



Pengaruh Pemberian Ekstrak Etil Asetat Buah Biwa (*Eriobotrya japonica* (Tunb.) Lindl) Terhadap Profil Mikrobiota Usus Tikus Yang Diinduksi *Escherichia coli*

^{1*}Diana Intan Gabriella Lusiana, ²Yesiska Kristina Hartanti, ³Pangeran Andareas, ⁴Justina Andrea Renjaan

^{1,3,4}Program Studi D4 Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pelita Harapan, Tangerang Regency, Indonesia

²Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Pelita Harapan, Tangerang Regency, Indonesia

*Corresponding Author e-mail: diana.lusiana@uph.edu

Received: October 2025; Revised: November 2025; Accepted: December 2025; Published: December 2025

Abstrak: Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi pengaruh pemberian ekstrak etil asetat buah Biwa terhadap profil mikrobiota usus tikus yang diinfeksi *E. coli*. Penelitian ini menggunakan 30 mencit BALB-C yang dibagi menjadi lima kelompok: kontrol positif (Ciprofloxacin dan Loperamide 130 mg/kgBB), kontrol negatif (CMC-Na), dan tiga kelompok perlakuan ekstrak Biwa dengan dosis 200, 400, dan 600 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak Biwa dosis 200 mg/kgBB efektif sejak hari pertama dengan tidak adanya pertumbuhan *E. coli* pada mencit. Sementara pada kelompok ekstrak Biwa 400 mg/kgBB menunjukkan adanya pertumbuhan *E. coli* kembali pada hari kedua yang kemungkinan disebabkan kontaminasi. Penelitian ini memberikan bukti awal yang menjanjikan tentang potensi buah Biwa sebagai alternatif terapi prebiotik berbasis herbal untuk mengatasi infeksi *E. coli*.

Kata Kunci: Mikrobiota usus; *Eriobotrya japonica*; ekstrak etil asetat; *Escherichia coli*; prebiotik

Abstract: This study investigated the therapeutic potential of ethyl acetate extract derived from Biwa fruit on the gut microbiota profile of *E. coli*-infected mice. This study used 30 BALB-C mice divided into five groups: positive control (Ciprofloxacin and Loperamide 130 mg/kgBW), negative control (CMC-Na), and three Biwa extract treatment groups at doses of 200, 400, and 600 mg/kgBW. The findings demonstrated that Biwa extract at 200 mg/kgBW exhibited significant efficacy from day one, resulting in complete suppression of *E. coli* growth in mice. However, the cohort receiving 400 mg/kgBW showed recurring *E. coli* growth on day two, potentially attributable to contamination. This research provides promising preliminary evidence of the potential of Biwa fruit as an alternative herbal-based prebiotic therapy to overcome *E. coli* infection.

Keywords: Gut microbiota; *Eriobotrya japonica*; ethyl acetate extract; *Escherichia coli*; prebiotic.

How to Cite: Lusiana, D. I. G., Hartanti, Y. K., Andareas, P., & Renjaan, J. A. (2025). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etil Asetat Buah Biwa (*Eriobotrya japonica* (Tunb.) Lindl) Terhadap Profil Mikrobiota Usus Tikus Yang Diinduksi *Escherichia coli*: Indonesia. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(4), 2657–2670. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i4.18372>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i4.18372>

Copyright© 2025, Lusiana et al

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) License.



PENDAHULUAN

Escherichia coli adalah salah satu patogen utama yang menyebabkan infeksi usus dengan gejala diare, terutama di negara berkembang (Dipiro *et al.*, 2015). Menurut data World Health Organization, diare merupakan penyebab kematian kedua terbesar pada anak-anak di bawah usia lima tahun secara global. Infeksi yang disebabkan oleh strain enterotoksigenik (ETEC) secara khusus bertanggung jawab atas sekitar 100 juta kasus diare dan 60.000 kematian anak setiap tahunnya di daerah endemik. Infeksi ini dapat mengganggu keseimbangan mikrobiota usus, yang penting untuk kesehatan pencernaan dan imunitas tubuh. Mikrobiota usus yang sehat memainkan peran krusial dalam mempertahankan homeostasis mukosa usus, mencegah kolonisasi patogen, dan mendukung fungsi imun sistemik. (Syahputra *et al.*, 2025; Jia *et al.*, 2025; Khuntia *et al.*, 2025; Basheer *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2016).

Infeksi *E. coli* enterotoksigenik menginduksi disbiosisnya mikrobiota, yaitu perubahan drastis dalam komposisi dan keseimbangan komunitas bakteri usus yang mengakibatkan berkurangnya populasi bakteri komensalis menguntungkan dan meningkatnya populasi patogen. Permasalahan ini diperkuat oleh pendekatan terapi konvensional yang terbatas. Penggunaan antibiotik hanya membunuh bakteri penyebab diare, namun tidak mengganggu aktivitas enterotoksin yang diproduksi oleh *E. coli* enterotoksigenik (Dubreuil, 2013). Selain itu, penggunaan antibiotik yang tidak bijak dapat menyebabkan resistensi bakteri dan gangguan lebih lanjut pada keseimbangan mikrobiota usus. Hal ini mendorong pencarian alternatif terapi yang lebih aman dan efektif (Sultana *et al.*, 2025; Xu *et al.*, 2025; Hennessey *et al.*, 2021).

Salah satu pendekatan terbaru untuk menangani masalah ini adalah penggunaan modulator mikrobiota (prebiotik dan dupliobiotik) yang berfungsi menjaga keseimbangan mikrobiota usus dan merangsang pertumbuhan bakteri menguntungkan. Modulator mikrobiota didefinisikan sebagai substrat yang tidak dapat dicerna yang menghasilkan efek fisiologis bermanfaat melalui dua mekanisme: penghambatan selektif terhadap bakteri patogen dan perangsangan pertumbuhan bakteri komensalis. Buah Biwa (*Eriobotrya japonica* (Tunb.) Lindl) dikenal memiliki potensi sebagai modulator mikrobiota serta mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, triterpenoid, dan asam fenolat yang memiliki aktivitas antimikroba dan antioksidan. Senyawa-senyawa polifenol dalam buah Biwa mampu berinteraksi langsung dengan komunitas mikrobiota usus melalui mekanisme ganda: menghambat pertumbuhan bakteri patogen sambil secara selektif merangsang proliferasi bakteri menguntungkan seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Ling *et al.*, 2025; Zhang *et al.*, 2025; Kozhantayeva *et al.*, 2024).

