

**PENAPISAN FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
HERBA PULUTAN (*Urena lobata* Linn.)**

Roselina Wulandari*, Pri Iswati Utami*, Dwi Hartanti*

*Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Jl. Raya Dukuwaluh,
PO Box 202, Purwokerto 53182*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang penapisan fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba pulutan (*Urena lobata* Linn). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri herba pulutan. Dalam penelitian ini, ekstraksi dilakukan dengan metode Soxhletasi dengan pelarut etanol 96%. Penapisan fitokimia menggunakan metode Cannel, dan untuk uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar menggunakan kertas cakram. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian satu arah dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa herba pulutan mengandung senyawa golongan alkaloid dan polifenol. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba pulutan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata Kunci : pulutan (*Urena lobata* Linn), antimikroba, penapisan fitokimia.

Abstract

*The research on phytochemical screening and antibacterial activity of ethanolic extract of pulutan (*Urena lobata* Linn) has been done. The purpose of this research was to explore the secondary metabolite and antibacterial activity of pulutan herbs. In this research, the extraction of pulutan herbs was using Soxhletation methods with 96% ethanol as a solute. Phytochemical screening was done by Cannel methods and antibacterial activity test was done by diffusion method and use the paper disk for the diffusion. *Staphylococcus aureus* (Positive Gram) and *Escherichia coli* (Negative Gram) were used in antibacterial activity test. The data which obtained from the research is analyzed by one way analysis of variance test with significance level in 95%. The result of phytochemical screening shown that pulutan herbs contain alkaloid and polyphenol compound. Antibacterial activity test showed that ethanolic extract of pulutan herbs has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.*

*Keywords: pulutan (*Urena lobata* Linn), antibacterial activity, phytochemical screening.*

Pendahuluan

Penggunaan antibiotik dalam pengobatan infeksi sering kali menimbulkan beberapa masalah, antara lain timbulnya efek samping, resistensi dan lain-lain. Dalam hal penanganan infeksi, perlu diupayakan untuk menggunakan beberapa alternatif yang dapat mengurangi kejadian resistensi maupun timbulnya efek samping. Dengan potensi alam yang dimiliki Indonesia, penggunaan obat tradisional yang berasal dari alam dapat dijadikan alternatif untuk pengobatan infeksi sebagai pengganti antibiotik. Tanaman obat diketahui potensial untuk dikembangkan lebih lanjut pada pengobatan penyakit infeksi seperti diare, keputihan, dan bronchitis, namun hal ini belum banyak diaplikasikan karena masih banyak aktivitas obat tradisional tersebut yang belum dibuktikan secara ilmiah (Hertiana dkk. 2003: 90).

Tumbuhan Pulutan (*Urena lobata* linn.) adalah suatu jenis tumbuhan serat dari suku kapas-kapasan. Pulutan tumbuh di daerah iklim tropik termasuk di Indonesia, tempat asalnya belum diketahui dengan jelas tetapi di Indonesia tumbuh dengan liar (Anonim, 2007).

Secara tradisional tumbuhan pulutan dapat mengobati panas influenza, radang tonsil (tonsilitis), malaria, reumatik, keputihan, bengkak, muntah darah, sukar melahirkan, bisul, luka berdarah, tulang patah, payudara bengkak, dan gigitan ular (Anonim, 2007). Berdasarkan informasi tersebut, maka besar kemungkinan tanaman pulutan memiliki aktifitas antibakteri, selain itu kandungan dari tanaman ini belum diketahui maka perlu dilakukan penelitian. Melihat potensi yang besar dari tanaman pulutan dan belum ditemuinya penelitian mengenai hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah tanaman pulutan memiliki senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, flavonoid saponin, polifenol, dan glikosida. Selain itu juga perlu dilakukan uji untuk mengetahui apakah tanaman pulutan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai wakil dari bakteri gram positif & *Escherichia coli* sebagai wakil dari bakteri gram negatif dengan metode difusi.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis kandungan kimia metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, polifenol,

dan glikosida pada herba pulutan serta menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba pulutan secara *in vitro* terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Metode Penelitian

