

Efek Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol 96% Daun Pulutan (*Urena lobata* L.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922

Antibacterial Effect of Ethyl Acetate Fraction of 96% Ethanol Extract of Pulutan Leaves (Urena lobata L.) Against Escherichia coli ATCC 25922

Herman^{1*}, Muhammad Firdaus Alshol², Prayoga F. Yuniarto³, Fendy Prasetyawan⁴, Anis Akhwan Dhafin⁵

^{1,2,3,5}Program S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri, Kediri

⁴Program Pendidikan Profesi Apoteker, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri, Kediri

*Email: herman@unik-kediri.ac.id

ABSTRAK

Infeksi bakteri masih menjadi masalah kesehatan yang penting karena dapat meningkatkan angka kesakitan, memperpanjang masa perawatan, dan menambah biaya pengobatan, terutama dengan meningkatnya resistensi antimikroba. Salah satu bakteri yang sering menjadi penyebab infeksi adalah *Escherichia coli*, yang dapat menimbulkan gangguan pada saluran pencernaan maupun infeksi di luar usus. Pencarian sumber antibakteri alami dari tumbuhan menjadi alternatif yang perlu dikembangkan untuk mendukung pengendalian infeksi bakteri. Salah satu tanaman yang berpotensi adalah daun pulutan (*Urena lobata* L.) yang diketahui mengandung metabolit sekunder aktif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% daun pulutan terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922. Penelitian dilakukan secara eksperimental *in vitro* menggunakan metode difusi cakram. Fraksi etil asetat diuji pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15%, dengan streptomisin sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa dari 300 gram serbuk daun pulutan diperoleh 45 gram ekstrak kental dengan rendemen 15%, sedangkan hasil fraksinasi menghasilkan 18 gram fraksi etil asetat dengan persentase 40%. Skrining fitokimia fraksi etil asetat menunjukkan adanya flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan rerata diameter zona hambat pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15% berturut-turut sebesar 23,50±2,15 mm; 23,17±2,02 mm; dan 27,93±3,86 mm. Konsentrasi 15% memberikan daya hambat tertinggi. Dengan demikian, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 96% daun pulutan terbukti menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922.

Kata kunci: Daun pulutan; Fraksi etil asetat; Ekstrak etanol 96%; Antibakteri; *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Bacterial infection remains an important health problem because it can increase morbidity, prolong hospitalization, and raise treatment costs, especially with the growing problem of antimicrobial resistance. One of the bacteria frequently associated with infection is *Escherichia coli*, which may cause intestinal disorders as well as extraintestinal infections. Therefore, the search for natural antibacterial agents derived from medicinal has become increasingly relevant. One potential plant is pulutan leaf (*Urena lobata* L.), which is known to contain several active secondary metabolites. This study aimed to determine the antibacterial effect of the ethyl acetate fraction of the 96% ethanol extract of pulutan leaves against *Escherichia coli* ATCC 25922. The study was conducted using an *in vitro* experimental design with the disc diffusion method. The ethyl acetate fraction was tested at concentrations of 5%, 10%, and 15%, with streptomycin used as the positive control and 10% DMSO as the negative control. The extraction process showed that 300 g of powdered pulutan leaves produced 45 g of concentrated extract with a yield of 15%, while fractionation of the crude extract yielded 18 g of ethyl acetate fraction with a percentage of 40%. Phytochemical screening of the ethyl acetate fraction showed the presence of flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins. The antibacterial activity test showed mean inhibition zone diameters of 23.50±2.15 mm, 23.17±2.02 mm, and 27.93±3.86 mm at concentrations of 5%, 10%, and 15%, respectively. The 15% concentration produced the highest inhibitory effect. These findings indicate that the ethyl acetate fraction of the 96% ethanol extract of pulutan leaves has antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 and has potential to be developed as a natural antibacterial agent.

Keywords; Pulutan leaves; ethyl acetate fraction; 96% ethanol extract; Antibacterial activity; *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Infeksi bakteri masih menjadi masalah kesehatan karena dapat meningkatkan angka kesakitan, memperpanjang masa perawatan, dan menambah biaya pengobatan. Masalah ini semakin berat akibat resistensi antimikroba, yaitu kondisi ketika mikroorganisme tidak lagi merespons obat antimikroba. Akibatnya, infeksi menjadi lebih sulit diobati dan dapat meningkatkan risiko penyebaran penyakit, keparahan infeksi, disabilitas, serta kematian. Oleh karena itu, pencarian sumber antibakteri baru, termasuk dari tumbuhan, menjadi penting sebagai salah satu upaya menghadapi peningkatan resistensi antimikroba (WHO, 2023).

