

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN LABU SIAM (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* dan BIOAUTOGRAFINYA

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PUMPKIN (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) LEAF EXTRACT AGAINST *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* and ITS BIOAUTOGRAPHY

Dolita Khurfia Janna, Maryati Maryati*
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
*E-mail: maryati@ums.ac.id

Abstrak

Penyakit infeksi kulit merupakan salah satu penyakit menular, baik melalui kontak langsung maupun tidak. Infeksi kulit dapat disebabkan oleh bakteri antara lain seperti *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta mengidentifikasi senyawa aktif yang berperan terhadap aktivitas tersebut. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 70%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran. Konsentrasi ekstrak untuk pengujian yakni 1, 2, 4, 8, 16 mg/sumuran. Senyawa dalam ekstrak diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Hasil uji menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun labu siam terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pada konsentrasi 16 mg/sumuran ekstrak daun labu siam menghasilkan rerata diameter zona hambat sebesar $12,5 \pm 0,0$ mm dan $10,66 \pm 0,28$ mm terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil uji KLT menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin. Hasil uji bioautografi tidak menunjukkan adanya zona hambat pertumbuhan bakteri.

Kata Kunci: *Sechium Edule* (Jacq.) Swartz, antibakteri, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, difusi sumuran, KLT-Bioautografi.

Abstract

Skin infection is a contagious disease, either through direct or indirect contact. Skin infections can be caused by bacteria, such as *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) leaf extract against *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, and to identify the active compounds that play a role in these activities. Extraction was carried out by maceration using 70% ethanol. Antibacterial activity test was carried out using the well method. Extract concentrations for testing were 1, 2, 4, 8, 16 mg/well. Compounds in the extract were identified by thin layer chromatography (TLC). The test results showed that there was antibacterial activity of the ethanol extract of chayote leaves against *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. At a concentration of 16 mg/well of chayote leaf extract, the average diameter of the inhibition zone was 12.5 ± 0.0 mm and 10.66 ± 0.28 mm against *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. TLC test results showed the presence of flavonoids, tannins, alkaloids, saponins. The results of the bioautographic test did not show a zone of inhibition of bacterial growth.

Keywords: *Sechium edule* (Jacq.) Swartz, antibacterial, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, well diffusion, TLC-Bioautography

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi pada kulit manusia menjadi salah satu penyakit yang kerap ditemukan pada negara beriklim tropis, termasuk di Indonesia yang sampai saat ini menjadi salah satu negara dengan penyakit kulit yang tinggi. Menurut *World Health Organization* (2013), Indonesia menempati deretan ketiga di dunia setelah Brazil dan India dengan 16.856 kasus baru penyakit kulit, dan jumlah kecacatan tingkat dua di antara kasus baru tersebut adalah 9,86 persen. Selain virus, bakteri juga menjadi penyebab terjadinya infeksi (Romas et al., 2015). Infeksi kulit merupakan salah satu penyakit infeksi yang mempunyai angka kejadian tinggi. Penyakit infeksi kulit adalah salah satu penyakit menular, baik melalui kontak langsung maupun tidak (Hamidah, et al., 2014). Sebagian besar infeksi kulit terjadi saat ada kerusakan pada *barrier* kulit. Mencukur, luka yang kronis, kulit mengering, inflamasi kulit, dan kerusakan *barrier* kulit terluar atau epidermidis akibat patogen merupakan cara bakteri melalui *barrier* kulit (Tognetti et al., 2012; Craft, 2012).

Pada kebanyakan kasus, infeksi kulit dapat disebabkan oleh bakteri seperti *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Propionibacterium acnes* (Aryani & Widyantara, 2019). *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri Gram positif, spesies dari genus *Staphylococcus*, sebagian besar dari bakteri ini adalah membran mukosa manusia dan pada flora normal kulit. *Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri oportunistik Gram negatif yang memulai suatu infeksi dengan mengeksploitasi kegagalan mekanisme pertahanan inang (Wulansari et al., 2019).

