

Aktivitas Fraksi n-butanol Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*

Maman Firdaus, Sigit Wahyu Jatmiko, Yudi Purnomo*

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Resistensi antibakteri masih menjadi permasalahan pada tatalaksana penyakit infeksi. Herbal merupakan bahan alam yang menjadi salah satu alternatif sumber senyawa antibakteri. Ekstrak daun Pulutan mempunyai aktivitas antibakteri, namun senyawa aktif dalam fraksi n-butanol belum pernah dilakukan pengujian. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa fitokimia dan aktivitas antibakteri fraksi n-butanol daun Pulutan (*Urena lobata*).

Metode : Ekstrak methanol difraksinasi dengan pelarut n-butanol, kemudian dilakukan skrining fitokimia pada hasil fraksinasi. Aktivitas antibakteri fraksi n-butanol terhadap *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode mikrodilusi dan uji *Zone of Inhibition* (ZOI) dengan metode difusi sumuran sementara Amoxicillin dipakai sebagai antibiotik pembanding. Analisa data menggunakan *One way Anova* dan dilanjutkan uji *Post Hoc* dengan nilai signifikansi $p < 0,05$.

Hasil : Fraksi n-butanol daun Pulutan mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, dan alkaloid. Nilai KHM pada fraksi n-butanol (160.000 ppm) lebih tinggi dibandingkan Amoxicillin (0,46ppm). Fraksi n-butanol dosis 20.000, 40.000 dan 80.000 ppm menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter berturut-turut ($0,16 \pm 0,10$ mm) ($0,33 \pm 0,19$ mm) dan ($1,64 \pm 0,21$ mm) lebih rendah dibandingkan Amoxicillin ($41,34 \pm 0,24$ mm).

Simpulan : Fraksi n-butanol daun Pulutan (*Urena lobata*) memiliki kandungan senyawa aktif fenolik, flavonoid, saponin dan alkaloid. Aktivitas antibakteri fraksi n-butanol daun Pulutan lebih lemah dibandingkan dengan Amoxicillin sebagai antibiotik pembanding.

Kata Kunci : daun pulutan., fraksi n-butanol., senyawa aktif., antibakteri., *Staphylococcus aureus*

*Korespondensi:

Dr. Yudi Purnomo, Apt., M.Kes

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail : yudipurnomo@unisma.ac.id

Activity n-butanol Fraction of Pulutan Leaves (*Urena lobata*) Against *Staphylococcus aureus*

Maman Firdaus, Sigit Wahyu Jatmiko, Yudi Purnomo*

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction : Antibacterial resistance is still a problem in the management of infectious diseases. Herbs are natural materials that are an alternative source of antibacterial compounds. Pulutan leaf extract has antibacterial activity, but the active compounds in the n-butanol fraction have never been studied. This study aims to determine the phytochemical compounds and antibacterial activity of the n-butanol fraction of Pulutan leaves (*Urena lobata*).

Method : The methanol extract was fractionated with n-butanol solvent, then phytochemical screening was carried out on the fractionation results. Antibacterial activity of the n-butanol fraction against *Staphylococcus aureus* was carried out by the Minimum Inhibitory Concentration (KHM) test using the microdilution method and the Zone of Inhibition (ZOI) test using the well diffusion method while Amoxicillin was used as a comparison antibiotic. Data analysis used *One way Anova* and continued with *Post Hoc* test with a significance value of $p < 0.05$.

Result : The n-butanol fraction of Pulutan leaves contains flavonoid, phenolic, saponin, and alkaloid compounds. The KHM value of the n-butanol fraction (160,000 ppm) is higher than Amoxicillin (0.46ppm). The n-butanol fraction doses of 20,000, 40,000 and 80,000 ppm inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* with a diameter of ($0,16 \pm 0,10$ mm) ($0,33 \pm 0,19$ mm) and ($1,64 \pm 0,21$ mm) respectively, lower than Amoxicillin ($41,34 \pm 0,24$ mm).

Conclusion : The n-butanol fraction of Pulutan leaves (*Urena lobata*) contains active phenolic compounds, flavonoids, saponins and alkaloids. The antibacterial activity of the n-butanol fraction of Pulutan leaves is weaker than Amoxicillin as a comparative antibiotic.

