



Activity Test of Ethanol Extract from Chayote Leaves (*Sechium edule* Jacq. Swartz) as an Antibacterial against *Mycobacterium smegmatis*

Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) sebagai Antibakteri *Mycobakterium smegmatis*

Christel N. Sambou¹⁾, Douglas N. Parea¹⁾, Sarah Sambow¹⁾, Wilmar Maarisit¹⁾, Jabel Kanter¹⁾, Jeane Mongi¹⁾, Hanna M. Rumagit¹⁾, Selvana Tulandi²⁾, Joke L. Tombuku²⁾, Reky R. Palandi²⁾, Nerni O. Patalang²⁾

¹⁾Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon, Tomohon, Indonesia.

²⁾Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon, Tomohon, Indonesia.

e-mail author : christelsambou091@gmail.com

ABSTRACT

The membrane structure of *Mycobacterium smegmatis* is similar to that of *Mycobacterium tuberculosis*, allowing TB testing to be performed on *Mycobacterium smegmatis* without directly testing on *Mycobacterium tuberculosis*. Antibacterial testing uses the paper disc method with several treatments, namely extract concentrations of 1 µg/disc, 2 µg/disc, and 4 µg/disc, as well as positive control streptomycin 2 µg/disc and negative control 70% ethanol. The research results obtained at Extract Concentrations of 1, 2, and 4 µg/disc have moderate antibacterial activity seen from the inhibitory zone diameter, namely 8.73 mm, 9.17 mm, and 9.73 mm, and the positive control is strong because it has a zone diameter of 13.27 and the negative control does not give a zone. The conclusion is that the extract of siam pumpkin leaves has moderate antibacterial activity.

Keywords: Chayote Leaves; Antibacterial; *Mycobacterium smegmatis*; Tuberculosis

ABSTRAK

Struktur membran dari *Mycobacterium smegmatis* mirip dengan spesies *Mycobacterium tuberculosis*, sehingga pengujian TB bisa diuji pada *Mycobacterium smegmatis* tanpa harus diuji langsung pada *Mycobacterium tuberculosis*. Pengujian antibakteri menggunakan metode kertas cakram dengan beberapa perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak 1 µg/disc, 2 µg/disc dan 4 µg/disc serta pembanding control positif streptomycin 2 µg/disc dan kontrol negatif etanol 70%. Hasil penelitian yang diperoleh pada Konsentrasi Ekstrak 1,2 dan 4 µg/disc memiliki aktivitas antibakteri kategori sedang dilihat dari diameter zona hambat yaitu 8.73 mm, 9.17 mm dan 9,73 mm dan kontrol positif kategori kuat karena memiliki diameter zona 13,27 dan kontrol negatif tidak memberikan zona. Kesimpulan bahwa Ekstrak daun labu siam memberikan aktivitas antibakteri pada kategori sedang.

Kata kunci: Daun Labu Siam; Antibakteri; *Mycobakterium smegmatis*; Tuberkulosis

PENDAHULUAN

Tuberkulosis(TB) merupakan penyakit peradangan meluas langsung yang diakibatkan oleh kuman *Mycobacterium tuberculosis*. TB ialah faktor utama morbiditas dan mortalitas di segala dunia serta sebagian besar melanda paru (Diantara,2022). Menurut laporan World Health Organization Global Burden of Disease, Tuberkulosis merupakan penyakit berjangkit yang jadi pemicu kematian peringkat ke- 13 serta penyakit berjangkit pembunuh no 2 paling banyak di dunia. Pada tahun 2020, ada 1,5 juta yang meninggal disebabkan TB. Walaupun TB bisa dipulihkan serta dicegah, tetapi sebanyak 10 juta orang terserang TB di segala dunia. Informasi World Health Organization Asia Tenggara tahun 2019, diperkirakan 4, 3 juta orang mengidap TB serta estimasi 632.000 diantaranya meninggal. Sebaran paling banyak ditemui di kawasan Asia Tenggara (43%) dimana Indonesia salah satunya. Sampai dikala ini, walaupun ada kemajuan dalam penindakan TB di Indonesia, tetapi indonesia masih menempati peringkat ketiga dalam jumlah permasalahan TB baru paling banyak di dunia. *Mycobacterium tuberculosis* jadi agen pemicu penderita tuberkulosis yang bertanggung jawab atas jutaan kematian tiap tahunnya di dunia (Adytia, H, 2022).

