

ANALISIS BIOAUTOGRAFI DAN KARAKTERISASI DENGAN FTIR PADA FRAKSI DAUN LABU SIAM (*Sechium edule* (jacq).SW) TERHADAP *Porphyromonas gingivalis* DAN *Streptococcus mutans*

Analysis Of Bioautography And Characterization With Ftir In Siam (Sechium edule(jacq) .SW) Leaf LEAF From Porphyromonas gingivalis and Streptococcus mutans

Laila Susanti*, Isbiyantoro, Septiana Simanjuntak
Program Studi Farmasi, Universitas Tulang Bawang Lampung
e-mail : lailasusanti80@gmail.com
081323791775

*corresponding author

Abstract

Siamese pumpkin leaves are one of the plants that have antibacterial properties. Compounds that act as antibacterial are flavonoids, tannin, triterpenes, alkaloids, and saponins. The aim of this study was to prove the antibacterial activity of ethanol hexane and chloroform fraction of pumpkin siam leaves and characterize the functional groups of active compounds from pumpkin siam leaves (*Sechium edule* (jacq). SW) with FTIR spectrophotometers. The extraction process of Siamese Pumpkin leaves was carried out by maceration method using 70% ethanol. The extract was continued with the fractionation process with ethanol, n-hexane and chloroform solvents. Antibacterial activity testing using the well method with a concentration of 100%, positive control chlorhexidi and negative control aquadst. The compound content test used the Thin Layer Chromatography (TLC) method with the stationary phase using silica plate G60 F254 and comparison of the mobile phase of chloroform: methanol: water (2: 5: 3) (v / v). Bioautography test using the contact method, namely the elution TLC plate, was placed on the NA medium containing a bacterial suspension for 3 hours. Antibacterial test results The largest ethanol fraction of pumpkin leaves was at a concentration of 100% with a diameter of inhibition zone of 11.49 mm on *P. gingivalis* while 16.04 mm in *S. mutans*. The results of TLC showed the presence of flavonoids with a price of Rf 0.47 and tannin with a price of Rf 0.84. Bioautography results showed a inhibition zone with a price of Rf 0.49 in the bacteria *P. gingivalis* and *S. mutans* which are flavonoid compounds. Characterization by FTIR spectrophotometer O-H phenol, C = C aromatic, C-O-C ether, aromatic C-H functional group

Keywords: (*Sechium edule* (jacq) .SW). *Porphyromonas Gingivalis*, *Streptococcus mutans*, TLC, Bioautography and FTIR

Abstrak

Daun Labu siam merupakan salah satu tanaman yang memiliki khasiat sebagai antibakteri. Senyawa yang berperan sebagai antibakteri adalah flavonoid, tanin, triterpen, alkaloid dan saponin. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan adanya aktivitas antibakteri fraksi etanol n-heksan dan kloroform daun labu siam dan mengkarakterisasi gugus fungsi senyawa aktif dari daun labu siam (*Sechium edule* (jacq).SW) dengan spektrofotometer FTIR. Proses ekstraksi daun Labu siam dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak dilanjutkan dengan proses fraksinasi dengan pelarut etanol, n-heksan dan kloroform. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran dengan konsentrasi 100%, kontrol positif klorheksidi dan kontrol negatif aquades. Uji kandungan senyawa menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase

diam menggunakan plat silika G₆₀ F₂₅₄ dan perbandingan fase gerak kloroform :metanol : air (2:5:3) (v/v). Uji bioautografi menggunakan metode kontak yaitu plat KLT hasil elusi diletakkan diatas media NA yang berisi suspensi bakteri selama 3 jam. Hasil uji antibakteri Fraksi etanol daun labu siam paling besar yaitu pada konsentrasi 100% dengan diameter zona hambat sebesar 11,49 mm pada *P. gingivalis* sedangkan 16,04 mm pada *S. mutans*. Hasil KLT menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan harga Rf 0,47 dan senyawa tanin dengan harga Rf 0,84. Hasil Bioautografi menunjukkan adanya zona hambat dengan harga Rf 0,49 pada bakteri *P. gingivalis* dan *S. mutans* yang merupakan senyawa flavonoid. Karakterisasi dengan spektrofotometer FTIR didapatkan gugus fungsi O-H fenol, C=C aromatik, C-O-C eter, C-H aromatik

Kata Kunci : (*Sechium edule* (jacq).SW). *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, KLT, Bioautografi dan FTIR

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan hal yang penting, karena gigi dan mulut yang sehat memungkinkan seseorang untuk makan, berbicara dan bersosialisasi dengan nyaman tanpa mengalami rasa sakit. Namun, pada kenyataannya kondisi ini sulit dicapai [1]. Penyakit gigi dan mulut masih menjadi permasalahan kesehatan yang cukup besar di Indonesia. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) Tahun 2013 terdapat 25,9% penduduk Indonesia mengalami penyakit gigi dan mulut. Penyakit gigi dan mulut tersebut sebagian besar diakibatkan oleh infeksi mikroba. Hal ini disebabkan rongga mulut paling banyak terlibat dalam terjadinya berbagai penyakit diantaranya penyakit yang disebabkan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus mutans* [2].