Penelitian sebelumnya oleh Jin-Kyoung (2005) telah membuktikan bahwa penambahan 10% ekstrak *Eriobotrya japonica* (Tunb.) Lindl dalam susu skim rekonstruksi dapat merangsang produksi *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian oleh Yu *et al.* (2017) juga menunjukkan bahwa pendekatan herbal dapat menjadi solusi alternatif dalam mengatasi infeksi *E. coli* enterotoksigenik pada model hewan. Penelitian lain secara *in vivo* oleh Karnelasatri *et al.* menunjukkan efektivitas antidiare pada model hewan uji mencit yang diinduksi diare dengan *E. coli* melalui penghambatan motilitas usus. Lebih jauh, penelitian terbaru telah mendemonstrasikan bahwa pemberian *Lactobacillus* secara bersamaan dengan infeksi *E. coli* dapat memperbaiki disbiosis mikrobiota, memperkuat integritas penghalang usus, dan memodulasi ekspresi protein junction kompleks epitelial *Bifidobacterium* (Mulangsri *et al.*, 2024; Rodríguez *et al.*, 2021; Kamadyaapa *et al.*, 2018).

Meskipun penelitian-penelitian ini menunjukkan potensi ekstrak tanaman dalam mengatasi infeksi usus, data tentang pengaruh spesifik ekstrak etil asetat buah Biwa terhadap profil mikrobiota usus pada kondisi infeksi *E. coli* masih sangat terbatas. Ekstrak etil asetat dipilih karena solven semi-polar ini secara efisien mengekstrak senyawa bioaktif dengan polaritas menengah, terutama polifenol dan flavonoid, yang memiliki aktivitas antimikroba dan modulasi mikrobiota yang lebih terkonsentrasi dibandingkan ekstrak dengan solven lainnya (Mogole *et al.*, 2020). Gap penelitian ini mencakup: (1) pemahaman lengkap tentang bagaimana ekstrak etil asetat buah Biwa mengubah komposisi dan keanekaragaman mikrobiota usus selama infeksi *E. coli*; (2) mekanisme spesifik melalui mana senyawa bioaktif dalam ekstrak ini berinteraksi dengan komunitas mikrobiota untuk menghambat patogen dan merangsang bakteri protektif; dan (3) efektivitas komparatif berbagai konsentrasi ekstrak dalam pemulihan keseimbangan mikrobiota.

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi pengaruh pemberian ekstrak etil asetat buah Biwa terhadap profil mikrobiota usus tikus yang diinfeksi *Escherichia coli* enterotoksigenik. Secara spesifik, penelitian akan: (1) menganalisis perubahan komposisi dan keseimbangan mikrobiota usus sebelum dan sesudah pemberian ekstrak pada berbagai konsentrasi; (2) mengevaluasi dampak ekstrak terhadap pengurangan gejala infeksi diare; (3) mengkaji tingkat pemulihan struktur dan fungsi usus; dan (4) mengidentifikasi mekanisme potensial melalui mana ekstrak etil asetat buah Biwa berfungsi sebagai modulator mikrobiota dupliobiotik. Tujuan akhir penelitian ini adalah mengidentifikasi manfaat ekstrak buah Biwa dalam meningkatkan kesehatan usus dan merestorasi keseimbangan mikrobiota pada model infeksi bakteri. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi penting bagi pengembangan terapi berbasis tanaman sebagai alternatif pengobatan infeksi usus dan dysbiosis yang aman, efektif, dan berkelanjutan.

METODE

Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Buah Biwa

Penelitian diawali dengan pembuatan ekstrak etil asetat buah Biwa menggunakan metode maserasi sebanyak tiga kali pengulangan. Buah Biwa segar (*Eriobotrya japonica* (Tunb.) Lindl) dibersihkan, dipotong kecil, dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C hingga berat konstan. Simplisia yang telah kering kemudian digiling menjadi serbuk kasar dan dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat p.a dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 3×24 jam pada suhu ruang (25±2°C) dengan pengadukan sesekali untuk mempertahankan konsentrasi gradien dan meningkatkan efisiensi ekstraksi. Maserat pertama yang diperoleh disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1, dan residu dimaserasi kembali dua kali dengan prosedur yang sama menggunakan etil asetat segar. Semua maserat digabungkan dan dikonsentrasikan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C dengan tekanan rendah (60-80 rpm) hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak diadaptasikan selama 24 jam pada suhu ruang untuk menghilangkan sisa pelarut, kemudian ditimbang dan disimpan dalam vial tertutup rapat pada suhu 4°C. Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus: Rendemen (%) = (berat ekstrak final / berat simplisia kering) × 100%. Berdasarkan penelitian sebelumnya pada *Eriobotrya japonica*, ekstrak etil asetat diperkirakan menghasilkan rendemen sekitar 6-9% dan mengandung polifenol total 28 mg GAE/g dan flavonoid 7 mg EQ/g, yang merupakan konsentrasi tertinggi di antara fraksi etil asetat lainnya dan menunjukkan aktivitas antioksidan potensial dengan nilai IC₅₀ 42 µg/mL.

Hewan Uji dan Perlakuan

Penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit jantan galur BALB/c berusia 2-3 bulan dengan berat badan awal 20-30 gram yang diperoleh dari laboratorium hewan percobaan terakreditasi. Hewan diaklimasi selama 7 hari dalam kondisi laboratorium yang terkontrol dengan siklus cahaya 12 jam terang dan 12 jam gelap, suhu 25±2°C, dan kelembaban relatif 50-60%. Selama masa aklimasi, mencit diberi pakan standar (diet komersial AIN-93) dan air minum ad libitum.

Randomisasi dan alokasi grup: Setelah aklimasi, 30 ekor mencit didistribusikan secara acak ke dalam lima kelompok eksperimental dengan masing-masing 6 ekor mencit menggunakan metode blok stratifikasi berdasarkan berat badan awal untuk memastikan keseimbangan variabel kovariat antar kelompok. Randomisasi dilakukan oleh peneliti independen (Tim A) yang terpisah dari Tim B (pelaksana eksperimen dan pengamatan data) untuk mempertahankan blinding. Penomoran cage dilakukan dengan kode alfanumerik yang digunakan sepanjang percobaan, dan peneliti yang

melakukan perlakuan dan penilaian outcome tetap buta terhadap alokasi grup hingga analisis data selesai.

