



Artikel Penelitian

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Secara *In Vivo*

Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract of Pulai (*Alstonia scholaris*) Stem Bark Against *Escherichia coli* Bacteria *In Vivo*

Annisa Mutiara Kasih^{1,*}, Fajar Prasetya¹, Mahfuzun Bone²

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

²Kelompok Bidang Ilmu Biologi Farmasi

*Email korespondensi: annisamutiskripsi@gmail.com

Abstrak

Pulai (*Alstonia scholaris*) mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai agen antimikroba. Diare merupakan kondisi yang umumnya disebabkan oleh infeksi bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang pulai pada mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi bakteri *Escherichia coli* penyebab diare. Ekstrak diperoleh melalui metode maserasi menggunakan etanol 70%. Selanjutnya dilakukan skrining fitokimia serta uji aktivitas antibakteri secara *in vitro* dengan menghitung penurunan jumlah koloni bakteri pada feses dan secara *in vivo* dengan mengamati kejadian diare. Variasi dosis ekstrak yang digunakan yaitu 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB, dengan ciprofloxacin sebagai kontrol positif serta aquades sebagai kontrol negatif. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan uji *Paired T-Test*, pemberian ekstrak etanol kulit batang pulai pada dosis 250 mg/kgBB menunjukkan aktivitas antibakteri paling efektif dibandingkan dengan dosis lain.

Kata kunci: Antibakteri, Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris*), *Escherichia coli*

Abstract

Pulai (*Alstonia scholaris*) contains bioactive compounds with potential as antimicrobial agents. Diarrhea is a condition generally caused by bacterial infections. This study aimed to determine the antibacterial activity of the ethanol extract of pulai stem bark in male mice (*Mus musculus*) induced with *Escherichia coli* bacteria that cause diarrhea. The extract was obtained through the maceration using 70% ethanol. Phytochemical screening and antibacterial activity tests were subsequently conducted *in vitro* by counting the reduction in bacterial colony numbers in feces and *in vivo* by observing the incidence of diarrhea. The extract was administered at a doses 50 mg/kgBW, 250 mg/kgBW, and 500 mg/kgBW, with ciprofloxacin as the positive control and aquades as the negative control. Based on statistical analysis using the *Paired T-Test*, administration of the ethanol

Diterima: 18 September 2025

Disetujui: 05 Oktober 2025

Publikasi : 29 Oktober 2025

Situs : Annisa M.K, Fajar. P, Mahfuzun. B, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Secara *In Vivo*". Proc. Mpc, Vol. 19, pp. Okt. 2025, doi : 10.30872/mpc.v19i.486

Copyright : © tahun, Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conference (Proceeding MPC). Published by Faculty of Pharmacy, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia. This is an Open Access article under the CC-BY-NC License



extract of pulai stem bark at a dose of 250 mg/kgBW showed the most effective antibacterial activity compared to other doses.

Keywords: Antibacterial, Pulai (*Alstonia scholaris*) Stem Bark, *Escherichia coli*

1. Pendahuluan

Diare merupakan penyakit pada saluran pencernaan yang hingga kini masih menjadi masalah kesehatan masyarakat global, termasuk di Indonesia. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, prevalensi diare di Indonesia tercatat sebesar 8% pada seluruh kelompok umur, 12,3% pada balita, dan 10,6% pada bayi [1]. Diare didefinisikan sebagai kondisi ketika feses berbentuk cair atau tidak terbentuk, dengan frekuensi buang air besar lebih dari 3 kali dalam 24 jam, disertai atau tanpa adanya lendir maupun darah [2]. Faktor utama penyebab diare adalah infeksi yang dapat disebabkan oleh bakteri, virus, atau parasit. Beberapa jenis bakteri penyebab infeksi pada saluran pencernaan antara lain *Aeromonas sp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, dan *Vibrio cholerae* [3].

Terapi yang umum diberikan kepada penderita diare akibat infeksi bakteri adalah antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak sesuai dengan indikasi dapat menimbulkan efek samping serta meningkatkan risiko terjadinya resistensi. Tingginya angka kejadian diare dan meningkatnya kasus resistensi antibiotik mendorong perlunya pengembangan sumber alternatif yang lebih aman dan efektif. Salah satu tumbuhan yang diketahui memiliki sifat antibakteri dan berpotensi dimanfaatkan sebagai obat diare adalah pulai (*A. scholaris*). Ekstrak etanol kulit batang pulai dengan konsentrasi 70%, 80%, 90% dan 100% dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan diameter zona hambat masing-masing sebesar 20 mm, 23 mm, 24 mm, dan 25 mm. Aktivitas tersebut diduga berasal dari kandungan golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid [4]. Berdasarkan penelusuran pustaka tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang pulai terhadap bakteri *E. coli* secara *in vivo*.