Terapi antibakteri dapat digunakan antibiotik konvensional ataupun dengan menggunakan bahan alam yang memiliki khasiat sebagai antibakteri. Salah satu spesies tanaman dalam family Cucurbitaceae yang biasa dimanfaatkan untuk mengobati penyakit adalah labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) bagian daun dari labu siam bermanfaat sebagai antioksidan, serta obat hipertensi, suplemen herbal dan diuretik. Kandungan senyawa aktif pada daun labu siam berupa senyawa tanin, steroid, saponin, flavonoid bisa dimanfaatkan sebagai antibakteri (Erawati et al., 2015). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun labu siam memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 20%, 40% dan 60%. Hasil antibakteri terbaik ekstrak daun labu siam pada konsentrasi 60% (Arum et al., 2020).

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak daun labu siam terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*, dan mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung menggunakan KLT serta uji bioautografinya.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *ratory evaporator* (Laborota 4000 Heidolph E-wB eco), oven (Memmert), autoklaf (Hirayama), Laminar Air Flow (LAF), lampu UV gelombang 366nm dan 254nm, inkubator (Memmert), shaker inkubator, magnetic stirrer hotplate, vortex, spreader glass, cork borer, neraca analitik (Ohaus), seperangkat alat semprot.

Bahan yang digunakan ada bahan utama yakni daun labu siam yang dipanen pada tanggal 26 September 2023 dari Desa Cawan Kecamatan Jatinom Kabupaten Klaten, *Pseudomonas aeruginosa* didapatkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi UMS, bakteri

Staphylococcus epidermidis yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran UNS, terdapat bahan lainnya antara lain etanol 70%, aquadest, Media *Mueller Hinton Agar* (MHA), Dimetil sulfoksida (DMSO), *Brain Heart Infusion/BHI* (Chana), natrium klorida (NaCl) 0,9% steril, lempeng silika gel F₂₅₄, pereaksi semprot FeCl₃ 5%, pereaksi semprot *Liebermann-Burchard*, kloroform, etil asetat, metanol, pereaksi semprot *Dragendorff*, pereaksi semprot Sitroborat.

Jalannya Penelitian

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz)

Daun labu siam terlebih dahulu dibersihkan dan cuci dengan air bersih, kemudian dipotong-potong dan dikeringkan dengan lemari pengering pada suhu 50°C. Simplisia diserbuk, kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 yakni 300 gram serbuk daun labu siam : 3 liter etanol 70%. Maserasi dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali yakni selama 2 hari, 1 hari, dan 1 hari. Filtrat disaring menggunakan penyaring pada corong *buchner* kemudian digabung dan diuapkan menggunakan *ratory evaporator* pada suhu 60°C, sampai tidak terdapat pelarut yang menetes kemudian dilanjutkan dengan penguapan di atas penangas air dengan suhu 60°C hingga didapatkan ekstrak kental, dan dihitung hasil rendemennya.

Pembuatan Seri Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak etanol daun labu siam dibuat dengan konsentrasi 5%; 10%; 20%; 40%; 80%. Pertama membuat larutan stok dengan konsentrasi 80%, Ekstrak kental ditimbang terlebih dahulu sebanyak 8 gram lalu ditambah menggunakan 10 ml DMSO hingga tanda batas pada labu ukur ukuran 10 ml, kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan larutan DMSO untuk membuat konsentrasi yang lainnya sehingga akan didapatkan seri konsentrasi 40%, 20%, 10% dan 5%. Masing-masing konsentrasi ekstrak dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 20 µL. pada akhir pembuatan larutan didapatkan konsentrasi ekstrak sebesar 1; 2; 4; 8; 16 mg/sumuran.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat yang hendak digunakan harus dicuci bersih dan keringkan serta disterilkan terlebih dahulu, petri dish dan tabung reaksi ditutup dengan kapas yang dibalut aluminium foil, lalu dibungkus rapat dengan kertas dan disterilkan dengan oven pada suhu 171°C selama 1-2 jam, ose dan pinset disterilkan dengan pemanas api menggunakan bunsen, dan diautoklaf untuk bahan seperti media MHA, *blue tips*, *yellow tips* pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Media

Media *Muller Hinton Agar* (MHA) ditimbang sebanyak 3,8 gram dimasukkan ke Erlenmeyer 100 ml dan dilarutkan dengan 100 ml aquadest steril, pembuatan media *Brain Heart Infusion* (BHI) dengan cara menimbang sebanyak 3,7 gram lalu dimasukkan erlenmeyer kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquadest. Pembuatan media untuk peremajaan bakteri yakni *Mac conkey agar* sebanyak 4 gram dilarutkan dalam 100 ml aquadest, dan media *Nutrient agar* ditimbang sebanyak 0,46 gram dalam 20 ml aquadest. Masing-masing media yang sudah dilarutkan dalam erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan dimasukkan autoklaf untuk disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah dibuat seperti *Muller Hinton Agar*, *Mac conkey agar*, *Nutrient agar* kemudian dituang ke dalam petridish steril dan dikerjakan dalam LAF kemudian media ditunggu hingga memadat dan ditutup.

Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara digores pada plate agar (*streak plate*) yakni dengan cara menanam bakteri pada cawan petri berisi media. Untuk bakteri *Pseudomonas*

aeruginosa distreak atau digoreskan pada media mac conkey dan untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* digoreskan pada media NA, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Aviany & Pujiyanto, 2020).

Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dilakukan setelah peremajaan, diambil sebanyak 1-2 koloni bakteri dengan ose steril kemudian disuspensikan kedalam media BHI cair sebanyak 5 ml dan diinkubasi menggunakan *shaker incubator* pada suhu 37°C dengan kecepatan 200 rpm selama 24 jam. Suspensi sebanyak 200 µL dilarutkan dalam larutan NaCl 0,9% sebanyak 5 ml. Suspensi bakteri lalu dihomogenkan menggunakan vortex lalu dibandingkan kekeruhan suspensi bakteri dengan standart 0,5 *Mc Farland* yang memiliki kepadatan bakteri 10⁸ CFU/ml sampai memperoleh kekeruhan yang sama dengan kekeruhan larutan standar *McFarland* yang sesuai (Palit et al., 2018).

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran, menggunakan media Mueller Hinton Agar (MHA) dengan konsentrasi yang diujikan 1, 2, 4, 8, 16 mg/sumuran, menggunakan kontrol positif kloramfenikol 30 µL/sumuran dan kontrol negatif DMSO. Uji dilakukan dengan pengulangan 3 kali (Mustarichie et al., 2020). Diinokulasikan 200 µL suspensi bakteri, diamkan selama 10 menit pada suhu ruang supaya suspense bakteri dapat berdifusi ke dalam media secara merata. Selanjutnya lubangi media dengan *cork borer* ukuran 5mm, setelah itu dimasukkan ekstrak 20 µL dengan konsentrasi 1 ;2 ;4 ;8 ;16 mg/sumuran ke dalam lubang sumuran. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diukur diameter zona hambat atau zona bening disekitar sumuran. Pengukuran digunakan penggaris dalam satuan mm. Sebagai penanda tidak adanya bakteri yang tumbuh yakni zona bening, dan efek antibakteri dinyatakan positif (Rianto et al., 2017).

Hasil uji aktivitas antibakteri dianalisis dengan uji statistik SPSS versi 29 pada tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui adanya pengaruh perbedaan konsentrasi terhadap besar kecilnya zona hambat. Diolah menggunakan uji normalitas, dilanjutkan uji homogenitas dan *Kruskal-Wallis*, jika data yang dihasilkan signifikan, dapat dilakukan uji *post hoc multiple comparisons*.

Uji KLT-Bioautografi

Uji KLT

Ekstrak kental daun labu siam dibuat larutan stok 40%(b/v). Analisis KLT dilakukan dengan fase diam berupa plat silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform: etil asetat: metanol (8:1:1 v/v/v). Setelah dielusi plat diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm atau 366 nm (Lukman, 2016). Hasil elusi selanjutnya diidentifikasi dengan reagen semprot *Dragendorff*, *Lieberman bouchardat*, FeCl₃, Sitroborat, kemudian diamati bercak dan dihitung nilai Rf nya.

Uji Bioautografi

Media yang telah disiapkan diinokulasi suspensi bakteri 200 µL, dibiarkan 20 menit. Plat KLT yang sudah dielusi dengan fase gerak ditunggu sampai pelarut menguap untuk selanjutnya diletakkan perlahan pada permukaan media yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri, dibiarkan selama 30 menit, setelah itu plat KLT diangkat dari media, selanjutnya media dapat diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstrak Etanol Daun Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz)

Ekstraksi daun labu siam dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstraksi merupakan suatu proses pemindahan suatu zat atau solut dari suatu zat padat ke pelarut tertentu, dipilihnya metode maserasi dikarenakan cara ekstraksi yang paling sederhana, prosesnya dilakukan dengan merendam sampel pada suhu ruang biasanya selama 3 sampai 5 hari dengan sesekali mengaduk agar mempercepat proses melarutnya analit (Leba, 2017). Alasan dipilihnya etanol 70% sebagai pelarut selain sifatnya yang polar juga karena etanol dapat menarik senyawa aktif lebih banyak (Farida et al., 2012).