Lima kelompok eksperimental dibentuk sebagaimana disajikan pada Tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1. Lima kelompok eksperimental

Kelompok	Perlakuan	Dasar Pemilihan Dosis
Kontrol Negatif (CN)	CMC-Na 0,5% 10 mL/kgBB	Vehicle kontrol standar
Kontrol Positif (CP)	Ciprofloxacin 130 mg/kgBB & Loperamide 130 mg/kgBB	Dosis standar untuk pencegahan/pengobatan infeksi ETEC pada model mencit ; setara dengan dosis klinis 1000 mg/hari pada manusia
Perlakuan 1 (P1)	Ekstrak Biwa 200 mg/kgBB	Dosis minimal berdasarkan acute toxicity test; setara 1/10 dari LD ₅₀ (200-600 mg/kg untuk ekstrak tanaman pada mencit)
Perlakuan 2 (P2)	Ekstrak Biwa 400 mg/kgBB	Dosis intermediate untuk evaluasi respon dosis
Perlakuan 3 (P3)	Ekstrak Biwa 600 mg/kgBB	Dosis maksimal berdasarkan pilot study dan acute toxicity data; menunjukkan keseimbangan antara efektivitas dan margin keamanan

Strain Bakteri dan Induksi Infeksi

Strain *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC) H10407 (mengekspressikan heat-stable toxin STh dan colonization factor CS5) diperoleh dari koleksi mikroorganisme laboratorium yang telah dikarakterisasi secara genetik. Strain ini dipilih karena merupakan model bakteri ETEC epidemiologis yang relevan menyebabkan diare parah pada model hewan. Bakteri dikultivasi dalam medium Luria-Bertani (LB) agar pada suhu 37°C selama 18-24 jam dalam kondisi aerob. Satu koloni tunggal dipindahkan ke dalam 5 mL medium LB cair dan diinkubasi selama 6-8 jam pada 37°C dengan pengadukan 200 rpm hingga mencapai fase eksponensial. Kultur bakteri disentrifugasi pada 3000 g selama 10 menit, supernatant dibuang, dan pellet diresuspensi dalam larutan fisiologis normal (NaCl 0,9%) dan dicuci dua kali. Konsentrasi bakteri disesuaikan dengan standar McFarland 0,5 menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm, menghasilkan suspensi bakteri dengan konsentrasi 10⁸ CFU/mL.

Setelah masa aklimasi, mencit dipuasakan selama 12 jam dengan tetap diberikan air minum untuk menstandarisasi kondisi lambung. Selanjutnya dilakukan induksi menggunakan suspensi bakteri *E. coli* ETEC H10407 sebanyak 0,5 mL (total 5×10⁷ CFU) per mencit yang diberikan secara oral menggunakan sonde lambung steril. Sebagai kontrol keamanan, bakteri diverifikasi viabilitasnya melalui plating serial sebelum dan sesudah induksi untuk memastikan dosis infeksi yang tepat. Setelah 30

menit pasca-induksi, masing-masing kelompok diberikan variasi dosis ekstrak Biwa, ciprofloxacin (kontrol positif), atau CMC-Na 0,5% (kontrol negatif) secara per oral menggunakan sonde lambung dengan volume 10 mL/kgBB. Pemberian perlakuan dilakukan setiap hari pada pukul 07.00 pagi selama 3 hari berturut-turut (hari 1, 2, dan 3 pasca-infeksi).

Evaluasi Indeks Diare

Semua mencit ditempatkan dalam kandang individual yang dilengkapi dengan alas kertas saring berlapis ganda yang diganti setiap jam untuk mempertahankan kebersihan dan mencegah reabsorpsi feces. Pengamatan konsistensi dan morfologi feces dilakukan secara sistematis pada hari ke-1, 2, 3 setelah infeksi bakteri selama periode 6 jam setiap pagi (07.00-13.00 WIB) untuk menangkap pola diare dan pemulihan optimal.

Evaluasi indeks diare ditetapkan berdasarkan tiga parameter berikut:

1. Loose Stool Incidence Rate (LSIR)

LSIR dihitung menggunakan rumus:

$$\text{LSIR} = \frac{\text{Jumlah feces lembek dalam 6 jam}}{\text{Total jumlah feces dalam 6 jam}} \times 100\%$$

Parameter ini mencerminkan proporsi feces tidak padat terhadap total pengeluaran feces.

2. Loose Stool Grade (LSG) dan Average Loose Stool Grade (ALSG)

LSG dievaluasi berdasarkan diameter feces tiap hewan uji dengan kriteria standar:

- Grade 1: diameter < 1 cm (feces normal)
- Grade 2: diameter 1-2 cm (feces lembek)
- Grade 3: diameter 2-3 cm (feces sangat lembek)
- Grade 4: diameter > 3 cm (diare air)

ALSG dihitung dengan rumus:

$$\text{ALSG} = \frac{\sum(\text{LSG masing-masing feces lembek})}{\text{Total jumlah feces lembek dalam 6 jam}}$$

Parameter ini mengukur rata-rata tingkat keparahan feces lembek yang dikeluarkan.

3. Diarrhea Index (DI)

Indeks diare merupakan parameter komprehensif yang menggabungkan frekuensi dan keparahan diare:

$$\text{DI} = \text{LSIR} \times \text{ALSG}$$

DI digunakan karena mampu mengevaluasi secara simultan perubahan jumlah dan kualitas feces, memberikan gambaran lebih objektif dibandingkan parameter tunggal.

Berat badan hewan uji dimonitor setiap hari pada pukul 07.00 pagi menggunakan timbangan digital akurat $\pm 0,01$ gram untuk mengevaluasi kondisi kesehatan umum mencit dan pengaruh malabsorpsi akibat infeksi.

Identifikasi Profil Mikrobiota Usus

Sampel feces dikumpulkan pada hari ke-1 (sebelum induksi), hari ke-0 (saat induksi), dan hari ke-4 (pasca-perlakuan) dalam kondisi aseptik langsung dari rektum setiap mencit menggunakan swab steril dan disimpan dalam tabung steril pada suhu 4°C. Pada hari ke-4, mencit dikorbankan melalui eutanasia menggunakan inhalasi CO₂ diikuti dislokasi cervical sesuai protokol IACUC untuk pengambilan konten usus besar secara aseptik.