P. gingivalis adalah salah satu bakteri gram negatif anaerob penyebab terjadinya peradangan yang menghancurkan jaringan pendukung sehingga menyebabkan kehilangan gigi yang disebut dengan periodontitis. Penyakit ini menyerang jaringan periodontal yang mengelilingi gigi dan berfungsi sebagai penyangga gigi yang terdiri dari gingiva, sementum, ligamen periodontal, dan tulang alveolar [3]. *S. mutans* adalah bakteri gram positif berbentuk bulat yang khas membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya [4]. *S. mutans* merupakan bakteri yang

mempunyai kemampuan dalam proses pembentukan plak dan penyebabnya karies gigi. Karies gigi merupakan suatu penyakit infeksi yang dapat menular dan terutama mengenai jaringan keras gigi [5]. Karies sebagian besar disebabkan karena adanya infeksi bakteri, sebagai pencegahan agar tidak terjadi infeksi dan gigi berlubang dianjurkan untuk menyikat gigi secara teratur dan menggunakan obat kumur. Perawatan gigi yang baik merupakan usaha yang tepat untuk menghindari komplikasi penyakit yang diakibatkan oleh infeksi bakteri penyebab karies gigi yakni *P. gingivalis* dan *S. mutans*.

Salah satu obat kumur yang digunakan untuk mengurangi jumlah koloni bakteri yaitu klorheksidin. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa klorheksidin terbukti dapat menghambat pembentukan plak, mengurangi inflamasi gingival dan mencegah karies gigi [6]. Namun, obat kumur ini telah dilaporkan memiliki sejumlah efek samping yaitu penyebab warna coklat pada gigi, rasa yang kurang enak, pembengkakan parotis yang unilateral atau bilateral, dan peningkatan pembentukan kalkulus supra gingival [7]. Oleh karena itu pengobatan alternatif diperlukan untuk menghambat pertumbuhan plak dengan menggunakan tumbuhan herbal [8] antara lain jahe mampu menghambat *P. gingivalis* dengan konsentrasi 6,25% dengan rata-rata diameter zona hambat 10,6 mm [9], daun tembakau dapat menghambat *S. mutans*,

dengan konsentrasi 80%, sedangkan *P.gingivalis* dan *Candida albicans* dengan konsentrasi 100% [10] dan ekstrak bunga cengkeh dapat menghambat bakteri *S.mutans* dengan zona hambat 18,2 cm [3].

Besarnya potensi tanaman sebagai antibakteri menjadi suatu ketertarikan mencari senyawa aktif dari tanaman lokal yang tumbuh di Indonesia. Salah satu tanaman lokal yang telah lama digunakan masyarakat sebagai pengobatan adalah labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw). Data empiris menyebutkan bahwa daun labu siam digunakan untuk meningkatkan hemoglobin [11], penghasil enzim protease [12], antioksidan [13], dan antimikroba [14]. Labu siam merupakan salah satu tumbuhan obat Indonesia dari suku *Cucurbitaceae*. Daun labu siam memiliki kandungan senyawa kimia seperti saponin, steroid/triterpenoid, tanin, flavonoid, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, zat besi dan mineral. [11]. Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun labu siam dapat menghambat *P. gingivalis* penyebab periodontitis dengan konsentrasi 40%, menggunakan metode difusi [15].

Selama ini pengobatan yang biasa dilakukan untuk penyakit karies dan gigi berlubang diatasi dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang berlebihan bisa membuat mikroba patogen menjadi resisten. Oleh sebab itu untuk mengatasi hal tersebut maka perlu dicari alternatif pengobatan untuk mengatasi penyakit infeksi, salah satunya dengan pencarian senyawa aktif antibakteri yang terdapat pada daun labu siam. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui fraksi etanol, n-heksan dan kloroform daun labu siam dapat menghambat pertumbuhan bakteri *P.gingivalis* dan *S. mutans*. Untuk mengetahui agen senyawa aktif daun labu siam secara bioautografi. Untuk mengkarakterisasi gugus fungsi senyawa aktif dari daun labu siam hasil dari uji bioautografi dengan FTIR

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan alat-alat gelas, *rotary evaporator*. Bahan yang digunakan daun labu siam, biakan bakteri *P.gingivalis*, biakan bakteri *S. mutans*, media *Nutrien Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB), aquades, etanol 70% (C₂H₆O), kloroform (CHCl₃), n-heksan (C₆H₁₄) Amoniak (NH₃), Liebermann-Burchard, besi (III) clorida (FeCl₃), pereaksi Bouchardat.dan H₂SO₄.

Pembuatan Ekstrak dan fraksi daun labu siam

Simplisia daun labu siam sebanyak 500 gram masukan kedalam botol gelap kemudian ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan cairan penyari etanol 70% dengan 7 kali remaserasi. Selanjutnya maserat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak cair. Ekstrak yang diperoleh difraksinasi dengan ditambahkan pelarut etanol dan n-heksan dengan perbandingan 1:1 hingga didapat fraksi etanol dan fraksi n-heksan. Kemudian fraksi etanol difraksinasi kembali dengan penambahan pelarut kloroform dengan perbandingan 1:1 hingga didapat fraksi etanol dan kloroform. Kemudian fraksi etanol yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga didapat fraksi cair.