Bahan: Herba pulutan yang dibudidayakan di daerah Pasir Lor, Karang Lewas, Kabupaten Banyumas. Reagen Dragendorff dan Reagen Baljet, Mg Stearat yang didapat dari Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto, FeCl₃, HCl pekat didapat dari Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi untuk digunakan dalam penapisan Fitokimia. Media nutrien agar dan nutrien cair untuk uji antibakteri. Bakteri *S. aureus*, dan *E. coli* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, jurusan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Alat: Penyerbuk simplisia, seperangkat alat soxhletasi, *rotary evaporator*, *hot plate*, autoklaf, inkubator, spuit injeksi, kawat ose, cawan petri, *laminar air flow*, dan peralatan gelas.

Cara Kerja

1. Penyiapan Simplisia

Herba Pulutan dicuci, dan dikeringkan di dalam lemari

pengering. Setelah kering, herba lalu dipotong-potong menjadi ukuran yang lebih kecil ± 3 cm, kemudian diserbuk dengan alat penyerbuk simplisia.

2. Ekstraksi Herba pulutan

Serbuk simplisia kering diambil 50 gram untuk kemudian disoxhletasi dengan pelarut etanol 96% sampai larutan di dalam tabung soxhlet tidak berwarna. Ekstrak etanol yang diperoleh selanjutnya diambil 50 mL yang akan digunakan untuk uji penapisan fitokimia, sisanya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

3. Penapisan Fitokimia

Uji penapisan fitokimia untuk memperoleh metabolit sekunder herba pulutan meliputi :

a. Uji Alkaloid

Satu mL ekstrak etanol ditambah dengan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff. Bila bereaksi positif maka akan menghasilkan endapan berwarna jingga.

b. Uji Steroid

Satu mL ekstrak etanol ditambahkan dengan 1,0 mL pereaksi Lieberman-Burchard. Bila bereaksi positif pada batas

- kedua larutan terjadi cincin merah kecoklatan atau ungu, sedangkan larutan bagian atas menjadi hijau atau ungu (Depkes RI).
- c. Flavonoid
- Satu mL ekstrak etanol ditambah dengan sedikit serbuk magnesium dan beberapa tetes HCl pekat (pereaksi Shinoda). Jika bereaksi positif akan menghasilkan larutan berwarna jingga, merah muda, atau merah.
- d. Saponin
- Dua mL ekstrak etanol diuapkan hingga tinggal separuhnya. Sisanya diencerkan dengan air volume yang sama dan dituangkan dalam tabung reaksi dengan garis tengah 1,6 cm, kemudian dikocok selama 15 menit. Terbentuknya buih yang stabil.
- e. Polifenol
- Satu mL ekstrak pulutan dalam eter diuapkan kemudian sisa ditambah dengan beberapa tetes larutan FeCl_3 . Bila bereaksi positif maka akan menghasilkan warna hijau, ungu, biru sampai hitam.
- f. Glikosida
- Dua sampai tiga mL ekstrak etanol ditambahkan ke dalam 2 mL pereaksi Baljet, bila bereaksi positif maka akan menghasilkan warna jingga sampai merah.
4. Pembuatan larutan ekstrak etanol herba pulutan dalam berbagai konsentrasi
- Ekstrak etanol dalam dilarutkan dalam etanol 96% sehingga diperoleh konsentrasi 5,10,15 dan 20 mg/mL. Sebagai kontrol positif digunakan Amoxicilin dengan konsentrasi 1389 ppm.
5. Uji Aktifitas AntiBakteri
- Pengujian aktifitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram. Sebanyak 0,1 mL kultur bakteri cair yang diperoleh dari hasil pengenceran biakan uji dituangkan ke dalam cawan petri, kemudian media nutrien agar yang sudah dicairkan dituangkan ke dalam cawan petri. Selanjutnya biakan bakteri cair dan media dihomogenkan dengan digoyang membentuk arah angka delapan. Masing-masing kertas cakram berukuran 6 mm sebanyak 6 buah diletakan diatas media padat tersebut. Pada kertas cakram masing-masing ditetaskan 10 μL ekstrak sampel dengan