2. Metode Penelitian

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2024 hingga Juli 2025 di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian Farmaka Tropis, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi autoklaf, batang pengaduk, botol cokelat, bunsen, cawan petri, cawan porselen, *colony counter*, corong kaca, drigalski, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, *hot plate*, inkubator, kaca arloji, labu evaporator, labu ukur, *Laminar Air Flow* (LAF), mortar dan stemper, ose bulat, pipet tetes, pipet ukur, propipet, rak tabung, *rotary evaporator*, sendok tanduk, sonde oral, spatula, spuit, *stopwatch*, tabung reaksi, dan timbangan analitik.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alumunium foil, akuades, asam asetat (CH_3COOH), asam klorida (HCl), asam nitrat (HNO_3), asam sulfat (H_2SO_4), bakteri *Escherichia coli*, Besi (III) klorida (FeCl_3), Bismuth (III) Nitrat ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$), ciprofloxacin, *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), etanol 70%, iodin (I_2), Kalium Iodida (KI), kapas, kasa, kertas saring, kulit batang pulai (*Alstonia scholaris*), larutan NaCl 0,9%, Magnesium (Mg), *Nutrient Agar* (NA), dan *plastic wrap*.

2.3 Determinasi Tumbuhan

Determinasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman.

2.4 Preparasi sampel

Kulit batang pulai (*A. scholaris*) diperoleh dari Kecamatan Samarinda Ulu, Kota Samarinda. Sampel disortasi basah dan dicuci menggunakan air bersih. Kemudian, sampel dirajang dan dikeringkan dengan metode diangin-anginkan. Setelah kering kulit batang disortasi kering dan dihaluskan menggunakan *grinder*. Simplicia yang dihasilkan ditimbang sebanyak 500 g.

2.5 Ekstraksi Sampel

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 500 g simplicia kulit batang pulai direndam dengan 2,5 L etanol 70% selama 72 jam. Pengadukan dilakukan setiap 24 jam sekali. Maserat yang diperoleh kemudian disaring dan dilakukan remaserasi terhadap residu hasil penyaringan dengan penambahan pelarut sebanyak 1,5 L selama 48 jam. Filtrat hasil maserasi selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

2.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan pereaksi tertentu yang menghasilkan perubahan warna, terbentuknya endapan dan buih. Tujuannya untuk mengidentifikasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Senyawa yang diuji pada ekstrak etanol kulit batang pulai meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin.

2.6.1 Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 4 tabung reaksi masing-masing berisi 3 mL ekstrak etanol kulit batang pulai. Tabung pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff, tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer dan tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Wagner. Sementara itu, 1 tabung lainnya sebagai kontrol. Hasil positif uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff ditandai oleh terbentuknya endapan jingga [5]. Pada uji dengan pereaksi Mayer, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih atau kuning yang menggumpal [6]. Sedangkan pada pengujian menggunakan pereaksi Wagner, hasil positif terlihat dari terbentuknya endapan cokelat pada larutan uji [7].

2.6.2 Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 2 tabung reaksi disiapkan, masing-masing berisi 3 mL ekstrak etanol kulit batang pulai. Pada 1 tabung ditambahkan beberapa serbuk magnesium (Mg) dan 5 tetes asam klorida (HCl) pekat, sedangkan 1 tabung yang lain digunakan sebagai kontrol. Perubahan warna larutan menjadi merah atau kuning atau jingga menunjukkan hasil positif flavonoid [6].

2.6.3 Identifikasi Saponin

Sebanyak 2 tabung reaksi masing-masing berisi 3 mL ekstrak etanol kulit batang pulai. Tabung pertama ditambahkan 5 mL aquades panas, kemudian dikocok kuat hingga terbentuk buih, sedangkan tabung lainnya digunakan sebagai kontrol. Jika buih yang terbentuk tidak hilang dalam waktu 10 menit, maka ditambahkan HCl 2N. Stabilitas buih tersebut menjadi indikator positif keberadaan senyawa saponin dalam sampel [8].

2.6.4 Identifikasi Steroid

Sebanyak 2 tabung reaksi yang masing-masing berisi 3 mL ekstrak etanol kulit batang pulai. Pereaksi Lieberman-Burchard ditambahkan sebanyak 3 tetes ke dalam salah 1 tabung dan tabung lain digunakan sebagai kontrol. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna biru kehijauan pada permukaan larutan [6].