Semua filtrat hasil maserasi diuapkan dengan *ratory evaporator* pada suhu 60°C sampai pelarutnya hilang, selanjutnya air dalam ekstrak hilangkan menggunakan pemanas air (*water bath*) dengan suhu 60°C agar menghasilkan ekstrak kental daun labu siam. Ekstraksi serbuk daun labu siam sebanyak 300 gram didapatkan sebanyak 58 gram ekstrak kental daun labu siam, sehingga didapatkan hasil rendemen sebesar 19,33%.

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

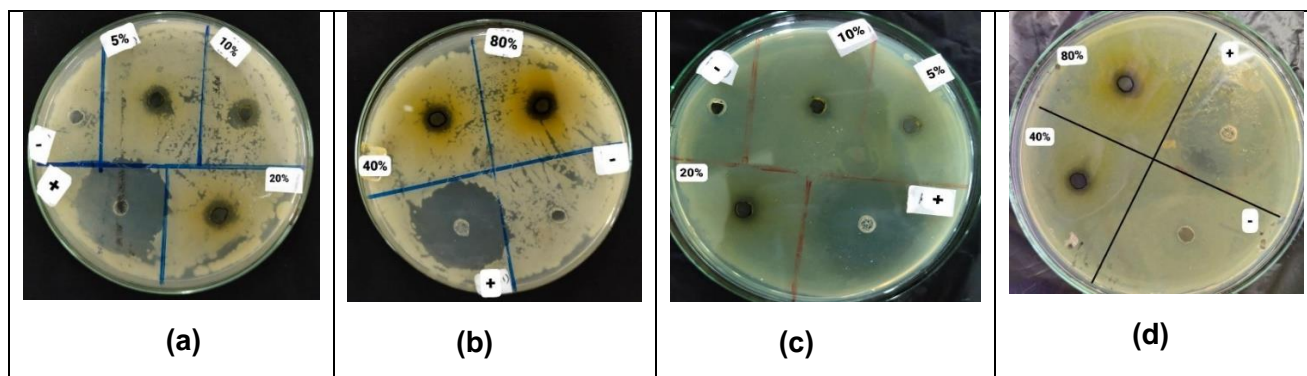
Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan untuk mengetahui adanya potensi ekstrak daun labu siam dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dan dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Pengujian dengan ekstrak etanol daun labu siam konsentrasi 1 ;2 ;4 ;8 ;16 mg/sumuran, kontrol positif berupa kloramfenikol 30 µL/sumuran, yang mana akan menjadi pembanding antara perlakuan sampel dengan antibiotik, dipilihnya kloramfenikol karena antibiotik ini memiliki spektrum luas yang terikat pada ribosom sub unit 50s dan mampu menghambat bakteri Gram positif ataupun Gram negatif (Pelczar & Chan, 2008). Pada uji ini kontrol negatif digunakan DMSO. DMSO digunakan untuk melarutkan ekstrak kental, karena tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri sehingga nantinya tidak mempengaruhi hasil uji (Nurlila et al., 2021). Hasil uji aktivitas antibakteri tersaji dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Labu Siam Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri	Diameter zona hambat (rerata ± SD mm)						
	Konsentrasi ekstrak (mg/sumuran)					Kontrol +	Kontrol –
	1	2	4	8	16	Kloramfenikol	DMSO
<i>S. epidermidis</i>	10±0,5	10,66±0,28	11,16±0,28	11,5±0,0	12,5±0,0	31,83±0,57	5,0±0,0
<i>P. aeruginosa</i>	7,0±0,5	8,33±0,28	9,5±0,0	9,83±0,28	10,66±0,28	30,83±0,76	5,0±0,0

Keterangan: Diameter zona hambat termasuk ukuran lubang sumuran 5 mm.

Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak daun labu siam dengan konsentrasi 1 ;2 ;4 ;8 ;16 mg/sumuran, memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*, nilai rerata zona hambat yang terbentuk secara berturut-turut 10±0,5 mm; 10,66±0,28 mm; 11,16±0,28 mm; 11,5±0,0 mm; 12,5±0,0 mm. Sedangkan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, nilai rata-rata zona hambat yang dihasilkan secara berturut-turut 7,0±0,5 mm; 8,33±0,28 mm; 9,5±0,0 mm; 9,83±0,28 mm; 10,66±0,28 mm.