Uji Daya Antibakteri

Uji daya antibakteri menggunakan metode difusi yaitu metode lubang. Siapkan cawan petri yang telah disterilkan kemudian tuangkan 100µL suspensi bakteri lalu tambahkan media NA, homogenkan dan biarkan memadat. setelah itu dibuat lubang sumuran menggunakan *tip mikropipet*. Kemudian masukkan larutan uji fraksi etanol, n-heksan dan kloroform daun labu siam dengan konsentrasi 100%, sebagai kontrol positif diperlukan klorheksidin dan aquadest sebagian kontrol negatif ke

dalam lubang-lubang tersebut dengan menggunakan mikropipet. Semua cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk disekeliling lubang sumuran dengan menggunakan jangka sorong.

Uji KLT dan Bioautografi

lempeng KLT yang akan digunakan diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 110°C selama 30 menit. Fraksi etanol, n-heksan dan kloroform daun labu siam ditotolkan sebanyak 3 kali penotolan pada lempeng KLT ukuran 1 cm x 7 cm menggunakan pipa kapiler, dibiarkan beberapa menit hingga kering dan dimasukkan kedalam *chamber* (bejana kromatografi) yang sudah jenuh dengan cairan pengelusi fase gerak dilakukan dengan berbagai perbandingan, dan didapatkan pemisahan paling baik yaitu kloroform:metanol:air (2:5:3) (v/v/v) [16] untuk fraksi etanol Fase gerak untuk fraksi kloroform didapatkan pemisahan paling baik yaitu kloroform;methanol (9:1). Fase gerak untuk fraksi n-heksan didapatkan pemisahan paling baik yaitu dengan menggunakan fase gerak n-heksan: kloroform (7:3). [19]. Lempeng dibiarkan terelusi sampai fase gerak mencapai batas yang diinginkan. Lempeng dikeluarkan dari bejana, kemudian Plat KLT dikeluarkan dan dikeringkan, noda yang tampak pada kromatogram kemudian diamati pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian bercak dideteksi dengan pereaksi semprot Bouchardat untuk alkaloid dan akan menunjukkan warna merah, jingga dan coklat. Ammonia untuk flavonoid menunjukkan warna kuning, hijau, coklat atau merah muda. FeCl₃ untuk tanin akan menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat. Liebermann-Burchard untuk saponin. H₂SO₄ untuk terpen akan menghasilkan warna kuning, hijau, coklat atau merah muda. [16].

Kemudian hitung Rf yang diperoleh. Senyawa aktif yang mempunyai aktivitas antibakteri kemudian dideteksi menggunakan metode bioautografi dengan cara plat hasil elusi ditempelkan pada permukaan media agar dalam petri yang masing-masing telah diinokulasi dengan suspensi bakteri *P.gingivalis* dan *S. mutans*. Setelah 3 jam lempeng tersebut diangkat dan dipindahkan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam lalu diamati zona hambatan yang terbentuk lalu hitung Rf nya. Kemudian bandingkan hasil nilai Rf yang diperoleh pada KLT Bioautografi dengan hasil nilai Rf pada plat KLT [16].

Analisis Data

Data hasil uji dianalisis dengan metode One Way Anova dengan uji lanjut LSD dan tukey dengan uji lanjut Mann-Whitney Test menggunakan software SPSS versi 24.

HASIL DAN PEMBAHASAN

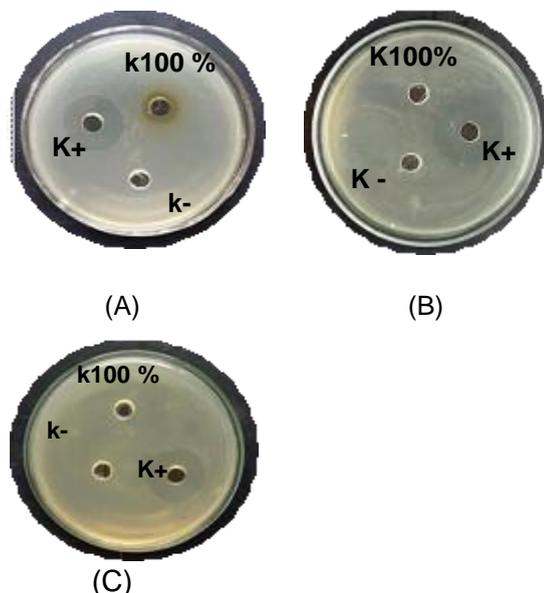
Ekstrak Dan Fraksi daun labu siam

Simplisia daun labu siam sebanyak 500 gram masukan kedalam botol gelap kemudian ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan cairan penyari etanol 70% Pengambilan senyawa aktif yang terkandung di daun labu siam dilakukan dengan metode maserasi. Metode ini termasuk dalam ekstraksi cara dingin yang dapat dilakukan tanpa menggunakan pemanasan sehingga kerusakan pada zat yang tidak tahan terhadap pemanasan dapat dihindari. Selain itu keuntungan lainnya adalah zat-zat dalam sel-sel simplisia akan tertarik sempurna dari pelarut yang sesuai. Maserat di rotary evaporator sehingga mendapatkan ekstrak cair sebanyak 500 mL. Kemudian dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak dengan berbagai jenis pelarut dengan berbagai tingkat kepolarannya yaitu n-heksan (non polar), kloroform (semipolar), dan etanol (polar). Pelarut n-heksan digunakan untuk menarik senyawa yang bersifat non polar,

pelarut kloroform untuk menarik senyawa yang bersifat semipolar dan pelarut etanol untuk menarik senyawa polar. Penggunaan ketiga pelarut tersebut untuk mendapatkan senyawa yang benerbener murni. Fraksi yang diperoleh yakni fraksi etanol (80 mL), kloroform (120 mL) dan n-heksan (100 mL). Kemudian fraksi etanol yang diperoleh di uapkan hingga diperoleh volume fraksi cair 50 mL dan fraksi n-heksan yang diperoleh di uapkan hingga diperoleh volume fraksi cair 50 mL, kemudian fraksi kloroform di uapkan hingga didapat 50 mL

Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Uji daya antibakteri daun labu siam dilakukan dengan menggunakan fraksi etanol, fraksi n-heksan dan fraksi kloroform dengan konsentrasi 100% dengan klorheksidin sebagai kontrol positif dan aquadst sebagai kontrol negatif yang kemudian diujikan ke kedua jenis bakteri yang berbeda yaitu *P.gingivalis* dengan menggunakan metode sumuran dan media NA dalam uji antibakteri. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 1

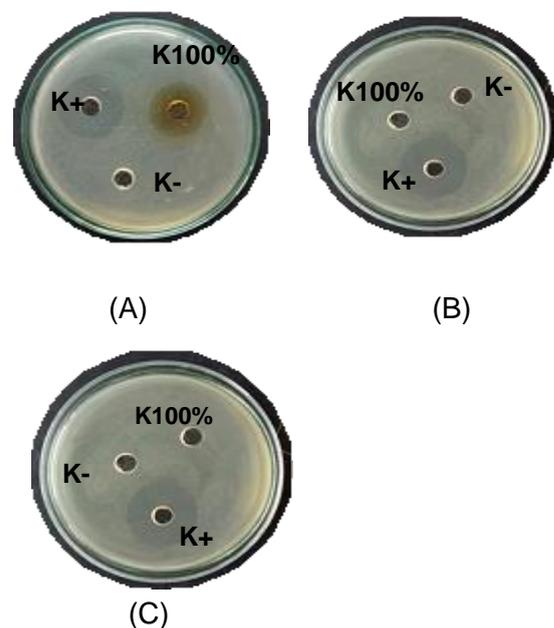


Gambar 1. Hasil uji daya antibakteri fraksi (A) etanol, (B) n-heksan, (C) kloroform daun labu siam terhadap bakteri. *P.gingivalis* Konsentrasi 100%, kontrol positif (+) klorheksidin dan kontrol negatif (-) aquades

Hasil penelitian uji daya antibakteri menunjukkan bahwa fraksi etanol, daun labu siam dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *P.gingivalis* dengan konsentrasi 100% sebesar 11,49. Sedangkan pada fraksi n-heksan dan kloroform tidak menghasilkan zona hambat.

Bakteri *streptococcus mutans*

Uji daya antibakteri daun labu siam dilakukan dengan menggunakan fraksi etanol, fraksi n-heksan dan fraksi kloroform dengan konsentrasi 100% dengan klorheksidin sebagai kontrol positif dan aquadst sebagai kontrol negatif yang kemudian diujikan ke kedua jenis bakteri yang berbeda yaitu *S. mutans* yang mewakili gram positif dengan menggunakan metode sumuran dan media NA dalam uji antibakteri. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2. Hasil uji daya antibakteri fraksi (A) etanol, (B) n-heksan, (C) kloroform daun labu siam terhadap bakteri. *S.mutans* Konsentrasi 100%, kontrol positif (+) klorheksidin dan kontrol negatif (-) aquades

Hasil penelitian uji daya antibakteri menunjukkan bahwa fraksi etanol, daun labu siam dapat menghambat

pertumbuhan bakteri gram negatif *S. mutans* dengan konsentrasi 100% sebesar 16,04. Sedangkan pada fraksi n-

heksan dan kloroform tidak menghasilkan zona hambat.

Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat fraksi etanol terhadap bakteri *P. gingivalis* dan *S. mutans*.

Diameter Zona Hambat (mm)						
Bakteri	Perlakuan	1	2	3	Total	Rata-rata
<i>P. gingivalis</i>	K -	0	0	0	0	0 ±0,000 ^a
	K +	17.02	18.98	17.70	53,7	17,9±0,984 ^b
	K 100%	11.03	11.94	11.50	34,47	11,49 ±0,455 ^c
<i>S. mutans</i>	K -	0	0	0	0	0 ±0,000 ^a
	K +	20.98	21.22	21.00	63,2	21,06 ±0,133 ^b
	K 100%	16.56	15.54	16.02	48,12	16,04 ±0,510 ^c

Keterangan:Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf tika atas yang sama tidak berbeda nyata.

K (-) :Menggunakan aquades

K(+):Menggunakan antibiotik klorheksidin

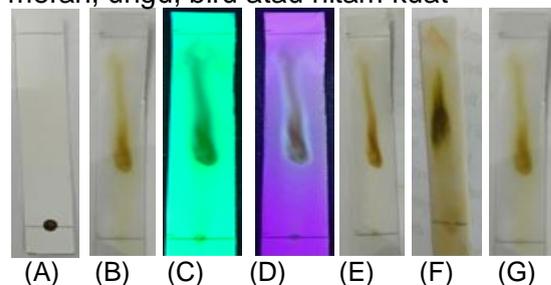
K100%:Fraksi etanol daun labu siam dengan konsentrasi 100%.