2.6.5 Identifikasi Tanin

Sebanyak 2 tabung reaksi, masing-masing berisi 3 mL ekstrak etanol kulit batang pulai. Ke dalam salah 1 tabung ditambahkan 3 tetes pereaksi $FeCl_3$ 1%, sementara tabung lainnya digunakan sebagai

kontrol. Adanya kandungan tanin akan menunjukkan perubahan warna menjadi cokelat kehijauan biru kehitaman, atau hitam kehijauan [7].

2.7 Pengujian Aktivitas Antibakteri

2.7.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang terbuat dari gelas atau kaca dan media yang digunakan dalam pengujian antibakteri disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Sedangkan alat yang terbuat dari logam seperti ose bulat dipijarkan dengan api bunsen [9].

2.7.2 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak etanol kulit batang pulai sebanyak 0,02 g ditimbang untuk memperoleh dosis 50 mg/kgBB. Pada dosis 250 mg/kgBB digunakan 0,1 g ekstrak, sedangkan untuk dosis 500 mg/kgBB digunakan 0,2 g ekstrak. Masing-masing ekstrak dilarutkan dalam akuades, dimasukkan ke dalam labu ukur hingga volume akhir mencapai 10 mL, kemudian diaduk hingga homogen.

2.7.3 Pembuatan Suspensi Ciprofloxacin

Sebanyak 10 tablet ciprofloxacin 500 mg ditimbang, untuk menentukan berat rata-rata. Tablet kemudian digerus hingga halus dan dilarutkan sedikit demi sedikit dengan akuades. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur hingga diperoleh konsentrasi 42 mg/10 mL.

2.7.4 Pembuatan Media Agar

Serbuk *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 7 g dan 9 g serbuk *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) masing-masing ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 250 mL akuades di dalam erlenmeyer. Campuran dipanaskan di atas *hot plate* sambil diaduk hingga larut sempurna. Setelah itu, larutan media ditutup menggunakan kapas dan kasa. Media kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit [10].

2.7.5 Peremajaan Bakteri

Sebanyak 5 mL media NA dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dibiarkan memadat dalam posisi miring. Biakan murni bakteri *E. coli* diambil 1 ose, lalu digoreskan pada permukaan agar miring menggunakan metode zig-zag. Biakan hasil peremajaan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

2.7.6 Pembuatan Suspensi Bakteri

Biakan bakteri *E. coli* diambil 1 ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 mL larutan NaCl fisiologis 0,9%. Tabung reaksi kemudian dikocok hingga homogen dan disesuaikan dengan standar kekeruhan Mc Farland 3 atau setara dengan 9×10^8 CFU/mL.

2.7.7 Uji Aktivitas Antibakteri Secara *In Vitro*

Mencit dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kontrol positif (ciprofloxacin), kontrol negatif (akuades) serta 3 kelompok perlakuan dengan ekstrak etanol kulit batang pulai pada dosis 50 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Sebelum pengujian, mencit diaklimatisasi selama 7 hari dan dipuaskan selama 60 menit. Berat badan mencit ditimbang, kemudian dilakukan induksi secara oral menggunakan suspensi bakteri dengan kekeruhan 9×10^8 CFU/mL. Setelah 7 hari, feses mencit diare dikumpulkan sebanyak 1-3 sampel. Setiap kelompok perlakuan diberikan bahan uji secara oral. Pengumpulan feses kembali dilakukan 5 jam setelah perlakuan dengan jumlah yang sama.

Sampel feses dilarutkan dalam 10 mL larutan NaCl fisiologis 0,9% dan dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-2} . Sebanyak 10 mL media EMBA dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat. Selanjutnya, 0,1 mL hasil pengenceran sampel feses diteteskan dan disebar menggunakan metode *spread-plate*. Cawan petri berisi sampel kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan bakteri diamati dan dihitung jumlah koloni menggunakan *colony counter*.

2.7.8 Uji Aktivitas Antibakteri Secara *In Vivo*

Mencit yang telah diinduksi dengan suspensi bakteri dan mengalami diare (ditandai dengan keluarnya feses cair) diberikan perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing. Parameter yang diamati meliputi frekuensi diare, konsistensi feses, dan durasi diare. Frekuensi diare ditentukan dengan

menghitung jumlah terjadinya diare setiap 30 menit selama 5 jam. Penilaian konsistensi feses dilakukan secara visual dengan pemberian skor: 1 untuk feses padat, 2 untuk feses lembek, dan 3 feses cair. Pengamatan dilakukan setiap 30 menit selama 5 jam. Durasi diare diukur berdasarkan selang waktu antara keluarnya feses cair pertama hingga feses cair terakhir.