Keyword : pulutan., n-butanol fraction., active compound., antibacterial., *Staphylococcus aureus*

*Corresponding author :

Dr. Yudi Purnomo, Apt., M. Kes

MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

e-mail : yudipurnomo@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi tetap menjadi masalah medis di Indonesia. Berdasarkan hasil data angka kejadian infeksi di Indonesia cukup tinggi sekitar 32%.¹ Aspek-aspek yang berpengaruh terhadap naiknya angka peristiwa infeksi antara lain jumlah penduduk yang padat, lingkungan yang kotor, kesadaran masyarakat akan kebersihan yang kurang serta, tingkat kelembapan yang tinggi terkait iklim tropis di Indonesia. Kondisi ini mempengaruhi tingginya angka kematian penyakit infeksi yaitu sekitar 83% kasus.²

Mikroorganisme merupakan agen penyebab terjadinya infeksi. Bakteri adalah satu diantara mikroorganisme yang menyebabkan terjadinya infeksi. *Staphylococcus aureus* ialah bakteri gram-positif yang berperan menjadi mikroflora normal pada membran kulit, saluran dinding pernafasan, serta kelenjar keringat.³ Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat bersifat patogen dan menimbulkan penyakit infeksi seperti selulitis, osteomielitis, pneumonia dan bakteremia.⁴

Pemberian antibiotik merupakan tatalaksana untuk pengobatan penyakit infeksi. Umumnya kelainan infeksi bisa diatasi melalui konsumsi antibiotik. Amoxicillin adalah salah satu antibiotik yang sensitif pada bakteri *Staphylococcus aureus* serta bekerja melalui menghambat sintesis dinding sel. Lebih dari separuh pasien mendapatkan antibiotik sebagai pengobatan, namun sedikitnya 40% pemberian antibiotik memiliki indikasi yang kurang tepat.⁵ Penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat meningkatkan kejadian resistensi.⁶ Peningkatan kejadian resistensi antibiotik, mendorong pencarian sumber alternatif bahan obat yang memiliki aktifitas antibakteri. Herbal merupakan bahan alam yang menjadi salah satu alternatif sumber senyawa antibakteri. Herbal memiliki beberapa keunggulan antara lain efek samping lebih rendah, bahan mudah didapat, dan harga lebih terjangkau.

Pulutan (*Urena lobata*) yakni satu diantara tanaman yang berkhasiat menjadi obat-obatan. Bersumber data empirik masyarakat memanfaatkan daun pulutan sebagai obat demam, radang, dan penyembuhan luka.⁷ Studi preklinik antibakteri ekstrak daun pulutan (*Urena lobata*) menunjukkan aktifitas antibiotik.⁸ Berdasarkan studi yang telah dilakukan, ekstrak daun pulutan memiliki aktifitas menghambat pertumbuhan

Staphylococcus aureus pada konsentrasi 10 - 20 mg/ml.⁹ Ekstrak daun pulutan diketahui berisikan kandungan flavonoid, alkaloid, tannin, dan saponin yang berfungsi menjadi antibakteri.¹⁰ Mayoritas pengujian kegiatan antibakteri daun pulutan berbentuk ekstrak sementara bentuk fraksi belum banyak diketahui. Fraksi yakni hasil dari proses fraksinasi yang digunakan sebagai tahap awal pencarian senyawa obat.¹¹ Penggunaan pelarut n -butanol yang bersifat semi polar harapannya bisa menarik senyawa polar serta non-polar yang memiliki senyawa antibakteri.¹² Bersumber pemaparan di atas, maka harus dilakukan riset guna menganalisis kadar zat aktif fraksi n-butanol daun Pulutan, serta aktivitasnya sebagai antibakteri.

METODOLOGI PENELITIAN

Riset berikut merupakan riset quasi eksperimental laboratorium yang menganalisa kandungan fraksi n-butanol dengan pengujian kegiatan antibakteri dan skrining fitokimia. Serbuk daun Pulutan diperoleh di Batu, Malang serta sudah dilakukan determinasi oleh UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu dengan surat No.074/488/102.20-A/2022. Riset berikut dilakukan pada Juli 2022 – Februari 2023 di Laboratorium Biomedika UMM dan Laboratorium Pusat Riset Kedokteran.

Pembuatan Fraksi Daun Pulutan

Serbuk daun Pulutan dilakukan ekstraksi dengan metode UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) menggunakan pelarut metanol. Ekstrak kental yang didapatkan difraksinasi memakai pelarut n-heksan, n-butanol, serta etil asetat secara urut. Fraksinasi dilakukan beberapa kali hingga larutan fraksi yang berwarna lebih terang dengan volume dan pelarut yang sama. Fase n-butanol dikumpulkan kemudian di masukkan kedalam rotary evaporator dan di oven hingga di peroleh fraksi n-butanol daun Pulutan berbentuk pasta.¹³

