

Phytochemical Screening and Antibacterial Activity, Antilarvacides and Toxicity Test of Acetone Extract Pulutan Leave (*Urena lobata*)

Siska Juita Berlian Putri Gea, Tita Juwitaningsih*, Ida Dumariris, Murniaty Simorangkir, Destria Roza

Laboratorium Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, Medan, Indonesia

*Alamat Korespondensi: juwitaningsih@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to determine the content of secondary metabolites, antibacterial activity, antilarvicides, and pulutan leaf acetone extract toxicity test. Photochemical tests were carried out using several suitable reagents. Bacterial activity test using disc diffusion and microdilution methods against *Salmonella typhi* and *Streptococcus mutans* bacteria, then toxicity test using the BSLT method. Larvicide test by observing the mortality of *Aedes aegypti* larvae for 24 hours. Based on the phytochemical tests, pulutan leaves contain flavonoids, alkaloids, steroids, saponins, and tannins. The results of the antibacterial activity test showed activity against *S. typhi* and *S. mutans* with inhibition zone diameters of 7.05 mm and 8.25 mm, respectively. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) values against *S. typhi* and *S. mutans* were > 5000 g/mL and > 5000 g/mL, respectively. The toxicity test results of pulutan leaf acetone extract had an LC_{50} value of 37.20 ppm, while the results of the larvicidal activity test had an LC_{50} value of 1971.19 ppm. The toxicity test results showed that the acetone extract of pulutan leaves was toxic and not anti-larvicidal to *A. aegypti* larvae. The bioactivity ability of pulutan leaf acetone extract is influenced by the content of flavonoids, alkaloids, steroids, saponins, and tannins. It can be concluded that the pulutan leaf extract in the Nias area has the potential as a source of antibacterial compounds.

Keywords: Pulutan (*Urena lobata*), phytochemical screening, antibacterial, larvacide, toxicity

PENDAHULUAN

Pulutan (*Urena lobata*) merupakan tumbuhan semak yang berkhasiat sebagai obat yang tumbuh di daerah beriklim tropis dan termasuk famili Malvaceae (Dhanapal dkk., 2012). Daun pulutan dapat bermanfaat sebagai obat influenza, batuk, radang tonsil, malaria, keputihan, rematik, bengkak, bisul, luka berdarah, tulang patah, dan gigitan ular serta kanker (Fadillah dkk., 2019). Tanaman ini mengandung metabolit sekunder yang memiliki kemampuan sebagai bioaktivitas, antara lain alkaloid, glikosida, tanin, terpenoid, dan saponin, yang berpotensi sebagai antibakteri *S. aureus*, *Enterococcus spesies*, *E. coli*, *Klebsiella spesies*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Fagbohun dkk.,

2012). Penelitian lain, Wulandari dkk. (2009) juga melaporkan bahwa ekstrak etanol daun pulutan memiliki senyawa alkaloid dan polifenol, yang dapat berpotensi sebagai antibakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji toksisitas dari ekstrak metanol pulutan dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva *Artemia salina* Leach. Dari penelitian tersebut dilaporkan daun pulutan bersifat toksik yang mengakibatkan hewan uji mengalami kematian (Ali dkk., 2013).

Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa ekstrak aseton daun pulutan juga memiliki bioaktivitas seperti halnya ekstrak daun pulutan lainnya. Sejauh ini belum banyak dilaporkan terkait ekstrak aseton

daun pulutan sebagai antibakteri, antilarvasida, dan uji toksisitasnya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan fitokimia dan bioaktivitas ekstrak aseton daun pulutan sebagai antibakteri ekstrak aseton daun pulutan terhadap bakteri *S. mutans* dan *S. typhi*, menguji toksisitas ekstrak aseton daun pulutan untuk memprediksi tingkat keamanan ekstrak dengan metode BSLT serta menguji antilarvasida ekstrak aseton daun pulutan terhadap larva *A. aegypti* sebagai penyebab demam berdarah.

MATERI DAN METODE

Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Ekstraksi aseton dibuat dengan cara sebanyak 1 kg serbuk daun pulutan ditimbang, selanjutnya sampel diletakkan dalam wadah maserasi tertutup dan ditambahkan aseton hingga sampel terendam seluruhnya. Maserat diaduk secara berkala dalam jangka waktu 24 jam lalu disaring menggunakan vakum dan corong buchner untuk memperoleh filtrat. Kemudian filtrat tersebut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 56 °C untuk memperoleh ekstrak kental aseton daun pulutan. Maserasi dilakukan selama 4x24 jam (Widodo dkk., 2019).

