

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN PULAI (ALSTONIA SCHOLARIS) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI ESCHERICHIA COLI SECARA DILUSI

Hardianti¹, Sri Winarni Sofya², I Nyoman Bagus Aji Kresnapati³

hardiantihardianti78@gmail.com¹

Universitas Bumigora

ABSTRACT

Pulai leaves (Alstonia scholaris) are known to contain secondary metabolites such as flavonoids, tannins, saponins, alkaloids, and triterpenoids, which have antibacterial potential and can be used to treat infections caused by the pathogenic bacteria Escherichia coli. This study aimed to determine the antibacterial activity of pulai leaf ethanol extract in inhibiting and killing the growth of Escherichia coli. The method used was an experimental study with a qualitative descriptive approach. The results of phytochemical tests showed that pulai leaf ethanol extract contains flavonoids, tannins, and saponins. Antibacterial activity tests were conducted using the dilution method to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC), with extract concentrations varying from 15%, 30%, 45%, and 60%. The results showed that the extract was able to inhibit and kill the growth of Escherichia coli, with the minimum effective concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) both found at 60%. Based on these results, it can be concluded that the ethanol extract of pulai leaves has potential as a natural antibacterial agent against Escherichia coli and has the potential to be developed as a natural-based antibacterial alternative.

Keywords: Antibacterial, Pulai Leaves, Escherichia Coli, Maceration, Dilution Method.

ABSTRAK

Daun pulai (*Alstonia scholaris*) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, triterpenoid yang berpotensi sebagai antibakteri yang dapat digunakan dalam mengobati infeksi akibat bakteri patogen *Escherichia coli*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pulai yang efektif dalam menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dan dianalisis menggunakan deskriptif kualitatif. Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol daun pulai positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, tanin, dan saponin. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pulai dengan pendekatan uji aktivitas antibakteri secara dilusi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Konsentrasi ekstrak yang diuji adalah 15%, 30%, 45%, dan 60%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pulai mampu menghambat dan membunuh pertumbuhan *Escherichia coli*. Konsentrasi efektif minimum untuk menghambat pertumbuhan (KHM) adalah pada konsentrasi 60%, sedangkan konsentrasi efektif untuk membunuh bakteri (KBM) ditemukan pada konsentrasi 60%. Dari hasil ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pulai memiliki potensi sebagai agen antibakteri alami terhadap *Escherichia coli* dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai alternatif antibakteri berbasis bahan alam.

Kata Kunci: Antibakteri, Daun Pulai, *Escherichia Coli*, Maserasi, Metode Dilusi.

PENDAHULUAN

Penyakit akibat infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan yang menjadi perhatian serius di berbagai belahan dunia, termasuk di Indonesia. Infeksi merupakan kondisi yang disebabkan oleh masuknya organisme patogen ke dalam tubuh manusia, seperti bakteri, virus, jamur, atau parasit, yang kemudian mengganggu fungsi normal organ

atau sistem tubuh (Puluhulawa et al., 2024). Salah satu penyebab penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* memiliki dampak negatif yaitu dapat menyebabkan berbagai macam penyakit infeksi, namun juga memiliki dampak positif yang merupakan flora normal bagi usus manusia. Berbagai penyakit infeksi yang dapat disebabkan oleh *Escherichia coli*, diantaranya infeksi saluran kemih (Fariani et al., 2022). Data dari survei yang diadakan oleh Kementerian Kesehatan RI mengungkapkan bahwa jumlah penderita ISK di Indonesia mencapai 90 – 100 kasus per 100.000 penduduk setiap tahunnya, atau sekitar 180.000 kasus baru per tahun. Mikroorganisme yang paling umum menyebabkan ISK adalah bakteri aerob. Pada saluran kemih yang sehat, tidak terdapat mikroba yang hidup dalam kondisi aerob dan spesies mikroba lainnya sehingga urin di ginjal dan kandung kemih biasanya steril. Enterobacteriaceae (Di antaranya adalah *Escherichia coli* dan *Enterococcus faecalis*), yang merupakan penyebab utama ISK, dengan persentase lebih dari 95% (Saldanha et al., 2024).

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang bersifat patogen. Perbedaan antara bakteri gram positif dan negatif terletak pada dinding selnya. Beberapa strain bakteri *Escherichia coli* merupakan penyebab diare akut terutamanya pada balita. Beberapa strain ini disebut low birth weight infants. Bakteri ini terdapat di tinja, perairan yang kotor, atau jamban (WC). Jika diare disebabkan oleh bakteri, pada saat diperiksa, di dalam usus halus terdapat banyak bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini mengeluarkan sejenis racun yang merusak selaput lendir usus halus (Kulla et al., 2022).

Pertumbuhan bakteri penyebab infeksi dan penyakit perlu dihambat dengan antibakteri (Magani et al., 2020). Pengobatan untuk mengatasi penyakit Infeksi adalah antibiotik. Antibiotik bisa menghambat suatu proses biokimia dalam organisme, khususnya dalam infeksi yang diakibatkan oleh bakteri maupun organisme lain. Penggunaan antibiotik secara efisien serta maksimal memerlukan pengertian dan pemahaman mengenai bagaimana memilih dan memakai antibiotik yang benar. Pemilihan antibiotik berdasarkan indikasi yang tepat, seperti menentukan dosis, metode pemberian, lama pemberian, ataupun evaluasi penggunaan efek antibiotik. Cara pemakain dalam pengobatan yang menyimpang dari prinsip pemakaian antibiotik secara rasional akan membawa dampak negatif dalam bentuk meningkatnya resistensi, efek samping dan pemborosan (Rita Suprehaten et al., 2024).

Antibiotik yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi bakteri yang disebabkan *Escherichia coli* pada manusia dapat diatasi dengan penggunaan antibiotik seperti Cotrimoxazole, Fluoroquinolone, golongan β -laktam seperti Penicillin dan Cephalosporin. Saat ini resistensi antibiotik menjadi masalah terdepan dalam pengobatan modern, perubahan pola resistensi bakteri penyebab ISK terjadi lebih cepat dibandingkan infeksi lainnya. Salah satu tantangan utama di negara berkembang seperti Indonesia adalah pengobatan sendiri dengan antibiotik (53,5%). Resistensi antibiotik merupakan masalah multi-kerusakan yang dapat ditangani oleh masyarakat jika digunakan secara bertanggung jawab. Penyebab utama Resistensi antibiotik adalah penggunaan antibiotik yang tidak wajar (Syahniar et al., 2024).

Mekanisme resistensi antibiotik didefinisikan sebagai kemampuan mikroorganisme untuk menghambat aksi dari agen antimikroba dan fenomena ini terjadi ketika antibiotik kehilangan efisiensinya untuk menghambat pertumbuhan bakteri (Putri et al., 2023).

Prevalensi resistensi terhadap antibiotik yang biasa digunakan untuk perawatan primer pada anak-anak dan orang dewasa dengan infeksi saluran kemih oleh *Escherichia coli* lebih tinggi di negara-negara di luar OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development): 79,8% untuk ampicilin, 60,3% untuk co-amoxiclav, 26,8% untuk ciprofloxacin, dan 17,0% untuk nitrofurantoin, dan 43,4% untuk streptomisin, serta 44%

untuk tetrasiklin 44%, (Putri et al., 2023). Akan tetapi, penggunaan antibakteri yang berlebihan dan tidak tepat dapat menyebabkan resistensi terhadap antibiotik tersebut. Kondisi ini mendorong pencarian alternatif lain yang lebih aman untuk mengontrol infeksi oleh bakteri. Sumber obat dari bahan alami lebih aman dari penggunaan obat sintesis, hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dibandingkan obat sintesis (Geofani et al., 2022).

Tanaman herbal adalah tumbuhan yang telah diidentifikasi dan diketahui berdasarkan pengamatan manusia memiliki senyawa yang bermanfaat untuk mencegah, menyembuhkan penyakit, melakukan fungsi biologis tertentu. Tanaman obat tradisional umumnya tidak membuat kita khawatir tentang efek samping karena bersifat alami sehingga efek samping yang timbul lebih rendah bahkan tidak ada jika dibandingkan dengan obat kimia, itulah alasannya mengapa banyak masyarakat lebih memilih menggunakan obat tradisional. Seperti yang kita ketahui obat itu sendiri digolongkan menjadi dua jenis yang pertama obat kimia yang berikutnya obat herbal tradisional. Obat kimia adalah obat dari hasil bahan kimia, bahannya didapat dari sintetis dalam skala besar dan dapat digunakan masyarakat setelah adanya penelitian dari ahli terdahulu. Sedangkan obat herbal adalah obat dari hasil ekstrak tanaman yang di dasari apa yang di alami masyarakat tentang penggunaan tanaman tersebut telah berhasil mengurangi atau menyembuhkan penyakit ataupun sudah dilakukan penelitian oleh ahli tentang apa zat yang terkandung di dalamnya serta khasiat dari zat-zat tersebut (Kumontoy et al., 2023).

Semakin terkenal istilah *back to nature*, semakin mendorong pemanfaatan herbal yang berefek terhadap kesehatan serta semakin sering dilakukannya kajian atau studi terkait herbal oleh para ilmuwan. Meningkatnya kesadaran masyarakat akan kesehatan, berpengaruh pula pada penggunaan obat herbal yang berasal dari tumbuhan dengan cara tradisional dan alami yang sudah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia dari sejak nenek moyang kita. Hal ini dilakukan masyarakat karena khasiatnya sudah terbukti dapat menyembuhkan penyakit, lebih murah dan efek sampingnya lebih kecil bahkan hampir tidak ada dibandingkan dengan obat-obat konvensional atau yang biasa kita kenal dengan obat dokter (Kumontoy et al., 2023).

Sistem pengobatan dalam bidang kesehatan telah berkembang pesat dan telah menyentuh hampir semua lapisan masyarakat seiring dengan majunya ilmu pengetahuan, teknologi, kedokteran, farmasi, dan sebagainya. Maraknya penggunaan pengobatan medis modern baik yang dikelola oleh lembaga pemerintah maupun swasta selalu diiringi dengan perkembangan penggunaan pengobatan tradisional yang masih tetap hidup dan menjadi model pengobatan alternatif dalam masyarakat. Pengobatan tradisional atau yang lebih dikenal dengan pengobatan alternatif merupakan cara pengobatan yang menggunakan obat-obatan tradisional (Rahmasiah et al., 2024).

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan, dan dapat diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat. Obat tradisional secara turun-temurun telah digunakan untuk kesehatan berdasarkan pengalaman, obat tradisional telah digunakan oleh beberapa aspek masyarakat mulai dari tingkat ekonomi atas sampai tingkat bawah, karena obat tradisional mudah didapat, harganya cukup terjangkau dan berkhasiat untuk pengobatan, perawatan dan pencegahan penyakit (Kasaluhe et al., 2022).

