 5,4 cm	Panjang daun: 5 – 8 cm (tanpa tangkai) Lebar daun: 2 – 5 cm	Sesuai
Bentuk daun	Lonjong	Lonjong	Sesuai
Pangkal daun	Meruncing	Meruncing	Sesuai
Ujung daun	Meruncing	Meruncing	Sesuai
Tepi daun	Bergerigi	Bergerigi	Sesuai
Permukaan daun	Kasar ditumbuhi rambut halus	Kasar ditumbuhi rambut halus	Sesuai
Serbuk Simplisia			
Warna	Hijau tua	Hijau tua sampai hitam kelabu	Sesuai
Bau	Aromatis lemah	Lemah	Sesuai



Gambar 1. Hasil pengamatan mikroskopis dalam media kloralhidrat-Floroglusin HCl pada perbesaran 10x40. Keterangan: a. sistolit (kristal kalsium karbonat); b. trikoma multiseluler glanduler; c. stomata bidiasitik; d. berkas pembuluh; e. epidermis atas dengan sistolit.

Berat ekstrak kental yang diperoleh adalah 49,6 gram dengan rendemen sebesar 9,92%. Hasil pengamatan menyatakan bahwa ekstrak daun keji beling berbentuk ekstrak kental, berwarna hitam kehijauan, memiliki rasa pahit dan berbau aromatis lemah. Pengujian kadar air yang dilakukan didapatkan hasil sebesar $13,478 \pm 0,319\%$, hasil ini sesuai monografi ekstrak

daun keji beling pada Farmakope Herbal Indonesia edisi II (2017) yaitu tidak lebih dari 30%. Hasil kadar air ekstrak etanol daun keji beling menunjukkan hasil yang >10%, hal ini diduga karena keberadaan sistolit yang banyak terdapat pada tanaman keluarga Acanthaceae. Kristal kalsium karbonat yang merupakan komponen penyusun sistolit adalah garam yang pada dasarnya memiliki karakteristik menyerap kelembapan dari udara.

Hasil uji KLT ekstrak etanol daun keji beling menunjukkan positif mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin. Pengujian flavonoid dilakukan menggunakan penampak noda AlCl_3 dan menunjukkan hasil positif berupa noda berfluoresensi hijau kekuningan pada pengamatan UV 366 nm. Uji alkaloid menunjukkan hasil positif setelah disemprot penampak noda *dragendrof* dan memberikan warna noda merah kecoklatan pada pengamatan visual. Uji tanin dilakukan menggunakan penampak noda FeCl_3 dan menghasilkan noda hitam pada pengamatan visual. Hasil uji KLT ekstrak etanol daun Keji beling telah sesuai dengan penelitian terdahulu (Fardiyah *et al.*, 2020).

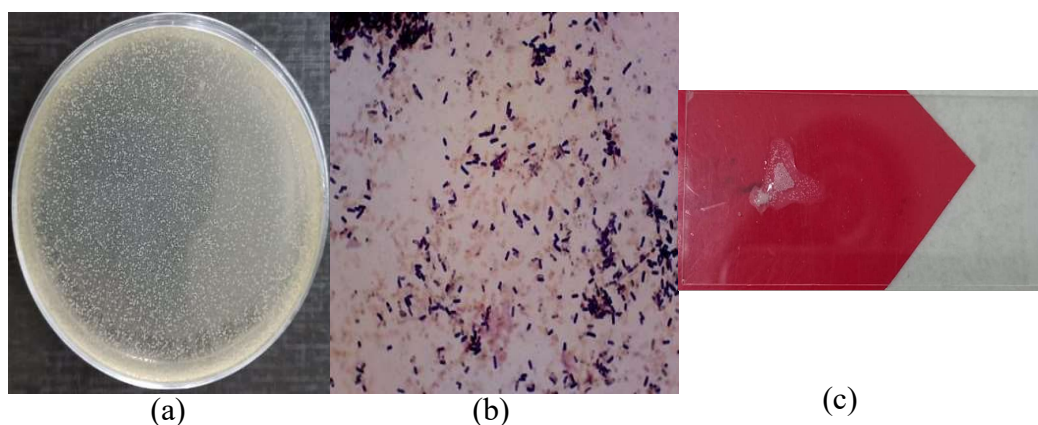
Tabel 2. Hasil standarisasi simplisia daun keji beling (*Strobilanthus crispus*). Keterangan: *= Sumber pustaka dari Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Parameter	Hasil Pengamatan (%)	Pustaka*	Keterangan
Susut Pengerangan	9,124 ± 0,106	Tidak lebih dari 10%	Sesuai
Kadar Abu Total	19,711 ± 0,313	Tidak lebih dari 20,4%	Sesuai

Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis *Cutibacterium acnes* (Gambar 2 dan Tabel 3). Pada uji biokimia katalase menunjukkan adanya gelembung atau busa, sehingga mengindikasikan bahwa *Cutibacterium acnes* memiliki enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2). Hasil pengamatan makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia katalase sesuai dengan pustaka yang diacu (Ahmed *et al.*, 2020; Mustarichie *et al.*, 2020; Stefan *et al.*, 2019).

Hasil pengujian antibakteri terhadap *Cutibacterium acnes* (Gambar 3 dan Tabel 4) diperoleh bahwa ekstrak etanol daun keji beling pada konsentrasi 30% dan 40% tidak memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan tidak terdapat Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP) terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Pada konsentrasi 50% memberikan DHP rata – rata 7,21 ± 0,103 mm terhadap bakteri *Cutibacterium acnes*. Tidak terbentuknya daerah jernih di sekitar lubang sumuran pada konsentrasi 30% dan 40% diduga karena ekstrak etanol daun keji beling mempunyai kadar metabolit sekunder yang lebih rendah dibandingkan kandungan pada konsentrasi 50%, sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes*. Hal ini sejalan dengan penelitian Suproborini *et al.* (2022), semakin besar konsentrasi ekstrak maka jumlah metabolit sekunder juga akan semakin besar. Berdasarkan hasil DHP dari ekstrak etanol daun keji beling yang diperoleh termasuk dalam kategori sedang, dimana *Cutibacterium acnes* merupakan bakteri gram positif yang memiliki dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tebal sehingga dapat memberikan stabilitas struktural yang tinggi dan lebih mudah mengalami resistensi terhadap tekanan osmotik dan mekanik (Sangani

et al., 2015). Pembanding klindamisin memberikan DHP rata – rata $25,52 \pm 0,965$ mm terhadap *Cutibacterium acnes*, hal ini dikarenakan klindamisin memiliki sifat bakteriostatik melalui penghambatan sintesis protein mikroorganisme dengan mengikat RNA pada subunit 50s ribosom bakteri, sehingga klindamisin mampu memberikan efek *post-antibiotik* yang panjang, menurunkan produksi toksin, mengikat opsonisasi mikroba dan fagositosis (Hong *et al.*, 2014).



Gambar 2. (a) Makroskopis *Cutibacterium acnes*, (b) Mikroskopis *Cutibacterium acnes*, (c) Uji biokimia katalase *Cutibacterium acnes*.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis *Cutibacterium acnes*. Keterangan: *= Sumber pustaka dari Ahmed *et al.*, 2020; Mustarichie *et al.*, 2020; Stefan *et al.*, 2019.

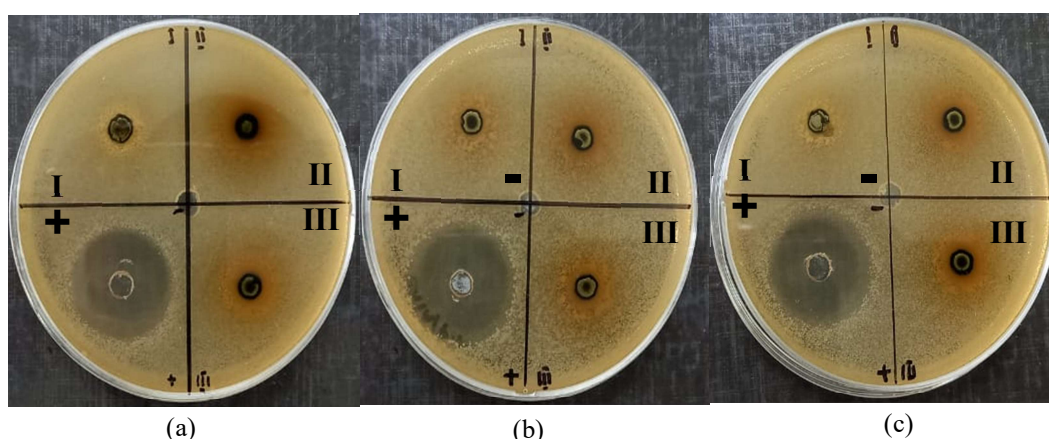
	Pemeriksaan	Hasil Pengamatan	Pustaka*	Keterangan
Makroskopis	Bentuk koloni	Bulat	Bulat	Sesuai
	Warna koloni	Putih agak kuning	Putih agak kuning	Sesuai
	Tepi koloni	Bergerigi	Bergerigi	Sesuai
	Kenaikan permukaan	Cembung	Cembung	Sesuai
	Tekstur koloni	Basah, <i>semi-opaque</i> , halus	Basah, <i>semi-opaque</i> , halus	Sesuai
	Ukuran koloni	1 – 2 mm	1 – 2 mm	Sesuai
Mikroskopis	Bentuk sel	Batang pendek	Bulat, batang pendek	Sesuai
	Susunan sel	Tunggal, berpasangan, membentuk huruf V dan Y	Tunggal, berpasangan atau rantai pendek membentuk huruf V atau Y	Sesuai
	Warna sel	Biru ungu	Biru ungu	Sesuai
	Reaksi Gram	Gram positif	Gram positif	Sesuai
	Ukuran sel	0,5 – 0,8 mm	0,5 – 0,8 mm	Sesuai

Ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthus crispus*) memiliki kemampuan menghambat pembentukan biofilm *Cutibacterium acnes*. Pada konsentrasi 0,06% menunjukkan hasil penghambatan biofilm sebesar $85,81 \pm 0,137$ % dan terus mengalami peningkatan hingga konsentrasi 30%. Teori yang dikemukakan oleh Sangani *et al.*, (2015) yang

menyatakan bahwa mekanisme penghambatan pertumbuhan biofilm dapat dengan cara menembus dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu sinyal – sinyal komunikasi (*quorum sensing*) antar bakteri yang berperan dalam pembentukan biofilm atau menginaktivasi gen – gen pada bakteri yang memicu sintesis EPS (*Extracellular Polymeric Substance*). Pada pengujian antibakteri konsentrasi 30% tidak terdapat Daerah Hambat Pertumbuhan (DHP), namun pada pengujian antibiofilm terdapat persen penghambatan biofilm, hal ini disebabkan karena antibiofilm hanya dapat menghambat atau mengurangi pembentukan biofilm bakteri dan tidak untuk membunuh bakteri *Cutibacterium acnes*.

Tabel 4. Hasil pengukuran diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP) ekstrak etanol daun keji beling (EEDKB), pembanding klindamisin dan akuades steril terhadap *Cutibacterium acnes*.

Keterangan	Replikasi 1 (mm)	Replikasi 2 (mm)	Replikasi 3 (mm)	Rata-rata DHP (mm) $\pm$ SD
EEDKB 30%	-	-	-	-
EEDKB 40%	-	-	-	-
EEDKB 50%	7,10	7,30	7,24	$7,21 \pm 0,103$
Klindamisin $2\mu\text{g}/20\mu\text{l}$	26,6	24,75	25,2	$25,52 \pm 0,965$
Akuades steril	-	-	-	-



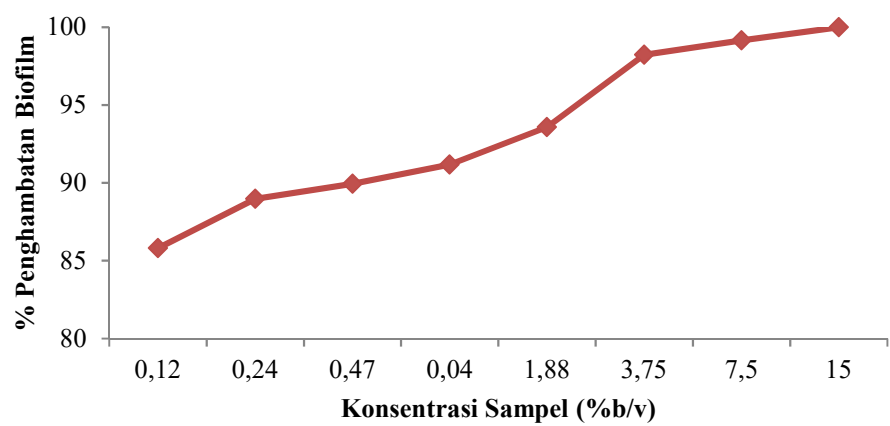
Gambar 3. Hasil uji daya antibakteri ekstrak etanol daun keji beling, pembanding klindamisin dan akuades steril terhadap *Cutibacterium acnes*. Keterangan: Replikasi 1 (a), Replikasi 2 (b), Replikasi 3 (c); Ekstrak etanol daun keji beling 30% (I), Ekstrak etanol daun keji beling 40% (II), Ekstrak etanol daun keji beling 50% (III); Klindamisin $2\mu\text{g}/20\mu\text{L}$ (+) sebagai kontrol positif; Akuades steril (-) sebagai kontrol negatif.