Skrining Fitokimia

Uji flavonoid

Sebanyak 3 mL ekstrak ditambahkan 0.1 mg serbuk Mg dan 4 tetes HCl 2%. Hasil positif flavonoid ditandai dengan perubahan warna filtrat menjadi jingga kemerahan (Meigaria dkk., 2016).

Uji tanin

Sebanyak 3 mL ekstrak ditambahkan 2 tetes pereaksi FeCl₃ 1%. Munculnya warna filtrat menjadi hijau atau biru kehitaman menandakan adanya tanin (Meigaria dkk., 2016).

Uji saponin

Sebanyak 3 mL ekstrak ditambahkan air panas, kemudian didinginkan, dikocok selama 10 detik, selanjutnya diamati perubahannya, dan ditambahkan kembali 1 tetes HCl 2N. Hasil positif ditandai dengan munculnya busa stabil selama 10 menit (Meigaria dkk., 2016).

Uji alkaloid

Sebanyak 3 mL ekstrak dimasukkan 3 tetes HCl 2 N dan aquades, dipanaskan selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang digunakan untuk uji alkaloid adalah sebagai berikut:

- Tiga tetes filtrat ditambahkan dengan 2 tetes larutan pereaksi Mayer, kemudian terbentuk endapan kuning.
- Tiga tetes filtrat ditambahkan dengan 2 tetes larutan pereaksi Wagner kemudian terbentuk endapan warna kuning kecoklatan.
- Tiga tetes filtrat ditambahkan dengan 2 tetes larutan pereaksi Dragendroff kemudian d terbentuk endapan warna putih (Pardede dkk., 2013).

Uji steroid dan triterpenoid

Sebanyak 3 mL ekstrak, ditambahkan 3 tetes asam asetat anhidrat, lalu diaduk secara perlahan beberapa saat sampai kering, kemudian ditambahkan 2 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif triterpenoid jika menghasilkan warna merah atau merah ungu, sedangkan positif steroid ditandai warna hijau – biru (Meigaria dkk., 2016).

Uji Aktivitas Antibakteri

Pembuatan Media dan Sterilisasi

Sebanyak 38 g media Mueller Hinton Agar (MHA) dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Selanjutnya, media MHB ditimbang sebanyak 21 g dan dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Semua alat dan bahan, serta media agar disterilisasi

menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit (Utomo dkk., 2018).

Preparasi Ekstrak

Sebanyak 100 mg ekstrak aseton daun pulutan ditimbang dan dilarutkan dalam 1000 µg/mL DMSO 100%, kemudian divortex. Selanjutnya diambil 100 µg/mL ekstrak yang sudah divortex dan dilarutkan dalam 900 µg/mL DMSO, sehingga diperoleh larutan ekstrak 1% dalam 10% DMSO (Juwitaningsih dkk., 2020).

Peremajaan dan Pembuatan Inokulum Bakteri

Bakteri *S. typhi* ATCC 14028 dan *S. mutans* ATCC 25175 dibiakkan pada cawan Petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Pembuatan inokulum bakteri dilakukan dengan cara koloni biakan tunggal bakteri diambil menggunakan *cotton bud* dan dimasukkan ke vial yang berisi 3 mL NaCl 0,9%, kemudian dihomogenkan dengan vortex hingga tingkat kekeruhannya setara dengan standar McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL) (Nurhayati dkk., 2020).

Uji Metode Difusi Cakram Kertas

Metode difusi cakram dimulai dengan cara suspensi bakteri ditetaskan sebanyak 100 µL di atas media agar, kemudian diratakan menggunakan *spreader*, dan didiamkan hingga suspensi di media agar menjadi kering. Cakram kertas dicelupkan ke dalam ekstrak aseton daun pulutan 1% menggunakan pinset, kemudian kertas cakram tersebut diletakkan di atas media agar yang sudah berisi bakteri uji. Hal yang sama dilakukan terhadap pelarut DMSO sebagai kontrol negatif (Mardiah dkk., 2017). Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik kloramfenikol 30 µg langsung diletakkan pada media agar (Natheer dkk., 2012). Selanjutnya, plat ditutup dan dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah 24 jam, setiap

plat media agar diamati dan dihitung diameter zona bening yang terbentuk yang menandakan adanya zona penghambatan yang terbentuk terhadap bakteri uji (Mardiah dkk., 2017).