Obat tradisional sangat besar peranannya dalam pelayanan kesehatan masyarakat di Indonesia, sehingga obat tradisional sangat berpotensi untuk dikembangkan. Indonesia kaya akan tanaman obat-obatan, yang mana masih belum dimanfaatkan secara optimal untuk

kesehatan. Pemakaian herbal sebagai obat-obatan tradisional telah diterima luas di negara-negara maju maupun berkembang sejak dahulu kala, bahkan dalam 20 tahun terakhir perhatian dunia terhadap obat-obatan tradisional meningkat, baik di negara yang sedang berkembang maupun negara-negara maju. World Health Organization (WHO) atau Badan Kesehatan Dunia menyebutkan bahwa hingga 65% dari penduduk negara maju menggunakan pengobatan tradisional dan obat-obatan dari bahan alami (Rahmasiah et al., 2024).

Tumbuhan pulai (*Alstonia scholaris*) merupakan salah satu tumbuhan yang sering digunakan untuk pengobatan tradisional. Daun pulai (*Alstonia scholaris*) Merupakan salah satu bagian tumbuhan yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk pengobatan demam, gatal-gatal, malaria dan diare. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman ini adalah flavonoid, tannin, dan steroid (Suryadi et al., 2024).

Aktivitas antimikroba pada daun pulai (*Alstonia scholaris*) berhubungan dengan kandungan alkaloidnya. Lebih dari 70 jenis alkaloid ditemukan pada akar, kulit batang, daun, buah dan bunga. Ditemukan alkaloid paling banyak pada bagian daunnya. Secara etnofarmakologi, salah satu tanaman yang ada di Papua yaitu pohon pulai (*Alstonia scholaris*), yang dapat digunakan sebagai obat malaria (Rahmadhani et al., 2022).

Berdasarkan penelitian terdahulu terhadap tumbuhan pulai (*Alstonia scholaris*) yaitu oleh Sulfiana, et al (2020) melaporkan hasil penelitiannya yakni, skrining fitokimia menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin dan saponin. Kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri secara in vitro terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Hasil skrining fitokimia menunjukkan hasil positif pada senyawa saponin, tanin dan terpenoida. Serta melakukan uji anti bakteri zona hambat 20,17mm terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli* (Rahmadhani et al., 2022).

Penelitian ini dilakukan dengan metode dilusi, metode ini dibagi menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Metode dilusi cair digunakan untuk menentukan KHM (konsentrasi hambat minimum) sementara metode dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM (konsentrasi bunuh minimum). Metode dilusi ini digunakan untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri yang di uji. Dalam hal ini, bakteri uji yang digunakan adalah *Escherichia coli* (Fitriana N.A.Y, et al., 2019).

Daun pulai (*Alstonia scholaris*) telah lama dikenal sebagai salah satu tanaman herbal yang memiliki beragam potensi farmakologi. Penelitian terdahulu mengungkapkan bahwa daun ini mengandung senyawa bioaktif, seperti alkaloid, flavonoid, dan tanin, yang memberikan berbagai manfaat kesehatan. Untuk memberikan gambaran yang komprehensif mengenai khasiat dan penggunaan daun pulai (*Alstonia scholaris*). Penelitian terdahulu terkait daun pulai disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Penelitian Terdahulu Terkait Daun Pulai

No	Penelitian	Judul Artikel	Metode	Hasil
1	Ajaratudur et al., (2024).	Uji Efikasi Granulasi Ekstrak Ethanol Daun Pule Dan Bunga Pule (<i>Alstonia Scholaris</i>) Terhadap Larva <i>Aedes Aegypti</i> Sebagai Vektor	Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimen yaitu melakukan pengujian laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui kandungan ekstrak	Perlakuan dengan konsentrasi 50% adalah konsentrasi yang paling efektif dalam menurunkan jumlah larva aedes aegypti dibandingkan dengan konsentrasi 12,5%, 25%. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak bunga pulai yang digunakan, maka semakin banyak pula

No	Penelitian	Judul Artikel	Metode	Hasil
		Demam Berdarah Dengue (DBD)	tanaman bunga pulai dan daun pulai untuk penyakit DBD.	kandungan <i>tanin</i> , <i>saponin</i> dan <i>flavonoid</i> yang terdapat dalam ekstrak tersebut yang akan berpengaruh pada hasil perlakuan. Bagi peneliti selanjutnya dapat dikembangkan kembali dengan berbagai kebaruan mulai dari jenis pelarut yang nantinya akan digunakan, jangka waktu pengamatan, proses penjemuran sert proses penyimpannya.
2	Rumaloolas <i>et al.</i> , (2024).	Antibacterial Activity of Endophytic Fungi Isolated from Pulai Leaves (<i>Alstonia scholaris</i>)	Metode penelitian yang digunakan dalam studi tersebut adalah: 1. Metode Slide Culture untuk mengamati karakteristik mikroskopis jamur endofit. 2. Metode Kirby Bauer yang dimodifikasi untuk menguji aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> . 3. Metode tanam langsung untuk isolasi jamur endofit dari daun pulai. 4. Analisis data dilakukan secara deskriptif, menyajikan data kualitatif berupa karakter morfologi jamur dan data kuantitatif berupa diameter zona hambat.	Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan disimpulkan bahwa terdapat 8 isolat jamur endofit dari daun pulai (<i>Alstonia scholaris</i>), 5 diantaranya telah dibedakan dan dikelompokkan menjadi 4 genera, yaitu <i>Neurospora</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Fusarium</i> dan <i>Acremonium</i> . Hasil pengujian terhadap 8 kelompok organisme endofit menunjukkan semua kelompok mampu menghambat perkembangan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> dengan diameter zona hambat tertinggi pada isolat K8 (3 cm) untuk <i>S aureus</i> dan isolat K7 (1,8 cm) untuk <i>E. coli</i> .
3	Suryadi <i>et al.</i> , (2024).	Standarisasi dan Analisis Kandungan Flavonoid Total Daun Pulai (<i>Alstonia scholaris</i> L.)	Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental untuk menetapkan standarisasi baik parameter spesifik dan nonspesifik,	Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Ekstrak Daun Pulai (<i>Alstonia scholaris</i>) berdasarkan pengujian standarisasi meliputi parameter spesifik dan non-spesifik memenuhi standarisasi mutu bahan baku. Serta kadar total

No	Penelitian	Judul Artikel	Metode	Hasil
			melakukan uji kualitatif senyawa metabolit sekunder serta uji kuantitatif kadar flavonoid total dengan metode spektrofotometri UV-Vis dari ekstrak daun pulai (<i>Alstonia scholaris</i>).	flavonoid ekstrak daun Pulai (<i>Alstonia scholaris</i>) yakni sebesar 37,7 µg/ml (3,77%).
4	Rahmadhani <i>et al.</i> , (2022).	Skrining Fitokimia Disinfektan Alami Dari Ekstrak Etanol Daun Pulai (<i>Alstonia Scholaris</i>)	Penelitian ini dilakukan menggunakan metode studi eksperimental <i>In vitro</i> . Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur 5 ml, gelas ukur 10 ml, rak tabung reaksi, erlenmayer, seperangkat alat distilasi, botol semprot, corong kaca. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pulai, etanol 96%, aquadest, FeCl ₃ , etil asetat, reagen wagner, reagen mayer, reagen burcharda, reagen dragendorf, kertas saring Whattman no 1, aluminium foil.	Berdasarkan hasil pengujian dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa disinfektan alami dari ekstrak etanol daun pulai mengandung senyawa alkaloid, tanin dan saponin. Sehingga dari penelitian ini menunjukkan bahwa disinfektan alami dari ekstrak etanol daun pulai dapat digunakan sebagai zat antiakteri karena mengandung kandungan senyawa tersebut. Selanjutnya perlu penelitian lebih lanjut mengenai analisis secara kualitatif dan kuantitatif tentang keefektifan ekstrak daun pulai (<i>Alstonia scholaris</i>) dalam menghambat bakteri.
5	Tunny <i>et al.</i> , (2022).	Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pohon Pulai (<i>Alstonia Scholaris</i> L. R. BR) Asal Desa Tulehu Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia Coli</i> Dengan Metode Difusi Sumuran.	Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian yang bersifat eksperimental di laboratorium. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi sumuran. Dimana Ekstrak kulit pohon pulai (<i>Alstonia scholaris</i> L. R. Br) dimasukan kedalam cawan petri yang	Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa : Ekstrak etanol kulit batang pohon pule pada, 100%, mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri yang paling baik yaitu 25mm menunjukan sangat sensitif.

No	Penelitian	Judul Artikel	Metode	Hasil
			berisi media untuk diukur diameter zona hambat (zona mending) terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> setelah di inkubasi selama 24 jam.	

Berdasarkan pada penelitian terdahulu yang disajikan pada Tabel 1.1, daun pulai serta batang pulai memiliki potensi sebagai antibakteri untuk mengontrol pertumbuhan bakteri penyebab infeksi. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pulai (*Alstonia scholaris*) terhadap bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode sumuran. Kebaruan dari penelitian ini yaitu, uji aktivitas antibakteri tanpa penambahan bahan formulasi lain. Selain itu, mengacu pada penelitian terdahulu bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun pulai yang tinggi memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat (Tunny et al., 2022), sehingga digunakan konsentrasi ekstrak etanol daun pulai 15%, 30%, 45% dan 60%.

METODOLOGI

Jenis penelitian yang akan digunakan adalah penelitian eksperimental untuk mengetahui aktivitas anti mikroba pada daun pulai (*Alstonia Scholaris*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (gram negatif). Penelitian eksperimental ini dilakukan dengan merancang, membuat, dan menguji ekstrak daun pulai sebagai antibakteri. Dalam penelitian ini, dimana ekstrak akan diuji secara ilmiah untuk melihat efektivitasnya dalam aktivitas antibakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Sampel daun pulai (*Alstonia scholaris*.) diperoleh dari Jln. Batu Ringgit, Kelurahan Jempong Baru, Kecamatan Sekarbela, Kota Mataram NTB. Identifikasi tanaman dengan tujuan untuk menentukan jenis atau nama tumbuhan secara khusus serta untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang diteliti (Susilowati A et al, 2024). Daun Pulai (*Alstonia Scholaris*) dilakukan uji determinasi di Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri. Berdasarkan hasil uji determinasi, tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman (*Alstonia Scholaris*). yaitu termasuk dalam regnum (*Plantae*), divisi (*Magnoliophyta*), kelas (*Magnoliopsida*), ordo (*Gentianales*), famili (*Apocynaceae*), subfamili (*Rauvolfioideae*), genus (*Alstonia* R. Br), spesies (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br. Hasil uji determinasi dapat dilampirkan pada lampiran 1.