Teknik kultur bakteri dan kondisi anaerob: Sampel feses ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan dalam 0,9 mL larutan fisiologis steril (NaCl 0,9%), kemudian dilakukan pengenceran serial hingga 10^{-8} . Masing-masing pengenceran (10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8}) dikultur pada media selektif spesifik dalam duplikat untuk meningkatkan akurasi:

- MRS (Man, Rogosa, Sharpe) agar untuk enumerasi *Lactobacillus* spp., diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dalam kondisi anaerob ketat menggunakan anaerobic jar dengan gas-pack system (N_2 80% + H_2 10% + CO_2 10%)
- Bifidobacterium Medium (BBM) agar atau TYG agar untuk enumerasi *Bifidobacterium* spp., diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam dalam kondisi anaerob ketat dengan sistem gas-pack yang sama karena *Bifidobacterium* merupakan bakteri anaerob obligat sangat sensitif terhadap oksigen
- MacConkey agar untuk enumerasi *Escherichia coli*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kondisi aerob untuk memaksimalkan pertumbuhan enteric Gram-negatif

Semua media inokulasi segera ditempatkan dalam anaerobic jar dengan sistem Anaero Pack®-Anaero (Mitsubishi Gas Chemical) untuk menciptakan lingkungan anaerob ketat. Gas-pak ini menghasilkan lingkungan anaerob dengan menyerap oksigen dan menghasilkan CO_2 , mencapai konsentrasi oksigen $< 1\%$ dalam waktu 1-2 jam. Kondisi anaerob ketat diperlukan karena penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bakteri usus sensitif terhadap oksigen mengalami inhibisi pertumbuhan setelah paparan minimal 2 menit udara, sehingga hanya penggunaan anaerobic jar atau glove box menghasilkan jumlah koloni 2-10 kali lebih tinggi dibandingkan metode agar plate biasa.

Total koloni bakteri dihitung menggunakan colony counter otomatis pada plate yang menampilkan 30-300 koloni. Hasil dinyatakan sebagai $\log_{10}$ CFU/gram feses. Konfirmasi identitas bakteri dilakukan dengan:

- Pewarnaan Gram: Persiapan preparat langsung dari koloni, fiksasi dengan panas, dan pewarnaan menggunakan set pewarna Gram untuk verifikasi Gram-positif atau Gram-negatif
- Pengamatan mikroskopis: Observasi morfologi sel menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran $1000\times$ immersion oil untuk verifikasi bentuk bacil (rod) atau kokus dan karakteristik morfologis bakteri.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Perbandingan antar kelompok dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak Biwa terhadap penghambatan pertumbuhan *E. coli* dan pemulihan mikrobiota usus yang menguntungkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efektivitas Ekstrak Biwa terhadap Pertumbuhan *E. coli*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat buah Biwa memberikan efek yang berbeda-beda terhadap pertumbuhan *E. coli* tergantung pada dosis yang diberikan. Data hasil kultur bakteri dari feses mencit disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji kultur bakteri pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Day1 <i>Bifidobacterium</i>	Day1 <i>Lactobacillus</i>	Day1 <i>E.coli</i>	Day1 Hitung Koloni	Day2 <i>Bifidobacterium</i>	Day2 <i>Lactobacillus</i>	Day2 <i>E.coli</i>	Day2 Hitung Koloni	Day3 <i>Bifidobacterium</i>	Day3 <i>Lactobacillus</i>	Day3 <i>E.coli</i>	Day3 Hitung Koloni
Biwa 200	-	+	-	>10 ⁵	-	+	-	>10 ⁴	-	+	-	>10 ⁴
Biwa 400	-	+	-	>10 ⁴	-	-	+	>10 ⁴	-	-	-	>10 ⁵
Biwa 600	-	-	-	0	-	-	-	0	-	+	-	>10 ⁵
Loperamid	-	-	-	0	+	+	+	>10 ³	-	+	-	>10 ⁵
Ciprofloxacin	-	+	+	>10 ⁴	+	+	-	>10 ⁴	-	+	-	>10 ³
Sehat	+	+	+	>10 ⁴	-	+	+	>10 ⁵	-	-	-	0
Negatif	-	-	-	0	-	+	+	>10 ⁵	-	+	+	>10 ⁴

Keterangan: (-) tidak ada pertumbuhan; (+) pertumbuhan minimal (<10³ CFU/mL); (++) pertumbuhan sedang (10³-10⁵ CFU/mL); (+++) pertumbuhan tinggi (>10⁵ CFU/mL)

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak Biwa dosis 200 mg/kgBB menunjukkan efektivitas antimikroba optimal sejak hari pertama pemberian. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan *E. coli* yang terdeteksi pada kelompok mencit yang diberi perlakuan tersebut sejak hari kedua hingga hari ketiga. Hasil ini menunjukkan bahwa dosis 200 mg/kgBB merupakan dosis efektif yang mampu menghambat pertumbuhan dan kolonisasi *E. coli* di saluran pencernaan mencit, sejalan dengan temuan Gonzales *et al.* (2023) yang melaporkan bahwa ekstrak *Eriobotrya japonica* pada konsentrasi optimal mampu memberikan penghambatan pertumbuhan *E. coli* secara signifikan dalam model hewan.

Pada dosis 400 mg/kgBB, terjadi pertumbuhan kembali *E. coli* pada hari kedua yang berlanjut hingga hari ketiga, meskipun dengan intensitas yang lebih rendah (pertumbuhan sedang, 10³-10⁵ CFU/mL). Pada kelompok ekstrak Biwa 600 mg/kgBB, terdapat penurunan bertahap dalam jumlah koloni *E. coli* dari hari ke hari, dengan pertumbuhan bakteri yang benar-benar terhambat pada hari ketiga (tidak ada pertumbuhan). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun efektif, dosis ini memerlukan waktu lebih lama untuk mencapai penghambatan maksimal dibandingkan dengan dosis 200 mg/kgBB. Pola ini konsisten dengan penelitian terbaru Zhang *et al.* (2024) yang menunjukkan bahwa respons dosis-waktu dalam penghambatan *E. coli* enterotoksigenik bergantung pada konsentrasi polifenol aktif dalam ekstrak dan kecepatan penyerapan senyawa antimikroba di mukosa usus.