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap fraksi n-butanol yang tersusun atas pengujian kualitatif memakai pereaksi warna guna menggambarkan senyawa metabolit sekunder. Pengecekan fitokimia dalam riset berikut tersusun atas uji fenolik dengan pereaksi FeCl³, saponin dengan dikocok kuat, flavonoid dengan pereaksi NH³, alkaloid dengan pereaksi meyer

dan dragendroff, steroid dan terpenoid dengan pereaksi Ac_2O dan H_2SO_4 . Pengamatan perubahan warna di amati oleh dua orang pengamat.¹⁴

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum

Metode yang digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum adalah mikrodilusi. Media *Mueller Hinton Broth* (MHB) steril sebanyak 100 mikroliter ditambahkan pada 24 pelat mikro. Kemudian, tambahkan 100 μL larutan uji fraksi n-butanol daun Pulutan dengan dosis 160.000 ppm pada plat mikro. Larutan uji di aduk hingga homogen dengan media, lalu sebanyak 100 μL dipipet menggunakan mikropipet dan di lakukan pengenceran sebanyak 8 kali. Setelah pengenceran sudah dilakukan pada keseluruhan sumur, masukkan 100 μL suspensi bakteri pada masing masing sumur. Pada kontrol negative diisi dengan 200 μL media, sementara dalam kontrol positif diisikan 100 μL media serta di tambahkan larutan uji amoxicillin dengan dosis 30 ppm, lalu diencerkan sebanyak 8 kali. Plat mikro yang telah terdapat fraksi uji, kontrol positif dan negatif kemudian dilakukan inkubasi dalam waktu 24 jam bersuhu 37 °C. Setelah diinkubasi kemudian di amati bagian dengan garis horizontal hitam terlihat jernih (tidak didapati pertumbuhan bakteri). Kandungan paling kecil yang tidak didapatkan pertumbuhan bakteri ditentukan menjadi KHM (Konsentrasi Hambat Minimum).¹⁵

Penentuan Zona Hambat Bakteri

Metode yang dipakai guna mengevaluasi diameter zona hambat bakteri yakni metode difusi agar . Kultur bakteri ditempatkan dalam media MHA dengan cara digoreskan menggunakan *cotton bud* yang telah disterilkan dan sudah di masukkan kedalam tabung yang berisi suspensi bakteri, kemudian dihomogenkan. Pada media yang telah di inokulasi dengan bakteri dibuat lubang sumuran dengan diameter 6 mm, kemudian dimasukkan masing masing fraksi dengan konsentrasi yang berbeda kedalam sumuran pada cawan petri. Amoxicilin sebagai kontrol positif, Tween 80 sebagai kontrol negative, fraksi uji n-butanol dengan konsentrasi 20.000 ppm, 40.000 ppm, serta 80.000 ppm. Kemudian dilakukan inkubasi bersuhu 37 °C dalam waktu 18 jam sampai 20 jam. Diameter daerah bening diamati dengan image raster.¹⁶

ANALISA DATA

Data hasil riset diujikan homogenitas dan normalitas selanjutnya hasil data riset yang berdistribusi normal serta homogen akan dianalisa memakai pengujian parametrik yakni *One-way ANOVA* satu arah dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ guna memahami keberadaan dampak signifikan diberikannya fraksi n-butanol daun pulutan pada bakteri *S. aureus*, selanjutnya diteruskan analisa LSD (*Least Significant Difference*) guna pengujian bobot makna diantara golongan. Analisa data memakai SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*).

HASIL PENELITIAN

Skrining Uji Senyawa Fitokimia

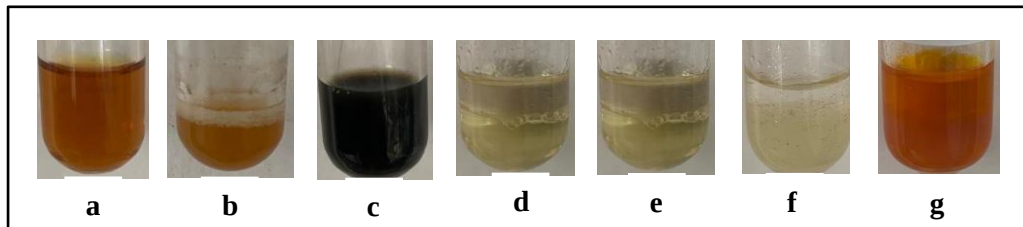
Hasil uji skrining fitokimia ditunjukkan dalam **Tabel 1** serta **Gambar 1**. Skrining fitokimia dalam fraksi n-butanol daun Pulutan berisikan senyawa metabolit flavonoid, fenolik, alkaloid, dan saponin, sedangkan pada senyawa steroid dan terpenoid tidak teridentifikasi.