Hasil pengujian antibiofilm menggunakan pembanding klindamisin dilakukan pada konsentrasi $10\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ dan menghasilkan persentase penghambatan sebesar $97,00 \pm 0,624$ %. Ekstrak etanol daun keji beling mulai konsentrasi 1,88% hingga konsentrasi 30% memberikan persen penghambatan biofilm lebih besar dibandingkan persen penghambatan biofilm oleh klindamisin pada konsentrasi $10\mu\text{g}/100\mu\text{l}$ (Tabel 5 dan Gambar 4). Klindamisin memiliki kemampuan meningkatkan opsonisasi dan fagositosis bakteri melalui penghambatan sintesa protein bakteri dan menyebabkan kerusakan dinding sel sehingga menurunkan *adhesi* bakteri ke sel host dan menghambat pembentukan biofilm (Luchian *et al.*, 2021).

Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri melalui tiga hal yaitu, menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi sehingga menyebabkan kerusakan permeabilitas dinding sel dan mengakibatkan keluarnya senyawa intraseluler bakteri (Górniak *et al.*, 2019). Alkaloid bekerja sebagai antibakteri membentuk ikatan hidrogen dengan komponen penyusun peptidoglikan sehingga dinding sel tidak terbentuk dan sel akan mati (Alibi *et al.*, 2021). Tanin dapat menginaktivasi adhesin sel mikroba dan mentarget pada polipeptida dinding sel, akibatnya pembentukan dinding sel bakteri menjadi tidak sempurna dan mengalami lisis akibat tekanan osmotik (Kaczmarek, 2020).

Tabel 5. Persentase penghambatan biofilm *Cutibacterium acnes* oleh ekstrak daun keji beling (*Strobilanthus crispus*) dan antibiotik klindamisin.

Sampel	% Penghambatan Biofilm
Ekstrak etanol daun keji beling (% b/v)	
30	100 ± 0,378
15	100 ± 0,338
7,5	100 ± 0,029
3,75	99,15 ± 0,203
1,88	98,23 ± 0,230
0,94	93,58 ± 0,149
0,47	91,17 ± 0,451
0,24	89,94 ± 0,740
0,12	88,98 ± 0,526
0,06	85,81 ± 0,137
Klindamisin	
10 µg/100µl	97,00 ± 0,624



Gambar 4. Grafik persentase penghambatan biofilm *Cutibacterium acnes* oleh ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthus crispus*) pada beberapa konsentrasi.

Melalui beberapa penelitian tidak terlihat jelas bagaimana flavonoid dapat mencegah terbentuknya biofilm, namun terdapat dugaan bahwa flavonoid dapat berinteraksi dengan permukaan dinding sel bakteri dan mencegah terbentuknya formasi biofilm (Górniak *et al.*, 2019). Penelitian dengan menggunakan bakteri Gram positif lain yaitu *Stapylococcus aureus*

menunjukkan flavonoid dapat menghambat transkripsi AgrA dan RNAlII sehingga pembentukan biofilm dapat digagalkan (Guzzo *et al.*, 2020). Alkaloid dapat mengganggu proses pelekatan satu sel dengan sel lain, yang mengakibatkan proses pembentukan biofilm terhambat (Lahiri *et al.*, 2019). Tanin merusak integritas dinding sel dengan merusak ikatan peptidoglikan, sehingga dapat menghambat pembentukan biofilm (Dong *et al.*, 2018).

4. KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthus crispus*) terbukti menunjukkan potensi sebagai antibakteri dan antibiofilm terhadap *Cutibacterium acnes*. Aktivitas antibakteri ditunjukkan melalui besaran daerah hambatan pertumbuhan sebesar $7,21 \pm 0,103$ mm pada konsentrasi ekstrak etanol 50%. Ekstrak etanol daun keji beling memberikan persen penghambatan biofilm yang lebih besar dibandingkan persen penghambatan biofilm oleh klindamisin pada konsentrasi 1,88%. Golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol daun keji beling (*Strobilanthus crispus*) adalah flavonoid, alkaloid dan tanin. Untuk penelitian selanjutnya, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perlakuan pra-ekstraksi dan perbedaan metode ekstraksi terhadap kemampuan dalam menghambat pertumbuhan biofilm bakteri *Cutibacterium acnes*, serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode uji bioautografi untuk mengetahui senyawa mana yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Cutibacterium acnes*.

DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan sarana dan prasarana dalam pengerjaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriana, L., Dewi, C., & Nasir, N. H. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Keji beling (*Strobilanthes crisper* BI) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Pharmacia Mandala Wahya*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.54883/jpmw.v2i3.82>
- Ahmed, M. E., Ahmed, Z. M., & Thamer, A. (2020). The Evolutionary Effects of Bacillin and S-Pyocin Bacteriocin and Their Effects on *Propionibacterium acnes* and Fungi. *Biochem. Cell. Arch.*, 20(2), 3645–3649. <https://www.researchgate.net/publication/344616801>
- Alibi, S., Crespo, D., & Navas, J. (2021). Plant-Derivatives Small Molecules with Antibacterial Activity. *Antibiotics*, 10(3), 231. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030231>
- Coenye, T., Spittaels, K.-J., & Achermann, Y. (2022). The role of biofilm formation in the pathogenesis and antimicrobial susceptibility of *Cutibacterium acnes*. *Biofilm*, 4, 100063. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2021.100063>
- Dong, G., Liu, H., Yu, X., Zhang, X., Lu, H., Zhou, T., & Cao, J. (2018). Antimicrobial and anti-biofilm activity of tannic acid against *Staphylococcus aureus*. *Natural Product Research*, 32(18), 2225–2228. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1366485>

- Fardiyah, Q., Suprpto, Kurniawan, F., Ersam, T., Slamet, A., & Suyanta. (2020). Preliminary Phytochemical Screening and Fluorescence Characterization of Several Medicinal Plants Extract from East Java Indonesia. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 833(1), 012008. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/833/1/012008>
- Feuillolay, C., Pecastaings, S., Gac, C. L., Fiorini-Puybaret, C., Luc, J., Joulia, P., & Roques, C. (2016). A *Myrtus communis* extract enriched in myrtucummulones and ursolic acid reduces resistance of *Propionibacterium acnes* biofilms to antibiotics used in acne vulgaris. *Phytomedicine*, 23(3), 307–315. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.11.016>
- Fissy, S. O. F., Sari, R., & Pratiwi, L. (2014). Efektivitas Gel Anti Jerawat Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc. Var. Rubrum) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(2), 193–201. <http://jifi.farmasi.univpancasila.ac.id/index.php/jifi/article/view/148>
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 241–272. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>
- Guzzo, F., Scognamiglio, M., Fiorentino, A., Buommino, E., & D'Abrosca, B. (2020). Plant Derived Natural Products against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*: Antibiofilm Activity and Molecular Mechanisms. *Molecules*, 25(21), 5024. <https://doi.org/10.3390/molecules25215024>
- Hong, W., Zeng, J., & Xie, J. (2014). Antibiotic drugs targeting bacterial RNAs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 4(4), 258–265. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2014.06.012>
- Jahns, A. C., & Alexeyev, O. A. (2014.). *Three dimensional distribution of Propionibacterium acnes biofilms in human skin—Jahns—2014—Experimental Dermatology—Wiley Online Library*. Retrieved December 31, 2023, from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/exd.12482>
- Kaczmarek, B. (2020). Tannic Acid with Antiviral and Antibacterial Activity as A Promising Component of Biomaterials—A Minireview. *Materials*, 13(14), 3224. <https://doi.org/10.3390/ma13143224>
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim, Y.-G., Lee, J.-H., & Lee, J. (2021). Antibiofilm activities of fatty acids including myristoleic acid against *Cutibacterium acnes* via reduced cell hydrophobicity. *Phytomedicine*, 91, 153710. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153710>
- Kusuma, I. W., Rahmini, Arung, E. T., Pramono, A. Y., Erwin, & Supomo. (2020). Biological activities and phytochemicals of Hyptis capitata grown in East Kalimantan, Indonesia. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8(2), 58–64. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80210>
- Lahiri, D., Dash, S., Dutta, R., & Nag, M. (2019). Elucidating the effect of anti-biofilm activity of bioactive compounds extracted from plants. *Journal of Biosciences*, 44(2), 52. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9868-4>
- Lim, V., Yap, C. S., Chong, H. W., Shukkoor, M. S. A., & Priya, M. (2015). Antimicrobial Evaluation and GC-MS Analysis of Strobilanthes crispus Ethanolic Leaf Extract. *European Journal of Medicinal Plants*, 10(4), 1–8. <https://doi.org/DOI:10.9734/EJMP/2015/20075>
- Linfaite, A., Allawh, R. M., & Allen, H. B. (2017). The Role of *Propionibacterium acnes* Biofilm in Acne Vulgaris. *Journal of Clinical & Experimental Dermatology Research*, 09(01). <https://doi.org/10.4172/2155-9554.1000439>
- Luchian, I., Goriuc, A., Martu, M. A., & Covasa, M. (2021). Clindamycin as an Alternative Option in Optimizing Periodontal Therapy. *Antibiotics*, 10(7), 814.