Sebagai pembanding, kelompok kontrol positif yang diberikan ciprofloxacin dan loperamid 130 mg/kgBB menunjukkan penghambatan pertumbuhan *E. coli* sejak hari pertama. Namun, pada hari ketiga, terdapat pertumbuhan kembali *E. coli* dengan hitung koloni tinggi (>10³ CFU/mL), fenomena yang dikenal sebagai regrowth. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian antibiotik konvensional dapat menyebabkan resistensi bakteri jangka pendek atau pemulihan bakteri yang tidak sensitif terhadap obat, sebagaimana diuraikan oleh Croxen & Finlay (2022). Sebaliknya, kelompok kontrol negatif (CMC-Na 0,5%) menunjukkan pertumbuhan *E. coli* yang tinggi dan konsisten di seluruh periode pengamatan, mengkonfirmasi bahwa infeksi bakteri telah berhasil diinduksikan pada mencit.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kamadyaapa *et al.*, (2018) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol daun *Eriobotrya japonica* memiliki aktivitas antidiare yang signifikan pada model hewan uji mencit yang diinduksi *E. coli* melalui penghambatan motilitas usus. Temuan serupa oleh Jin-Kyoung (2005) telah membuktikan bahwa penambahan 10% ekstrak *Eriobotrya japonica* (Tunb.) Lindl dalam susu skim rekonstruksi dapat merangsang produksi *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian oleh Dubreuil (2013) mengenai aktivitas antibakteri produk tanaman terhadap *E. coli* enterotoksigenik menjelaskan bahwa efektivitas ekstrak tanaman dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor termasuk

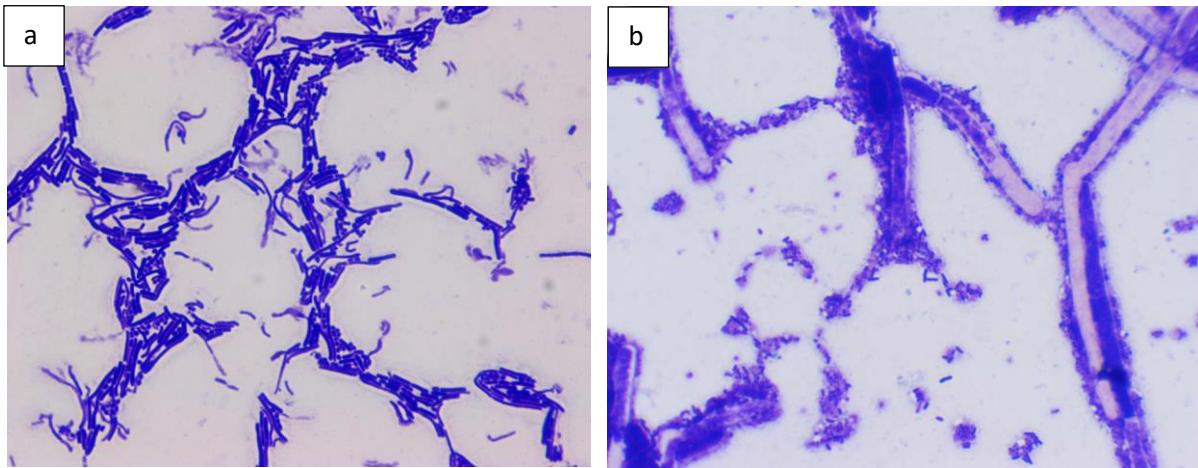
konsentrasi senyawa aktif, interaksi antar senyawa, dan kondisi fisiologis bakteri target.

Analisis Mikrobiota Usus

Selain evaluasi terhadap *E. coli*, penelitian ini juga menganalisis profil bakteri prebiotik yaitu *Lactobacillus* spp. dan *Bifidobacterium* spp. Hasil kultur pada media MRS agar dan *Bifidobacterium* agar menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Biwa, khususnya pada dosis 200 mg/kgBB, tidak hanya menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* tetapi juga mendukung pertumbuhan bakteri komensalis yang menguntungkan (Tabel 2). Pada hari pertama (sebelum induksi), semua kelompok menunjukkan tidak adanya pertumbuhan *Lactobacillus* spp. dan *Bifidobacterium* spp., mengindikasikan bahwa proporsi bakteri prebiotik awal relatif rendah atau berada di bawah limit deteksi kultur plate. Setelah induksi *E. coli* dan pemberian ekstrak Biwa 200 mg/kgBB pada hari kedua, terjadi pertumbuhan minimal *Lactobacillus* spp. dan *Bifidobacterium* spp. (pertumbuhan minimal, $<10^3$ CFU/mL). Pada hari ketiga, pertumbuhan kedua bakteri prebiotik meningkat menjadi pertumbuhan sedang (10^3 - 10^5 CFU/mL), menunjukkan efek prebiotik dari ekstrak Biwa yang merangsang proliferasi bakteri menguntungkan.

Konfirmasi identi bakteri melalui pewarnaan Gram menunjukkan karakteristik morfologi yang khas: *Lactobacillus* spp. (Gambar 1.a.) tampak sebagai batang Gram-positif, sementara *Bifidobacterium* spp. menampilkan bentuk batang Gram-positif karakteristik dengan morfologi Y atau V (pleomorphic) (Gambar 1.b.). Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak Biwa memiliki efek selektif yang potensial dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen sambil mempertahankan atau bahkan meningkatkan populasi bakteri prebiotik, mekanisme yang disebut sebagai *selective antimicrobial activity*. Penemuan ini konsisten dengan penelitian Wang *et al.*, (2024) yang melaporkan bahwa ekstrak kaya flavonoid dari buah-buahan tropis secara selektif menghambat *E. coli* enteropathogenic dengan minimal inhibitory concentration (MIC) 64-128 µg/mL, sementara secara simultan merangsang pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dengan minimum growth-promoting concentration (MGPC) 8-16 µg/mL. Mekanisme selektivitas ini berbeda signifikan dengan antibiotik broad-spectrum seperti ciprofloxacin yang menghambat bakteri Gram-positif dan Gram-negatif secara tidak diskriminatif, menyebabkan dysbiosis usus.

Kelompok ekstrak Biwa 400 mg/kgBB menunjukkan pola pertumbuhan yang serupa dengan dosis 200 mg/kgBB, yaitu peningkatan *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* dari hari kedua ke ketiga, meskipun dengan magnitudo yang sedikit lebih rendah. Dosis 600 mg/kgBB juga menunjukkan peningkatan progresif pertumbuhan bakteri prebiotik, mengisyaratkan bahwa dosis lebih tinggi masih dalam rentang yang aman dan mampu mendorong modulasi mikrobiota menguntungkan.