konsentrasi 5, 10, 15, dan 20 mg/mL, kontrol positif, dan kontrol negatif. Masing-masing diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C. Daerah hambat diukur Diameter untuk masing-masing konsentrasi ekstrak sampel. Sebagai kontrol negatif digunakan pelarut dari ekstrak sampel yaitu etanol 96%. Sebagai kontrol positif digunakan amoxicillin dengan konsentrasi 1389 ppm. Adanya daerah bening menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktifitas antibakteri terhadap bakteri *S.aureus* dan *E. coli* (Hadioetomo, 1993).

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak etanol herba pulutan terhadap pertumbuhan bakteri uji, dilakukan pengujian pada beberapa konsentrasi. Konsentrasi ekstrak etanol yang digunakan masing-masing adalah 5, 10, 15, 20mg/mL.

6. Analisis Data

Untuk mengetahui apakah perbedaan konsentrasi ekstrak herba pulutan mempengaruhi perbedaan rata-rata diameter daya hambat pertumbuhan bakteri digunakan *one way anova*.

Hasil dan Pembahasan

Penapisan Fitokimia

Penelitian dilakukan dengan membuat ekstrak etanol herba pulutan

dengan metode Soxhletasi. Pemilihan pelarut menggunakan etanol 96% dengan pertimbangan bahwa etanol mudah diperoleh, bereaksi netral, selektif, dan tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat (Depkes.RI, 1986; Depkes.RI, 1995). Penapisan Fitokimia mempunyai tujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol herba pulutan. Penapisan fitokimia menggunakan cara Cannel (1998).

Untuk identifikasi golongan senyawa alkaloid dilakukan dengan pereaksi Dragendorff. Berdasarkan uji yang dilakukan menunjukkan perubahan warna orange dan terdapat endapan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba pulutan mengandung alkaloid.

Untuk identifikasi golongan senyawa steroid dilakukan dengan pereaksi Lieberman Burchard. Berdasarkan uji yang dilakukan menunjukkan larutan berwarna hijau. Hal ini menunjukkan ekstrak etanol herba pulutan tidak mengandung steroid karena jika positif pada batas kedua larutan terjadi cincin merah kecoklatan atau ungu, sedangkan larutan bagian atas menjadi hijau atau ungu.

Untuk identifikasi golongan senyawa flavonoid dilakukan dengan pereaksi Shinoda. Berdasarkan uji yang dilakukan untuk pembanding rutin didapatkan larutan berubah warna dari hijau muda menjadi merah sementara pada ekstrak etanol herba pulutan menunjukan larutan tetap berwarna hijau tua. Hal ini menunjukan bahwa ekstrak etanol herba pulutan tidak mengandung flavonoid karena jika positif menghasilkan warna jingga sampai merah.

Untuk identifikasi golongan senyawa polifenol dapat diketahui dengan larutan FeCl_3 yang akan membentuk endapan warna hijau, ungu, biru sampai hitam. Berdasarkan uji yang dilakukan dihasilkan larutan warna hitam. Hal ini menunjukan bahwa ekstrak etanol herba pulutan mengandung polifenol, kemungkinan terdapat senyawa fenol-fenol bebas dalam ekstrak herba pulutan.

Identifikasi senyawa glikosida dapat diketahui dengan Baljet, bila positif akan menghasilkan warna jingga sampai merah. Berdasarkan uji yang dilakukan dihasilkan warna kuning. Hal ini menunjukan ekstrak etanol herba pulutan tidak mengandung glikosida.

Identifikasi senyawa saponin dalam ekstrak etanol herba pulutan dapat diketahui dengan terbentuknya busa stabil bila ekstrak etanol-air diuapkan kemudian diencerkan dengan air dengan volume yang sama kemudian dikocok selama 15 menit. Berdasarkan uji yang dilakukan tidak terdapat busa. Hal ini menunjukan bahwa ekstrak etanol herba pulutan tidak mengandung saponin.