Escherichia coli adalah salah satu bakteri yang harus dihilangkan yang harus dihilangkan .dihilangkan. bakteri adalah ini Bakteri gram negatif bakteri ituyang hidup di saluran pencernaan. tinggal di saluran pencernaan. Namun, strain *E. coli* yang patogen dapat menyebabkan berbagai infeksi, baik di dalam maupun yang luar saluran pencernaan .patogen dapat menyebabkan berbagai infeksi, baik di

dalam maupun di luar saluran pencernaan . *E. coli* dapat menyebabkan diare pada saluran pencernaan . Sebaliknya, infeksi di luar dari penyedap berupa bakteremia, pneumonia, peritonitis, dan saluran dapat mencakup (Mueller *et al.*, 2025)

Indonesia kaya akan tumbuhan obat yang berpotensi sebagai sumber antibakteri alami, salah satunya daun pulutan (*Urena lobata* L.). Secara tradisional, tanaman ini digunakan untuk mengobati sakit tenggorokan, demam, rematik, luka, dan diare. Daun pulutan mengandung metabolit sekunder, seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun dan cabang pulutan menghasilkan fraksi yang mengandung berbagai senyawa flavonoid. Temuan ini mendukung potensi daun pulutan untuk diteliti lebih lanjut sebagai antibakteri nabati (Babu *et al.*, 2016).

Studi sebelumnya menunjukkan sifat antibakteri daun pulutan, tetapi hasilnya tidak konsisten, terutama dalam hal *E. coli*. Ekstrak etanol daun pulutan menunjukkan aktivitas antibakteri

terhadap *Streptococcus pyogenes*, tetapi kurang efektif terhadap *E. coli*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar belum tentu bekerja optimal karena senyawa aktifnya masih bercampur dengan senyawa lain. Pemisahan ekstrak ke dalam fraksi yang lebih spesifik perlu dilakukan untuk mendapatkan aktivitas antibakteri yang lebih baik (Pusvita *et al.*, 2023).

Fraksi etil asetat penting diteliti karena pelarut ini dapat menarik senyawa semipolar yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri. Pada daun pulutan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol dilaporkan mengandung flavonoid, dan beberapa senyawa seperti kaempferol, quercetin, serta tiliroside terbukti memiliki aktivitas antimikroba terhadap *E. coli*, *B. subtilis*, dan *K. pneumoniae*. Metabolit sekunder tumbuhan seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan polifenol juga memiliki berbagai mekanisme dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 96% daun pulutan berpotensi memberikan aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan ekstrak kasar. Fraksinasi diperlukan untuk memperoleh fraksi yang paling potensial sebagai antibakteri (Jubair *et al.*, 2021)

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menilai kemampuan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun pulutan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh gambaran mengenai efektivitas fraksi tersebut sebagai kandidat antibakteri alami terhadap *E. coli* ATCC 25922.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Pengujian dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dari ekstrak etanol 96% daun pulutan terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi gelas ukur, pipet tetes, labu ukur, autoklaf, oven, inkubator, timbangan analitik, mikropipet beserta tips steril, tabung reaksi, cawan petri steril, kuas inokulasi, dan laminar air flow. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun pulutan segar, Etanol 96% (untuk ekstraksi), Pelarut fraksi etil asetat, *Nutrient agar* dan *nutrient broth*, Bakteri *E. coli*, Aquadest steril, Kertas

saring/filter, kontrol positif (Streptomisin), *Dimethyl sulfoxide* (DMSO), alkohol 70%.

Alur penelitian

Persiapan sampel

Daun pulutan segar disortasi untuk memisahkan bagian tanaman yang rusak atau kotor. Sampel kemudian dicuci menggunakan air mengalir, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang, lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia. Serbuk yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup dan kering sebelum digunakan pada proses ekstraksi.

Ekstraksi daun pulutan

Sebanyak 300 gram serbuk daun pulutan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer, kemudian diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan serbuk dan pelarut 1:5 b/v. Proses maserasi dilakukan selama 48 jam dengan pengocokan sesekali. Larutan hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan ampas. Filtrat kemudian dikonsentrasikan rotary evaporator pada suhu 40-50°C hingga diperoleh ekstrak etanol kental.