Persiapan Simplisia

Persiapan simplisia dimulai dengan pengumpulan bahan baku yaitu daun pulai. Ada beberapa hal yang harus diperhatikan saat proses pengumpulan bahan yaitu umur, waktu panen, dan habitat daun pulai tersebut (Suryadi A et al, 2024). Daun pulai yang digunakan dalam penelitian dipetik pagi hari. Pemetikan saat pagi hari untuk menghindari penguapan dan kondisi tanaman yang masih segar pada pagi hari, serta pada waktu ini kadar metabolit sekunder (seperti flavanoid, saponin dan tanin) yang bermanfaat sebagai obat cenderung lebih stabil karena kelembapan udara yang tinggi, cahaya matahari yang rendah dan suhu lingkungan yang rendah yang dapat mempengaruhi metabolisme sel tumbuhan (Susilawati A et al, 2024).

Proses selanjutnya yang akan dilakukan yaitu sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih (sumur, pam, atau air dari mata air). Hal ini dilakukan untuk mengurangi jumlah mikroba awal karena sebagian besar mikroba biasanya terdapat pada permukaan bahan simplisia. Pencucian sebaiknya dilakukan dengan menggunakan air mengalir agar kotoran yang terlepas tidak menempel kembali pada daun pulai (Pangodian A et al, 2023).

Tahap selanjutnya melakukan proses pengeringan, Proses mengeringkan daun pulai yang telah ditiriskan untuk mengurangi kadar air sehingga sampel dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama dan jamur tidak mudah tumbuh. Proses pengeringan dilakukan dengan cara daun pulai dijemur dibawah sinar matahari dan ditutup dengan kain hitam karena kain hitam lebih menyerap panas, yang dapat mempercepat proses oksidasi dan mengurangi kontaminasi (Pangodian A et al, 2023). Selanjutnya dilakukan perhitungan rendemen simplisia kering daun pulai 17% atau 0,17 diperoleh dari perbandingan berat simplisia kering daun pulai 651 gram dengan berat awal sampel daun pulai 3,7 kg. Menurut Marsah, et al. (2024) Rendemen bobot simplisia yang memenuhi syarat yaitu memperoleh lebih dari 14%. Perhitungan % rendemen bobot simplisia dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. % Rendemen Bobot Simplisi

Berat simplisia kering	Berat simplisia awal	Hasil
651 gram	3.7 kg	0,17= 17%

$$\begin{aligned}
 \% \text{Rendemen bobot simplisia} &= (\text{berat simplisia kering}) / (\text{berat simplisia awal}) \times 100\% \\
 &= 651 / 3.734 \times 100\% \\
 &= 0,17 \times 100\% \\
 &= 17\%
 \end{aligned}$$

Tahap selanjutnya simplisia kering daun pulai dihaluskan dengan blender untuk membuat proses selanjutnya lebih mudah yaitu proses pengayakan simplisia tersebut (Pangodian A et al, 2023). Bahwa tujuan dari proses pengayakan tersebut adalah supaya partikel simplisia menjadi lebih kecil sehingga memudahkan cairan penyari untuk melarutkan senyawa aktif dari simplisia daun pulai serta sampel memiliki luas permukaan yang lebih besar, sehingga mempermudah dalam proses ekstraksi (Wijaya A et al, 2024). Selanjutnya ditahap akhir yaitu Pengemasan dan Penyimpanan serbuk simplisia daun pulai. Penyimpanan sebaiknya pada wadah yang bersifat tidak beracun dan tidak bereaksi dengan bahan yang dikemas contohnya wadah kaca. Hal ini bertujuan agar tidak menyebabkan terjadinya reaksi serta penyimpangan warna, bau, rasa, dan sebagainya pada serbuk simplisia daun pulai. Simplisia dapat rusak atau berubah mutunya karena faktor internal dan eksternal simplisia, seperti: cahaya, oksigen, penguapan air, pengotor serangga dll (Pangodian A et al, 2023).

Ekstraksi Serbuk Simplisia Daun Pulai

Proses ekstraksi daun pulai yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi karena merupakan metode paling sederhana dan mudah serta banyak digunakan. Maserasi juga merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan secara dingin atau dalam suhu ruang tanpa ada peningkatan suhu atau pemanasan. Hal tersebut dimanfaatkan bagi simplisia atau bahan alam yang tidak tahan panas untuk menghindari rusaknya atau terurai beberapa komponen kimia aktif serta dapat menghindari rusaknya senyawa yang dipengaruhi oleh suhu (bersifat termolabil) (Handoyo Y.L.D, 2020). Pelarut yang digunakan pada proses maserasi kali ini adalah etanol 96%. Dimana proses maserasi dilakukan dengan perbandingan pelarut 1:5 (daun pulai: etanol 96%). Pada penelitian ini sebanyak 286 gram serbuk simplisia daun pulai direndam dalam 1.430 ml etanol 96%. Jika menggunakan

perbandingan 1:7 dan 1:10, maka pelarut lebih banyak dan ekstrak akan jadi lebih encer, serta proses penguapan lebih lama dan resiko kehilangan senyawa aktif akan meningkat. Jadi perbandingan 1:5 adalah pilihan efisien dan efektif dalam penelitian ini.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Afifah N *et al*, 2023; Wendersteyt V.N, *et al*, 2021) proses maserasi juga dilakukan dengan perbandingan pelarut 1:5 agar semakin banyak pelarut yang digunakan maka semakin banyak hasil ekstrak yang akan didapatkan. Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut karena bersifat universal, polar, selektif, tidak toksik, memiliki penyerapan yang sangat baik dan kemampuan dalam penyarian yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Selain itu juga, pelarut etanol 96% lebih mudah menembus ke dalam dinding sel sampel dari pada pelarut ethanol dengan konsentrasi yang lebih rendah, sehingga mampu menghasilkan ekstrak yang pekat. Menurut Indarto, *et al*. (2019) bahwa maserasi selama 3 hari dapat mengoptimalkan penarikan senyawa aktif yang terkandung dalam sampel tersebut, dan sesuai dengan pengamatan yang dilakukan pada saat penelitian yaitu proses maserasi dilakukan selama 3 hari, serbuk simplisia daun pulai dalam proses perendaman disimpan dalam bejana maserasi yang tertutup rapat dan terlindungi dari cahaya matahari langsung.

Pada saat proses maserasi perlu dilakukan pengadukan sesering mungkin menggunakan batang pengaduk. Menurut Handoyo Y.L.D. (2020) bahwa pengadukan bertujuan untuk mempercepat kontak antara sampel dengan pelarut. Proses selanjutnya dilakukan penyaringan ekstraksi daun pulai dengan memperoleh ekstrak cair berwarna hitam kehijauan pekat. Tahapan terakhir yaitu ekstrak ethanol daun pulai dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga memperoleh ekstrak kental daun pulai. Menurut Reo R.A, *et al*. (2017) bahwa proses *rotary evaporator* dilakukan untuk menguapkan pelarut ekstraksi dan hanya menghasilkan senyawa ekstrak kental.

Ekstrak kental yang diperoleh dari 286 gram serbuk simplisia daun pulai dengan nilai % rendemen yaitu 11%, bahwa hasil rendemen yang didapatkan telah memenuhi syarat rendemen ekstrak yaitu tidak kurang dari 10% (Saerang M.F, *et al*, 2023). Menurut Wijaya H, *et al*. (2018) bahwa nilai rendemen yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti metode ekstraksi, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, perbandingan jumlah pelarut yang digunakan dan jenis pelarut yang digunakan. Perhitungan % rendemen ekstrak kental daun pulai dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Perhitungan % Rendemen Ekstrak Kental Daun Pulai

Berat serbuk simplisia daun pulai	Berat ekstrak kental daun pulai	Hasil
286 gram	34 gram	11%

$$\begin{aligned}
 \text{Berat \% rendemen} &= \frac{\text{ekstrak kental}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \\
 &= \frac{34 \text{ gram}}{286 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 0,11 \times 100\% \\
 &= 11\%
 \end{aligned}$$

Uji Skrining Fitokimia Ekstrak

Menurut Putri M.D, Lubis S.S. (2020), uji skrining fitokimia dilakukan untuk melihat reaksi perubahan warna yang menunjukkan adanya senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dll. Uji skrining fitokimia dapat dilakukan secara kualitatif untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder pada bahan alam. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak ethanol daun pulai dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Ethanol Daun Pulai

Golongan senyawa	Reagen	Warna Ekstrak	Reaksi	Perubahan warna	Hasil
Flavanoid	Aquades, serbuk Mg dan HCl pekat	Hijau Tua kehitaman		Kuning dan berbusa	+
Alkaloid	Klorofom, pereaksi mayer	Hijau Tua kehitaman		Tidak berubah warna	—
Saponin	Aquades	Hijau Tua kehitaman		Terbentuk busa	+
Tanin	FeCl3 10%	Hijau Tua kehitaman		Hitam	+
Triterpenoid	Lieberman-Bouchard (asam asetat anhidrat-H2SO4)	Hijau Tua kehitaman		Tidak berubah warna	—

Keterangan:

(+) = Mengandung senyawa aktif

(-) = Tidak mengandung senyawa aktif

Berdasarkan uji skrining fitokimia yang telah dilakukan pada ekstrak daun pulai menunjukkan hasil positif flavonoid, tanin, dan saponin, sedangkan pada alkaloid dan triterpenoid menunjukkan hasil negatif. Pada uji senyawa flavonoid ditemukan bahwa ekstrak etanol daun pulai positif mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan perubahan warna dari hijau tua kehitaman menjadi kuning karena penambahan preaksi ke dalam ekstrak daun pulai. Hal ini sesuai yang dinyatakan oleh Rahmadhani A.F, *et al.* (2022), bahwa penambahan serbuk Mg dalam uji flavonoid bertujuan untuk membentuk ikatan gugus karbonil pada senyawa flavonoid. Selanjutnya, penambahan HCl pekat dilakukan untuk menghasilkan inti benzopiron yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid. Sehingga garam flavium terbentuk dan menyebabkan terjadinya perubahan warna menjadi kuning atau jingga. Flavonoid merupakan salah satu jenis senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi baik secara enzim maupun non enzim. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstra seluler yang menyebabkan terdenaturasinya protein sel bakteri sehingga membran sel mengalami kerusakan. Flavonoid memiliki efek antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sel, dan metabolisme energi bakteri.