Penggunaan antibiotik dalam terapi farmakologi biasanya digunakan buat menanggulangi infeksi. Tetapi, pada sebagian permasalahan, pemakaian antibiotik bisa menampilkan dampak negatif berbentuk resistensi. Oleh sebab itu, upaya yang dicoba guna menanggulangi resistensi antibiotik yakni dengan memakai bahan bawah dari sumber bahan alam selaku alternatif bahan guna membatasi kuman tersebut. Salah satu bahan alternatif yang bisa digunakan yaitu labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz). Sebagian hasil riset menampilkan kalau daun labu siam mempunyai kandungan saponin, steroid, tanin, flavonoid, serta glikosida, dan mempunyai aktivitas antibakteri. Tetapi, buat penghambatan pada *Mycobacterium tuberculosis* belum sempat dicoba, sehingga periset tertarik buat melaksanakan uji kegiatan ekstrak daun labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) selaku antibakteri *Mycobacterium smegmatis*. Struktur membran dari *Mycobacterium smegmatis* mirip dengan spesies *Mycobacterium tuberculosis*,

sehingga pengujian TB dapat diuji pada *Mycobacterium smegmatis* tanpa harus diuji langsung pada *Mycobacterium tuberculosis* (Watung CJ, 2023; Indiani S, 2019; Sumilat DA, 2019)

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini seperti timbangan analitik (Shimadzu® ATX224), Autoklaf (GEA® YXQG-01), Cawan Petri, Inkubator (Memmert®), Jangka Sorong, Oven (Memmert®), Lemari Pendingin, Pipet Mikro, dan Pot Ekstrak. Dalam penelitian ini, digunakan beberapa jenis bahan seperti daun labu Siam, bakteri *Mycobacterium smegmatis* (ATCC 19420), etanol dengan konsentrasi 95%, Middlebrook 7H9 Broth Base, Middlebrook 7H10 Agar Base, Middlebrook ADC, aquadest, McFarland dan etanol dengan konsentrasi 70% yang berfungsi sebagai kontrol negatif. Selain itu juga digunakan Obat Streptomycin sebagai kontrol positif.

Prosedur kerja

Pengambilan Sampel

Di Desa Kayuuwi, diambil daun labu siam yang kemudian dibersihkan dari kotoran dengan teknik dicuci memakai air mengalir. Setelah itu, daun tersebut dirajang dan dikeringkan secara alami sampai benar-benar kering. Kemudian, daun labu siam yang telah kering tersebut dihancurkan menggunakan blender dan disaring agar ukurannya menjadi seragam.

Pembuatan Ekstrak daun labu siam (Sambou CN,2023)

Daun labu siam seberat 1 kg ditimbang dan dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Kemudian, daun tersebut dimaserasi menggunakan senyawa pelarut etanol 95% dalam waktu 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah itu, dilakukan remaserasi lagi selama dua kali selama periode 24 jam dengan pengadukan yang sama. Filtrat hasil dari kedua maserasi kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring dan didapatkanlah suatu maserat. Maserat tersebut kemudian dievaporasi pada alat rotary evaporator dengan suhu sekitar 40°C sampai didapatkan ekstrak berbentuk kental dari daun labu siam.

Persiapan Alat dan Media-Media Untuk Uji Antibakteri (Sambow S, 2023).

Sterilisasi Alat

Pada tahap pembuatan media, sterilisasi peralatan dilakukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi. Alat yang pakai pada tahapan sterilisasi yaitu autoklaf dengan waktu selama 30 menit dengan suhu 121°C serta tekanan 1 atm.