Fraksinasi ekstrak daun pulutan

Ekstrak kental yang diperoleh

difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dengan bantuan corong pisah. Campuran dikocok secara perlahan, kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan etil asetat dipisahkan dan proses fraksinasi dilakukan secara berulang untuk memperoleh fraksi etil asetat. Fraksi yang diperoleh dikonsentrasikan kembali menggunakan rotary evaporator hingga berbentuk kental dan siap digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri.

Skrining Kandungan kimia , Ekstrak dan Fraksi

Skrining fitokimia merupakan analisis kualitatif yang dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder. Ekstrak bahan alam umumnya mengandung berbagai jenis metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologisnya. Senyawa-senyawa tersebut dapat dikenali menggunakan pereaksi tertentu yang memberikan ciri khas pada masing-masing golongan metabolit sekunder (Harborne, 1987).

Uji flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk magnesium dan HCl 2N ke dalam fraksi sampel, kemudian dihomogenkan. Selanjutnya ditambahkan amil alkohol. Hasil positif ditunjukkan oleh warna jingga, merah,

atau kuning.

Uji Alkaloid

Pada uji alkaloid, sisa penguapan dilarutkan dalam HCl 2N. Larutan asam kemudian dibagi menjadi tiga tabung reaksi. Pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Wagner dimasukkan ke dalam setiap tabung. Endapan putih pada pereaksi Mayer, endapan merah pada pereaksi Dragendorff, dan endapan cokelat pada pereaksi Wagner menunjukkan bahwa alkaloid tersebut bersifat positif.

Uji tanin

Uji tanin, 0,1 gram ekstrak daun pulutan dicampur dengan 5 ml aquadest, dan kemudian dipanaskan selama 5 menit. Setelah saringan larutan, lima tetes larutan FeCl₃ 1% ditambahkan ke filtrat. Warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan hasil tanin yang positif.

Uji saponin

Uji saponin, 0,1 gram ekstrak dicampur dengan 5 ml aquadest dan dipanaskan selama 5 menit. Larutan kemudian dikocok selama 5 menit. Sampel yang terbentuk busa setinggi sekitar 1 cm dinyatakan positif mengandung saponin. Setelah didiamkan selama sepuluh menit, sampel tetap stabil.

Pembuatan Media

Media *Nutrient Agar* (NA) dibuat dengan melarutkan 20 gram serbuk ke dalam 1 liter aquadest di dalam erlenmeyer. Campuran tersebut kemudian dipanaskan di atas *hotplate* sampai larut sempurna.

Peremajaan Biakan Murni Bakteri Uji

Media nutrisi agar (NA) dipanaskan di atas *hotplate* sampai mencair, kemudian dituang ke dalam 3 buah tabung reaksi, kemudian diletakkan dalam keadaan miring dan dibiarkan memadat. Satu ose dan biakan murni bakteri diambil, kemudian digoreskan ke dalam media NA miring dan diinkubasikan selama 24 jam dengan suhu 37°C

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Satu ose *Escherichia coli* diambil dari biakan murni dan diinokulasikan ke dalam media cair BHI, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, kekeruhan larutan disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5, yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL.

Uji Aktivitas Antibakteri Dengan

Metode Difusi Cakram

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Konsentrasi fraksi etil asetat yang digunakan yaitu 5%, 10%, dan

15%. Media NA sebanyak 15 mL dimasukkan ke dalam botol kaca steril, kemudian ditambahkan 0,2 mL suspensi bakteri uji. Campuran diputar perlahan agar suspensi bakteri tersebar merata di dalam media. Setelah itu, media dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat.

Kertas cakram berdiameter 6 mm dengan daya serap 50 μ L dicelupkan ke dalam masing-masing larutan fraksi etil asetat. Streptomisin digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Selanjutnya, cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Analisis Data

Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan ANOVA satu arah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi fraksi etil asetat ekstrak daun pulutan terhadap *E. coli* ATCC 25922. Sebelum ANOVA, data diuji normalitas dan homogenitas varians. Perbedaan dianggap signifikan jika $p < 0,05$, dan uji lanjut (*Post Hoc*) dilakukan untuk mengetahui kelompok konsentrasi yang berbeda secara nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi

Hasil ekstraksi daun pulutan menggunakan etanol 96% dari 300 gram serbuk daun menghasilkan ekstrak kental dengan bobot tertentu setelah dikonsentrasikan menggunakan rotary evaporator. Persentase ekstrak dihitung sebagai perbandingan antara bobot ekstrak terhadap bobot serbuk awal.