Pengamatan uji alkaloid menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan warna atau endapan kuning serta putih pada pengujian, sehingga pada ekstrak ethanol daun pulai tidak dinyatakan positif mengandung senyawa alkaloid. Hasil pengamatan yang dilakukan oleh Tunny R, *et al.* (2022) bahwa perubahan warna menjadi endapan kuning atau merah pada larutan menandakan adanya kandungan senyawa alkaloid. Menurut Sari P.I, *et al.* (2024) Faktor yang dapat mempengaruhi hasil negatif pada uji alkaloid metode maserasi menggunakan pereaksi mayer salah satunya ialah konsentrasi alkaloid yang rendah. Alkaloid memiliki sifat antibakteri dengan cara mengganggu komponen peptidoglikan sel bakteri, dan lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna sehingga menyebabkan kematian sel. Senyawa tanin konvergen dapat menginduksi pembentukan kompleks pengikat tanin pada ion logam, yang dapat meningkatkan toksisitas tanin. Saponin adalah bentuk glikosida dari sapogenin yang bersifat polar. Dan dapat menimbulkan busa apabila dikocok dalam air (Ajaratudur, *et al.*, 2024)

Pengujian senyawa saponin dengan penambahan aquades ditandai dengan terbentuknya busa atau buih diatas permukaan larutan setinggi 1-5 cm selama tidak kurang dari 10 menit. Hal ini sesuai dengan hasil pengamatan yang dilakukan oleh Hasriyani, *et al.* (2020) Uji saponin menunjukkan hasil positif, karena setelah ditambahkan aquadest 10 ml, ekstrak etanol daun pulai menunjukkan busa. Saponin adalah bentuk glikosida dari sapogenin yang bersifat polar. Dan dapat menimbulkan busa apabila dikocok dalam air yang menunjukkan bahwa ekstrak ethanol daun pulai positif mengandung senyawa saponin. Mekanisme kerja saponin berikatan dengan kolesterol di dalam sel membentuk ikatan kolesterol saponin yang akhirnya mengakibatkan terjadinya lisis sel. Saponin juga mengganggu permeabilitas sel bakteri dengan cara berikatan dengan membran bagian luar (Rumalolas M, *et al.*, 2024)

Menurut uji fitokimia yang telah dilakukan oleh Nugroho A.D, *et al.* (2022) Pada uji tanin menunjukkan hasil positif karena setelah ditambahkan FeCl₃ 10%, ekstrak daun pulai menunjukkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman, tanin termasuk salah satu jenis senyawa dalam golongan polifenol. Senyawa tanin ini banyak ditemukan pada tumbuhan. Sifat antibakteri tanin diyakini karena toksisitas yang dapat merusak membran sel bakteri.

Senyawa tanin konvergen dapat menginduksi pembentukan kompleks pengikat tanin pada ion logam, yang dapat meningkatkan toksisitas tanin. Mekanisme kerja tanin yaitu dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel yang mengganggu permeabilitas sel, sehingga sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mengalami kematian Rahmadhani A.F, *et al.* (2022)

Hasil uji triterpenoid menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan warna pada pengujian, sehingga pada ekstrak ethanol daun pulai tidak dinyatakan positif mengandung senyawa triterpenoid. Hasil pengamatan yang dilakukan oleh Candrasari D, *et al.* (2019) Terbentuknya perubahan warna menjadi kuning keemasan menunjukkan adanya kandungan triterpenoid. Hasil negatif untuk kandungan triterpenoid dapat disebabkan oleh beberapa faktor dengan melihat sifat fisika triterpenoid yang memang tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik seperti alkohol, eter dan kloroform. Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri yaitu akan bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan yang kuat ikatan polimer yang menyebabkan kerusakan porin (Hayon F.K.M, *et al.*, 2023)

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Deviana candrasari *et al* (2018), daun pulai kandungan senyawa kimia aktif pada bagian daun pulai adalah: alkaloid 67%, triterpenoid 67%, flavonoid 100%, tanin 100%. Hasil negatif didapatkan pada senyawa steroid dalam daun pulai tersebut.

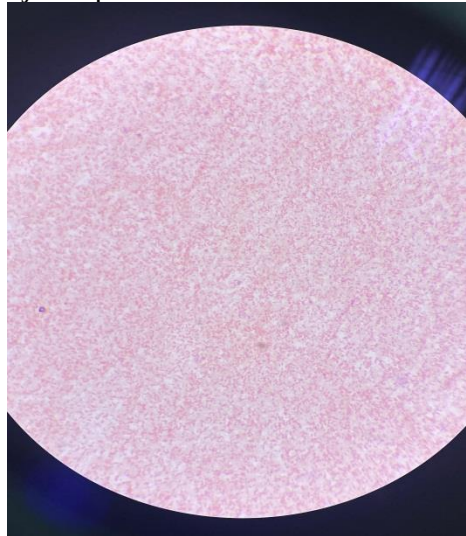
Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pulai Terhadap *Escherichia coli* Dengan (Metode Dilusi)

Pada penelitian ini uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pulai (*Alstonia scholaris*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dilakukan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan metode dilusi, parameter yang digunakan adalah kekeruhan (ada pertumbuhan bakteri) dan kejernihan (tidak ada pertumbuhan bakteri) yang terlihat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Metode dilusi ini digunakan karena metode ini paling tepat untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi memungkinkan peneliti mengetahui konsentrasi terendah ekstrak yang masih bisa menghambat atau membunuh bakteri secara kuantitatif dan akurat. Dengan metode ini, hasil yang didapat lebih objektif dibandingkan hanya menggunakan metode difusi. Metode dilusi lebih sensitif dan memastikan homogenitas antara media, bahan uji dan suspensi bakteri. Suspensi bakteri tersebar merata sehingga mempermudah interaksi dengan bahan uji. Metode ini memungkinkan peneliti untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum terhadap bakteri *Escherichia coli* (Hasryani, *et al.*, 2020). Pada uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) bakteri *Escherichia coli* di dapatkan hasil berikut:

1. Identifikasi Pewarnaan Gram Bakteri *Escherichia coli*

Pada uji identifikasi bakteri *Escherichia coli* yang telah diinkubasi didapatkan. Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan *Escherichia coli* berwarna merah dan berbentuk batang pendek (kadang disebut kokobasil), bersifat Gram negatif, berukuran sekitar 0,4–0,7 µm x 1,4–2 µm, dan bisa bergerak dengan flagel. Koloninya di media agar umumnya bulat, cembung, permukaan halus, dan tepi nyata., termasuk bakteri gram negatif berwarna merah muda. hal ini disebabkan karena *Escherichia coli* tersebut memiliki komposisi dinding sel mengandung lipopolisakarida yang lebih banyak dibandingkan bakteri kelompok gram positif. Sehingga akibatnya bakteri tersebut tidak mempertahankan pewarna kristal violet selama proses pewarnaan gram. Namun, ketika diberi pewarna safranin sebagai pewarna kontras, bakteri ini akan menyerap dan mempertahankan warna safranin sehingga tampak

berwarna pink (merah muda) (Lisdewi A, *et al.*, 2023). Hasil pengamatan mikroskopik bakteri *Escherichia coli* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengamatan mikroskopik pewarnaan gram *Escherichia coli*

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri isolat klinik *Escherichia coli* yaitu bakteri yang berasal dari lingkungan atau pasien sangat rentan terkontaminasi. Hal ini tidak sesuai dengan bakteri standar yang disarankan untuk digunakan sebagai bakteri uji dalam penelitian yaitu bakteri biakan murni atau ATCC (*American Type Culture Collection*) (Utomo B, *et al.*, 2018). *Escherichia coli* galur EIEC ATCC 35218 adalah strain bakteri patogen yang menyerang usus besar dan sering digunakan dalam penelitian, khususnya untuk menguji senyawa antibakteri atau efektivitas antibiotik karena mewakili tipe bakteri invasif yang menyebabkan diare infeksius. Penggunaan larutan NaCl fisiologis 0,9% bertujuan untuk menjaga keseimbangan ion sel mikroba sehingga dapat bertahan hidup. Suspensi bakteri ini kemudian dibandingkan dengan standar kekeruhan dari larutan Mcfarland 0,5 (Rizki A.S, *et al.*, 2021).

2. Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Pulai (*Alstonia scholaris*)

Pada tahap awal yang dilakukan yaitu sterilisasi alat dan bahan (Media pertumbuhan bakteri) sterilisasi menggunakan autoklaf uap pada suhu 121°C selama 15 menit. Melakukan sterilisasi yaitu bertujuan untuk meminimalisir terkontaminasi (Istini, 2020). Pada Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan ekstrak ethanol daun pulai dengan variasi konsentrasi yaitu 15% (P1), 30% (P2), 45% (P3) dan 60% (P4). Stok konsentrasi larutan uji terlebih dahulu dibuat dengan turunan dosis 1 gram+ 2 mL (2000µL), yaitu dengan cara menimbang 5 gram ekstrak kental daun pulai ditambahkan dengan larutan DMSO 10% 5mL (5000µL) sambil diaduk hingga homogen (Rahmani H, *et al.*, 2023). Proses ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kadar ekstrak terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri uji. Selanjutnya dari masing-masing variasi konsentrasi tersebut dibuat dari stok awal dengan penambahan DMSO 10% sebagai pengencer seperti yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rincian Pengenceran Variasi Konsentrasi Ekstrak Ethanol Bunga Gemitir untuk Uji Antibakteri

No	Konsentrasi	Ekstrak/ Stok	Pengencer (DMSO 10%)	Volume
1	15%	300µl	1.700µl	2ml
2	30%	600µl	1.400µl	2ml

3	45%	900µl	1.100µl	2ml
4	60%	1.200µl	800µl	2ml

Perhitungan dan prosedur masing-masing konsentrasi sebagai berikut:

Rumus pengenceran:

V1= Volume larutan stok

V2= Volume akhir

C1= Konsentrasi stok (100%)