Hasil yang diperoleh pada pengujian antibakteri, fraksi yang menghasilkan diameter zona hambat adalah fraksi etanol, sedangkan pada fraksi n-heksan dan fraksi kloroform tidak menghasilkan diameter zona hambat. Hal ini dapat menunjukkan bahwa senyawa antibakteri dari fraksi daun labu siam lebih dapat tertarik dalam pelarut etanol yang bersifat polar. Uji daya dilanjutkan dengan menggunakan fraksi etanol dengan konsentrasi 100% dengan klorheksidin sebagai Kontrol positif (+) dan aquadst sebagai Kontrol negatif (-) yang kemudian diujikan ke terhadap bakteri *P. gingivalis* dan *S. mutans*.

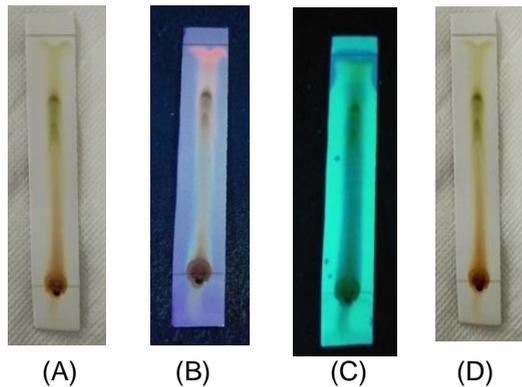
Pengujian Secara KLT

KLT yaitu metode yang digunakan untuk memisahkan senyawa secara fisika-kimia berdasarkan dengan komponen fase diam dan fase gerak. Analisis KLT bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa dari fraksi etanol, fraksi n-heksan dan fraksi kloroform daun labu siam. Sebelum dilakukan penotolan sampel, fase diam yang akan digunakan diaktivasi terlebih dahulu didalam oven selama 30 menit

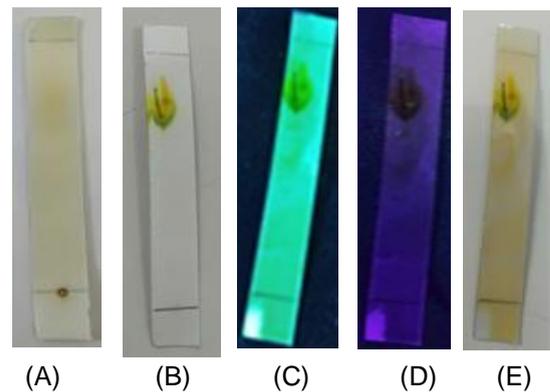
dengan suhu 110° C. Kemudian chamber yang akan digunakan dijenuhkan terlebih dahulu menggunakan fase gerak terbaik kloroform:metanol:air (2:5:3) (v/v/v) untuk fraksi etanol dan fase gerak kloroform:metanol (9:1) untuk fraksi kloroform fase gerak n-heksan: kloroform (7:3) untuk fraksi n-heksan [16]. Plat KLT yang telah dielus dengan fase gerak, kemudian diamati bercaknya di UV 254 dan di UV 366 nm. Selanjutnya bercak tadi ditetesi dengan reagen semprot yaitu amoniak untuk senyawa flavonoid dan akan menunjukkan warna kuning, jingga atau merah, Libermann-Bouchard akan menghasilkan warna ungu untuk senyawa saponin, H₂SO₄ untuk steroid/triterpenoid dan akan menunjukkan warna coklat atau merah muda dan FeCl₃ untuk tanin akan menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat



Gambar 3. Hasil Penampang Bercak Uji Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Etanol daun labu siam Dengan Fase Gerak Kloroform:Metanol:Air (2:5:3). A: hasil penotolan, B: sinar tampak, C: UV 366, D: UV 254, E: Ammonia, (Flavonoid) F: FeCl₃ (Tanin) G: Liberman (Saponin)



Gambar 4. Hasil Penampang Bercak Uji Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Kloroform Daun labu siam Dengan Fase Gerak Kloroform:Metanol (9:1). A: sinar tampak, B: UV 254, C: UV 366, D : Bouchardat (Alkaloid).



Gambar 5. Hasil Penampang Bercak Uji Kromatografi Lapis Tipis Fraksi n-heksan Daun labu siam Dengan Fase gerak n-heksan: kloroform (7:3) A : hasil penotolan B. sinar tampak, C: UV 254, D: UV 366, E: H₂SO₄ (Terpen)

Tabel 2. Hasil Penampang Bercak Kromatografi Lapis Tipis.

Senyawa	Deteksi	Hasil positif	Hasil penelitian	Ket
Tanin (polar)	FeCl ₃	Hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat	Hitam kuat	+
Flavonoid (polar)	Ammonia	Kuning, hijau, coklat atau hitam kuat	Kuning	+
Saponin (polar)	Libermann-burchard	Ungu	Tidak mengalami perubahan	-
Alkaloid (semi polar)	Libermann	Hijau	Tidak mengalami perubahan	-
Terpen (non polar)	H ₂ SO ₄	Kuning, hijau, coklat, atau merah muda	Tidak mengalami perubahan	-