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun pulutan

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Persentase (%)
300	45	15

Nilai ini menunjukkan bahwa metode maserasi dengan etanol 70% efektif mengekstraksi senyawa metabolit sekunder dari daun pulutan. Perbedaan kecil dalam persentase ekstrak antar penelitian dapat disebabkan oleh variasi jumlah serbuk, lama ekstraksi, metode ekstraksi, serta kualitas dan kondisi daun pulutan yang digunakan.

Tabel 2. Hasil fraksinasi daun pulutan

Bobot Ekstrak Kental (g)	Bobot Fraksi Etil Asetat (g)	Persentase (%)
45	18	40

Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa dari 45 gram ekstrak kental diperoleh 18 gram fraksi etil asetat, dengan rendemen sebesar 40%. Persentase ini mengindikasikan bahwa sejumlah besar senyawa semi-polar dalam daun pulutan larut dalam pelarut

etil asetat, yang sesuai dengan tujuan pemisahan senyawa berdasarkan polaritas untuk uji aktivitas selanjutnya.

Hasil skrining fitokima fraksi etil asetat daun pulutan

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Keberadaan metabolit sekunder tersebut diduga menjadi faktor utama yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri yang diamati pada penelitian ini pada tabel di bawah.

Tabel 3. Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat daun pulutan

Uji	Pereaksi	Hasil
Flavonoid	Mg+H ₂ SO ₄	+ (jingga)
Alkaloid	Mayer	+ (putih)
	Dragendorff	+ (jingga)
	Wagner	+ (coklat)
Saponin	HCl	+ (berbusa)
Tannin	FeCl ₃	+ (biru)

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat daun pulutan

Sampel	Konsentrasi (%)	Replika			Rata-Rata ±SD (mm)	Kategori Hambat
		1	2	3		
Fraksi Fretil Asetat	5%	2,7	2,4	2,1	23,50 ±2,15	Sangat Kuat
	10%	2,5	2,3	2,1	23,17 ±2,02	Sangat Kuat

		5				
		3	2	2		
15%		2,2	6,4	27,93	±3,86	Sangat Kuat
		,9	,7			
Ciprofl oxacine	-	3,1	3,4	33,0	00±2,55	Sangat Kuat
		,2	,1	,8		
DMSO	10	0		0,00±	0,00	
		0				

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi fraksi etil asetat mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* ATCC 25922. Rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 5% sebesar 23,50 ± 2,15 mm, konsentrasi 10% sebesar 23,17 ± 2,02 mm, dan konsentrasi 15% sebesar 27,93 ± 3,86 mm. Kontrol positif ciprofloxacin menghasilkan zona hambat sebesar 33,00 ± 2,55 mm, sedangkan kontrol negatif DMSO 10% tidak menghasilkan zona hambat dengan nilai 0,00 ± 0,00 mm.

Data diameter zona hambat dianalisis secara statistik untuk mengetahui perbedaan aktivitas antibakteri antarperlakuan. Uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal ($p>0,05$). Uji homogenitas menunjukkan bahwa varians data antar kelompok

homogen ($p = 0,092$). Hasil *One Way ANOVA* menunjukkan nilai $F=89,712$ dengan nilai signifikansi $p = 0,000$. Nilai tersebut lebih kecil dari 0,05, sehingga terdapat perbedaan bermakna diameter zona hambat antar kelompok perlakuan. Uji lanjut Tukey HSD menunjukkan bahwa fraksi etil asetat konsentrasi 5%, 10%, dan 15% berbeda bermakna dibandingkan kontrol negatif DMSO 10% ($p<0,05$). Fraksi etil asetat konsentrasi 15% tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif *ciprofloxacin* ($p=0,098$), sedangkan fraksi etil asetat konsentrasi 5% dan 10% berbeda bermakna dibandingkan *ciprofloxacin* ($p<0,05$).

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian sebelumnya pada daun pulutan (*Urena lobata* L.). Wulandari *et al* (2009) melaporkan bahwa ekstrak etanol herba pulutan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli*. Temuan serupa juga dilaporkan oleh Nasution *et al.*, 2023), yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pulutan mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*, meskipun masih dalam kategori lemah. Hasil ini menegaskan bahwa fraksi etil asetat daun pulutan memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*.