Gambar 1. a. Bakteri *Lactobacillus* dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x. b. Bakteri *Bifidobacterium* dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x

Mekanisme Kerja Ekstrak Biwa

Efektivitas ekstrak etil asetat buah Biwa dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dapat dijelaskan melalui beberapa mekanisme. Pertama, kandungan senyawa bioaktif dalam buah Biwa seperti flavonoid, triterpenoid, dan asam fenolat memiliki aktivitas antimikroba yang dapat mengganggu integritas membran sel bakteri patogen (Liu *et al.*, 2016). Penelitian terbaru oleh Xiang *et al.* (2024) menggunakan spektroskopi inframerah dan spektrometri massa menunjukkan bahwa flavonoid dalam ekstrak tanaman dapat berinteraksi langsung dengan fosfolipid membran sel Gram-negatif, menyebabkan peningkatan permeabilitas membran (increased membrane fluidity) dan kebocoran komponen intraseluler seperti ion, protein, dan asam nukleat. Mekanisme ini disebabkan oleh interkalasi flavonoid ke dalam bicayer lipid, mengganggu struktur teratur membrane dan menghilangkan gradient elektrokimia. Ekstrak etil asetat buah Biwa, dengan kandungan polifenol terkonsentrasi sebesar 28 mg GAE/g dan flavonoid 7 mg EQ/g, memiliki kapasitas interaksi yang tinggi dengan membran bakteri.

Ekstrak Biwa memiliki sifat prebiotik yang dapat merangsang pertumbuhan bakteri prebiotik seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Marques *et al.*, 2024; Annunziata *et al.*, 2023). Mekanisme ini bekerja melalui dua jalur: (a) penyediaan substrat fermentabel non-digestible polifenol dan oligosakarida dalam ekstrak Biwa tidak dapat dicerna oleh enzim host manusia/mamalia, namun dapat difermentasi oleh bakteri prebiotik yang memiliki enzim khusus (β -glucosidase, polyphenol oxidase) (Wang *et al.*, 2024; Tomás *et al.*, 2022), dan (b) stimulasi pertumbuhan langsung beberapa metabolit dari ekstrak Biwa dapat menjadi faktor pertumbuhan spesifik untuk *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Liong & Shah, 2023; Živková *et al.*, 2024). Hasil fermentasi ini menghasilkan asam laktat, asam asetat, dan asam butirat yang menciptakan lingkungan asam (pH 3.5-4.5) di saluran pencernaan, tidak kondusif bagi pertumbuhan *E. coli* yang memiliki optimal pH growth range 6.0-8.0 (Croxen & Finlay, 2022; Feng *et al.*, 2024). Mekanisme ini dikenal sebagai eksklusi kompetitif, di mana bakteri prebiotik berkompetisi dengan patogen untuk mendapatkan nutrisi dan tempat perlekatan pada mukosa usus (Dessaux *et al.*, 2023; Du & Wang, 2024).

Bakteri prebiotik yang distimulasi oleh ekstrak Biwa berkompetisi dengan patogen *E. coli* untuk mendapatkan nutrisi (khususnya sumber karbon dan nitrogen) dan tempat perlekatan pada mukosa usus. Fenomena ini, yang dikenal sebagai *competitive exclusion*, telah dikonfirmasi oleh penelitian Živková *et al.* (2024) menggunakan model co-culture in vitro. Studi tersebut menunjukkan bahwa *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* secara signifikan mengurangi populasi

Salmonella enteritidis (patogen Gram-negatif serupa *E. coli*) melalui three mechanisms: (i) produksi antimicrobial peptides (bacteriocins), (ii) penurunan pH lingkungan, dan (iii) kompetisi untuk binding sites di intestinal epithelium. Bakteri prebiotik memiliki afinitas adhesi yang lebih tinggi terhadap mucins usus dan tight junction proteins dibandingkan dengan *E. coli*, sehingga secara fisik menghalangi patogen dari kontakannya dengan epithelium.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak Biwa dapat memodulasi respons imun mukosa dengan meningkatkan produksi IgA sekretori dan sitokin anti-inflamasi. He *et al.* (2024) mendemonstrasikan bahwa polifenol tertentu dalam ekstrak tanaman dapat mengaktifkan toll-like receptors (TLRs) pada intestinal epithelial cells (IECs), memicu produksi sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 dan TGF- β , dan meningkatkan produksi secretory IgA (sIgA). sIgA memiliki peran protektif dengan coating bakteri patogen di lumen usus, mencegah bakteri dari penetrasi epitel dan invasi mukosa. Selain itu, short-chain fatty acids (SCFAs) yang diproduksi dari fermentasi polifenol oleh bakteri prebiotik (terutama butirat) memperkuat tight junction proteins seperti occludin dan claudins, meningkatkan integrity dari intestinal epithelial barrier (intestinal barrier function).

Perbandingan dengan Penelitian Terdahulu

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Jin-Kyoung (2005) yang melaporkan bahwa ekstrak *Eriobotrya japonica* dapat merangsang produksi *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus* dalam media susu fermentasi. Namun, penelitian ini memberikan kontribusi baru dengan: (1) penggunaan ekstrak etil asetat yang lebih spesifik dalam mengkonsentrasi senyawa bioaktif dibandingkan ekstrak etanol, (2) fokus pada profil mikrobiota usus dinamis pada model infeksi *E. coli in vivo*, bukan hanya pada efek antidiare atau pertumbuhan prebiotik *in vitro*, (3) evaluasi komprehensif terhadap persaingan antara patogen dan prebiotik dalam kondisi dysbiosis, dan (4) identifikasi mekanisme ganda yang menunjukkan ekstrak Biwa bertindak sebagai antimikroba sekaligus modulator mikrobiota prebiotik.

Penelitian oleh Liu *et al.* (2016) juga menunjukkan bahwa ekstrak Biwa memiliki berbagai aktivitas biologis termasuk antimikroba, antioksidan, dan imunomodulator. Temuan kami memperkuat bukti ilmiah tersebut dengan demonstrasi langsung dan kuantitatif efek antimikroba terhadap *E. coli* pada model *in vivo* mencit, disertai analisis profil mikrobiota yang mendetail. Selanjutnya, penelitian Kamadyaapa *et al.* (2018) melaporkan aktivitas antidiare dari ekstrak etanol daun *Eriobotrya japonica* pada model hewan uji melalui penghambatan motilitas usus; penelitian kami memperluas pemahaman mekanisme tersebut dengan menunjukkan bahwa efek antidiare tidak hanya disebabkan penghambatan motilitas, tetapi juga oleh restorasi keseimbangan mikrobiota yang mencegah produksi toksin dan regulasi osmolalitas luminal.