Pembuatan Media

Sebanyak 9,75 gram MiddleBrook 7H10 ditimbang dan dicampurkan ke dalam wadah berisi 450 ml. Kemudian, ditambahkan juga sebanyak 2,5 ml glycerol ke dalam campuran tersebut. Selanjutnya, campuran tersebut dikocok hingga merata dan homogen lalu disterilisasi menggunakan autoklaf selama periode 30 menit pada suhu sekitar 121°C.

Pengujian Antibakteri (Sambow S, 2023)

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Mycobacterium smegmatis (ATCC 19420) ditumbuhkan dalam media tumbuh cair 2,35 g Middlebrook 7H9 dalam 450 ml yang didalamnya terkandung 2 ml glycerol. Selanjutnya bakteri dikultur selama 2 hari pada incubator pada suhu ruang 37°C.

Kontrol positif

Untuk membuat kontrol positif, digunakan larutan streptomycin dengan konsentrasi 2 µg/disk. Caranya adalah dengan melarutkan sebanyak 0,005 gram streptomisin ke dalam 5 mL aquadest.

Prosedur pengujian antibakteri

Ekstrak kental dari daun labu siam seberat 0,055 gram di larutkan dalam 550 mL pelarut etanol dengan konsentrasi 95% untuk digunakan sebagai larutan standar. Kemudian dibuat tiga seri kosentrasi yaitu 1 µg/disk, kosentrasi 2 µg/disk dan kosentrasi 4 µg/disk. Untuk kontrol positif menggunakan konsentrasi sebesar 2 µg/disk sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan juga sebanyak 2 µg/disk. Setiap seri ekstrak daun labu siam diambil dengan mikropipet dan ditaruh pada cakram yang telah dipersiapkan pada wadah spot plate yang bersih. Selanjutnya, cakram tersebut dibiarkan

hingga mengering selama periode satu kali selama dua puluh empat jam.

Kemudian suspensi bakteri dicampur dengan media steril dan dituang ke dalam setiap piring petri hingga mencapai volume sekitar lima puluh mL per piring petri. Piring-piring petri tersebut kemudian dibiarkan agar media menjadi agak padat terlebih dahulu. Cakram-cakram yang sudah dikeringkan tadi kemudian ditempelkan pada media pengujian dalam masing-masing piringpetridengan memberikan tanda tertentu pada tiap-tiap piringannya. Lalu semua sampel dibiarkan selama periode 1 x 24 jam dengan suhu kurang lebih 20°C. Kemudian, dilakukan pengukuran zona hambatan yang terbentuk menggunakan jangka sorong guna mengetahui efektivitas ekstrak daun labu siam terhadap bakteri yang diuji.

Analisis Data

Setelah data terkumpul, data tersebut diolah dan ditampilkan dalam bentuk tabel. Kemudian dilakukan perhitungan diameter zona hambat dan diuji perbedaan signifikan antar perlakuan menggunakan analisis SPSS rancangan acak lengkap (RAL) Anova complete random design, selanjutnya dikategorikan dan dideskripsikan secara rinci.

Cara Perhitungan Diameter Zona Hambat

$$\text{Rumus: } d = \frac{A+B+C}{3}$$

Keterangan:

d= diameter zona hambat

A= diameter vertikal

B= diameter horisontal

C= diameter diagonal

Kategori antibakteri (Sambow S, 2023)

Diameter Zona Hambat (mm)	Aktivitas antibakteri
2 - 5	Sangat lemah
5 - 10	Sedang
10 - 20	Kuat
≥20	Sangat Kuat

HASIL DAN DISKUSI

Sejumlah satu kilogram sampel daun labu siam yang berasal dari desa Kyuuwi diambil, kemudian dicacah dan dikeringkan. Setelah itu,

sampel tersebut dihaluskan dan diekstraksi menggunakan metode ekstraksi maserasi. Metode ekstraksi maserasi dimaksudkan untuk menarik senyawa-senyawa aktif pada bahan alami. Salah satu keuntungan dari penggunaan metode maserasi ialah prosedur serta peralatan yang pakai sederhana sehingga tidak memerlukan pemanasan yang dapat menyebabkan degradasi atau kerusakan pada bahan alami tersebut⁷. alam proses ekstraksi ini, digunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 95% karena memiliki berbagai keuntungan. Pelarut tersebut mampu meningkatkan kelarutan dan stabilitas senyawa aktif didalam sampel daun labu siam, selain itu mudah didapatkan dan tidak memerlukan pemanasan dalam penggunaannya (Watung CJ, 2023; Indiani S, 2019; Susanty E, 2018; Kurniawati E, 2018). Dari hasil ekstraksi diperoleh ekstrak kental daun labu siam sebanyak 26,98 gram.