2.8 Analisis Data

Analisis data aktivitas antibakteri dilakukan dengan menghitung penurunan jumlah koloni bakteri sebelum dan sesudah perlakuan menggunakan *colony counter* pada masing-masing kelompok. Kemudian, dilakukan analisis statistik dengan uji *Paired T-Test* menggunakan aplikasi IBM SPSS (*Statistical Program for Social Science*).

3 Hasil dan Pembahasan

3.1 Rendemen Ekstrak

Jumlah rendemen ekstrak etanol kulit batang pulai dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak (gram)}}{\text{Berat simplisia (gram)}} \times 100\% \quad (1)$$

Sebanyak 500 gram serbuk simplisia kulit batang pulai yang dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan rasio 1:5 menghasilkan ekstrak kental sebanyak 27,64 gram, sehingga diperoleh rendemen sebesar 5,5%. Nilai rendemen ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian sebelumnya yang memperoleh rendemen sebesar 4,19% dari maserasi kulit batang pulai menggunakan pelarut etanol 96% dengan rasio 1:10 [11]. Perbedaan lebih signifikan terlihat pada hasil penelitian yang menggunakan etanol 95% dengan rasio 1:7 dan menghasilkan rendemen sebesar 11,47% [12]. Sementara itu, penelitian menunjukkan bahwa maserasi bertingkat terhadap kulit batang pulai menghasilkan rendemen ekstrak metanol sebesar 20,5%, ekstrak etanol sebesar 6,4%, ekstrak air sebesar 0,53%, dan ekstrak kloroform sebesar 0,2% [13]. Ukuran simplisia, jenis dan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan, durasi proses ekstraksi, serta suhu selama ekstraksi berlangsung merupakan faktor yang dapat mempengaruhi perbedaan hasil rendemen ekstrak [14].

3.2 Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia pada Tabel 1. menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang pulai mengandung senyawa metabolit sekunder dari golongan alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit batang pulai mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin serta terpenoid [4]. Perbedaan hasil skrining fitokimia tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain lokasi tumbuh tanaman, kondisi lingkungan, bagian tumbuhan yang digunakan serta pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi [15].

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Pulai

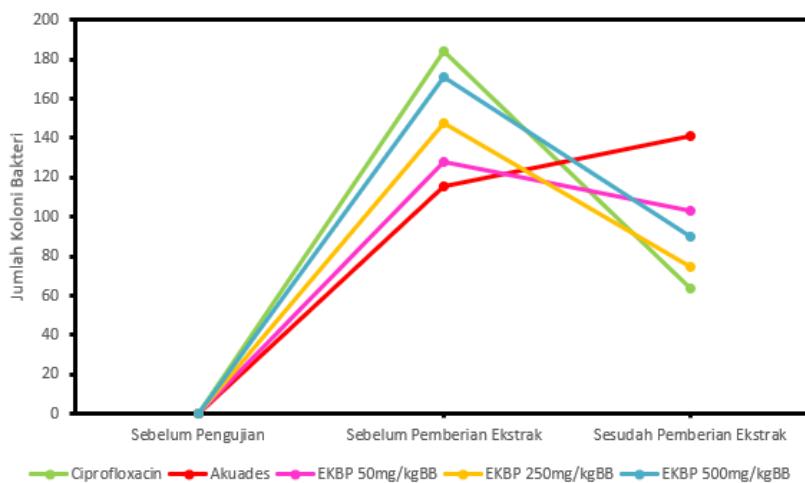
Golongan Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi Uji Skrining Fitokimia	Ekstrak Etanol Kulit Batang Pulai	Hasil
Alkaloid	Dragendorff		Endapan jingga
	Mayer	+	Endapan menggumpal putih
	Wagner		Endapan cokelat kemerahan

Flavonoid	Serbuk Mg + HCl	+	Larutan berwarna kuning
Saponin	Akuades panas + HCl 2N	+	Buih yang stabil
Steroid	Lieberman- Burchard	-	Larutan berwarna kuning dan tidak terbentuk cincin
Tanin	FeCl ₃ 1%	+	Larutan berwarna cokelat kehijauan

Keterangan: (+) Golongan senyawa terdeteksi (-) Golongan senyawa tidak terdeteksi