Uji Mikrodilusi

Mikroplat pada baris pertama kolom A dan B diisi 100 µL MHB sebagai kontrol negatif. Sedangkan untuk baris ke-2 hingga ke-12 diisi media MHB tersuspensi bakteri sebanyak 100 µL. Selanjutnya larutan uji 10.000 sebanyak 100 µg/mL, dan sebanyak 20 µL dimasukkan pada kolom di mikroplat dimulai dari lubang ke-12 selanjutnya ke lubang di sebelahnya dan seterusnya sampai lubang ke-2. Mikroplat diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Penentuan nilai MBC dengan dilakukan dengan cara semua larutan uji diinokulasi dari setiap lubang mikroplat, yaitu sebanyak 10 µL larutan diambil dan ditumbuhkan di atas media agar MHA selama 24 jam pada suhu 37 °C (Diastuti dkk., 2016).

Uji Toksisitas

Uji toksisitas menggunakan empat variasi konsentrasi yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm. Sebanyak 10 ekor larva *A. salina* yang telah berumur 48 jam diambil, dimasukan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan ekstrak dengan seri konsentrasinya. Semua tabung reaksi selama uji harus mendapat pencahayaan. Setelah 24 jam, jumlah larva yang mati dihitung untuk mengetahui nilai probit dan dianalisis untuk mengetahui harga LC_{50} . Setiap konsentrasi mendapat tiga kali replikasi. Kontrol negatif yang digunakan adalah 20 mL air laut buatan (Meyer dkk., 1982).

Uji Larvasida

Uji larvasida dilakukan dengan variasi konsentrasi ekstrak yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, dan 100 ppm. Perlakuan awal yang dilakukan yaitu dengan

memasukkan 20 ekor larva *A. aegypti* instar III pada wadah plastik yang berisi variasi konsentrasi menggunakan pipet tetes. Setiap konterasi dilakukan pengujian sebanyak tiga kali replikasi. Kontrol negatif yang digunakan yaitu aseton 1%. Aseton dalam pengujian ini juga sebagai pelarut ekstrak. Kontrol positif untuk uji larvasida adalah larutan abate 100 ppm. Uji ini dilakukan selama 24 jam, kemudian setelah 24 jam dihitung jumlah larva yang mati kemudian dilakukan analisis probit untuk memperoleh nilai LC_{50} (Riyadi dkk., 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini ekstrak aseton daun pulutan diperoleh dengan metode maserasi selama 4x24 jam dengan pertimbangan bahwa maserasi dengan metode maserasi mudah dilakukan dan tidak merusak kandungan metabolit sekunder dari ekstrak, karena dilakukan pada suhu ruang. Selama proses maserasi berlangsung, akan terjadi proses terpecahnya membran sel dan dinding sel sampel dikarenakan adanya perbedaan tekanan antara luar dan dalam sel sehingga zat aktif dalam sel pecah dan terlarut dalam pelarutnya (Novitasari & Putri, 2016).

Skrining Fitokimia

Berdasarkan skrining kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak aseton, daun pulutan diketahui mengandung metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, steroid, tannin, dan saponin. Sedangkan dalam penelitian Wulandari dkk. (2009) ekstrak etanol daun pulutan yang dibudidayakan di daerah Pasir lor, Banyumas hanya mengandung alkaloid dan polifenol. Perbedaan keberadaan suatu golongan metabolit sekunder pada tumbuhan yang sama dapat disebabkan oleh kondisi pertumbuhan seperti lingkungan tempat tumbuh dan perbedaan iklim (Frengki dkk., 2014) serta dapat dipengaruhi oleh pelarut untuk ekstraksi yang digunakan berbeda.