- <https://doi.org/10.3390/antibiotics10070814>
- Mustarichie, R., Sulistyaningsih, S., & Runadi, D. (2020). Antibacterial Activity Test of Extracts and Fractions of Cassava Leaves (*Manihot esculenta* Crantz) against Clinical Isolates of *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes* Causing Acne. *International Journal of Microbiology*, 2020, e1975904. <https://doi.org/10.1155/2020/1975904>
- Ng, M. G., Ng, C. H., Ng, K. Y., Chye, S. M., Ling, A. P. K., & Koh, R. Y. (2021). Anticancer Properties of *Strobilanthes crispus*: A Review. *Processes*, 9(8), 1370. <https://doi.org/10.3390/pr9081370>
- Samsulkahar, N. F., Hadi, A. A., Shamsuddin, M., & Malek, N. A. N. N. (2023). Biosynthesis of Gold Nanoparticles Using *Strobilanthes crispus* Aqueous Leaves Extract and Evaluation of Its Antibacterial Activity. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(1), 1–16. <https://doi.org/10.33263/briac131.063>
- Sangani, M. H., Moghaddam, M. N., & Mahdi, M. (2015). Inhibitory effect of zinc oxide nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa*. *Nano Medicine Journal* 2(2): 121-128. https://nmj.mums.ac.ir/article_4091_f60dfe6f0686f44e38fe15650fae8754.pdf
- Stefan, R., Hobden, J. A., Miller, S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., Detrick, B., Mitchell, T. G., Sakarani, J. A., Hotez, P., & Mejia, R. (2019). *Jawetz, Melnick & Adelbreg's: Medical Microbiology* (28th ed.). McGraw Hill.
- Suproborini, A., Laksana, M. S. D., & Martiningsih, S. H. (2022). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Stobilanthes crispus* Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Pharmaceutical Science and Medical Research*, 5(1), 25–32. DOI: <http://doi.org/10.25273/pharmed.v5i1.12460>.
- Suproborini, A., Laksana, M. S. D., & Puspita, W. (2023). *Strobilanthes crispus* antibacterial against *Aggregatibacter actinomycetecomitans*. *Asian Journal of Management, Entrepreneurship and Social Science*, 3(03), 1150 – 1160. <http://www.ajmesc.com/index.php/ajmesc/article/view/517/312>
- Taleb, M. H., Abdeltawab, N. F., Shamma, R. N., Abdelgayed, S. S., Mohamed, S. S., Farag, M. A., & Ramadan, M. A. (2018). *Origanum vulgare* L. Essential Oil as a Potential Anti-Acne Topical Nanoemulsion—In Vitro and In Vivo Study. *Molecules*, 23(9), 2164. <https://doi.org/10.3390/molecules23092164>
- Wardani, H. N. (2020). Potensi Ekstrak Daun Sirsak Dalam Mengatasi Kulit Wajah Berjerawat. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(4), 563–570. DOI: <https://doi.org/10.37287/jppp.v2i4.218>
- Yurlina Zai, Agnes Yohana Kristino, Sri Lestari Ramadhani Nasution, & Oliviti Natali. (2019). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan*, 6(1), 59–64. <https://doi.org/10.31289/biolink.v6i1.2244>