3.3 Uji Aktivitas Antibakteri Secara *In Vitro*

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri pada Gambar 1. ekstrak etanol kulit batang pulai memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* yang ditunjukkan melalui penurunan jumlah koloni bakteri setelah perlakuan. Penurunan jumlah koloni bakteri tercatat sebesar 0,08 CFU/mL pada dosis 50 mg/kgBB, sebesar 0,29 CFU/mL pada dosis 250 mg/kgBB dan sebesar 0,25 CFU/mL pada dosis 500 mg/kgBB. Sebaliknya, pada kelompok kontrol negatif yang berikn akuades, tidak ditemukan aktivitas antibakteri yang ditandai dengan meningkatnya jumlah koloni bakteri setelah perlakuan sebesar 0,08 CFU/mL. Sementara itu, kelompok kontrol positif yang diberikan ciprofloxacin menunjukkan penurunan jumlah koloni paling tinggi, yaitu sebesar 0,42 CFU/mL.



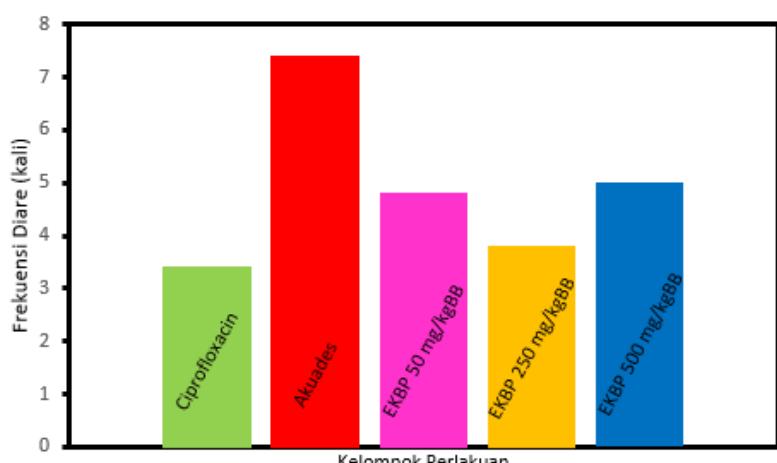
Gambar 1. Grafik Rata-Rata Penurunan Jumlah Koloni Bakteri

Ciprofloxacin digunakan sebagai kontrol positif didasarkan pada sifatnya sebagai antibiotik golongan fluorokuinolon yang bekerja dengan cara menghambat sintesis DNA bakteri. Mekanisme ini efektif dalam mencegah pertumbuhan dan resistensi mikroba. Selain itu, ciprofloxacin merupakan antimikroba berspektrum luas yang efektif terhadap berbagai jenis bakteri, termasuk *E. coli* [16]. Aktivitas antibakteri yang dihasilkan oleh ekstrak etanol kulit batang pulai diduga berkaitan dengan keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Salah satu metabolit sekunder yang teridentifikasi dalam ekstrak ini adalah alkaloid. Senyawa alkaloid diketahui memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri melalui penghambatan sintesis protein serta enzim DNA topoisomerase, yang berperan penting dalam proses replikasi DNA bakteri. Selain alkaloid, ekstrak kulit batang pulai juga mengandung flavonoid. Flavonoid diketahui mampu menyebabkan kebocoran membran sitoplasma serta merusak struktur lipid dan DNA pada membran sel bakteri. Saponin sebagai metabolit sekunder lainnya, berperan dalam aktivitas antibakteri dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri, sehingga menyebabkan lisis dan kematian sel [17]. Selain itu, tanin juga ditemukan dalam ekstrak ini

diduga berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri dengan cara menginhibisi enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase. Inhibisi terhadap enzim tersebut mengganggu proses pembentukan dinding sel bakteri, yang menyebabkan kematian sel [18].