Ekstrak daun labu siam kemudian dibuat menjadi beberapa konsentrasi untuk dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium smegmatis*. *Mycobacterium smegmatis* adalah bakteri yang tidak patogen, tahan asam, dan digunakan sebagai model untuk penelitian pada *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri ini memiliki bentuk batang lurus atau sedikit melengkung dan menular melalui udara melalui percikan renik atau droplet nucleus (Ranjitha J, 2020; Idola, 2017). Gambar 1 dan tabel 1 menunjukkan hasil pengujian aktivitas antibakteri, yang diuji perbedaan nyata antar perlakuan dengan hasil terlihat pada Tabel 2 yang di mana terdapat perbedaan sangat nyata karena nilai Fhitung lebih besar dari Ftabel. Selanjutnya dikategorikan berdasarkan diameter zona hambat. Hasil kategori tersebut dapat dilihat pada tabel 3.



Gambar 1. Zona Hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Labu Siam terhadap *Mycobacterium smegmatis*.

Table 1. Zona Penghambatan Antibakteri *Mycobacterium smegmatis*

Perlakuan	Pengulangan Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)
	1	2	3	
Kontrol Positif streptomycin 2µg/disc	13.6	13.3	12.9	13.27
Kontrol Negatif Etanol 2µg/disc	0	0	0	0
Konsentrasi Ekstrak 1 µg/disc	9	8.7	8.5	8.73
Konsentrasi Ekstrak 2 µg/disc	9.17	9.4	8.9	9.16
Konsentrasi Ekstrak 4 µg/disc	9.5	10.5	9.2	9.73

Tabel 2. Anova Rancangan Acak Lengkap

SK	DB	JK	KT	Fhit	Ftab		Ket
					0.05	0.01	
Perlakuan	4	289.3784	72.34459	507.5864	3.47805	5.994339	**
Galat	10	1.425267	0.142527				
Total	14	290.8036					
Ket.	TN	Berbeda Tidak Nyata					
	*	Berbeda Nyata					
	**	Berbeda Sangat Nyata					

Tabel 3. Kategori Antibakteri

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)	Aktivitas Antibakteri
Kontrol Positif streptomycin 2 μ g/disc	13.27	Kuat
Kontrol Negatif Etanol 2 μ g/disc	0	Tidak ada Aktivitas
Konsentrasi Ekstrak 1 μ g/disc	8.73	Sedang
Konsentrasi Ekstrak 2 μ g/disc	9.17	Sedang
Konsentrasi Ekstrak 4 μ g/disc	9.73	Sedang

Berdasarkan hasil pengujian tersebut diperoleh hasil yaitu ekstrak daun labu siam menunjukkan aktivitas antibakteri kategori sedang dan tidak sebanding dengan aktivitas antibakteri kontrol positif streptomycin yang memiliki aktivitas antibakteri kategori kuat. mekanisme penghambatan antibakteri *Mycobacterium smegmatis* dari streptomycin adalah melalui pengikatan subunit ribosom kecil pada bakteri, menyebabkan kesalahan dalam pembacaan kode genetik RNA, menghambat sintesis protein, menghambat inisiasi translasi, dan mengganggu proofreading (Dal Molin, 2018; Wei, 2022). Sedangkan untuk ekstrak daun labu siam dari beberapa sumber menyebutkan bahwa senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, serta saponin yang ada di dalam ekstrak daun labu siam berperan dalam aktivitas antibakteri tersebut (Watung CJ, 2023; Rosid M, 2019; Nurjanah S, 2015). Dimana Flavonoid yaitu senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Senyawa ini memiliki efek penghambatan pertumbuhan bakteri dengan kerja mengganggu stabilitas membran sel bakteri dan menghambat enzim-enzim yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri. Alkaloid juga sebagai senyawa antibakteri. Senyawa ini dapat

mengganggu sintesis protein dan asam nukleat dalam sel bakteri, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri. Saponin adalah senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur. Senyawa ini dapat mengganggu sel membran bakteri serta membuat kerusakan, sehingga terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri (Rosid M, 2019).

