

Aktivitas Antibakteri *Moringa oleifera* Lam. Terhadap Bakteri Patogen Resisten Antibiotik

Herlina Rante, Burhanuddin Taebe, Cahyani Purnasari, Christiana Lethe

Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Kampus UNHAS Tamalanrea, Makassar-Sulawesi Selatan

Artikel info

Diterima : 03 Juni 2017
Direvisi : 10 Juni
Disetujui : 30 Juni 2017

Kata kunci

Moringa oleifera Lam.
Antimikroba
KLT-bioatografi

Keyword

Moringa oleifera Lam.
Antimicrobial
TLC-bioautography

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antimikroba ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan metode difusi agar yang dilanjutkan dengan KLT-bioautografi. Daun *M. oleifera* dimaserasi menggunakan etanol 70% dan dibuat beberapa konsentrasi: 50; 100; 150; dan 200 mg/mL. Aktivitas antimikroba diujikan terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap antibiotik metode difusi agar (medium *Mueller Hinton Agar*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun *M. oleifera* mulai aktif menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* secara berturut-turut pada konsentrasi 100 mg/mL (d= 6,80 mm) dan 50 mg/mL (d= 9,20 mm). Identifikasi golongan senyawa dengan KLT menunjukkan ekstrak etanol daun *M. oleifera* mengandung senyawa aktif golongan alkaloid, steroid, terpen, fenolik, dan flavanoid, dan noda golongan terpenoid yang aktif secara KLT-Bioautografi.

ABSTRACT

A research on the antimicrobial activity of *Moringa (Moringa oleifera* Lam.) leaves extract by disk diffusion method then continued to TLC-bioautography has been done. *Moringa* leaves macerated using ethanol 70%. The antimicrobial activities were tested to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* which was resistant to antibiotics (*Mueller Hinton Agar*) by agar diffusion method. The results showed that *M. oleifera* leaves extract began to inhibit the growth of *S. aureus* and *E. coli* at 100 mg/mL (d= 6.80 mm) and 50 mg/mL (9.20 mm). Identification of common compounds by TLC showed the extract contain alkaloids, steroids, terpenes, phenolics, and flavonoids, and only terpenoid active in TLC-bioautography.

Koresponden author

Herlina Rante
Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Kampus UNHAS Tamalanrea, Makassar-Sulawesi Selatan

PENDAHULUAN

Antibiotik dan obat kemoterapi telah berhasil dalam mengendalikan banyak infeksi, tetapi penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan tidak sesuai akan menghasilkan mikroorganisme yang resisten dan meningkatkan prevalensi mikroba patogen resisten-antibiotik. Hal ini mengakibatkan resistensi antibakteri menjadi masalah global (Vinoth dan Balamurugau, 2012).

Resistensi bakteri terhadap agen antimikroba dianggap sebagai akibat dari tiga mekanisme umum; 1) obat tidak mencapai targetnya, 2) obat menjadi tidak aktif, atau 3) target telah berubah. Salah satu mekanisme dari resistensi, inaktivasi obat yang dilakukan bakteri resisten, seperti resistensi bakteri terhadap aminoglikosida dan antibiotik β -laktam (Brunton dan Laurence, 2006).

Strategi untuk memperbaiki situasi saat ini meliputi penelitian dalam menemukan antibakteri baru dan inovatif. Tes farmakologis telah dilakukan kepada sekitar 20% dari tanaman yang ditemukan di dunia, dan sejumlah besar antibiotik baru yang diperkenalkan di pasaran diperoleh dari bahan alam atau semi-sintetik. Di negara-negara berkembang, karena biaya yang efisien, sebagian besar penduduk memanfaatkan tanaman obat untuk pengobatan penyakit menular (Vinoth dan Balamurugau, 2012).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.) suku Moringaceae telah menjadi objek banyak penelitian karena berbagai kegunaannya dan terkenal dengan potensi bakterisida. Menurut Vinoth et al., pohon *M. oleifera* merupakan tanaman asli dari daerah Timur Laut India. Tanaman ini kaya akan nutrisi dan, terlepas dari berbagai aplikasi industri dan obat, digunakan untuk memurnikan air untuk konsumsi manusia. Menurut Pusker et al., *M. oleifera* penting dalam perekonomian dengan memproduksi beberapa komoditas, seperti minyak, makanan, bumbu, dan obat. Daun *M. oleifera* dapat menjadi sumber vitamin dan mineral yang baik seperti provitamin A, vitamin B, dan vitamin C, serta unsur makro dan mikro yang memadai, serta asam amino (Viera et al., 2010, Fahey et al., 2005).

Berbagai bagian dari tanaman ini seperti daun, akar, biji, kulit batang, buah, bunga dan biji yang muda memiliki khasiat sebagai stimulan jantung dan sirkulasi, antitumor, antipiretik, antiepileptik, antiinflamasi, antiulser, antispasmodik, diuretik, antihipertensi, menurunkan kolesterol, antioksidan, antidiabetik, hepatoprotektif, antibakteri dan antifungi. Pada akhir tahun 1940-an dan awal tahun 1950-an ditemukan sebuah senyawa yang disebut pterigospermin, suatu senyawa yang dilaporkan memiliki sifat antimikroba. Selain pterigospermin, ditemukan pula senyawa 4 (α -L-rhamnopyranosiloksi) benzil-isotiosiat dan 4 (α -L-rhamnosiloksi) benzil-isotiosiat yang menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu sintesis membran sel atau sintesis enzim esensial (Bukar, et al., 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Singh (2011) menunjukkan bahwa ekstrak daun *M. oleifera* mampu menghambat beberapa jenis bakteri seperti *Streptococcus* sp, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus mirabilis*, dan jamur

Aspergillus flavus. Namun belum dilakukan uji aktivitas antibakteri dari ekstrak daun *M. oleifera* terhadap bakteri yang resisten terhadap antibiotik, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian terhadap efek antibakteri ekstrak daun *M. oleifera* terhadap bakteri yang telah mengalami resistensi.