Aktivitas Antibakteri

Konsentrasi ekstrak yang diujikan yaitu ekstrak aseton daun pulutan 1% dengan kontrol negatif adalah DMSO dan kontrol positif adalah antibiotik kloramfenikol 30 µg. DMSO dijadikan sebagai kontrol negatif karena berperan sebagai pelarut ekstrak. Berdasarkan hasil penelitian ini, DMSO memberikan hasil negatif terhadap semua bakteri uji. Hal ini membuktikan bahwa DMSO sebagai pelarut ekstrak, tidak memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. typhi* (ATCC 14028) dan *S. mutans* (ATCC 25175) ditunjukkan diameter zona bening yaitu sebesar 7,05 mm dan 8,25 mm. Dalam penggolongan kategori kekuatan daya hambat bakteri oleh Davis & Stout (1971) bahwa jika diameter zona hambat bakteri jika ≤ 5 mm maka bersifat lemah, jika zona hambat berada pada diameter 5-10 mm dikategorikan sedang, sedangkan jika zona hambat berkisar 10-20 mm maka dikategorikan kuat, dan jika diameter zona hambat bakteri > 20 mm dikategorikan bersifat sangat kuat. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak aseton daun pulutan mampu menghambat bakteri *S. typhi* dan *S. mutans* dengan kategori sedang.

Berdasarkan penelitian Shelar dkk. (2017), ekstrak etanol daun pulutan mampu membentuk zona hambat terhadap bakteri *S. typhi* sebesar 20 mm (200 µg/mL) dan 30 mm (300 µg/mL) serta untuk ekstrak etanol daun pulutan membentuk zona hambat sebesar 20 mm (200 µg/mL) dan 33 mm (300 µg/mL). Sedangkan dalam penelitian Zarta dkk. (2019) mengidentifikasi kekuatan zona hambat untuk *S. mutans* dengan variasi konsentrasi 25, 50, 100 dan 200 µg/mL dengan masing-masing zona hambat berturut-turut yaitu sebesar 7,5 mm, 10,22 mm, 10,44 mm, dan 11 mm. Dalam penelitian ini digunakan konsentrasi ekstrak aseton daun pulutan 1% (10.000 µg/mL).

Perbedaan perolehan diameter zona hambat antara penelitian ini dengan beberapa penelitian sebelumnya diduga disebabkan oleh perbedaan pelarut yang dipilih. Kedua penelitian sebelumnya menggunakan pelarut polar yaitu etanol, sedangkan dalam penelitian ini menggunakan pelarut aseton yang bersifat semipolar, sehingga metabolit yang terekstraksi berada dalam kadar yang berbeda.

Terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram ekstrak uji pada media agar disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak aseton daun pulutan yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri di sekitar ekstrak uji tersebut (Ernawati & Hasnila, 2015). Hasil uji MIC dan MBC ekstrak aseton daun pulutan diperlihatkan dalam Tabel 1 berikut.

Tabel. 1 Hasil MIC dan MBC ekstrak aseton daun pulutan

No.	Nilai uji	Bakteri yang digunakan			
		<i>S. mutans</i>		<i>S. typhi</i>	
		MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)
1.	Kloramfenikol (500 ppm)	1,95	> 5000	1,95	> 5000
2.	Ekstrak aseton daun pulutan 1% (10.000 ppm)	> 5000	> 5000	> 5000	> 5000

Hasil MIC ekstrak aseton daun pulutan terhadap kedua bakteri menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri > 5000 µg/mL. Dalam Djeussi dkk. (2015), klasifikasi nilai MIC jika berada di bawah 100 µg/mL dikategorikan sangat kuat, nilai MIC 100-625 µg/mL dikategorikan sedang, sedangkan jika nilai MIC lebih dari 625 dikategorikan rendah. Dengan demikian ekstrak aseton daun pulutan kemampuannya dalam menghambat bakteri *S. typhi* dan *S. mutans* dikategorikan rendah.

Uji Toksisitas

Pada penelitian ini uji toksisitas dilakukan dengan metode BSLT. Metode BSLT merupakan uji dilakukan untuk menentukan efek toksik setelah 24 jam perlakuan terhadap hewan uji (Lestari dkk.,2019). Berdasarkan hasil uji toksisitas, pada larutan kontrol tidak terdapat hewan uji

Artemia salina yang mengalami kematian. Hal ini berarti bahwa air laut buatan bukan indikator dalam membunuh *Artemia salina*. Adapun hasil mortalitas larva *A. salina* ditunjukkan dalam Tabel 2 berikut.