Konsentrasi Hambat Minimum

Hasil penentuan skor KHM ditunjukkan **Gambar 2**. KHM dalam fraksi n-butanol 160.000 ppm dan Amoxicillin sebesar 0,46 ppm yang ditunjukkan dengan garis horizontal hitam terlihat jernih. KHM fraksi n-butanol lebih tinggi dibandingkan antibiotik Amoxicillin atau KHM fraksi n-butanol lebih lemah aktivitas bakterinya dibandingkan Amoxicillin.

Zona Hambatan Bakteri

Hasil penentuan zona hambatan ditunjukkan pada **Gambar 3** dan **Tabel 2**. Fraksi n-butanol pada konsentrasi 20.000 ppm, 40.000 ppm, serta 80.000 ppm menunjukkan diameter zona hambatan berturut-turut lebih kuat 3%, 10%, dan 30% daripada dengan kontrol ($p < 0,05$). Fraksi n-butanol dalam kandungan 20.000 ppm serta 40.000 ppm menunjukkan diameter zona hambatan lebih lemah 30% dibandingkan dengan dosis 80.000 ppm ($p < 0,05$). Seluruh konsentrasi fraksi n-butanol menunjukkan diameter zona hambat lebih lemah sekitar 7-8 kali dibandingkan dengan antibiotik Amoxicillin ($p < 0,05$).



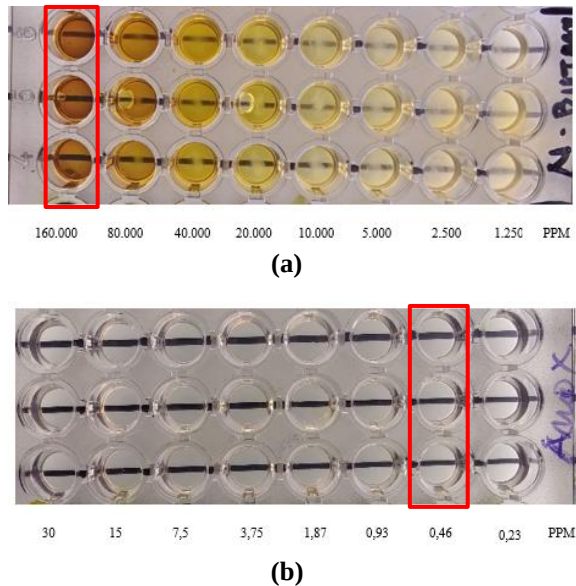
Gambar 1. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi n-butanol Daun Pulutan:

Keterangan : a. flavonoid; b. saponin; c. fenolik; d. terpenoid; e. steroid; f. alkaloid; g. Alkaloid.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi n-butanol Daun Pulutan

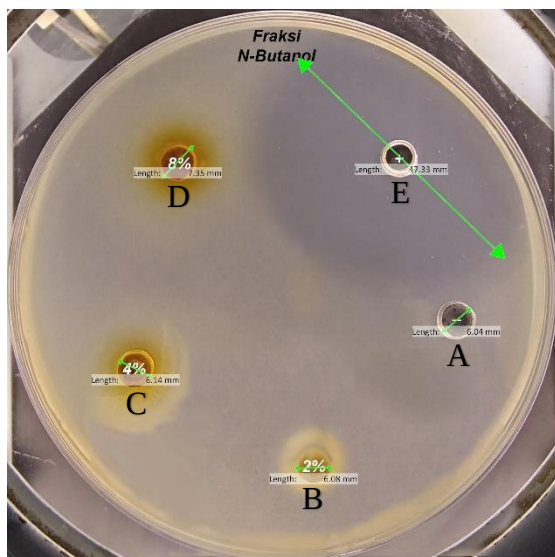
Golongan senyawa	Pereaksi	Perubahan warna	Pengamat I	Pengamat II	Kesimpulan
Flavonoid	NH ₃	Warnanya kekuningan	+	+	+
Saponin	Sampel uji dikocok kuat beberapa lama	Terbentuknya busa yang bertahan dalam 15 menit	+	+	+
Fenolik	FeCl ₃	Warna biru atau biru keunguan	+	+	+
Terpenoid	Ac ₂ O H ₂ SO ₄	Warna merah atau merah keunguan	-	-	-
Steroid	Ac ₂ O H ₂ SO ₄	Warna hijau atau hijau kebiruan	-	-	-
	Mayer	Endapan putih	-	-	-
Alkaloid	Dragendorff	Endapan cokelat kemerahan	+	+	+

Keterangan : (+) teridentifikasi (-) tidak teridentifikasi



Gambar 2. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum Fraksi n-butanol Daun Pulutan dan Antibiotik Amoxicillin Terhadap *Staphylococcus aureus*.