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Labu Siam: (a) bakteri *S.epidermidis* konsentrasi 5%, 10%, 20%, kontrol positif, kontrol negative; (b) bakteri *S. epidermidis* konsentrasi 40%, 80%, kontrol positif, kontrol negatif; (c) bakteri *Pseudomonas aeruginosa* konsentrasi 5%, 10%, 20%, kontrol positif, kontrol negatif; (d) bakteri *Pseudomonas aeruginosa* konsentrasi 40%, 80%, kontrol positif, kontrol negatif.

Besarnya konsentrasi ekstrak yang diberikan maka akan mempengaruhi besarnya rerata diameter zona hambat. Hal ini sejalan dengan penelitian Wahyuni *et al.*, (2020) pada ekstrak etanol daun labu siam, konsentrasi yang semakin tinggi, menghasilkan daya hambat yang semakin besar. Pada kontrol positif zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebesar $31,83 \pm 0,57$ mm, dan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar $30,83 \pm 0,76$ mm. Hal ini membuktikan bahwa antibiotik kloramfenikol dapat menghasilkan zona hambat radikal yang sangat kuat bagi bakteri Gram positif maupun Gram negatif.

Ekstrak etanol daun labu siam menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri yang lebih besar terhadap bakteri Gram positif yakni *Staphylococcus epidermidis*, dibanding dengan bakteri Gram negatif yakni *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini disebabkan ada perbedaan dinding sel. Pada bakteri Gram positif mempunyai struktur dinding sel lapisan tunggal disertai konsentrasi lipid yang rendah (0-3%), mengakibatkan agen antibakteri lebih mudah masuk dan menghambat sel dalam bekerja. Sedangkan bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel 3 lapisan disertai konsentrasi lipid tinggi (>50%) yang mengakibatkan bakteri sulit ditembus oleh senyawa antibakteri (Pelczar Jr. and Chan, 2015; Nurlila *et al.*, 2021).

Hasil perolehan data penelitian dilanjutkan dengan uji Normalitas yang bertujuan untuk melihat apakah perolehan data yang dihasilkan terdistribusi normal atau tidak. Untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis*, hasil uji normalitas dari semua konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat memiliki nilai $0,001 < P (0,05)$, yang artinya data tidak terdistribusi normal. Pada uji homogenitas didapatkan nilai P signifikansi $0,007 P < (0,05)$, artinya nilai P signifikansi data bersifat tidak homogen, maka dari itu tidak dapat dilanjutkan dengan ANOVA, tetapi digunakan uji *Kruskal-Wallis* dan didapatkan hasil *asympt sig.* 0,003 yang berarti $P < 0,05$. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan kelompok. Didapatkan hasil data *Post hoc multiple comparisons* untuk membandingkan hasil dari setiap kelompok, serta melihat data yang memiliki nilai signifikansi, dan diperoleh ada beberapa kelompok uji yang mempunyai nilai signifikansi $< P (0,05)$. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh antara konsentrasi ekstrak dengan zona hambat.

Untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, hasil uji normalitas memiliki nilai $0,001 < P (0,05)$, yang artinya data tidak terdistribusi normal. Uji homogenitas didapatkan nilai P signifikansi $0,029 P < (0,05)$, yang artinya nilai P sign data bersifat tidak homogen, maka dari itu tidak dapat dilanjutkan dengan ANOVA, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis*, didapatkan hasil

asymptotic $p < 0,003$, yang berarti $P < 0,05$, hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan kelompok. Didapatkan hasil data *Post hoc multiple comparisons* untuk membandingkan hasil dari setiap kelompok, serta melihat data yang memiliki nilai signifikansi, dan didapat hasil ada beberapa kelompok uji yang mempunyai nilai signifikansi $< P (0,05)$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ada pengaruh antara konsentrasi ekstrak dengan zona hambat.

Hasil Uji KLT

Metode KLT memiliki tujuan yakni menentukan pelarut atau fase gerak yang tepat untuk dapat memisahkan senyawa fitokimia didalam ekstrak (Kristanti, 2008). Pada uji KLT ini digunakan Fase diam plat silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform: etil asetat: metanol (8:1:1 v/v/v).