3.4 Uji Aktivitas Antibakteri Secara *In Vivo*

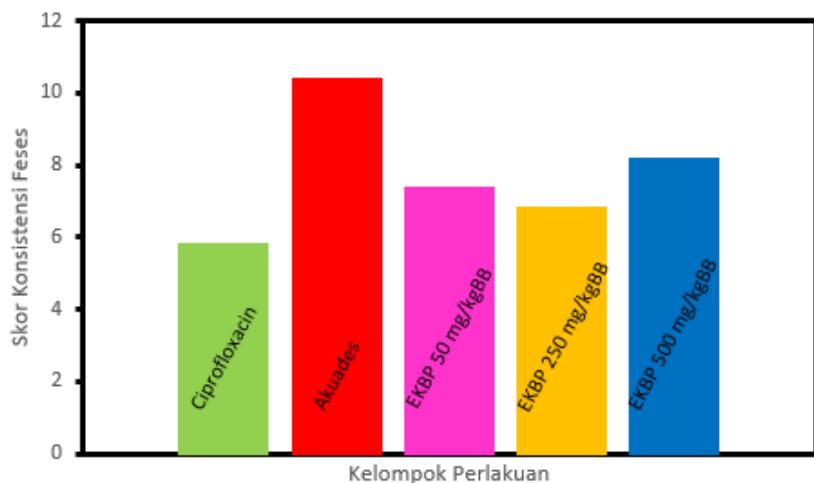
Selain parameter jumlah koloni bakteri, indikator pendukung yang dapat digunakan untuk menilai aktivitas bakteri adalah frekuensi diare, konsistensi feses dan durasi diare. Pengamatan frekuensi diare dilakukan setiap 30 menit selama 5 jam. Berdasarkan hasil penelitian parameter frekuensi diare pada Gambar 3. menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif memiliki rata-rata frekuensi diare sebanyak 3,4 kali, sedangkan kelompok kontrol negatif menunjukkan frekuensi diare tertinggi, yaitu sebesar 7,4 kali. Pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol kulit batang pulai, frekuensi diare yang diamati adalah 4,8 kali pada dosis 50 mg/kgBB, dan menurun 3,8 kali pada dosis 250 mg/kgBB dan 5 kali pada 500 mg/kgBB. Hasil ini menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif tidak memiliki efek dalam menghambat diare, karena tidak mengandung senyawa aktif yang bersifat antibakteri maupun antidiare. Sebaliknya, penurunan frekuensi diare pada kelompok perlakuan mengindikasikan adanya aktivitas biologis dari ekstrak etanol kulit batang pulai, baik dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* maupun meredakan gejala diare pada mencit.



Gambar 3. Diagram Rata-Rata Frekuensi Diare Pada Mencit

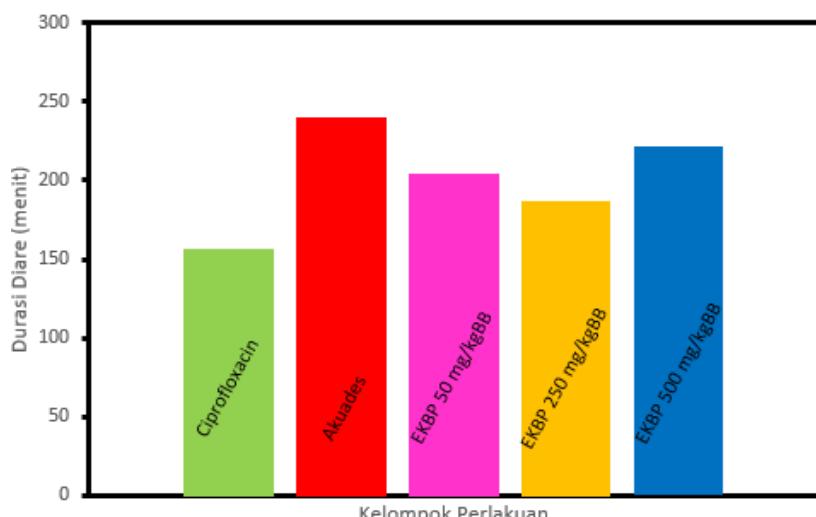
Pengamatan terhadap konsistensi feses dilakukan menggunakan sistem penilaian, di mana nilai skor yang lebih tinggi menunjukkan feses yang lebih cair, sedangkan skor yang lebih rendah menunjukkan feses yang lebih padat dan mendekati kondisi normal. Berdasarkan data hasil penelitian pada Gambar 4. kelompok kontrol negatif (akuades) menunjukkan rata-rata skor konsistensi feses tertinggi yaitu 10,6 yang menandakan bahwa mencit pada kelompok ini mengalami diare paling berat tanpa adanya efek penghambatan terhadap konsistensi feses. Sebaliknya, pada kelompok kontrol positif (ciprofloxacin) menunjukkan rata-rata skor terendah yaitu 5,5 yang menandakan bahwa obat tersebut efektif dalam menurunkan tingkat kecairan feses akibat induksi bakteri *E. coli*. Kelompok perlakuan dengan ekstrak etanol kulit batang pulai menunjukkan penurunan rata-rata skor konsistensi feses dibandingkan kontrol negatif, yang mengindikasikan adanya aktivitas antidiare. Pada dosis 50 mg/kgBB diperoleh skor 7,4 sedangkan dosis 250 mg/kgBB menunjukkan skor terendah di antara kelompok ekstrak, yaitu 6,8 mendekati efektivitas ciprofloxacin. Namun, peningkatan dosis menjadi 500 mg/kgBB justru menghasilkan skor 7,7 yang sedikit lebih tinggi dibandingkan dosis 250 mg/kgBB. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang pulai memiliki potensi sebagai agen antidiare. Salah satu kelompok senyawa yang diduga berkontribusi terhadap aktivitas tersebut adalah flavonoid. Mekanisme kerja flavonoid dalam mengatasi diare melalui penghambatan pelepasan asetilkolin, yang