Keterangan : (a): Fraksi n-butanol (b) : Amoxicillin. Kotak merah menunjukkan nilai KHM



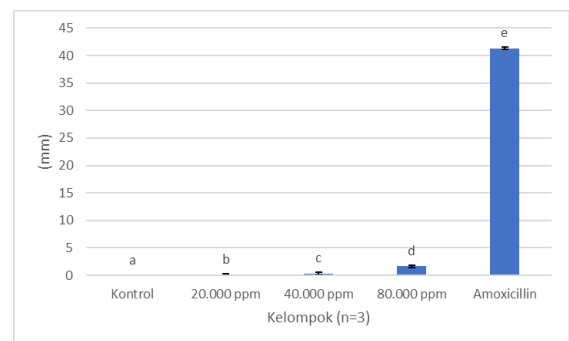
Gambar 3. Hasil Uji Zona Hambat Fraksi n-Butanol Daun Pulutan dan Antibiotik Amoxicillin Terhadap *Staphylococcus aureus*

Keterangan : (A) : Kontrol negative; (B): Fraksi n-butanol *Urena lobata* 20.000 ppm; (C): Fraksi n-butanol *Urena lobata* 40.000 ppm; (D): Fraksi n-butanol *Urena lobata* 80.000 ppm; (E): Amoxicillin

Tabel 2. Diameter Zone of Inhibition Fraksi n-butanol Daun Pulutan dan Amoxicillin Terhadap *Staphylococcus aureus*

Kelompok	Ulangan (n)	Mean $\pm$ SD (mm)	Kekuatan antibakteri*
Kontrol	4	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	Tidak ada
F. nB 20.000 ppm	4	0.16 $\pm$ 0.10 ^b	Lemah
F. nB 40.000 ppm	4	0.33 $\pm$ 0.19 ^c	Lemah
F. nB 80.000 ppm	4	1.64 $\pm$ 0.21 ^d	Lemah
Amoxicillin	4	41.34 $\pm$ 0.24 ^e	Sangat Kuat

Keterangan : a,b,c,d,e huruf berbeda menunjukkan perbedaan kekuatan antibakteri ($p < 0,05$, Uji LSD), * : Kekuatan antibakteri menurut Davis dan Stout (1971)



Gambar 4. Histogram Hasil Uji Zona Hambat Fraksi n-butanol Daun Pulutan Terhadap *Staphylococcus aureus*

PEMBAHASAN

Senyawa Aktif Pada Fraksi n-Butanol Daun Pulutan (*Urena lobata*)

Hasil skrining fitokimia fraksi n-butanol menunjukkan adanya senyawa aktif golongan fenolik, flavonoid, saponin, dan alkaloid. Senyawa tersebut merupakan metabolit sekunder yang memiliki efek antibakteri.¹⁷ Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder. Ciri metabolit sekunder adalah terdapat pada tanaman tertentu, umumnya toksik jika dosis tinggi dan memiliki sifat antibakteri. Senyawa golongan fenol, flavonoid, saponin dan alkaloid bersifat polar hingga semipolar. Senyawa fitokimia yang terambil dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan untuk fraksinasi. Pelarut n-butanol merupakan pelarut amfipatik yang memiliki gugus hydrophilic dan gugus hydrophobic.¹⁸ Pelarut n-butanol merupakan pelarut jenis semi polar sehingga dapat menarik metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, saponin dan

alkaloid secara maksimal. Tingkat kepolaran pelarut dilihat dari nilai konstanta dielektrik (KD).¹⁹

Hasil skrining fitokimia fraksi n-butanol sedikit berbeda dengan penelitian Berliansyah *et al* (2021) pada fraksi n-butanol daun Pulutan memiliki kandungan senyawa fenolik, flavonoid, dan saponin. Sedangkan pada penelitian ini teridentifikasi senyawa fenolik, flavonoid, saponin dan alkaloid. Hal ini kemungkinan karena perbedaan metode ekstraksi dan menyebabkan kandungan senyawa aktif yang tertarik juga berbeda. Pada penelitian Berliansyah (2021) menggunakan metode maserasi kinetik sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). Metode UAE memiliki kelebihan yaitu membutuhkan waktu yang relatif lebih singkat, sifat tidak merusak dan tidak invasif sehingga menjaga kualitas senyawa aktif.¹⁰ Namun metode ini memiliki kelemahan yaitu memerlukan biaya yang lebih besar.