Berdasarkan tabel tersebut bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak maka semakin tinggi kematian larva *A. salina*. Data hasil mortalitas larva *A. salina* dianalisis secara regresi linear dengan membandingkan hubungan antara nilai probit dan transformasi konsentrasi menjadi log konsentrasi.

Dari hasil persamaan regresi, diperoleh nilai $y = 0.9848x + 3.4533$ dan $R^2 = 0.8218$. Hasil nilai LC_{50} dari ekstrak aseton daun pulutan sebesar 37,20 ppm. Dalam Meyer dkk. (1982) Ketentuan LC_{50} dapat dikategorikan, jika nilai $LC_{50} \leq 30$ ppm, maka ekstrak bersifat sangat toksik, jika nilai LC_{50} berkisar 31-1000 ppm maka

ekstrak bersifat toksik, sedangkan jika nilai $LC_{50} > 1000$ ppm, maka ekstrak tersebut bersifat tidak toksik. Dengan demikian berdasarkan hasil penelitian ini dapat dinyatakan bahwa ekstrak aseton daun pulutan bersifat toksik. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Ali dkk. (2013) yang melaporkan bahwa ekstrak metanol daun pulutan juga bersifat toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 37,50 ppm. Sifat toksik daun pulutan ini dipengaruhi oleh

kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun pulutan tersebut. Kematian larva sebagian besar disebabkan oleh senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin yang sangat berperan sebagai racun di dalam perut larva dan mengganggu cara kerja indera perasa dari larva tersebut. Sehingga larva tersebut tidak mampu mengenali makanannya dan mengakibatkan kematian pada larva (Muaja, 2013).

Tabel 2. Jumlah kematian larva *Artemia salina* dalam berbagai konsentrasi ekstrak aseton daun pulutan

Perlakuan ke-	Angka kematian <i>A. salina</i> leach Konsentrasi (ppm)				Kontrol (-)
	10	100	500	1000	
1	5	5	7	9	0
2	3	7	8	10	0
3	2	7	7	10	0
Total kematian	10	19	22	29	0
Rata-Rata	3,33	19	22	9,67	0
%Kematian	33 %	63%	73%	97%	0

Secara tradisonal, rebusan air pulutan dikonsumsi sebagai obat sakit perut. Selain itu, daun pulutan juga digunakan sebagai obat luka berdarah dan bengkak dengan cara mengolesi daun pulutan yang sudah ditumbuk terlebih dahulu pada bagian tubuh yang sakit. Hasil toksisitas menunjukkan bahwa daun pulutan bersifat toksik sehingga pemanfaatan daun pulutan untuk dikonsumsi masyarakat sebagai penyembuh beberapa penyakit secara tradisional harus digunakan dalam dosis yang aman dan frekuensi konsumsi untuk kesehatan harus diatur. Dengan demikian, akan mengurangi efek toksik daun pulutan tersebut bagi tubuh.

Uji Larvasida

Uji aktivitas larvasida dilakukan terhadap larva nyamuk *A. aegypti* sebagai

nyamuk pembawa penyakit demam berdarah. Variasi konsentrasi ekstrak aseton daun pulutan yaitu 1000, 500, 250 dan 100 ppm yang diperoleh dengan metode pengenceran dari larutan stok 2500 ppm. Uji aktivitas larvasida dilakukan selama 24 jam. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah bubuk abate yang sudah dilakukan pengenceran 100 ppm, sedangkan untuk kontrol negatif digunakan pelarut aseton 1%. Dari pengujian ini diperoleh bahwa larutan abate mampu membunuh 100% populasi larva. Kontrol negatif tidak membunuh larva, sehingga aseton sebagai pelarut ekstrak bukan indikator pembunuh larva *A. aegypti*. Mortalitas kematian larva *A. aegypti* dapat dilihat pada Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak aseton daun pulutan terhadap larva *Aedes aegypti*

Perlakuan ke-	Angka kematian <i>Aedes aegypti</i>			
	Konsentrasi (ppm)			
	100	250	500	1000
1	0	1	2	3
2	0	0	0	3
3	0	0	1	2
Total Kematian	0	1	3	8
Rata-Rata	0	0,03	0,1	0,267
%Kematian	0 %	3%	10%	27%