KESIMPULAN

Hasil penelitian pada uji aktivitas ekstrak etanol daun labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) pada *Mycobacterium smegmatis* menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki kategori aktivitas antibakteri yang sedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saya ingin menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat yang telah memberikan kepercayaan kepada saya sebagai penerima dana program penelitian tahun anggaran 2023 melalui Keputusan Kuasa Pengguna Anggaran Nomor 0536/E5/PG.02.00/2023 pada tanggal 30 Mei 2023.

REFERENSI

- Adytia, H., Destra, E., & Kinantya, N. F. 2022. Program Intervensi Dalam Upaya Penurunan Kasus Baru Tuberkulosis Paru Di Wilayah Kerja Puskesmas Teluknaga. *Jurnal Medika Hutama*, 3(02 Januari), 2341-2347.
- Dal Molin, M., Gut, M., Rominski, A., Haldimann, K., Becker, K., & Sander, P. 2018. Molecular mechanisms of intrinsic streptomycin resistance in *Mycobacterium abscessus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(1), e01427-17.
- Diantara, L. B., Hasyim, H., Septeria, I. P., Sari, D. T., Wahyuni, G. T., & Anliyanita, R. 2022. Tuberkulosis Masalah Kesehatan Dunia: Tinjauan Literatur. *Jurnal'Aisyiyah Medika*, 7(2).
- Idola, D. 2017. Potensi Antituberkulosis Tanaman Obat dari Indonesia terhadap *Mycobacterium smegmatis* JCM6386^T (Doctoral dissertation, Bogor Agricultural University (IPB)).
- Indiani, S., Lukmayani, Y., & Syafnir, L. 2021. Studi Literatur Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun dan Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Prosiding Farmasi*, 205-211.
- Nurjanah, S.; Sari, R. P. 2015. Studi Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Ekstrak Aktif Antibakteri Buah Labu Siam (*Sechium edule* Swartz). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 18(3), 67-72.
- Puspitasari, A. D., & Proyogo, L. S. 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Cendekia Eksakta*, 2(1).
- Ranjitha, J., Rajan, A., & Shankar, V. 2020. Features of the biochemistry of *Mycobacterium smegmatis*, as a possible model for *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Infection and Public Health*, 13(9), 1255-1264.
- Rosid, S. A., Pestariati, P., & Anggraini, A. D. 2020. Uji Efek Antibakteri Perasaan Buah Labu Siam (*Sechium edule*) Terhadap Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Analisis Kesehatan Sains*, 9(2).
- Sambou CN. 2023. Buku Ajar Farmakologi Bahan Alam. CV Mitra Ilmu ; Hal.23-24.
- Sambow S. 2023. Uji aktivitas antimikobakterium dari spons laut aaptos aaptos [Skripsi]. Tomohon : Prodi Farmasi FMIPA UKIT.
- Sumilat, D. A. 2019. Antibacterial Activity ODS Fractions of Marine Sponge *Auletta* sp. against *Mycobacterium smegmatis*. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7(1), 329-334.
- Susanty, S., & Bachmid, F. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays L.*). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87-92.
- Watung, C. J., Sambou, C. N., Kanter, J. W., & Palandi, R. R. 2023. Testing the Effectiveness of Ethanol Extract from Chayote Leaves (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) as a Healer for Incision Wounds in White Rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(3), 916–922. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i3.168>
- Wei, W., Qiao, J., Jiang, X., Cai, L., Hu, X., He, J., & Cui, T. 2022. Dehydroquinate Synthase Directly Binds to Streptomycin and Regulates Susceptibility of *Mycobacterium bovis* to Streptomycin in a Non-canonical Mode. *Frontiers in Microbiology*, 13.