dapat menurunkan kontraksi otot polos usus dan memperlambat peristaltik [19]. Dengan demikian, waktu penyerapan air dan elektrolit di usus menjadi lebih lama, sehingga konsistensi feses menjadi lebih padat.



Gambar 4. Diagram Rata-Rata Skor Konsistensi Feses Pada Mencit

Hasil pengamatan durasi diare pada Gambar 5. ekstrak etanol kulit batang pulai menunjukkan aktivitas dalam memperpendek durasi diare jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, yang mengalami diare rata-rata selama 4 jam. Pada kelompok perlakuan, rata-rata durasi diare tercatat selama 3 jam 24 menit pada dosis 50 mg/kgBB, 3 jam 6 menit pada dosis 250 mg/kgBB, 3 jam 42 menit pada dosis 500 mg/kgBB. Sebagai pembanding, kelompok kontrol positif yang diberikan ciprofloxacin menunjukkan durasi diare paling singkat, yaitu 2 jam 36 menit. Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol kulit batang pulai memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, yang ditunjukkan melalui kemampuan memperpendek durasi diare, Meskipun efektivitasnya masih berada di bawah kontrol positif (ciprofloxacin), penurunan durasi diare sesuai dengan peningkatan dosis, terutama pada dosis 250 mg/kgBB. Efek tersebut diduga berkaitan dengan kandungan senyawa aktif dalam ekstrak, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan dapat membantu memperbaiki fungsi saluran pencernaan melalui mekanisme antimikroba serta antidiare. Menurut hasil penelitian sebelumnya, salah satu senyawa yang berperan dalam efek antidiare adalah tanin yang memiliki sifat astringen [20]. Tanin bekerja dalam mengatasi diare dengan menyusutkan mukosa usus, sehingga dapat mengurangi sekresi cairan dan memperlambat pergerakan peristaltik usus.



Gambar 5. Diagram Rata-Rata Durasi Diare Pada Mencit

3.5 Dosis Terbaik

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan adanya variasi penurunan jumlah koloni bakteri pada tiap kelompok perlakuan, sehingga dilakukan analisis statistik untuk menentukan dosis ekstrak etanol kulit batang pulai yang memberikan efek paling optimal. Uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene* menunjukkan bahwa seluruh data terdistribusi normal dan homogen ($p>0,05$). Selanjutnya, data yang memenuhi kriteria tersebut dianalisis menggunakan uji *Paired T-Test* untuk membandingkan efektivitas setiap dosis terhadap kontrol positif. Berdasarkan hasil analisis, dosis 250 mg/kgBB menunjukkan nilai signifikansi paling rendah ($p=0,001$) dibandingkan dosis 50 mg/kgBB ($p=0,018$) dan dosis 500 mg/kgBB ($p=0,006$). Hal ini menunjukkan bahwa dosis 250 mg/kgBB merupakan dosis paling efektif dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *E. coli*.

4. Kesimpulan

Pemberian ekstrak etanol kulit batang pulai (*A. scholaris*) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, yang ditunjukkan melalui penurunan jumlah koloni bakteri, berkurangnya frekuensi diare, peningkatan konsistensi feses menjadi lebih padat, serta durasi diare yang lebih singkat. Hasil penelitian menunjukkan dosis 250 mg/kgBB merupakan dosis terbaik dalam menekan pertumbuhan *E. coli* serta memperbaiki kondisi diare.

5. Pernyataan

5.1. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Laboratorium dan seluruh staf Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian “Farmaka Tropis” Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman atas izin dan bantuan yang telah diberikan dalam pelaksanaan penelitian.

5.2. Kontribusi Penulis

Annisa Mutiara Kasih berkontribusi dalam merancang metode, melaksanakan penelitian, menganalisis data hasil penelitian, dan menyiapkan draft manuskrip. Fajar Prasetya dan Mahfuzun Bone berkontribusi dalam pengarah, pembimbing, serta penyelaras akhir manuskrip.