C2= Konsentrasi yang di buat

$C1 \times V1 = C2 \times V2$

Konsentrasi 15%

$$100\% \times 300 \mu\text{l} = 15\% \times 2000 \mu\text{l}$$

$$\text{Volume stok} = 15\% \times 2000 \mu\text{L} = 300 \mu\text{L}$$

$$\text{DMSO } 10\% = 2000 - 300 = 1700 \mu\text{L}$$

$$\text{Campurkan } 300 \mu\text{L stok} + 1700 \mu\text{L DMSO} \rightarrow \text{total } 2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 45%

$$100\% \times 900 \mu\text{l} = 45\% \times 2000 \mu\text{l}$$

$$\text{Volume stok} = 45\% \times 2000 \mu\text{L} = 900 \mu\text{L}$$

$$\text{DMSO } 10\% = 2000 - 900 = 1100 \mu\text{L}$$

$$\text{Campurkan } 900 \mu\text{L stok} + 1100 \mu\text{L DMSO} \rightarrow \text{total } 2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 30%

$$100\% \times 600 \mu\text{l} = 30\% \times 2000 \mu\text{l}$$

$$\text{Volume stok} = 30\% \times 2000 \mu\text{L} = 600 \mu\text{L}$$

$$\text{DMSO } 10\% = 2000 - 600 = 1400 \mu\text{L}$$

$$\text{Campurkan } 600 \mu\text{L stok} + 1400 \mu\text{L DMSO} \rightarrow \text{total } 2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 60%

$$100\% \times 1.200 \mu\text{l} = 60\% \times 2000 \mu\text{l}$$

$$\text{Volume stok} = 60\% \times 2000 \mu\text{L} = 1200 \mu\text{L}$$

$$\text{DMSO } 10\% = 2000 - 1200 = 800 \mu\text{L}$$

$$\text{Campurkan } 1200 \mu\text{L stok} + 800 \mu\text{L DMSO} \rightarrow \text{total } 2 \text{ mL}$$

Berdasarkan Tabel 4., terlihat bahwa untuk mencapai konsentrasi 15% diperlukan campuran 300 µl ekstrak dan 1.700 µl DMSO 10% sehingga total volume menjadi 2 ml. Untuk konsentrasi 30%, digunakan 600 µl ekstrak yang dicampur dengan 1.400 µl DMSO 10%. Sementara itu, konsentrasi 45% disiapkan dengan mencampurkan 900 µl ekstrak dan 1.100 µl DMSO 10%, dan konsentrasi tertinggi yaitu 60% dibuat dari 1.200 µl ekstrak yang diencerkan dengan 800 µl DMSO 10%. Penggunaan DMSO sebagai pelarut dalam uji ini disesuaikan pada konsentrasi 10% karena sifatnya yang mampu melarutkan senyawa aktif baik yang bersifat polar maupun nonpolar, serta tidak menunjukkan aktivitas antibakteri yang dapat mengganggu hasil pengujian. Dengan demikian, variasi konsentrasi yang diperoleh dalam tabel bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak daun pulai dalam menghambat pertumbuhan bakteri secara bertingkat dan sistematis. Pembuatan larutan uji dengan volume yang seragam (2 ml) juga penting untuk memastikan bahwa konsentrasi zat aktif yang dibandingkan benar-benar merupakan satu-satunya variabel yang memengaruhi hasil uji antibakteri, bukan perbedaan volume larutan.

3. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan metode dilusi cair untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak daun pulai terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Konsentrasi terendah dari larutan sampel yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu ditandai dengan kejernihan secara visual menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri ditentukan sebagai KHM (Konsentrasi hambat minimum). Hasil Konsentrasi Hambat Minimum terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengamatan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

No	Konsentrasi (%)	Pengulangan		
		I	II	III
1	15	K	K	K
2	30	K	K	K
3	45	SJ	SJ	SJ
4	60	J	J	J
5	Kontrol (+)	J	J	J
6	Kontrol (-)	K	K	K

Keterangan:

K : Keruh

SJ : Sedikit Jernih

J : Jernih

Kontrol (+) : Tetrasiklin dan Suspensi Bakteri

Kontrol (-) : DMSO 10% dan Suspensi Bakteri

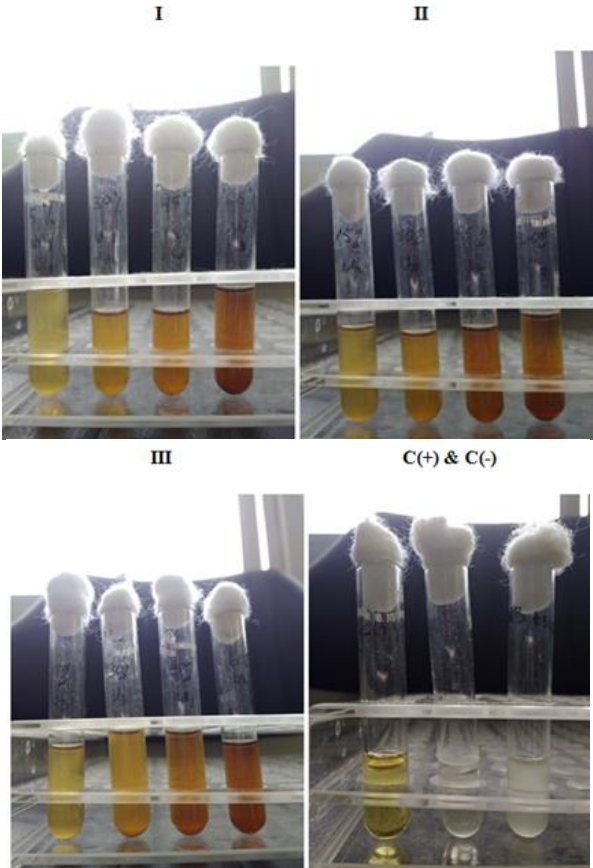
Pada penelitian ini dapat dilihat tabel 4.5 bahwa konsentrasi terendah yang mulai menunjukkan kejernihan (tidak adanya pertumbuhan bakteri) terdapat pada konsentrasi 60% yang ditandai secara visual. Dengan melihat secara visual peneliti dapat melihat efek dari zat antimikroba pada bakteri *Escherichia coli*. Pengamatan visual ini dapat membantu mengidentifikasi perubahan dalam kultur bakteri yang menunjukkan adanya hambatan.

Berdasarkan tabel 5 pada tabung 60%, 45%, 30%, dan 15% diperoleh warna yang berbeda pada setiap tabung. Peningkatan warna disebabkan oleh peningkatan konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi kadar konsentrasi ekstrak, warnanya akan menjadi lebih pekat. Larutan yang mulai tidak adanya kekeruhan terdapat pada konsentrasi 60% yang ditandai secara visual. Dengan melihat secara visual peneliti dapat melihat efek dari zat antimikroba pada bakteri *Escherichia coli*. Pengamatan visual ini membantu mengidentifikasi perubahan dalam kultur bakteri yang menunjukkan adanya hambatan. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pulai dari kawasan jempong baru, Kota mataram, memiliki Konsentrasi Hambat Minimum terhadap bakteri *Escherichia coli*. Dalam pengujian ekstrak dengan konsentrasi 15% hingga 45% menunjukkan kekeruhan, menandakan adanya pertumbuhan bakteri. Sedangkan pada konsentrasi 60% tidak terlihat kekeruhan, yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, pada kontrol positif terlihat jernih dan pada kontrol negatifnya terlihat keruh.

Konsentrasi yang tidak menunjukkan kekeruhan dan pertumbuhan bakteri, yaitu 60%, ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum. Konsentrasi terendah di mana tidak adanya kekeruhan ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum. Oleh karena itu, nilai Konsentrasi Hambat Minimum terdapat pada konsentrasi 60%. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum penting dalam ekstrak tanaman obat karena ini menunjukkan konsentrasi antibiotik terendah yang masih mampu menghambat pertumbuhan organisme tertentu (Inanta S.N, *et al.*, 2023).

Dimana pada penelitian ini digunakan tetrasiklin sebagai kontrol positif. Tetrasiklin adalah antibiotik yang memiliki sifat bakteriostatik yaitu kemampuan antibiotik dalam menghambat sintesis protein. Tetrasiklin mampu menghambat bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif, termasuk diantaranya bakteri anaerob, riketsia, klamidia, mikoplasma, dan beberapa protozoa (Aulia S *et al.*, 2023). Tetrasiklin termasuk memiliki efek penghambatan yang kuat pada bakteri *Escherichia coli* (Faridah *et al.*, 2022). Turunan tetrasiklin adalah senyawa bakteriostatik, karena mempunyai sifat pembentuk khelat, diduga aktivitas antibakterinya disebabkan oleh kemampuan untuk menghilangkan ion-ion logam-

logam yang penting bagi kehidupan bakteri seperti ion Mg. Kemungkinan lain, pembentukan khelat akan memudahkan pengangkutan tetrasiklin menuju ke sisi kerjanya. Turunan tetrasiklin merupakan senyawa bakteriostatik dengan spektrum antibakteri luas dan pada kadar tinggi bersifat bakterisid. Menurut *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) kriteria daya hambat berdasarkan standar tetrasiklin adalah, zona hambat >19 mm termasuk dalam kriteria sensitif (Jiwintarum Y, *et al.*, 2024). Sedangkan kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu larutan DMSO 10%. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif dan pelarut karena bisa melarutkan senyawa polar dan nonpolar, serta tidak membunuh bakteri, sehingga hasil uji antibakteri murni berasal dari ekstrakanya (Karim A, *et al.*, 2024). Adapun hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pengamatan uji nilai KHM terhadap bakteri *Escherichia coli*

4. Hasil Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

Pengujian Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak daun pulai dalam membunuh pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Evaluasi dilakukan dengan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh dan memastikan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Hasil Konsentrasi Bunuh Minimum terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Pengamatan Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

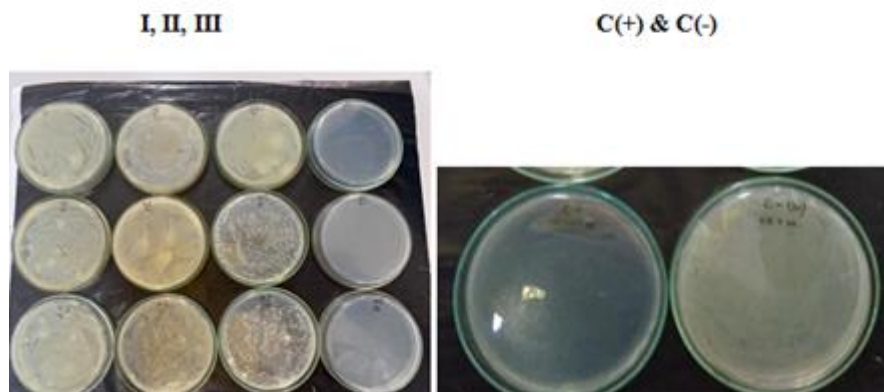
No	Konsentrasi (%)	Pengulangan		
		I	II	III
1	15	∞	∞	∞

2	30	∞	∞	∞
3	45	∞	TK (>300)	TK (>350)
4	60	0	0	0
5	Kontrol (+)	0	0	0
6	Kontrol (-)	∞	∞	∞

Keterangan:

- ∞ : Tak Terhingga
- TK : Tumbuh Koloni
- 0 : Tidak Tumbuh Koloni
- Kontrol (+) : Tetrasiklin dan Suspensi Bakteri
- Kontrol (-) : DMSO 10% dan Suspensi Bakteri