Hasil skrining fitokimia fraksi n-butanol terdapat faktor bias yaitu warna pada sampel uji. Hal ini menyebabkan sulitnya pengamatan secara visual terhadap perubahan warna skrining fitokimia. Sehingga untuk mengurangi subyektifitas dilakukan dengan 2 orang pengamat yang berbeda. Selain itu perlu dilakukan penentuan kadar senyawa metabolit sekunder.

Konsentrasi Hambat Minimum Fraksi n-Butanol Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*

Fraksi n-butanol memiliki aktivitas antibakteri lebih lemah dibandingkan Amoxicillin berdasarkan bobot KHM. Hal ini disebabkan amoxicillin merupakan senyawa tunggal yang memiliki tingkat kemurnian yang tinggi yaitu 99,9% dan derajat pengotor yang rendah sehingga tidak beresiko terjadi interaksi antar senyawa obat yang berdampak pada penurunan aktivitas antibakteri. Amoksisilin menonaktifkan dan mengikat PBP (*Penicillin binding proteins*) yang ditemukan pada membran dalam permukaan sel-sel bakteri. Inaktivasi PBP membuat ikatan silang rantai peptidoglikan terganggu, yang penting guna kekakuan dan kekuatan permukaan sel-sel

bakteri. Keadaan berikut menjadikan sintesis permukaan sel bakteri terganggu, menyebabkan pelemahan permukaan sel bakteri hingga lisis sel.²⁰ Sedangkan fraksi n-butanol mengandung beberapa senyawa aktif dengan kadar rendah sehingga meningkatkan resiko interaksi yang bersifat antagonis dan menurunkan aktivitas antibakteri.

Fraksi n-butanol daun Pulutan memiliki nilai KHM yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi air daun Pulutan (Najla, *inpress* 2023). Hal ini karena perbedaan senyawa fitokimia yang bersifat antibakteri pada kedua fraksi tersebut. Perbedaan ini dikendalikan oleh pelarut yang digunakan, pelarut n-butanol bersifat semipolar sedangkan air bersifat polar.

Faktor bias pada penelitian ini adalah warna pada fraksi n-butanol daun Pulutan. Hal ini menyebabkan kesulitan pengamatan garis horizontal tidak terlihat jelas dan menyebabkan peneliti kesulitan saat menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Sehingga diperlu disarankan untuk menggunakan sumber penerangan dibagian bawah microplate agar kekeruhan larutan uji dapat terlihat jelas. Selain itu perlu dilanjutkan dengan uji Kadar Bunuh Minimum (KBM) agar lebih akurat.

Zona Hambat Fraksi n-Butanol Daun Pulutan (*Urena lobata*) Terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil ZOI fraksi n-butanol menunjukkan aktivitas antibakteri kategori lemah. Efek antibakteri fraksi n-butanol diduga karena adanya aktivitas senyawa flavonoid dalam fraksi n-butanol daun pulutan yang dapat menghambat *Staphylococcus aureus*. Hal ini karena flavonoid bekerja melalui denaturasi protein membran sel bakteri, sehingga menjadikan membran sel tersebut rusak. Rusaknya membran sel-sel bakteri bisa menimbulkan keluarnya produk metabolisme serta menonaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan berikut menjadikan asam amino dan nukleotida hilang serta meminimalisir bahan aktif memasuki sel. Kondisi berikut bisa menimbulkan bakteri mati. Senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri yang teridentifikasi pada fraksi n-butanol daun Pulutan yaitu fenolik, saponin dan alkaloid.²¹

Senyawa fenol yakni antibakteri yang sifatnya bakterisidal. Fenol bekerja membunuh sel bakteri dengan membuat komponen-komponen peptidoglikan terganggu di permukaan sel melalui upaya meminimalisir ikatan asam N-asetilmuramat pada struktural mukopeptide yang biasanya sifatnya kaku dalam permukaan sel hingga sintesis permukaan sel bakteri tidak terbentuk sempurna dan terganggu.²² Kondisi berikut menimbulkan kehilangan permukaan sel yang kaku pada bakteri, membuat membran sel rentan pada kebocoran dan kerusakan. Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri lantaran dinding zat aktif yang mirip deterjen. Saponin berperan menjadi zat antibakteri melalui cara penurunan tegangan dinding sel bakteri serta merusak permeabilitas membran bakteri.²³ Kelangsungan hidup bakteri akan terganggu akibat rusaknya membran sel kemudian saponin akan berdifusi melalui membran sitoplasma sehingga kestabilan membran akan terganggu menyebabkan sitoplasma mengalami kebocoran dan keluar dari sel yang mengakibatkan kematian.²⁴ Pada penelitian ini juga ditemukan senyawa alkaloid yang terkandung pada fraksi n-butanol daun Pulutan. Senyawa ini mempunyai kapabilitas menjadi antibakteri. Alkaloid bekerja dengan cara mengganggu komponen peptidoglikan penyusun sel bakteri yang mengakibatkan terjadinya lisis pada lapisan dinding sel bakteri.²⁵