Tabel 2. Hasil Uji KLT Ekstrak Daun Labu Siam

No. Bercak	Rf	Pereaksi	Deteksi dengan Semprot			Keterangan
			Vis	UV254	UV366	
1	0,14	FeCl ₃ 5%	CH	-	-	Tanin
2	0,16	Dragendorff	K	-	-	Alkaloid
3	0,52	Lieberman-Burchard	U	-	-	Saponin
4	0,55	Sitroborat	-	-	KC	Flavonoid

Keterangan:

KC: Kuning kecoklatan B: Biru U: Keunguan
CH: Coklat kehitaman H: Hijau K: Kuning -: Tidak diamati

Senyawa tanin tersusun atas ikatan rangkap terkonjugasi terdapat gugus OH sebagai auksokrom serta polifenol ialah kromofor. Senyawa fenol yang disemprot pereaksi FeCl₃ akan menghasilkan bercak hitam apabila diamati secara visual atau sinar tampak (Wagner and Blatt, 1996). Hasil uji senyawa tanin menggunakan reaksi semprot FeCl₃ 5% diduga Rf 0,14 menghasilkan bercak coklat kehitaman pada pengamatan visual.

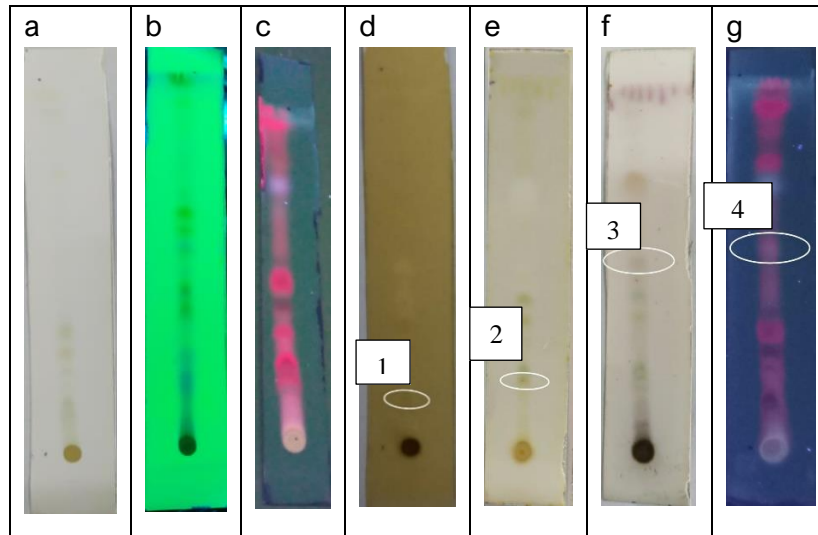
Senyawa alkaloid dapat diidentifikasi secara visual atau sinar tampak setelah penyemprotan menggunakan *dragendorff*, dan memberi warna kuning (Hanani, 2015). Hasil uji pada Rf 0,16 diduga senyawa alkaloid yang mana setelah penyemprotan dengan *dragendorff* timbul warna kuning pada sinar tampak.

Senyawa saponin hanya dapat dideteksi pada gelombang 200-210nm hal ini dikarenakan saponin tidak memiliki gugus kromofor (Boysen dan Hearn, 2010). Hasil uji identifikasi dengan pereaksi *lieberman-burchard* pada Rf 0,52 diduga senyawa saponin, terlihat menghasilkan warna keunguan jika diamati secara sinar tampak (Wagner et al., 1984)

Senyawa flavonoid mengakibatkan peredaman fluoresensi pada UV 254nm, namun pada UV 366nm flavonoid berfluoresensi kuning, bercak glikosida flavonoid dan glikosida flavon akan nampak warna ungu jika diamati UV 366nm (Markham, 1988). Berdasarkan pengamatan setelah penyemprotan dengan pereaksi sitroborat pada Rf 0,55 senyawa diduga adanya flavonoid menghasilkan bercak warna kuning kecoklatan pada sinar UV 366nm. Sitroborat adalah pereaksi yang spesifik dengan kepekaan tinggi untuk deteksi flavonoid (Eko Murwanto & Santosa, 2012)