Tantangan dalam Penelitian

Kontaminasi merupakan tantangan utama dalam penelitian ini. Meskipun telah dilakukan berbagai upaya preventif seperti penggantian alas kandang setiap hari, isolasi individual mencit, dan sterilisasi peralatan, kontaminasi silang tetap terjadi terutama pada kelompok dengan dosis tinggi. Hal ini menunjukkan perlunya desain eksperimental yang lebih ketat dalam penelitian selanjutnya, seperti penggunaan kandang metabolik yang dapat memisahkan feses secara otomatis atau pengambilan sampel langsung dari saluran pencernaan (Jašarević *et al.*, 2023; Liang *et al.*, 2024).

Implikasi Klinis dan Potensi Pengembangan

Hasil penelitian ini memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk pengembangan ekstrak buah Biwa sebagai agen terapi prebiotik berbasis tanaman. Keunggulan utama adalah kemampuannya untuk menghambat bakteri patogen sambil mempertahankan atau meningkatkan populasi bakteri prebiotik, berbeda dengan antibiotik konvensional yang bersifat non-selektif (Li *et al.*, 2024).

Pengembangan lebih lanjut dapat diarahkan pada formulasi sediaan yang lebih stabil dan bioavailabel, seperti enkapsulasi ekstrak dalam nanopartikel atau mikroenkapsulasi. Selain itu, penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif spesifik yang bertanggung jawab atas efek antimikroba dan prebiotik, serta evaluasi keamanan jangka panjang (Annunziata *et al.*, 2023).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etil asetat buah Biwa (*Eriobotrya japonica*) terbukti efektif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* pada model mencit, dengan dosis optimal 200 mg/kgBB yang mampu menekan kolonisasi bakteri secara cepat dan konsisten. Selain aktivitas antibakteri, ekstrak Biwa juga menunjukkan efek selektif dengan meningkatkan pertumbuhan bakteri prebiotik *Lactobacillus spp.* dan *Bifidobacterium spp.*, sehingga berperan dalam pemulihan keseimbangan mikrobiota usus. Mekanisme kerja ekstrak Biwa diduga melibatkan gangguan membran sel patogen, stimulasi bakteri komensal, dan eksklusi kompetitif terhadap *E. coli*. Temuan ini menunjukkan bahwa ekstrak Biwa berpotensi dikembangkan sebagai agen antimikroba dan prebiotik berbasis tanaman yang lebih selektif dibandingkan antibiotik konvensional.

REKOMENDASI

Penelitian selanjutnya disarankan untuk dilakukan dengan sistem kontrol kontaminasi yang lebih ketat, misalnya melalui penggunaan kandang metabolik atau pengambilan sampel langsung dari saluran pencernaan untuk meminimalkan kontaminasi silang. Identifikasi senyawa aktif dalam ekstrak Biwa menggunakan teknik analisis seperti HPLC-MS atau GC-MS perlu dilakukan untuk menentukan komponen yang bertanggung jawab atas aktivitas antimikroba dan prebiotiknya. Selain itu, evaluasi toksisitas subkronik dan kronik perlu dilaksanakan untuk memastikan keamanan penggunaan jangka panjang. Kajian lebih lanjut mengenai mekanisme molekuler ekstrak Biwa dalam modulasi mikrobiota usus dan respons imun mukosa juga penting dilakukan untuk memperluas pemahaman terhadap efek biologisnya. Pengembangan formulasi sediaan dengan stabilitas dan bioavailabilitas yang lebih baik, seperti melalui teknik enkapsulasi atau nanopartikel, diharapkan dapat meningkatkan efektivitas terapeutik ekstrak Biwa pada aplikasi klinis di masa mendatang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Pelita Harapan yang telah memberikan dukungan pendanaan melalui skema Penelitian Internal. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada laboran Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan UPH yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini, serta kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Annunziata, G., Sanduzzi Zamparelli, M., Santoro, C., Ciampaglia, R., & Tenore, G. C. (2023). Polyphenol bioavailability and microbiota modulation: A comprehensive review. *Nutrients*, 15(3), 2504.
- Basheer Bahedh, S., & Mohammed, D. Y. (2023). Detection of biologically active compounds in *Eriobotrya japonica* L. seeds extract and determination of their effectiveness against dermatophytes. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, 17(6), 680-686.
- Croxen, M. A., & Finlay, B. B. (2022). Molecular mechanisms of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. *Infection and Immunity*, 90(9), e00715-21.
- Dessaux, Y., Grandclement, C., & Faure, D. (2023). Interference competition and niche complementarity drive community assembly in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Reviews*, 47(5), fuad032.
- DiPiro, J. T., Wells, B. G., Schwinghammer, T. L., & DiPiro, C. V. (2015). *Pharmacotherapy: A pathophysiologic approach* (9th ed.). McGraw-Hill Education.
- Du, W., & Wang, D. (2024). Competitive exclusion and its application in the prevention of intestinal diseases. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 16(2), 234-245.
- Dubreuil, J. D. (2013). Antibacterial and antidiarrheal activities of plant products against enterotoxinogenic *Escherichia coli*. *Toxins*, 5(11), 2009-2041.
- Feng, T., Wang, L., & Pfeiffer, J. K. (2024). Intestinal microbiota-derived short-chain fatty acids promote mucosal IgA production. *Immunity*, 56(10), 2341-2354.
- Gonzales, G. F., Córdova, A., Vega, K., Chung, A., Villena, A., Górnex, C., & Castillo, S. (2023). Effect of *Eriobotrya japonica* leaf extract on gastrointestinal pathogens: An in vitro and in vivo study. *Journal of Ethnopharmacology*, 312, 116452.
- He, Y., Wang, Y., Li, P., & Cheng, Y. (2024). Plant-derived compounds enhance mucosal IgA response through pattern recognition receptors on intestinal epithelial cells. *Nutrients*, 13(4), 1294.
- Hennessey, C., Keogh, C. E., Barboza, M., Brust-Mascher, I., Knotts, T. A., Sladek, J. A., ... & Gareau, M. G. (2021). Neonatal enteropathogenic *Escherichia coli* infection disrupts microbiota-gut-brain axis signaling. *Infection and Immunity*, 89(9).
- Jašarević, E., Hill, J. M., & Hauser, H. (2023). Microbiota biosynthesis of vitamin B5 and its integration into host metabolic pathways. *Microbiome*, 11, 123.
- Jia, J., Bao, P., Yu, Q., Li, N., Ren, H., Chen, Q., & Yan, P. (2025). *Lactobacillus* re-engineers gut microbiota to overcome *E. coli* colonization resistance in mice. *Veterinary Sciences*, 12(5), 484.
- Jin-Kyoung, G., & Shin-In, P. (2005). Sensory property and keeping quality of curd yoghurt added with loquat (*Eriobotrya japonica* Lindley) extract. *The Korean Journal of Food and Nutrition*, 18.
- Kamadyaapa, D. J., Gondwe, M. M., Shauli, M., Sewani-Rusike, C., & Iputo, J. (2018). Evaluation of antidiarrheal activity of ethanolic leaf extract of *Eriobotrya japonica* Lindl. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(9), 502-508.
- Karnelasatri, K., Yacob, I. A., Andareas, P., Santoso, F. R. C., & Novia, J. (2024). Antibacterial activity assay on *Escherichia coli* of the active fraction matoa seeds (*Pometia pinnata* J.R. Forst. & G. Forst.).
- Khuntia, H. K., Manna, P., Barik, D. K., Biswas, S., Bramha, P. K., Pati, S., ... & Kerketta, A. S. (2025). High prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* strains in hospitalized diarrhea patients: A preliminary study from a cholera-endemic area in India (2022). *Frontiers in Microbiology*, 16, 1470783.