Zona hambatan yang terjadi pada fraksi n-Butanol daun Pulutan kadar 20.000 ppm serta 40.000 ppm lebih rendah dibandingkan kadar 80.000 ppm. Hal ini sesuai dengan teori *consentration dependent* yang bermakna makin tinggi kadar maka makin kuat daya hambatnya.²⁶ Semakin besar dosis yang digunakan maka semakin besar kandungan senyawa yang berperan sebagai antibakteri pada fraksi n-butanol daun Pulutan.

Uji zona hambat fraksi n-butanol daun Pulutan lebih rendah aktivitas antibakterinya jika dibandingkan dengan amoxicillin. Hal ini disebabkan amoxicillin merupakan senyawa tunggal yang memiliki tingkat kemurnian yang tinggi dan derajat pengotor yang rendah sehingga tidak beresiko terjadi interaksi antar senyawa obat yang berdampak pada penurunan

aktivitas antibakteri. Sedangkan fraksi n-butanol mengandung beberapa senyawa aktif dengan kadar yang rendah sehingga meningkatkan resiko interaksi yang bersifat antagonis dan menurunkan aktivitas antibakteri.

Fraksi n-butanol daun Pulutan memiliki diameter hambat yang sama dibandingkan dengan fraksi non polar seperti etil asetat (Almira, *Inpress* 2023). Sedangkan pada fraksi polar seperti air memiliki nilai ZOI lebih besar dibandingkan fraksi n-butanol daun pulutan (Najla, *Inpress* 2023). Hal ini karena perbedaan senyawa fitokimia yang terdapat pada kedua fraksi tersebut. Perbedaan ini dikendalikan oleh pelarut yang digunakan, pelarut n-butanol bersifat semipolar sedangkan air bersifat polar. Kondisi ini menunjukkan bahwa fraksi n-butanol memiliki aktivitas antibakteri lebih rendah dibandingkan fraksi air.

SIMPULAN

Bersumber hasil analisa dalam riset berikut bisa dibuat simpulan bahwasanya :

1. Fraksi n-butanol daun pulutan (*Urena lobata*) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu fenolik, flavonoid, saponin dan alkaloid.
2. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum fraksi n-butanol daun Pulutan (*Urena lobata*) lebih tinggi dibandingkan amoxicillin sebagai antibiotik pembanding terhadap *Staphylococcus aureus*.
3. Fraksi n-butanol daun Pulutan memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 80.000 ppm, namun lebih lemah dibandingkan antibiotik pembanding Amoxiciliin.

SARAN

Bersumber hasil riset, pembahasan, serta simpulan maka bisa dikemukakan sejumlah masukan yakni:

1. Penelitian lanjutan untuk penetapan kadar metabolit sekunder dalam fraksi n-butanol daun Pulutan (*Urena lobata*)
2. Pengujian Kadar Bunuh Minimum (KBM)