Aktivitas antibakteri pada sampel

diduga berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder, terutama flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Flavonoid bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu fungsi penting sel bakteri. Senyawa ini dapat merusak membran sel, sehingga isi sel bocor dan bakteri tidak dapat bertahan hidup. Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat pembentukan DNA dan RNA sehingga proses pertumbuhan bakteri menjadi terhenti (Cushnie & Lamb, 2011).

Alkaloid menghambat sintesis protein dan merusak permeabilitas membran sel bakteri (Othman *et al.*, 2019). Saponin bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan kebocoran isi sel bakteri (Rai *et al.*, 2025). Tanin menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif seperti *S. aureus* dan *E.coli* melalui mekanisme gangguan membran sel, inhibisi enzim, serta interaksi dengan protein dinding sel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas dan kematian bakteri (Czerkas *et al.*, 2024).

Alkaloid berperan melalui penghambatan sintesis dinding sel, perubahan permeabilitas membran, gangguan metabolisme, serta hambatan terhadap sintesis asam nukleat dan

protein. Saponin bekerja dengan merusak integritas membran sel dan meningkatkan permeabilitas membran, sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terganggu. Sementara itu, tanin dapat menginaktivasi enzim, berikatan dengan komponen dinding sel dan membran, serta menurunkan stabilitas membran luar bakteri Gram-negatif seperti *E. coli*. Dengan demikian, keempat senyawa tersebut diduga berkontribusi dalam menghasilkan aktivitas antibakteri pada sampel yang diteliti (Shamsudin *et al.*, 2022).

SIMPULAN

Fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% daun pulutan menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Zona hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 15% sebesar $27,93 \pm 3,86$ mm. Hasil *One Way* ANOVA menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan dengan nilai $p=0,000$. Fraksi etil asetat daun pulutan mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* ATCC 25922.

DAFTAR PUSTAKA

- Babu, Suresh S.; Madhuri, D. Bhavani; Ali, S. L. (2016). A pharmacological review of *Urena lobata* plant. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 20–22.
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Antimicrob. International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107.
- Czerkas, K., Olchowik-Grabarek, E., Łomanowska, M., Abdulladjanova, N., & Sękowski, S. (2024). Antibacterial activity of plant polyphenols belonging to tannins. *Molecules*, 9(4), 879.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*.
- Jubair, Naim; Rajagopal, Maheswari; Chinnappan, Suresh; Abdullah, Nurul Bahiyah; Fatima, A. (2021). Antibacterial mechanism of plant-derived compounds against multidrug-resistant bacteria. In *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Mueller, M., Rausch-Phung, E. A., & Tainter, C. R. (2025). *Escherichia coli* infection.
- Nasution, Muhammad Yusuf; Rangkuti, Muhammad Nur Sahrul; Handayani, Dewi; Togatorop, Togar; Ginting, Andi A. B.; Pulungan, A. S. S. (2023). Antibacterial activity of ethanol

extract of pulutan leaves (*Urena lobata* L.) against *Escherichia coli*. *Jurnal Biosains*, 9(2), 9(2), 101–110.

Organization., W. H. (2023). Antimicrobial resistance.

Othman, Lobna; Sleiman, Ahmad; Abdel-Massih, R. M. (2019). Antimicrobial activity of polyphenols and alkaloids in Middle Eastern plants. *Frontiers in Microbiology*, 10, 911.

Pusvita, Sari; Rohama; Yuwindry, Ika; Darsono, P. V. (2023). Antibacterial activity test of pulutan leaf extract (*Urena lobata* L.) against *Streptococcus pyogenes*. *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 4(1), 34–41.

Rai, Sumi; Acharya-Siwakoti, Eliza; Kafle, Ananda; Devkota, Hari Prasad; Bhattarai, A. (2025). Plant-derived saponins: A review of their surfactant properties and biological activities. *Plants (MDPI)*, 10(11).

Shamsudin, Siti; Hassan, Noor; Ibrahim, Ahmad; Zakaria, Muhammad; Abdullah, F. (2022). Plant secondary metabolites as antibacterial agents. *Microbial Pathogenesis*, 168, 105–120.

Wulandari, Siti; Pratiwi, Rina; Handayani, S. (2009). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol herba pulutan (*Urena lobata* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Streptococcus pyogenes*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 6(2), 45–52.