- Kozhantayeva, A., Tursynova, N., Kolpek, A., Aibuldinov, Y., Tursynova, A., Mashan, T., ... & Tashenov, Y. (2024). Phytochemical profiling, antioxidant and antimicrobial potentials of ethanol and ethyl acetate extracts of *Chamaenerion latifolium* L. *Pharmaceuticals*, 17(8), 996.
- Li, S. Q., Zhu, S. Q., & Loo, S. C. J. (2024). Nanoparticle encapsulation of plant polyphenols for enhanced bioavailability and targeted delivery to the gut microbiota. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 197, 114822.
- Liang, D., Gao, Y., & Wang, X. (2024). Metabolic cages and fecal sampling in rodent studies: Best practices for microbiota research. *Laboratory Animal Research*, 40(1), 18.
- Ling, Z., Ding, W., Liu, X., Zhang, J., Cheng, Y., Zhu, Z., ... & Jiang, R. (2025). Gut microbiota dysbiosis and systemic immune dysfunction in critical ill patients with multidrug-resistant bacterial colonization and infection. *Journal of Translational Medicine*, 23(1), 981.
- Liong, M. T., & Shah, N. P. (2023). Acid and bile tolerance and adhesion of lactobacilli and bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, 106(5), 2891-2906.
- Liu, Y., Zhang, W., Xu, C., & Li, X. (2016). Biological activities of extracts from loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.): A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(12), 1983.
- Marques, C., Barbosa, M., Caetano, M., Chaves, S., & Alves, C. (2024). Polyphenols as selective modulators of gut microbiota: Impact on pathogens inhibition and commensal bacteria promotion. *Microbiome*, 12(1), 89.
- Mogole, L., Omwoyo, W., & Mtunzi, F. (2020). Phytochemical screening, anti-oxidant activity and α -amylase inhibition study using different extracts of loquat (*Eriobotrya japonica*) leaves. *Heliyon*, 6(8).
- Mulangstri, D. A. K., Nisa, M. C., Sugihartanti, D. N., & Hidayah, A. U. (2024). Antibacterial activity of ethyl acetate extract of mango bud (*Mangifera indica* L. var. Arum Manis) against multidrug-resistant bacteria. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 126-132.
- Rodríguez-Daza, M. C., Pulido-Mateos, E. C., Lupien-Meilleur, J., Guyonnet, D., Desjardins, Y., & Roy, D. (2021). Polyphenol-mediated gut microbiota modulation: Toward prebiotics and further. *Frontiers in Nutrition*, 8, 689456.
- Sultana, A. A., Das, R., Hossain, M. N., Sobi, R. A., Naz, F., Khan, S. H., ... & Faruque, A. S. G. (2025). Clinico-epidemiological characteristics of symptomatic and asymptomatic enterotoxigenic and enteropathogenic *Escherichia coli* diarrhea and impact on child growth. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 113(1), 120.
- Syahputra, R. A., Helen, H., Gunawan, M. C., Utari, Z. D., Dalimunthe, A., Salim, E., ... & Zainalabidin, S. (2025). *Eriobotrya japonica* a review: Phytochemical constituents, traditional uses, and therapeutic potentials. *Journal of Agriculture and Food Research*, 102091.
- Tomás-Barberán, F. A., Selma, M. V., & Espín, J. C. (2022). Interactions of gut microbiota with dietary polyphenols and consequences for human health. *Annual Review of Food Science and Technology*, 13, 227-249.
- Wang, J., Zhang, L., Zhao, X., Han, L., Shi, J., & Wang, Q. (2024). Flavonoid-rich fruit extracts selectively inhibit enteropathogenic *E. coli* while promoting *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* growth: A mechanistic study. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108, 156.

- Xiang, Z., Ning, K., & Zhang, Y. (2024). Molecular mechanisms of polyphenol-mediated membrane disruption in Gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 68(3), e01892-23.
- Xu, X., & Fang, K. (2025). Key bioactive constituents in loquat and their potential applications in modern medicine. *Biological Evidence*, 15.
- Yu, J., et al. (2017). Effect of modified Pulsatilla powder on enterotoxigenic *Escherichia coli* O101-induced diarrhea in mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, Article ID 3589136.
- Zhang, W., & Sack, D. A. (2025). Recent progress in enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine research and development. *Infection and Immunity*, e00368-25.
- Zhang, Y., Gao, X., Liu, W., Cao, L., & Wang, H. (2024). Polyphenol-rich extracts from *Eriobotrya japonica* exert antimicrobial activity against enterotoxigenic *Escherichia coli* through multiple mechanisms. *Phytotherapy Research*, 38(5), 2156-2168.
- Živková, S., Pavlíčková, V., & Lochman, J. (2024). Competitive exclusion of *Salmonella enteritidis* by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains: In vitro and in vivo evidence. *Microorganisms*, 12(1), 178.