3. Peningkatan dosis fraksi n-butanol daun Pulutan (*Urena lobata*) sampai dengan 160.000 ppm untuk uji ZOI.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan pada IOM Fakultas Kedokteran UNISMA yang telah membantu pendanaan pada riset berikut.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bramantono, B., Rachman, B. E., Marfiani, E., Kurniati, N. D., Arifijanto, M. V., & Jearanaiwitayakul, T. (2021). The Bacterial Pneumonia Characteristics based on Climate and Meteorological Parameters in Indonesia, the Tropical Country: A Preliminary Study. *Biomolecular and Health Science Journal*.
2. WHO, 2016. National Policy on Traditional Medicine and Regulation of Herbal Medicines, Report of a WHO global survey, Geneva.
3. Nurwahdaniati. 2014, 'Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol 70 % Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) dengan Metode Bioautografi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*', *Jurnal FIKES UMM*, pp. 1-7.
4. Locke, T., Keat, S., Walker, A., and Mackinnon, R. 2012, *Microbial and Infectious Diseases on the Move Indeks*, Jakarta
5. Utami, Rahayu. (2011). *Antibiotik, Resistensi dan Rasionalitas Terapi*. El Hayah
6. Dirga, Khairunnisa, S., Akhmad, A., Setyawan, I. dan Pratama, A. (2021) 'Evaluasi Penggunaan Antibiotik pada Pasien Rawat Inap di Bangsal Penyakit Dalam RSUD. Dr. H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung', *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 11(1),
7. Silalahi, M. (2021). *Urena Lobata (Pemanfaatan Sebagai Obat Tradisional Dan Bioaktivitasnya)*. *J-Kesmas: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 6(2), 114.
8. Babu SS, Madhuri DB, Ali SL. 2016. A pharmacological review of *Urena lobata* plant, *Asian J. Pharm. Clin. Res.*
9. Wulandari, W., P.I. Utami, and D. Hartanti. 2009. Penapisan fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol Herba pulutan (*Urena lobata* Linn.). *Pharmacy* 6(1): 1
10. Mane, S., Bhairy, S., & Momin, A. (2016). Exploring the Pharmacognostic Characteristics and Antimicrobial Potential of Leaves of *Urena lobata* Linn. *International Research Journal of Pharmacy*, 7(11), 31–37
11. Agung, N. (2017). Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. In *Lambung Mangkurat University Press* (Issue January 2017).
12. Mutiara, R., Djangi, M. J., & Herawati, N. (2016). Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Kulit Buah Mangrove Pidada (*Sonneratia caseolaris*). *Jurnal Chemical*, 17(2), 52–62.
13. Fadillah, U. F., & Hambali, E. (2019). Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Pulutan (*Urena lobata* L) dengan GC-MS. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(3)
14. Kaidun, C., Tombuku, J., Sumalong, F., & Sangande, F. (2022). Skrining Fitokimia Fraksi Methanol, Etil Asetat, N-Heksan Ekstrak Kulit Buah Sirsak *Annona Muricata* L. *Biofarmasetikal Tropis*, 5(1), 73–78.
15. Mulqie, L., Suwendar, S., Rajih, M. F., Mardliyani, D., Yumnati, I., Widiyari, W., & Nurrosyidah, Z. (2022). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jambu Air [*Eugenia Aqueum* (Burm. F) Alston] Dengan Mikrodilusi Agar. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 5(1), 1–8.
16. Purwaningrum, N. D., Murtisiwi, L., & Pratimasari, D. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi N-Heksan, Etil Asetat Dan Air Dari Sabut Kelapa Muda (*Cocos Nucifera* Linn) Terhadap *Escherichia coli* ESBL (Extended Spectrum Beta Lactamase). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 7(1), 29–37.
17. Pourmourad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. 2006. Antioxidant Activity, Phenol And Flavonoid

- Contents Of Some Selected Iranian Medicinal Plants. *African journal of Biotechnology* 5(11): 1142-1145.
18. Matsunaga, K., Yamabe, S., Mori, T. 1997. Photodegradation of Polychlorobiphenyls by Titanium Dioxide / Ferric Ion / Hydrogen Peroxide / UV Light System. *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health.* 43 (3): 174-181
 19. Adnan, M. 1997. Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Pangan Edisi 1. Penerbit Andi. Yogyakarta;
 20. Weber DJ, Tolkoff-Rubin NE, Rubin RH. Amoksisilin dan kalium klavulanat: kombinasi antibiotik. Mekanisme aksi, farmakokinetik, spektrum antimikroba, efikasi klinis dan efek samping. *Farmakoterapi.* 1984 Mei-Juni; 4 (3):122-36
 21. Sufiriyanto Indrajati, M. 2005. Aktivitas Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curumae xanthoriza*) dan Kunyit (*Curcumae domestica*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus*. *Jurnal Biologi.* 11(15-23)
 22. Hidayah, N., Mustikaningtyas, D., Harnina Bintari Jurusan Biologi, S., & Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, F. (2017). Aktivitas Antibakteri Infusa Simplisia *Sargassum muticum* terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Life Science*, 6(2), 49–54.
 23. Sani, R. N., Nisa, F. C., Andriani, R. D., dan Madigan, J. M . 2013. Analisis reedmen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut (*Tetraselmis chui*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* 2 (2): 121-126
 24. Pelczar, M. J. dan R. D. Reid, 1972. *Microbiology.* McGraw-Hill Book Co. Inc., New York. Pelczar, J.M. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi* Jilid 2.
 25. Aksara, R., Musa, W. J. A., & Alio, L. (2013). Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L). *Jurnal Entropi*, 8(1), 514–519.
 26. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. (2011). Nomor 2406 tentang Pedoman umum penggunaan antibiotik. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
 27. Berliansyah, S. Z., Dewi, A. R., & Purnomo, Y. 2021. Penentuan Kadar Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan Fraksi n-Butanol Daun Pulutan (*Urena lobata*).