Dari hasil uji KLT ini menunjukkan ekstrak etanol daun labu siam memiliki kandungan senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa daun labu siam memiliki kandungan berupa flavonoid, saponin, tanin sebagai senyawa aktif

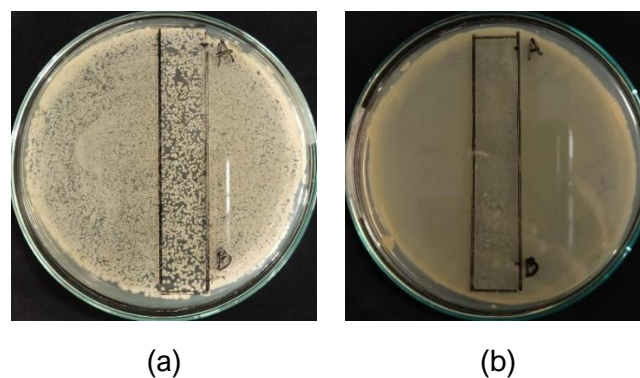
(Arum et al., 2020). Berdasarkan penelitian lain, menyatakan bahwa senyawa seperti saponin, flavonoid, dan tanin bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri (Chávez-Quintal et al., 2011).



Gambar 2. Hasil Uji KLT: (a) Deteksi sinar tampak; (b) Deteksi UV 254nm; (c) Deteksi UV 366nm; (d) Deteksi tanin dengan $FeCl_3$ 5% secara sinar tampak; (e) Deteksi alkaloid dengan dragendorff secara sinar tampak; (f) Deteksi saponin dengan LB secara sinar tampak; (g) Deteksi flavonoid dengan sitroborat secara UV 366nm.

Hasil Uji Bioautografi

Uji bioautografi dilakukan guna mengetahui atau menemukan senyawa apa yang memiliki aktivitas antibakteri dengan memanfaatkan pengerjaan KLT. Dalam penelitian ini menggunakan bioautografi kontak, yakni menempelkan plat pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri, plat KLT terlebih dahulu ditotolkan ekstrak untuk kemudian dielusikan pada eluen, penempelan plat kromatogram pada media agar ditunggu hingga 30 menit. Setelahnya plat diangkat dan media dapat diinkubasi selama 24jam suhu 37°C. Keberhasilan uji dapat dilihat dari adanya zona bening yang terbentuk pada bagian-bagian spot. Bioautografi kontak ini memiliki kekurangan yakni sulitnya penyerapan pada media agar dengan kromatogram untuk mendapatkan kontak yang optimum, mengakibatkan matriks plat menempel dan tertinggal pada agar saat plat diangkat kembali.



Gambar 3. Hasil uji bioautografi ekstrak etanol daun labu siam pada bakteri: (a) *Staphylococcus epidermidis*; (b) *Pseudomonas aeruginosa*.

Pada uji sebelumnya yakni uji KLT, ekstrak etanol daun labu siam diduga memiliki beberapa senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Namun, hasil uji bioautografi untuk menemukan senyawa yang berperan dalam antibakteri ini hasilnya negatif, tidak ditemukannya zona bening di sekitar spot. Hal ini bisa jadi karena, ekstrak yang ditotolkan sedikit sehingga aktivitas tidak terlihat, bisa juga dikarenakan aktivitas antibakteri merupakan gabungan dari senyawa-senyawa, sehingga setelah dipisahkan aktivitas tiap senyawa tidak terlihat. Faktor lain, seperti beberapa senyawa berikatan dengan matriks plat, terutama matriks berbasis silika, sehingga senyawa tidak bisa berdifusi ke dalam agar (Pakata, 2013).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil uji KLT ekstrak daun labu siam diidentifikasi menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin. Hasil uji bioautografi tidak terlihat zona hambat, sehingga belum dapat ditetapkan senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Arum, C., Cahya, D., Priasa, A., Ulina, N., & Turnip, M. B. (2020). Uji aktivitas ekstrak etanol daun labu siam (*Sechium Edule* (Jacq.) Swartz) terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasimed*, 3(1), 32–38.
- Aryani, T., & Widyantara, A. B. (2019). Jurnal Penelitian Sains. *Jurnal Penelitian Sains*, 21(3), 163–167. <http://ejournal.mipa.unsri.ac.id/index.php/jps/index>
- Aviany, H. B., & Pujiyanto, S. (2020). Analisis Efektivitas Probiotik di Dalam Produk Kecantikan sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Berkala Bioteknologi*, 3(2), 24–31.
- Boysen R.I. and Hearn M.T.W., 2010, High Performance Liquid Chromatographic Separation Methods, *Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering Modul*, 5-49.
- Chávez-Quintal, P., González-Flores, T., Rodríguez-Buenfil, I., & Gallegos-Tintoré, S. (2011). Antifungal Activity in Ethanolic Extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol Leaves and Seeds. *Indian Journal of Microbiology*, 51(1), 54–60. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0086-5>
- Craft N. 2012. General Considerations of Bacterial Disease. In: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 8th Ed. Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, Wolff K, editors. New York: McGraw Hill Medical. 2121–8.
- Eko Murwanto, P., & Santosa, D. (2012). *Borreria repens* DC., *Polygala paniculata* L. from taman nasional gunung merapi using DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radical scavenging analysis. *Majalah Obat Tradisional*, 17(3), 53.
- Erawati, E., Pratiwi, D., & Zaky, M. (2015). *Formulation Development and Evaluation of Physical Preparation Cream*. 3(1).
- Farida, Y., Wahyudi, P., & Wahono, S. (2012). Flavonoid Glycoside From the Ethyl Acetate Extract of Keladi Tikus *Typhonium Flagelliforme* (Lodd) Blume Leaves. *Asian Journal of Natural and Applied Sciences*, 1(4), 16–21.