Hasil Uji Aktivitas Anti Bakteri Pulutan

Hasil penelitian uji aktifitas antibakteri herba pulutan terhadap *Staphylococcus* diketahui bahwa pada konsentrasi 5mg/mL memberikan hambatan terkecil dengan rata-rata diameter 12,40 mm. Pada konsentrasi 20mg/mL menunjukan hambatan paling besar dengan rata-rata diameter 15,40 mm. Hasil uji *anova one way* dengan taraf kepercayaan 95% terhadap diameter zona hambatan larutan sampel dan kontrol pada bakteri *S. aureus* dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak herba pulutan. Dari tes Bonferoni dapat dilihat bahwa antar kontrol negatif memberikan hasil yang berbeda signifikan dengan konsentrasi 10, 15,

dan 20mg/mL. Dengan asumsi bahwa kontrol negatif tidak memberikan efek antibakteri, maka dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 10, 15, dan 20mg/mL mempunyai efek anti bakteri terhadap *S.aureus*. Antara kontrol negatif dengan konsentrasi 5mg/mL memberikan hasil yang tidak berbeda signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol herba pulutan pada konsentrasi 5mg/mL tidak memiliki efek anti bakteri terhadap bakteri *S. aureus*. Hasil uji Benferoni untuk konsentrasi 10, 15, dan 20mg/mL dengan kontrol positif memberikan hasil yang tidak berbeda signifikan artinya konsentrasi 10, 15, dan 20mg/mL memiliki efek anti bakteri terhadap *S. aureus* yang sebanding dengan antibiotik amoxicilin pada dosis 1389ppm.

Hasil penelitian uji aktifitas antibakteri herba pulutan terhadap *E. coli* dapat dilihat pada tabel 2. Hasil analisis ANOVA terhadap diameter zona hambatan larutan sampel dan kontrol pada bakteri *E. coli* dapat disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antar

kelompok konsentrasi. Berdasarkan hasil tes Bonferoni dapat dilihat bahwa antara kontrol negatif dengan konsentrasi 10 dan 15mg/mL memberikan hasil yang berbeda signifikan artinya pada konsentrasi 10 dan 15mg/mL mempunyai efek anti bakteri terhadap *E. coli*. Antara kontrol negatif dengan konsentrasi 5mg/mL memberikan hasil yang tidak berbeda signifikan artinya pada konsentrasi 5mg/mL ekstrak etanol herba pulutan tidak memiliki efek anti bakteri terhadap bakteri *E. coli*.

Ekstrak etanol herba pulutan dapat dikatakan aktif terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* bila dibandingkan dengan senyawa standar (antibiotik) amoxicilin, data bisa dilihat pada Tabel 1 dan 2. Gambar 1 memperlihatkan perbedaan daya hambat pada setiap konsentrasi ekstrak etanol herba pulutan terhadap *S. aureus* dengan *E. coli*. Pada *S. aureus* terdapat hubungan antara dosis dengan aktifitas antibakteri, pada *E. coli* tidak terdapat hubungan antara dosis dengan aktifitas antibakteri.

Tabel 1. Hasil uji antibakteri ekstrak etanol herba pulutan terhadap *S. aureus*.