Dalam uji aktivitas larvasida ini, setiap wadah uji berisi 20 ekor larva *A. aegypti* instar III dengan tiga replikasi setiap konsentrasi uji. Berdasarkan hasil pengujian pada beberapa konsentrasi ekstrak aseton daun pulutan, disimpulkan bahwa ekstrak uji lamban dalam membunuh larva nyamuk *A. aegypti* dibandingkan dengan kontrol positif (abate) yang digunakan dalam pengujian ini. Kontrol positif mampu membunuh semua populasi larva dalam setiap wadah uji. Hal ini disebabkan oleh abate mengandung tetramethyl thiody yang bersifat sebagai racun utama dalam membunuh larva nyamuk *A.aegypti* (Rumengan, 2010).

Berdasarkan Tabel 3, hasil regresi linear mortalitas larva *Aedes aegypti* adalah $y = 2,1094x - 1,9499$ dengan nilai $R^2 = 0,999$. Hasil LC_{50} dari uji larvasida ekstrak aseton daun pulutan adalah 1971,19 ppm. Suatu ekstrak dinyatakan toksik jika nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Dengan demikian, ekstrak aseton daun pulutan tidak bersifat toksik terhadap larva nyamuk *A. aegypti*. Adapun penyebab ekstrak aseton daun pulutan tidak bersifat toksik terhadap larva *A. aegypti* dikarenakan variasi konsentrasi yang rendah. Menurut A. Ismatullah dkk. (2014) bahwa salah satu penyebab tercapainya kematian 50% persen larva nyamuk adalah konsentrasinya yang semakin tinggi. Semakin tinggi suatu konsentrasi uji yang diperlakukan terhadap

larva nyamuk semakin bersifat toksik ekstrak uji tersebut. Meningkatnya sifat toksik pada suatu ekstrak yang diserap oleh larva *A. aegypti* akan menyebabkan kerusakan sel dan jaringan tubuh dari larva *A. aegypti* sehingga menyebabkan kematian.

KESIMPULAN

Ekstrak aseton daun pulutan mengandung golongan metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, dan saponin. Kemampuan antibakteri ekstrak aseton daun pulutan terhadap bakteri *S. mutans* dan *S. typhi* dikategorikan rendah dengan MIC dan MBC masing-masing > 5000 ppm. Ekstrak aseton daun pulutan bersifat toksik dengan nilai $LC_{50} = 37,20$ ppm, dan tidak bersifat antilarvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dengan $LC_{50} = 1971,19$ ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M. S., Faruq, K. O., & Rahman, M. A. A. 2013. Antioxidant and cytotoxic activities of methanol extract of *Urena lobata* (L) Leaves. *Pharm. Innov. J.*, 2(2), 9-14.
- Davis, W. W., & Stout, T. R., 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Appl. Microbiol.*, 22(4): 666-670.
- Dhanapal, R., Ratna, J.V., Gupta, M., & Sarath C, I. 2012. Preliminary study on antifertility activity of *Enicostemma axillare* leaves and *Urena lobata* root used in Indian traditional folk medicine. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, 5(8), 616-622.