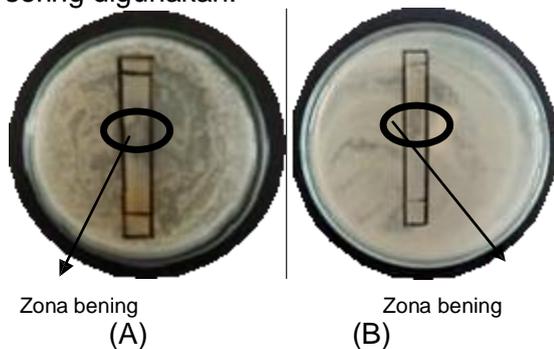
Hasil penampang bercak kromatografi lapis tipis menunjukkan hasil positif mengandung senyawa tanin setelah disemprot dengan FeCl₃ yang ditandai dengan terbentuknya warna hitam kuat pada plat. Hasil penampang bercak kromatografi lapis tipis menunjukkan hasil positif mengandung senyawa flavonoid setelah disemprot dengan amonia dengan terbentuknya warna kuning pada plat dan hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan hasil negatif mengandung saponin setelah disemprot dengan Libermann-Burchard karena tidak terbentuknya warna ungu pada plat, hasil penampang bercak negatif mengandung triterpenoid karena tidak

terbentuk warna hijau pada plat dan negatif mengandung senyawa alkaloid setelah disemprot dengan Libermann-Burchard karena tidak terbentuknya warna hijau pada plat. Bercak noda pada fraksi etanol daun labu siam dengan melihat hasil uji semprot dapat dinyatakan mengandung senyawa tanin dengan Rf 0,83. Penelitian sebelumnya tentang phytochemical screening and TLC profiling of Various Extracts of Reinwardtia indica menunjukkan adanya senyawa yang sama dengan tanin yaitu dengan harga Rf 0,85 [17]. Fraksi etanol daun labu siam setelah disemprot dengan amonia memberikan

warna bercak yang menandakan adanya senyawa flavonoid, Rf yang dihasilkan yaitu 0,47. Penelitian sebelumnya tentang phytochemical screening and TLC profiling of Various Extracts of *Reinwardtia indica* menunjukkan adanya senyawa yang sama dengan flavonoid yaitu dengan harga Rf 0,48 [17]. Hasil uji penampang bercak fraksi etanol daun labu siam menunjukkan bahwa terdapat senyawa tanin dan senyawa flavonoid yang bersifat sebagai antibakteri.

Pengujian Secara KLT-Bioautografi

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi etanol daun labu siam memiliki aktivitas antibakteri, sehingga dilanjutkan ke uji bioautografi. Bioautografi merupakan metode untuk mendeteksi bercak pada kromatogram hasil KLT yang memiliki aktivitas antibakteri dengan cara menempelkan plat KLT pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Letak senyawa aktif akan tampak sebagai zona bening dengan latar belakang keruh. Pada penelitian ini digunakan metode bioautografi kontak karena lebih mudah, sederhana dan paling sering digunakan.



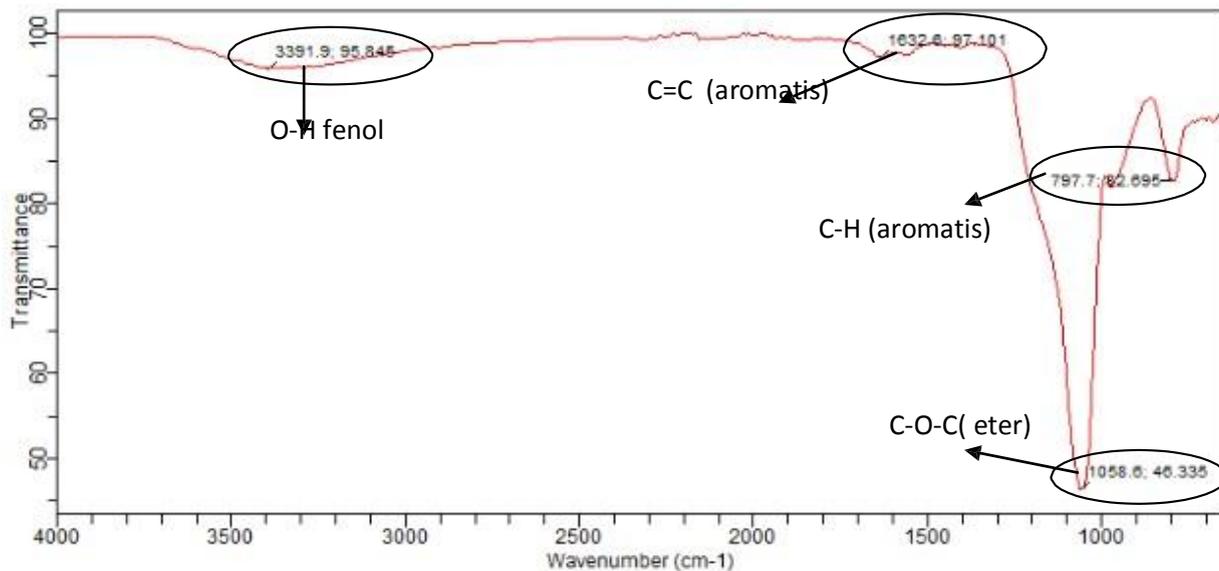
Gambar 6 Hasil bioautografi fraksi etanol daun labu siam dengan fase gerak kloroform: metanol : air (2:5:3) (v/v/v) terhadap bakteri (A) *P. gingivalis* dan (B) *S. mutans*.