- Hamidah, Azzahra ; Peni, P. ; P. (2014). Potensi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Buatan Pabrik Terhadap Peningkatan Aktivitas Mikrobisidal Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans*. *E-Journal Pustaka Kesehatan*, 2(1), 161–166.
- Hanani, E., 2015, *Analisis Fitokimia*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kristanti A.N., 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, UNAIR Press, Surabaya.
- Leba, M. A. U., 2017, *Buku Ajar: Ekstraksi dan real kromatografi*, Deepublish.
- Lukman, A., 2016, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L) Terhadap Bakteri Patogen Dengan Metode KLT Bioautografi, *Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung.
- Mustarichie, R., Sulistyaningsih, S., & Runadi, D. (2020). Antibacterial Activity Test of Extracts and Fractions of Cassava Leaves (*Manihot esculenta* Crantz) against Clinical Isolates of *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes* Causing Acne. *International Journal of Microbiology*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1975904>
- Nurlila, R. U., Sudiana, & Fua, J. La. (2021). Efek antibakteri daun sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 7(2), 285–322.
- Pakata, I. F. (2013). Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Aktif Buah Cabai Katokkon (*Capsicum annuum* L. var. chinensis) Secara KLT- Bioautografi. *Skripsi*. Universitas Hasanuddin.
- Palit, F., Tiwon, G., Maarisit, W., Karundeng, E., & Karauwan, F. (2018). Biofarmasetikal Tropis s. *The Tropical Journal of Biopharmaceutical*, 1(1), 1–4.
- Pelczar, Michael J dan Chan, E. C. S., 2008, *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid I*, UI Press, Jakarta.
- Rianto, L., Handayani, I. A., & Septiyani, A. (2017). Uji aktivitas ekstrak etanol 96% biji srikaya (*annona squamosa* l.) Sebagai antidiare yang disebabkan oleh bakteri *Shigella dysenteriae* dengan metode difusi cakram. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 181. <https://doi.org/10.51352/jim.v1i2.33>
- Romas, A., Devi, U. R., & Mohamad Azwar Aziz. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* l) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 Secara In Vitro. *Jurnal University Research Colloquium*, 127–132.
- Tognetti L, Martinelli C, Berti S, Hercogova J, Lott i T, Leoncini F, 2012. Bacterial Skin and Soft Tissue Infections: Review of The Epidemiology, Microbiology, Aetiopathogenesis and Treatment. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 26(8):931–41.
- Wagner, H., & Bladt, S., 1996, *Plant Drug Analysis : A Thin Layer Chromatography, Second Ed*, New York, Springer.
- Wahyuni, N.K.S., Widayanti, N.P. and Wintariani, N.P., 2020. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% daun labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Doctoral dissertation*. Universitas Bali Internasional).
- Wulansari, A., Aqlinia, M., Wijanarka, & Raharjo, B. (2019). Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan Uji Aktivitas Antibakterinya terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Kulit *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Berkala Biotek*, 2(2), 25–36.