Berdasarkan hasil tabel 6, bahwa bakteri *Escherichia coli* tidak tumbuh di konsentrasi 60%. Perhitungan bakteri yang peneliti gunakan untuk melihat dan menghitung bakteri *Escherichia coli* menggunakan *colony counter*. *colony counter* alat yang berguna untuk mempermudah penghitungan koloni yang tumbuh setelah diinkubasi di dalam cawan karena adanya kaca pembesar. Selain itu, alat tersebut dilengkapi dengan skala/kuadran yang sangat berguna untuk pengamatan pertumbuhan koloni yang sangat banyak. Jumlah koloni pada cawan petri dapat ditandai dan dihitung secara otomatis. Prinsip kerja dari alat *colony counter* adalah menghitung mikroba secara otomatis dengan bantuan pulpen/tombol hitung (Lisnawati, *et al.*, 2023). Dalam uji laboratorium seperti uji Konsentrasi Bunuh Minimum, serta dalam berbagai penelitian mikrobiologi, seringkali diperlukan untuk mengukur dan menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media agar setelah perlakuan dengan zat antimikroba atau substansi lain (Inanta S.N, *et al.*, 2023). Adapun pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil pengamatan nilai KBM terhadap bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan gambar 3. diatas pada konsentrasi 60% tidak terdapat adanya pertumbuhan bakteri pada P1, P2 dan P3, pada konsentrasi 45% terdapat adanya pertumbuhan koloni yang tak terhingga pada P1, sedangkan pada P2 dan P3 terdapat adanya >350 koloni yang tumbuh, kemudian pada konsentrasi 30% dan 15% % terdapat adanya pertumbuhan koloni yang tak terhingga pada P1, P2 dan P3. Pada kontrol (+) yang memiliki agen antimikroba sintesis tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri dan pada kontrol (-) bakteri yang tumbuh tak terhingga dikarenakan kontrol negatif tidak memiliki agen antimikroba.

Hasil pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* di atas menunjukkan bahwa untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum, pengujian dilakukan pada rentang konsentrasi 15% hingga 30%, di mana masih terdapat pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi 45%, mulai berkurang pertumbuhan bakteri. Terakhir, pada konsentrasi 60%, terbukti tidak ada

pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Jadi dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 60% memiliki hambatan yang paling besar dalam membunuh pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi diatas semakin besar konsentrasi ekstrak daun pulai yang di gunakan maka, semakin besar zona hambat yang dihasilkan (Purwanitiningsih E, *et al.*, 2020).

Hasil penelitian ini cukup berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nirmalasari F, *et al.* (2023) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun *Uncaria tomentosa* mengandung senyawa *terpenoid* dan *flavonoid* serta memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tercapai pada konsentrasi 50%, namun tidak ditemukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Astuti W, *et al.* (2024). Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun belimbing wuluh pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yaitu masing-masing 8%. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun belimbing wuluh pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yaitu masing-masing 8%. Hal ini disebabkan karena pada konsentrasi 8% ekstrak daun belimbing wuluh dapat menghambat dan membunuh bakteri karena kandungan senyawa aktifnya bersifat kuat dan bakterisidal, serta bakteri yang diuji sangat sensitif terhadap ekstrak tersebut.

Sulfiana, *et al.* (2020) juga melaporkan bahwa ekstrak daun pulai 1. menguji efek antibakteri ekstrak metanol daun pulai (*Alstonia scholaris*) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, dan *S. aureus* dengan konsentrasi tertinggi 125% menggunakan metode difusi cakram. Hasilnya, daya hambat ekstrak metanol daun pulai sangat lemah untuk semua bakteri uji (rata-rata zona hambat <5 mm), paling efektif hanya terhadap *S. aureus* dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* Efektivitas yang rendah diduga karena kualitas ekstrak, lingkungan tempat pertumbuhan tanaman daun pulai, usia tanaman saat panen dan usia daun yang digunakan dalam proses ekstraksi, metode ekstraksi, dan jenis pelarut yang digunakan.

Lingkungan tempat pertumbuhan tanaman pulai sangat berpengaruh terhadap komposisi ekstrak yang dihasilkan oleh tanaman tersebut. Tanaman pulai tumbuh secara alami di lahan terbuka, sehingga lingkungan pertumbuhannya tidak dapat dikontrol. Kondisi lingkungan yang tak terkendali ini dapat menyebabkan stres pada tanaman, termasuk cekaman kekeringan yang sering terjadi. Ketika tanaman menghadapi kekeringan, mereka akan mengaktifkan berbagai mekanisme pertahanan, termasuk merangsang produksi metabolit sekunder. Selain itu, komposisi ekstrak dalam tanaman juga dipengaruhi oleh unsur hara yang terkandung dalam tanah. Elemen hara makro dalam tanah seperti Nitrogen (N), Kalium (K), bahan organik dan Karbon (C) memiliki korelasi linier dengan produksi metabolit sekunder dalam tanaman (Inanta S.N, *et al.*, 2023).

Ekstrak daun pulai menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* karena mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun pulai yang tumbuh di Kawasan Jempong Baru mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin yang berperan sebagai agen antibakteri. Sejalan dengan hasil penelitian Rumalolas M, *et al.* (2024) menyatakan bahwa ekstrak dari daun pulai flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, fenolik, steroid, iridoid, kumarin, triterpenoid dan terpenoid. Senyawa metabolit sekunder ini memiliki mekanisme unik masing-masing dalam menghambat atau membunuh bakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian Ekstrak etanol daun pulai (*Alstonia scholaris*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan dengan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 60% terlihat kejernihan (tidak adanya pertumbuhan bakteri), sedangkan pada Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dimana pada konsentrasi 60% terlihat bening (tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri).

Saran

Adapun saran yang dapat dilakukan pada penelitian selanjutnya yaitu:

1. Untuk peneliti selanjutnya, disarankan agar melakukan pemurnian senyawa aktif dalam ekstrak daun pulai guna mengetahui senyawa spesifik yang memiliki aktivitas antibakteri paling dominan.
2. Sebaiknya dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap jenis bakteri lain, baik Gram positif maupun Gram negatif, untuk mengetahui spektrum antibakteri dari ekstrak etanol daun pulai secara lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya R., Kestriani, D.N., & Maskoen, T.T. (2016). Antibiotik Empirik di Intensive Care Unit (ICU). *Journal Anesthesia & Clitical Care*. 34(1),48-56.
- Afifah N., Riyanta B.A., & Amananti W. (2023). Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Hasil Skrining Fitokimia Pada Ekstra Daun Mangga Harum Manis (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Crystal*. 5(1), 54-61.
- Akhmadi Cindiana, Utami Widyaningrum, A. E. (2022). Narrative Review : Senyawa Fitokimia Dan Aktivitas. *LP2M UST Jogja*, 390–400.
- Ali, K., & Rahayu, M. S. (2022). Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Antibakterial Activity Test Of Breadfruit (*Artocarpus Altilis*) Leaves Ethanol Extract Against Bacteria *Escherichia Coli*. 5(2).
- Amiliah., Nurhamidah., & Handayani D. (2021). Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 5(1), 92-105.
- Aminudi R. M., Lukman, W. D., Sudarwanto, B. M., & Pisestyani, H. (2024). Isolasi dan Uji Resistansi Antibiotik *Escherichia coli* O157:H7 yang Dibawa oleh Lalat di Tempat Penjualan Makanan Kampus IPB Dramaga. *Jurnal Sain Veteriner*. 42(3), 345-355.
- Andy Suryadi, A. M., Sy. Pakaya, M., Adam Mustapa, M., Makkulawu, A., & Hiola, F. (2024). Standarisasi dan Analisis Kandungan Flavonoid Total Daun Pulai (*Alstonia shcolaris* L.). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 6(1), 78–88. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v6i1.15546>
- Anggita D., Nuraisyah S., & Wiriansya P.E. (2022). Mekanisme Kerja Antibiotik. *UMI Medical Journal*. 7(1), 46-58.
- Anggryani D., Kurniawan E., Sukmana J.D., & Ustiawaty J. (2023). Identification of *Escherichia coli* Sub Type Enterotoxigenic (ETEC) from Food Samples Using Pcr (Polymerase Chain Reaction) Technique. *Jurnal Biologi Tropis*. 23(4), 404-409. <https://dx.doi.org/10.29303/jbt.v23i4.5540>.
- Arsyad, R., Amin, A., & Waris, R. (2023). Teknik Pembuatan Dan Nilai Rendamen Simplisia Dan Ekstrak Etanol Biji Bagore (*Caesalpinia crista* L.) Asal Polewali Mandar. *Makassar Natural Product Journal*, 1(3), 2023–2138. <https://journal.farmasi.umi.ac.id/index.php/mnpj>
- Astriani R., & Feladita N. (2022). Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) Bakteri Pada Jamu Gendong Beras Kencur Yang Beredar Di Pasar Tradisional Way Kandis Dan Pasar Tempel Way Halim. *Jurnal Analisis Farmasi*. 7(2), 175-184.
- Astuti W., Susanti D., & Tutik. (2024). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