Zona bening yang terbentuk pada Gambar 4.6 menunjukkan adanya aktivitas antibakteri di kedua cawan dengan harga Rf yang terbentuk yaitu 0,49, dimana memiliki nilai Rf yang mendekati Rf flavonoid pada uji KLT dengan harga Rf 0,47 yang merupakan senyawa flavonoid, sehingga senyawa aktif yang paling berperan sebagai antibakteri pada daun labu siam adalah senyawa flavonoid. Pada penelitian sebelumnya yaitu skrining fitokimia dari daun labu siam menunjukkan bahwa daun labu siam mengandung senyawa saponin, alkaloid steroid /triterpenoid, tanin dan flavonoid namun setelah dilakukan pengujian KLT Fraksi etanol daun labu siam mengandung senyawa flavonoid dan tanin.

Pengujian secara bioautografi menunjukkan bahwa kandungan kimia yang terdapat dalam fraksi etanol daun labu siam yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. gingivalis* dan *S. mutans* adalah senyawa flavonoid, terbukti dengan terbentuknya zona bening pada media dengan harga Rf sebesar 0,49 dan memiliki harga Rf yang mendekati dengan uji KLT pada senyawa flavonoid yaitu Rf 0,47, yang menunjukkan warna kuning setelah disemprot dengan larutan Ammonia positif mengandung senyawa flavonoid.

Identifikasi gugus fungsi dengan spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR)

Analisis serapan FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung dalam fraksi etanol daun labu siam. Serapan yang muncul pada spektrum fraksi etanol daun labu siam terdapat pada wilayah 4000 sampai 650. Hasil pengukuran FTIR dari fraksi etanol daun labu siam dapat dilihat pada Gambar 7



Gambar 7. Hasil Spektrum FTIR Fraksi Etanol Daun Labu Siam

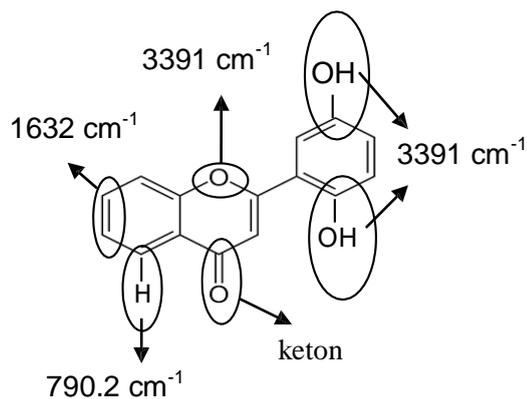
Hasil pengujian FTIR diatas dapat dilihat bahwa terdapat 4 panjang gelombang pada fraksi etanol daun labu siam yaitu terdapat gugus O-H dengan bentuk pita melebar pada panjang gelombang 3391 cm^{-1} , pada kisaran daerah frekuensi 3200-3700 cm^{-1} termasuk kedalam golongan fenol. Dugaan tersebut diperkuat oleh serapan pada panjang gelombang 1058 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-O-C termasuk kedalam golongan eter karena

terletak pada daerah 1500-1000 cm^{-1} . serapan pada panjang gelombang 1632 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=C, pada kisaran daerah frekuensi 1500-1000 cm^{-1} termasuk kedalam golongan aromatik. Dugaan tersebut diperkuat oleh serapan panjang gelombang 790.2 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus C-H termasuk kedalam golongan aromatik karena terletak pada daerah frekuensi 675-995 cm^{-1} .

No	Fraksi	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Rentang panjang gelombang (cm^{-1})	Gugus fungsi
1	Etanol	3391	3200-3700 cm^{-1}	O-H fenol
2	Etanol	1058	1500-1000 cm^{-1}	C-O-C eter
3	Etanol	1632	1500-1000 cm^{-1}	C=C aromatik
4	Etanol	790.2	675-995 cm^{-1}	C-H aromatik

Hasil analisis FTIR fraksi etanol daun labu siam menunjukkan adanya gugus O-H fenol, C-O-C eter, C-H aromatik dan C=C aromatik. Penelitian lain tentang karakterisasi senyawa flavonoid dari fraksi etil asetat nusa indah (*mussaenda erythrophylla*) menjelaskan bahwa gugus fungsi O-H fenol, C-O-C eter, C-H aromatik dan C=C aromatik termasuk kedalam senyawa flavonoid [18]. Pada gugus fungsi keton tidak terdeteksi di grafik kemungkinan karna rendahnya transmittance.

Hasil Karakterisasi FTIR yang membedakan antar golongan gugus fungsi flavonoid dengan golongan gugus fungsi tanin yang terdapat didalam daun labu siam adalah gugus fungsi eter (C-O-C). Senyawa tanin tidak memiliki gugus fungsi golongan fungsi eter sehingga senyawa yang diduga aktifitas anti bakteri berdasarkan FTIR adalah gugus flavonoid atau turunannya berikut struktur kerangka dasar golongan flavonoid.



Gambar 8. Dugaan struktur senyawa flavonoid yang terdapat dalam daun labu siam

Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa flavonoid pada daun labu siam menghasilkan diameter zona terhadap bakteri *P. gingivalis* dan *S. mutans*. Hal ini menunjukkan bahwa yang berperan aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah flavonoid. Flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel, menonaktifkan kerja enzim, berikatan dengan adhesin, dan merusak membran sel. Cincin beta dan gugus -OH pada flavonoid diduga sebagai struktur yang bertanggungjawab sebagai aktivitas antibakteri [18].