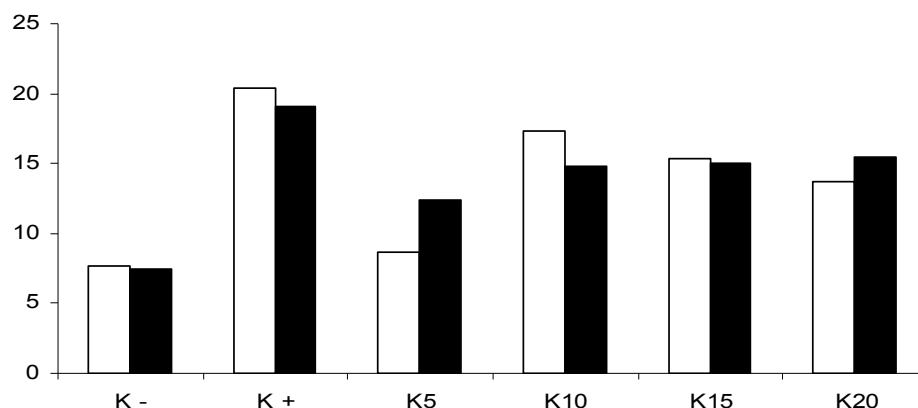
Bakteri	Replikasi	Diameter zona hambat (mm)					
		K -	K +	K ₅	K ₁₀	K ₁₅	K ₂₀
<i>S. aureus</i>	1	7,00	18,9	13,30	15,80	15,00	14,15
	2	7,00	15,4	11,10	13,10	14,60	16,00
	3	8,40	23,0	13,00	17,60	15,50	16,15
	Rata-rata	7,46	19,10	12,40	14,80	15,03	15,43

Keterangan :
 K - = Kontrol Negatif
 K + = Kontrol Positif
 K₅ = Konsentrasi ekstrak 5mg/mL
 K₁₀ = Konsentrasi ekstrak 10mg/mL
 K₁₅ = Konsentrasi ekstrak 15mg/mL
 K₂₀ = Konsentrasi ekstrak 20mg/mL

Tabel 2. Hasil uji aktifitas antibakteri ekstrak etanol herba pulutan terhadap *E. coli*

Bakteri	Replikasi	Diameter zona hambat (mm)					
		K -	K +	K ₅	K ₁₀	K ₁₅	K ₂₀
<i>E. coli</i>	1	8,10	20,20	12,30	16,80	19,00	13,50
	2	8,10	23,80	6,90	19,00	13,20	14,40
	3	6,90	17,20	6,90	16,10	13,90	13,20
	Rata-rata	7,70	20,40	8,70	17,30	15,36	13,70

Keterangan :
 K - = Kontrol Negatif
 K + = Kontrol Positif
 K₅ = Konsentrasi ekstrak 5mg/mL
 K₁₀ = Konsentrasi ekstrak 10mg/mL
 K₁₅ = Konsentrasi ekstrak 15mg/mL
 K₂₀ = Konsentrasi ekstrak 20mg/mL



Gambar 1. Histogram hubungan antar konsentrasi ekstrak etanol dengan daya hambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. □ : Diameter zona hambat *E. coli*, ■ : Diameter zona hambat *S. aureus*.

Mekanisme kerja antibakteri dari senyawa polifenol dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan cara denaturasi dan koagulasi protein (Siswandono, 2000). Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan presipitasi serta denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis.

Kesimpulan

Berdasarkan uji penapisan fitokimia diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol herba pulutan memiliki kandungan golongan senyawa Alkaloid dan polifenol. Untuk uji aktivitas antibakteri, hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba pulutan memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Daftar Pustaka

- Anonim, 2007, Pulutan, www.tanamanherbal.wordpress.com/ 2007 /12/15/ pulutan/ kumpulan, Diakses pada tanggal 25 oktober 2008.
- Cannel, R.J.P.,1998, *Natural Product Isolation*, New Jersey: Humana Press
- Depkes RI, 1986, *Sediaan galenik*, Depkes RI, Jakarta : 10 – 16
- Depkes RI, 1995, *Farmakope Indonesia IV*, Depkes RI, Jakarta: 6, 854.
- Hadioetomo RS, 1993, *Mikrobiologi dasar dalam praktek*, Gramedia, Jakarta : 55
- Hertiana, T. dkk., 2003, *Uji In Vitro Potensi Antimikroba Terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Shigella dysenteriae dan Candida albicans Dari Beberapa Tanaman Obat Tradisional Untuk Penyakit Infeksi*, Vol 4, No.2, 90.
- Siswandono, S.B., 2000, *Kimia Medisinal*, Erlangga University press, Surabaya : 12