- Diastuti, H., Syah, Y. M., Juliawaty, L. D., & Singgih, M. 2016. antibacterial activity of germacrone sesquiterpene from *Curcuma xanthorrhiza* rhizomes. *Alchemy J. Penel. Kim.*, 12(2), 103-111.
- Djeussi, D.E., Sandjo, L.P., Noumedem, J.A., Omosa, L.K., Ngadjui, B.T. and Kuete, V., 2015. Antibacterial activities of the methanol extracts and compounds from *Erythrina sigmoidea* against Gram-negative multi-drug resistant phenotypes. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), pp.1-7.
- Ernawati & Hasmila, I. 2015. Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol daun mangrove (*Rhizophora mucronata*). *Bionature*, 16(2), 98-102.
- Fadillah, U. F., Hambali, E., & Muslich., 2020. Identifikasi senyawa aktif ekstrak daun pulutan (*Urena lobata* L) dengan GC-MS. *J. Sains Kes.*, 2(3), 217-221.
- Fagbohun, E.D., Asare, R.R., & Egbebi, A.O. 2012. Chemical composition and antimicrobial activities of *Urena Lobata* L. (Malvaceae). *J. Med. Plants Res.*, 6(12), 2256-2260.
- Frengki, R., & Pertiwi, D. 2014. Uji toksisitas ekstrak etanol sarang semut lokal Aceh (*Myrmecodia* sp.) dengan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina* leach. *J. Med. Vet.*, 7(1), 60-62.
- Gram-negative multi-drug resistant phenotypes. *BMC complementary and alternative medicine*, 15(1), 1-7.
- Ismatullah, A., Kurniawan, B., Wintoko, R., & Setianingrum, E. 2014. Uji efektivitas larvasida ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap larva *Aedes aegypti* Instar III. *J. Majority*, 3(5).
- Juwitaningsih, T., Jahro, I. S., Dumariris, I., Hermawati, E., & Rukayadi, Y., 2020. Phytochemical, antibacterial, antioxidant and anticancer activity study of *Melastoma candidum* leaf acetone extract. *Actualites Permanentes En Microbiologie Clinique*, 2(2): 13-20
- Lestari, D., Kartika, R., & Marlana, E. 2019. Uji brine shrimp lethality test (BSLT) umbi bawang tiwai (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) dan uji toksisitas akut fraksi aktif. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(1), 1-10.
- Mardiah, A., Alamsyah, Y., & Kornialia, K. 2017. Pengaruh ekstrak kulit buah jeruk pontianak (*Citrus nobilis* L Var Microcarpa) dalam pembentukan zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans*. B-Dent: *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 4(1), 1-8.
- Meigaria, K. M., Mudianta, I. W., & Martiningsih, N. W. 2017. Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak aseton daun kelor (*Moringa oleifera*). *Wahana Matematika dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya*, 10(2), 1-11.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E. & McLaughlin, J.L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta med*, 45(5), 31-34.
- Muaja, A.D., Koleangan, H.S., & Runtuwene, M. R. (2013). Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia ekstrak daun soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan metode soxhletasi. *J. MIPA*, 2(2), 115-118.
- Natheer, S. E., Sekar, C., Amutharaj, P., Rahman, M. S. A., & Khan, K. F. 2012. Evaluation of antibacterial activity of *Morinda citrifolia*, *Vitex trifolia* and *Chromolaena odorata*. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 6(11), 783-788.
- Novitasari, A. 2016. Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal Sains*, 6(12).
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41-46.
- Riyadi, Z., Julizar, J., & Rahmatini, R. 2018. Uji efektivitas ekstrak etanol biji rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) sebagai larvasida alami pada larva nyamuk *Aedes aegypti*. *J. Kes. Andalas*, 7(2), 233-239.
- Rumengan, A.P. 2010. Uji larvasida nyamuk (*Aedes Aegypti*) dari Ascidian (*Didemnum molle*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, VI(2) , 83-86.
- Shelar, P. A., Gharge, V. G., & Yadav, A. V. 2017. Pharmacognostic evaluation, phytochemical screening and antimicrobial study of leaves extracts of *Urena lobata* Linn. *Curr. Res. Pharm. Sci.*, 40-49.
- Utomo, S. B., Fujiyanti, M., Lestari, W. P., & Mulyani, S. 2018. Uji aktivitas antibakteri senyawa c-4 metoksifenilkaliks [4] resorsinarena termodifikasi hexadecyltrimethylammonium-bromide terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 3(3), 109-209.
- Widodo, A., Khumaidi, A., & Lasongke, P. F. A. 2019. Toksisitas ekstrak etanol dan ekstrak air dari daun jotang kuda (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.), daun gandarusa (*Justicia Gendarussa* Burm. F.), dan daun pulutan (*Urena lobata* L.) dengan Brine Shrimp Lethality Test. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 5(2), 198-205.
- Wulandari, R., Utami, P. I., & Hartanti, D. 2009. Penapisan fitokimia dan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba pulutan (*Urena lobata* Linn.). *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 6(01).
- Zarta, A. L., Hernandi, F., Aryani, F., Prayitno J., Awing, R. 2019. Aktivitas antibakteri beberapa tumbuhan obat hutan etnis Kutai terhadap *Streptococcus mutans* dan *Escherichia coli*. *Buletin Loupe*. 15(01).