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi etanol daun Labu siam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.gingivalis* dan *S.mutans*. Sedangkan fraksi n-heksan dan kloroform tidak memiliki aktivitas antibakteri *P.gingivalis* dan *S.mutans*.
2. Fraksi etanol daun labu siam terbukti mengandung senyawa flavonoid dan tanin, dan golongan senyawa aktif yang paling efektif menghambat bakteri pada fraksi etanol daun labu siam adalah senyawa flavonoid dengan harga Rf 0,49
3. Gugus fungsi senyawa aktif berdasarkan karakterisasi FTIR pada fraksi etanol daun labu siam pada Rf

0,49 menunjukkan adanya gugus OH fenol, C-O-C eter, C=C aromatik, C-H aromatik.

B. SARAN

Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi lebih lanjut mengenai senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak maupun fraksi daun labu siam yang mempunyai aktivitas antibakteri.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Staff Laboratorium Mikrobiologi dan Kimia Dasar Universitas Tulang Bawang Lampung.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Thresia U. Sapara, Waworuntu O, Juliatri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5(04):10-17.
- [2]. Fatimah I.A, Kusumawardani B, Meilawaty Z, Wulan Suci A. 2016. Pengaruh Ekstrak Flavonoid Rendah Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.) Terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- [3]. Paliling A, Posangi J, Anindita P.S. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri

- Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 4(02):299-234.
- [4]. Juvensius R. Andries, Paulina N. Gunawan, Supit A. 2014. uji efek anti bakteri ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 2(02):1-8.
- [5]. Sabir A. 2005. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (*in vitro*). *Jurnal Majalah Kedokteran Gigi*. 38(03):135-141.
- [6]. Fajriani, Andriani N.J. 2014. Reduction of Salivary *Streptococcus mutans* Colonies in Children After Rinsing with 2.5% Green Tea Solution. *Journal of Dentistry Indonesia*. 21(03):81-86.
- [7]. Anggayanti A.N, Adiatmika, Adiputra N. 2013. Berkumur dengan teh hitam lebih efektif daripada *Chlorhexidine gluconate* 0,2% untuk menurunkan akumulasi plak gigi. *Jurnal PDGI*. 62(02):35-40.
- [8]. Fitri. 2018. *Fraksi Etanol Rimpang Jeringau (Acorus calamus L.) sebagai Antibakteri Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- [9]. Zulfan M. Alibasyah, Andayani R, Farhana A. 2016. potensi antibakteri ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society* 1(02):147-152.
- [10]. Putri H, Barid I, wardani B.K. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Tembakau terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut Stomatognatic. *Jurnal Kedokteran Gigi* 11(02)27-31.
- [11]. Zuhrawati, Asmilia N, Rizky A, Zuraidawati, Nazaruddin, Adam M, Muttaqien. 2015. Pengaruh pemberian infusa daun labu siam (*Sechium edule*) Terhadap kadar hemoglobin dan nilai hematokrit Tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia. *Jurnal Medika Veterinaria*. 9(02)80-84.
- [12]. Ratnayani K, Ayuseptri J. A.A, Mayun Laksmiwati A,A,I, Dewi P.K IG.A. 2015. Uji aktivitas protease getah labu siam dan talas serta Perbandingannya terhadap getah pepaya. *Jurnal Kimia* 9(02)147-152.
- [13]. Ordonez A.A.L, Gomez J.D, Vattuone M.A, Isla M.I. 2006. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Journal Food Chemistry* 97.p 452–458.
- [14]. Ordoñez A. A. L., Gomez J. D. Dudmani N. M, Vattuone M. A. & M. I. Isla. 2013. Antimicrobial Activity of Nine Extracts of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. *Journal Microbial Ecology in Health and Disease*. 15 :33-39.
- [15]. Arifurrahman. 2017. *pengaruh ekstrak etanol daun labu siam (Sechium edule (Jacq.) SW) terhadap daya hambat pertumbuhan Bakteri Porphyromonas gingivalis penyebab Periodontitis*. Skripsi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [16]. Galuh Gondo Kusumo, M.A. Hanny Ferry, Heppy Asroriyah. 2017. Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Kemuning (*Murraya paniculata* L. Jack) Dengan Berbagai Jenis Pelarut Pengekstraksi. *Journal of Pharmacy and Science*. 2(1):29-32.
- [17]. Sonam mehta, Rana PS, Saklani pooja. 2017. Phytochemical screening and TLC profiling of Various Extracts of *Reinwardtia*

indica. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 9(4); 523-527.

- [18]. Nugraha A.C ,Prasetya A.T, Mursiti S 2017 Isolasi, Identifikasi, Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6(2):95.
- [19]. Zuhrawati, Asmilia N, Rizky A, Zuraidawati, Nazaruddin, Adam M, Muttaqien. 2015. Pengaruh pemberian infusa daun labu siam (*Sechium edule*) Terhadap kadar hemoglobin dan nilai hematokrit Tikus putih (*Rattus norvegicus*) anemia. *Jurnal Medika Veterinaria*. 9(02)80-84.
- [20].Febrianasari T. 2018. Aktivitas antibakteri dan bioautografi fraksi etanol bunga soka (*Ixora coccinea* L.) terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* (skripsi). Universitas Tulang Bawang Lampung