- Menggunakan Metode Dilusi. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*. 11(5), 1038-1049.
- Asworo, R. Y., & Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2), 256–263. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>
- Aulia A.S., Sutiningsih D., Setyawan H., & Udiyono A. (2023). Keberadaan Residu Tetrasiklin Pada Daging Ayam Broiler Di Kabupaten Kudus (Studi di Pasar Tradisional dan Pasar Modern Tahun 2019). *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*. 8(1), 69-75.
- Bafadhal, K. F. (2023). Optimasi Pelarut Pada Ekstraksi Senyawa Fenolik Dari Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Menggunakan Simplex Lattice Design. *Unram MedicalJournal*, 12(1), 1258–1264. <https://doi.org/10.29303/jku.v12i1.875>
- Bahri, S. (2020). Ekstraksi Kulit Batang Nangka menggunakan Air untuk Pewarna Alami Tekstil. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 8(2), 73. <https://doi.org/10.29103/jtku.v8i2.2683>
- Biologi, J. P. (2024). Biogenerasi. 10(1), 508–516.
- Candrasari D. Gt. A. R., Thamrin., & Arryati. (2018). Uji Fitokimia Pada Bagian Kulit Batang Pohon Pulai (*Alstonia scholaris*). *Jurnal Sylva Scientae*. 01(2), 233-242.
- Dimensi, B., Cara, K., Tradisional, O., & Penggunaan, K. C. (2024). 1, 2, 3. 3(2), 83–94.
- Diniarti A.F., Kasasiah A., & Hilmi L.I. (2022). Uji Resistensi *Escherichia coli* Dari Sumber Air Baku Di Karawang Terhadap Antibiotik Siprofloksasin. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 4(3), 414-429.
- Elza. (2023). Review : Analisis Cemarkan Mikroba (*Coliform*, *Escherichia coli*) Pada Makanan Dan Minuman Di Pasaran. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 1(1), 21–39. <https://doi.org/10.5455/mnj.v1i2.644>
- Emelda A., Yuliana, D., Maulana, A., Kurniawati, T., Utamil, Y. W. M., & Novianti, L. (2023). Gambaran Penggunaan Antibiotik Pada Masyarakat Di Pasar Niaga Daya Makassar. *Indonesian Journal of Community Dedication (IJCD)*. 5(1), 13-18.
- Fadrian. (2023). Antibiotik Infeksi Dan Resistensi, Andalas University Press.
- Faridah., Jayuska A., & Ardiningsih P. (2022). Aktivitas Antibakteri Isolat Jamur Endofit Dari Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp & Endl.) H. Robb) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pharmacon*. 11(2), 1481-1487.
- Fatimawali. (2022). Antibacterial Activity Test of Ethanol Extraction From Jamaican. *Pharmacy Medical Journal*, 5(1), 36–44.
- Febriani, Y., Ansyah, A., Razali, M., & Margata, L. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Forte Journal*, 4(1), 225–231. <https://doi.org/10.51771/fj.v4i1.791>
- Fitriana N.A.Y., Fatimah N.A.V., & Fitri S.A. (2019). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Jurnal Sainteks*. 16(2), 101-108.
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2020). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2), 101–108. <https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>
- Geofani C., Dianita S.P., & Septianingrum N.A.M.I. (2022). Literature review: efektivitas daya hambat antibakteri tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *S.aureus* dan *E.coli*. *Jurnal Borobudur Pharmacy Review*. 2(2), 36-49. <https://doi.org/10.31603/bphr.v2i2.6699>
- Grenvilco DO, Kumontoy, Djefry D, T. M. (2023). Vol. 16 No. 3 / Juli - September 2023. Pemanfaatan Tanaman Herbal Sebagai Obat Tradisional Untuk Kesehatan Masyarakat Di Desa Guaan Kecamatan Mooat Kabupaten Bolaang Mongondow Timur, 16(3), 1–20.
- Handayani, I., Syahputra Siregar, I., & Gusmita, R. (2022). FaktorFaktor Yang Mempengaruhi Kejadian Diare Pada Balita Di Rumah Sakit Umum Delia Kabupaten Langkat. *JINTAN: Jurnal Ilmu Keperawatan*, 2(2), 160–167. <https://doi.org/10.51771/jintan.v2i2.346>
- Handayani, Y. T., Biadi, S. D., Rahmawati, S., Pebrian, A., Saputra, T. B., & Tisnawan, T. (2023). Formulasi Sediaan Balsam Dari Ekstrak Tanaman Kencur. *Indonesian Journal of Health Science*, 3(2a), 192–198. <https://doi.org/10.54957/ijhs.v3i2a.455>
- Handoyo Y.L.D. (2020). Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan

- Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle). *Jurnal Farmasi Tinctura*. 2(1), 34-41.
- Handoyo Y.L.D. (2020). Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*. 1(2),45-54.
- Hasriyani, H., Zulfa, A., Anggun, L., & Murhayati, R. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Lada Hitam (*Piper nigrum* L) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 5(2), 14. <https://doi.org/10.26751/ijf.v5i2.1172>
- Hasriyani., Zulfa A., Anggun L., & Murhayati R. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Lada Hitam (*Piper Nigrum* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Indonesia Jurnal Farmasi*. 5(2),14-18.
- Hayon K.F.M., Supriningrum R., & Fatimah N. (2023). Identifikasi Jenis Saponin Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Batang Sekilang (*Embelia borneensis* Scheff.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 Dan *Streptococcus mutans* ATCC25175. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 5(2), 258-272.
- Imawati, M. F., Indriasari, C., & Azsrina, G. N. (2023). Studi Variasi Metode Pengeringan Terhadap Skrining Fitokimia Simplisia Krokot Magenta (*Portulaca grandiflora*). *Jurnal Mahasiswa Ilmu Farmasi dan Kesehatan*, 1(3), 181–188.
- Inanta S.N., Bhernama G.B., & Musiem. (2023). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Dari Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Amina*. 5(3), 127-140.
- Indarto., Narulita W., Anggoro S.B., & Novitasari A. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Jurnal Tadris Biologi*. 10(1),67-78.
- Istini. (2020). Pemanfaatan Plastik Polipropilen Standing Pouch Sebagai Salah Satu Kemasan Sterilisasi Peralatan Laboratorium. *Indosian Journal Of Laboratory*. 2(3), 41-46.
- Jiwintarum Y., Srigele L., Diarti W.M., & Mardiyah R. (2024). Analisis Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Poltekkes Manado*. 16(2), 68-75.
- Kala, P. R., & Putri, R. (2024). Uji Efikasi Granulasi Ekstrak Ethanol Daun Pule Dan Bunga Pule (*Alstonia Scholaris*) Terhadap Larva *Aedes Aegypti* Sebagai Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD). 1(5), 359–370.
- Kapisa, N. E., Timbowo, S. M., & Mewengkang, H. W. (2016). Bakteri *Escherichia coli* Pada Air Pencuci Ikan Di Pasar Bahu Manado. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 4(1), 48–50. <https://doi.org/10.35800/mthp.4.1.2016.6858>
- Karim A., Ma'aruf D., & Haeruddin R. (2024). Uji Efektivitas Fraksi Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) dari Kabupaten Takalar Sebagai Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Pelamonia/Journal Pharmacy Of Pelamonia*. 4(2), 97-102.
- Khmaissa M., Mechichi Z.H., Sciara G., Record E., & Mechichi T. (2024). Polusi Dari Antibiotik Peternakan Merupakan Masalah Lingkungan dan Kesehatan Manusia Yang Muncul. *Jurnal Kemajuan Bahan Berbahaya*. 14(10), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2024.100410>.
- Khoiriyah S., Pradana, A., & Kurniawan, I. (2025). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Riset Ilmu Kesehatan Umum dan Farmasi*, 3(1), 193-202. <https://doi.org/10.57213/jrikuf.v3i1.587>.
- Klau, M. L. C., Indriarini, D., & Nurina, R. L. (2021). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Secara in Vitro. *Cendana Medical Journal (CMJ)*, 9(1), 102–111. <https://doi.org/10.35508/cmj.v9i1.4942>
- Kulla, P. D. K., & Herrani, R. (2022). The Test of Antibacterial Activity of Lanang Garlic (*Allium sativum* L.) Extract on the Growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria. *Journal of Healthcare Technology and Medicine*, 8(2), 2615–109.
- Lisdewi A., Kallau H.G.N., & Detha R.I. A. (2023). Detection Of Antibiotics Resistant *Escherichia coli* In Water Sources From Poultry Farming Environments In Kelapa Lima District, Kupang City. *Jurnal Veteriner Nusantara*. 5(30), 1-14.
- Lisnawati., Hakim R.A., & Darsono V.P. (2023). Uji Aktivitas Antimikroba Sarang Burung Walet Putih (*Aerodramus fuciphago*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi Syifa*. 1(2),

- 54-58.
- Lobo N.M.A., Lidia, K., Nurina, L., & Indriarini, D. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Kunyit (*Curcuma longa* Linn.) Terhadap Pertumbuhan *E. coli*. *Indonesian Natural Research Pharmaceutical Journal*, 9(1), 49-57.
- Lucitania Floreca Mokos, Indriati A. Tedju Hinga, & Landi, S. (2023). Hubungan Gaya Hidup terhadap Kasus Penyakit Infeksi Saluran Kemih (ISK) pada Wanita di Puskesmas Oebobo Kota Kupang Tahun 2022. *SEHATMAS: Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat*, 2(2), 368–379. <https://doi.org/10.55123/sehatmas.v2i2.1638>
- Mahdi N., Susanti, S., Agustina, A., & Mukhlis, R.Z.A. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bintaro (*Cerbera odollam*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi Klinis dan Sains Bahan Alam*, 4(1), 33-40. [doi.10.29408/sinteza.v4i1.21431](https://doi.org/10.29408/sinteza.v4i1.21431).
- Malahayati, U. (2024). Formulasi Dan Evaluasi Fisikokimia Sediaan Face Mist Ekstrak Kulit Jeruk Sunkist (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). 3(1), 129–145.
- Maria Ulfa, A. S., Emelda, E., Munir, M. A., & Sulistyani, N. (2023). Pengaruh Metode Ekstrak Maserasi Dan Sokletasi Terhadap Standarisasi Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.36387/jifi.v6i1.1387>
- Marsah S.P.U., Ramandha P.E.M., & Pratiwi H.Y.B. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Gemitir (*Tagetes erecta* Linn.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *BIOCITY Journal of Pharmacy Bioscience and Clinical Community*. 3(1), 21-30.
- Mayor, J., & Wattimena, L. (2022). Pemanfaatan Pohon Pulai (*Alstonia Scholaris*) Oleh Masyarakat Kampung Puper Distrik Waigeo Timur Kabupaten Raja Ampat. *J-MACE Jurnal Penelitian*, 2(1), 68–81. <https://doi.org/10.34124/jmace.v2i1.18>
- Nasri, N., Kaban, V. E., Gurning, K., Syahputra, H. D., & Satria, D. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* Linn.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *INSOLOGI: Jurnal Sains dan Teknologi*, 1(3), 252–259. <https://doi.org/10.55123/insologi.v1i3.438>
- Nilna, F. N. M., Muyassaroh, Azizah, W., & Sabrina, M. (2021). Pengaruh Variasi Suhu Dan Waktu Pengerinan Pada Pembuatan Enzim Papain Dari Ekstrak Daun Pepaya. *jurnal ATMOSPHERE*, 2(2), 15–21. <https://doi.org/10.36040/atmosphere.v2i2.4287>
- Nurhamidin, S. J., Wewengkang, D. S., & Suoth, E. J. (2022). Uji Aktivitas Ekstrak dan Fraksi Organisme Laut Spons *Aaptos aaptos* Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*. *Pharmacon– Program Studi Farmasi, Fmipa, Universitas Sam Ratulangi*, 11(1), 1285–1291.
- Nurul A., Setiawan I., Yusa D., Trisna D., Halisa N., Putri O., Ekawati O., Umi Y., & Fanya Z. (2023). Tinjauan Artikel: Uji Mikrobiologi. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*. 12(2), 31–36.
- Nurul, A., Setiawan, I., Yusa, D., Trisna, D., Halisa, N., Putri, O., Ekawati, O., Umi, Y., & Fanya, Z. (2023). Tinjauan artikel: Uji mikrobiologi article review: Mikrobiological test. *Journal of Pharmacy*, 12(2), 31–36.
- Oktaviani P., Fu'adah, T. I., Winarni, G., & Hasanah, N. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Cempedak (*Artocarpus integer*) Dengan Metod Difusi Sumuran Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Prosiding SEMELITMAS: Diseminasi Penelitian Pengabdian Masyarakat*, 1(1), 390-398.
- Pangondian, A., Athaillah, A., Chandra, P., & Renaldi, R. (2023a). Edukasi Pemanfaatan Pengawetan Bahan Alam Dengan Metode Simplisia Pada Siswa SMP Pahlawan Medan. *Jukeshum: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 3(2), 291–295. <https://doi.org/10.51771/jukeshum.v3i2.651>
- Pangondian, A., Athaillah, Chandra, P., & Renaldi, R. (2023b). Sasaran Pengabdian Edukasi Pengawetan Bahan A ; lat dengan Metode Simplisia yang. *Jurnal pengabdian masyarakat*, 3(2), 291–295.