5.3. Etik

No.176/KEPK-FFUNMUL/EC/EXE/10/2024, Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman.

5.4. Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

6. Daftar Pustaka

- [1] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018, Jakarta: 2019
- [2] Amin, Tatalaksana Diare Akut, *Continuing Medical Education*, **42**, (07), 2015
- [3] Anggraini, Kumala, Diare Pada Anak, *Scientific Journal*, **01**, (04), 2022
- [4] Tunny, Pattipeilohy, Rahayaan, Skrining Fitokimia dan Uji Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pohon Pulai (*Alstonia scholaris*) Asal Desa Tulehu Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, **02**, (01), 2022
- [5] Rahmadhani, Maya, Dewi, Suryandari, Skrining Fitokimia Disinfektan Alami dari Ekstrak Etanol Daun Pulai (*Alstonia scholaris*), *Distilat Jurnal Teknologi Separasi*, **08**, (01), 2022
- [6] Arifuddin, Bone, Skrining Fitokimia dan Profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Tumbuhan Antimalaria Asal Indonesia, *Jurnal Sains Kesehatan*, **02**, (03), 2020
- [7] Aristyawan, Yuliani, Surahmaida, Suryandari, Anggraini, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Jamur Kuping Hitam (*Auricularia nigricans*) dengan Metode Soxletasi, *Jurnal Farmasi Sains dan Obat Tradisional*, **03**, (02), 2024
- [8] Zuraida, Aktivitas Antioksidan dan Komponen Fitokimia Fraksi N-Heksana Kulit Kayu Pulai (*Alstonia scholaris*) R. Br sebagai Sumber Hasil Hutan Bukan Kayu Alternatif, *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, **15**, (01), 2018.
- [9] Irma, Wahdaniar, Miladiarsi, Efektivitas Antimikroba Bakteri Probiotik dari Usus Itik Pedaging *Anas domesticus* Terhadap Pertumbuhan *Vibrio spp.*, *Jurnal Ilmiah Indonesia*, **07**, (08), 2022
- [10] Rosmania, Yanti, Perhitungan Jumlah Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Menggunakan Pengembangan Metode Spektrofotometri, *Jurnal Penelitian Sains*, **22**, (02), 2020
- [11] Zuraida, Sulistiyani, Sajuthi, Suparto, Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris*) (L.) R. Br, *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, **35**, (03), 2017
- [12] Ismiyah, Fauziyah, Muti'ag, Fasya, Identifikasi Golongan Senyawa dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 95% Daun Kulit Batang dan Akar Pulai (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.) Terhadap Mencit BALB/C, *ALCHEMY*, **03**, (01), 2014
- [13] Thara, Zuhra, Biochemical, HPLC, LC-MS Analysis and Biological Activites of Methanol Extract of *Alstonia scholaris*, *International Journal of Phytotherapy*, **03**, (02), 2013
- [14] Sobari, Ramadhan, Destiana, Menentukan Nilai Rendemen Pada Proses Ekstraksi Daun Murbei (*Morus alba* L.) dengan Pelarut Berbeda. *Jurnal Ilmiah Ilmu dan Teknologi Rekayasa*, **04**, (02) 2022
- [15] Candrasari, Thamrin, Arryati, Uji Fitokimia Pada Bagian Kulit Batang Pohon Pulai (*Alstonia scholaris*), *Jurnal Sylva Scientiae*, **01**, (02), 2018

- [16] Lombogia, Budiarsa, Bodhi, Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieriae trifasciata folium*) Terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus* sp, *Jurnal e-Biomedik*, **04**, (01), 2016
- [17] Astriani, Chusniasih, Marcellia, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jeruk Putur (*Citrus hystrix*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*, **08**, (03), 2021
- [18] Rahmadhani, Nadifah, Putri, Sulastri, Uji Aktivitas Antibakteri Berbagai Ekstrak Tanaman Herbal Terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Journal of Research in Pharmacy*, **04**, (01), 2024
- [19] Kahar, Abdulkadir, Hiola, Uji Aktivitas Antidiare Kombinasi Ekstrak Methanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) dan Daun Sirih (*Piper betle*) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*), *Jurnal Kesehatan Pharmasi*, **07**, (01), 2025
- [20] Lina, Rahmawaty, Uji Efektivitas Analgesik Kombinasi Ekstrak Etanol Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus* L.) dan Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Pada Mencit Jantan Dengan Metode Geliat, *Cendekia Journal of Pharmacy*, **06**, (01), 2022