- Pawestri W., Satria D.G., Hakimah N., & Yudhabuntara D. (2019). Deteksi Kejadian Residu Tetrasiklin Pada Daging Ikan Nila Di Kota Yogyakarta Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Jurnal Sains Veteriner*. 185-192. doi: 10.22146/jsv. 34463.
- Pharmacy, J., & Science, H. (2021). *PharmaCine*. 02, 11–21. pISSN:2355-7583eISSN:2549-4864.<http://ejournalmalahayati.ac.id/index.php/kesehatan>. (2024). 11(1), 48–56.
- Pratiwi, R. H., Sulistyaniningsih, E., Jepri, J., Nadeak, T. E., & Putri, L. N. (2024). Edukasi Karakteristik dan Penggunaan Antibiotik untuk Pengobatan Keluarga. *Jurnal Nusantara Berbakti*, 2(1), 131–137.
- Purwaningsih D., & Wulandari D. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) Terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 5(1), 1-7. doi: 10.24002/biota.v5i1.3077.
- Purwanitningsih E., & Lestari D. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe Pinnata* (Lam)) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi* Dengan Metode Kirby Bauer. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 12(2), 142-148. <https://doi.org/1037012/jik.v12i2.193>.
- Puspitasari C.A., Putri A.A.N., Ardiansyah R.M., Firmaniar R., Qurrotul Z., & Aini. (2023). Gambaran Tingkat Pengetahuan Penggunaan Obat Tetrasiklin Tanpa Resep Dokter di Kelurahan Bangselok Kabupaten Sumenep. *Jurnal Indonesia Sehat: Healthy Indonesian Journal*. 2(3), 141-145.
- Puspitasari, A. D., & Sari, W. N. (2023). Perbandingan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Umbi Wortel (*Daucus carota* L.) pada Berbagai Metode Ekstraksi. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 1, 28. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v0i1.9372>
- Rahayu, W. P., Nurjanah, S., & Komalasari, E. (2018). *Escherichia coli: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko*. IPB Press, 1–151.
- Rahmadhani, F. A., Maya, P. P., Dewi, A. R., & Suryandari, A. S. (2023). Skrining Fitokimia Disinfektan Alami Dari Ekstrak Etanol Daun Pulai (*Alstonia Scholaris*). *DISTILAT: Jurnal Teknologi Separasi*, 8(1), 280–286. <https://doi.org/10.33795/distilat.v8i1.326>
- Risman Tunny, Anatje J. Pattipeilohy, & Nursaripa A. Rahayaan. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pohon Pulai (*Alstonia Scholaris* L. R. BR) Asal Desa Tulehu Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 2(1), 138–144. <https://doi.org/10.55606/jikki.v2i1.1153>
- Rizki A.S., Latief M., Fitriyaningsih., & Rahman H. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, Dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *JMJ, Special Issues* .442-457.
- Rumalolas, M., Kotala, S., & AF, A. N. A. (2024). Antibacterial Activity of Endophytic Fungi Isolated from Pulai Leaves (*Alstonia scholaris*). *Jurnal Biologi Tropis*, 24(1), 85–91. <http://dx.doi.org/10.29303/jbt.v24i1.6370>
- Rusli., Amin A., & Bani A.A. (2023). Pengaruh Variasi Konsentrasi Medium Pertumbuhan Dan Identifikasi Bakteri Pembentuk Biofilm Oral. *Jurnal Berkala Ilmiah Kedokteran*. 6(2), 16-23.
- Sa'adah H., Pristanti R., & Warnida H. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Sembung (*Blumea balsamifera* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 6(1), 49-62.
- Saerang F.M., Edy J.H., & Siampa P.J. (2023). Formulasi Sediaan Krim Dengan Ekstrak Etanol Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Pharmacon*. 12(3), 350-357.
- Saputera A.M.M., Marpaung A.W.T., & Ayuchecaria N. (2019). Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Melalui Metode Sumuran. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 5(2), 167-173.
- Sari P.I., Ulvia R., & Pratama P.N. (2024). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*). *Jurnal Ilmiah Farmasi Attamru*. 5(2), 100-113.
- Seldiano A., Ratnasari, D., & Tiadeka, P. (2021). Sistem Penyimpanan Obat Di Apotek Kimia Farma

- GKB. (Journal of Herbal, Clinical and Pharmaceutical Sciences). 2(2), 22-30. doi:10.30587/herclips.v2i02.2549.
- Simanjuntak A.H., Simanjuntak H., Maimunah S., Rahmiati., & Situmorang S.T. (2022). Diameter Zona Hambat Antibiotik Amoxicillin dan Tetracycline terhadap *Escherichia coli*. *Herbal Medicine Journal*. 5(2), 19-23.
- Simanjuntak, H. A., Simanjuntak, H., Maimunah, S., Rahmiati, R., & Situmorang, T. S. (2022). Diameter Zona Hambat Antibiotik Amoxicillin dan Tetracycline terhadap *Escherichia coli*. *Herbal Medicine Journal*, 5(2), 55–59. <https://doi.org/10.58996/hmj.v5i2.52>
- Soesanto, S. (2024). Antibiotik Penghambat Sintesis Dinding Sel Mikroba.
- Sulastri, S., Purnamasari, D. K., & Sumiati, S. (2023). Pemanfaatan Kompor Listrik Rumah Tangga Sebagai Pengganti Penangas Air Pada Analisis Kadar Lemak Metode Soxhlet. *Jurnal Sains Teknologi & Lingkungan*, 9(1), 105–112. <https://doi.org/10.29303/jstl.v9i1.414>
- Sulfiana., Astuty E., Nindatu M., & Taihutu MJ.Y. (2020). Efek Antibakteri Ekstrak Metanol Daun Tumbuhan Pulau (Alstonia sp.) yang Dimanfaatkan Masyarakat Pulau Moa Kabupaten Maluku Barat Daya terhadap Bakteri *E. coli*, *Salmonella* sp, dan *S. Aureus*. *Jurnal Celebes Biodiversitas*. 3(2), 40-44.
- Sulowati A., & Nur'aini S.N. (2024). Standarisasi Mutu Serbuk Simplisia Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.). *Jurnal Analisis Farmasi*. 9(2), 92-102.
- Syarifuddin, R. N., AR, T., & Nurwidah, A. (2021). Identifikasi Senyawa Kimia pada Tanaman Pulau (*Alstonia scholaris*) Sebagai Pestisida Nabati untuk Pengendali Hama. *Jurnal Galung Tropika*, 10(1), 40–47. <https://doi.org/10.31850/jgt.v10i1.701>
- Tatar Bonar Silitonga. (2024). Jurnal abdi masyarakat vokasi (amarasi). 1(1), 50–55.
- Test, P., Traditional, O., Plants, M., Are, W., Used, F., The, B., Of, P., District, P., Regency, C., Purwanti, I., Ramadhan, M. F., Mutriph, S., Studi, P., Sekolah, F., Ilmu, T., & Serulingmas, K. (n.d.). Uji Fitokimia Tanaman Obat Tradisional Yang Sering Digunakan Oleh Masyarakat Desa Bulupayung Kecamatan Patimuan Kabupaten Cilacap. 1–9.
- Tivani I., Amananti W & Putri R.A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Hansdwas Ekstrak Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 7(1), 86-91.
- Tunny R., Pattipeilohy J.A., & Rahayaan A.N. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Pohon Pulau (*Alstonia Scholaris* L. R. BR) Asal Desa Tulehu Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 2(1), 138-144.
- Utomo B.S., Fujiyanti M., Lestari P.W., & Mulyani S. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa C-4-Metoksifenilkaliks[4]Resorsinarena Termodifikasi Hexadecyl Trimethylammonium-Bromide Terhadap Bakteri *Staphylococcus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*. 3(3), 201-209. doi: 10.20961/jkpk.v3i3.22742.
- Wahyuningsih S.A., Gunarti S.N., Fikayuniar L., & Fajriyani A. (2023). Uji Organoleptik dan Mikrobiologi Air Minum Isi Ulang Di Sekitar UBP Karawang. *Open Journal Systems*. 17(9), 2199-2206.
- Wandira, A., Cindiansya, Rosmayati, J., Anandari, R. F., Naurah, S. A., & Fikayuniar, L. (2023). Menganalisis Pengujian Kadar Air Dari Berbagai Simplisia Bahan Alam Menggunakan Metode Gravimetri. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 9(17), 190–193.
- Wardani R.M., & Hairani R.E. (2023). Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Batang Bajakah (*Lour.*) Merr.) Terhadap *Artemiasalina* L. *Jurnal Kimia*. 63-68.
- Wendersteyt V.N., Wewengkang S.D., & Abdullah S.S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* Dan *Candida albicans*. *Journal Pharmacon*. 10(1), 706-712.
- Wulandari S., Sari, K.D., Handayani, D., Pertiwi, R., Rahmawati, R., & Putri, H.Y. (2023). Pencegahan Resistensi Melalui Sosialisasi Bijak Menggunakan Antibiotik Pada Masyarakat Di Kawasan Wisata Pantai Panjang. *Journal of Community Empowerment*. 1(1), 1-5.
- Wulansari, D., Rahmi, S. L., Fiardilla, F., & Ningsih, S. (2023). ORGANOLEPTIK TEST

EFFERVESCENT POWDER PULAI LEAVES (*Alstonia scholaris* (L.) R.BR. Jurnal Pengembangan Agroindustri Terapan, 2(1). <https://doi.org/10.25181/jupiter.v2i1.2878>.

Yuliarni, F. F., Ayu Puji Lestari, K., Kun Arisawati, D., Dwi Winda Sari, R., & Ratna K., K. (2022). Ekstraksi Jamur *Auricularia* Dengan Menggunakan Pelarut Etanol Dan Metanol. Jurnal Teknologi Technoscientia, 14(2), 129–137. <https://doi.org/10.34151/technoscientia.v14i2.3637>.