Berdasarkan uraian di atas maka telah dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun *M. oleifera* dalam menghambat atau membunuh bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang telah resisten terhadap beberapa jenis antibiotik.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi Sampel

Serbuk daun *M. oleifera* kering sebanyak 250 g dimaserasi dengan 1500 mL etanol 70%, sesekali diaduk dan dibiarkan selama 72 jam. Ekstrak disaring dan filtrat dipisahkan dengan menggunakan rotary evaporator dan setelahnya sisa pelarut diuapkan hingga kering.

Penyiapan Uji Aktivitas Antimikroba

Kertas cakram dengan diameter (d) 6 mm dibuat dari kertas saring Whatman No 1. Cakram kertas yang telah dibuat disterilkan dalam oven pada suhu 121°C selama 15 menit. Dibuat beberapa konsentrasi larutan: 50; 100; 150 and 200 mg/mL. Pemilihan konsentrasi ini didasarkan pada penelitian oleh Doughari et al. (2007) yang menunjukkan daya hambat dimulai dari konsentrasi 20 mg/mL.

Uji Aktivitas Antimikroba

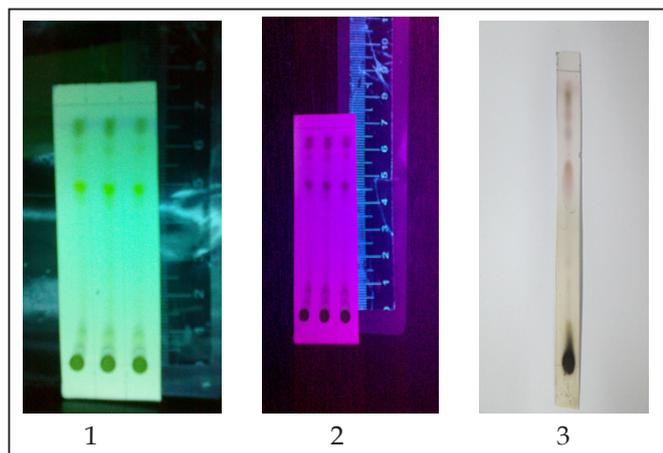
Uji aktivitas antibakteri ini menggunakan metode difusi Kirby-Bauer dengan menggunakan medium Muller Hinton Agar (MHA) yang sebelumnya telah disemaikan suspensi bakteri. Secara aseptik, kertas cakram yang telah mengandung ekstrak diaplikasikan ke atas medium uji. Sebagai kontrol, digunakan cakram kertas yang dicelupkan ke dalam etanol 70% dan dibiarkan kering. Medium tersebut lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, dilakukan pengamatan terhadap zona jernih yang terbentuk dan diukur diameternya dengan jangka sorong. Sampel yang mempunyai potensi menghasilkan zat antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona jernih.

Uji KLT-Bioautografi

Noda pada kromatogram lempeng KLT silica gel GF-254 divisualisasikan dengan reagen uji identifikasi, diletakkan pada permukaan media NA yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Kemudian didiamkan dalam lemari es selama 1 jam. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam. Setelah itu diamati adanya zona hambat pertumbuhan mikroba pada media.

Identifikasi Komponen Kimia

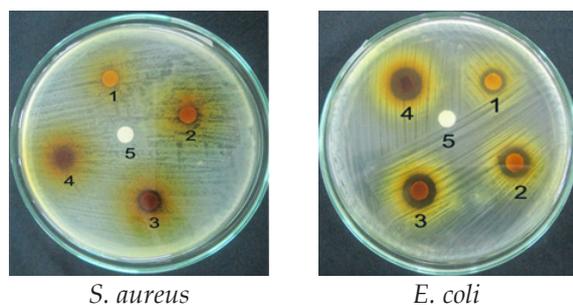
Pereaksi Lieberman-Burchard disemprotkan pada kromatogram lalu dipanaskan. Setelah dipanaskan tampak noda yang berwarna merah menunjukkan adanya senyawa terpen dan noda berwarna hijau-biru atau ungu menunjukkan senyawa steroid. Pereaksi Wagner tampak berwarna coklat yang menunjukkan senyawa alkaloid. Pereaksi FeCl₃ tampak berwarna biru-hitam atau hijau-biru untuk senyawa tannin, dan noda berwarna hijau-hitam menunjukkan senyawa fenolik. Pereaksi AlCl₃ tampak berwarna kuning pucat



Gambar 1. Profil KLT ekstrak etanol daun *M. oleifera* yang dielus dengan fase gerak kloroform : etilasetat (2:1) pada lempeng silika gel GF-254.

Keterangan:

1. Penampak UV 254 nm
2. Penampak UV 366 nm
3. Setelah disemprot H_2SO_4



Gambar 2. Profil hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun *M. oleifera*

Keterangan :

1. 50 mg/mL ekstrak
2. 100 mg/mL ekstrak
3. 150 mg/mL ekstrak
4. 200 mg/mL ekstrak
5. Kontrol pelarut

untuk senyawa flavanoid. Pereaksi Asam sitroborat menunjukkan noda yang tampak kuning berpendar pada UV 366 nm untuk senyawa flavanoid. Untuk uji reaksi Salkowski digunakan 5 mL ekstrak ditambahkan dengan 2 mL kloroform lalu di teteskan dengan H_2SO_4 secukupnya. Terbentuknya lapisan berwarna merah-kecoklatan menunjukkan ekstrak tersebut positif mengandung senyawa golongan terpenoid (Gupta *et al.*, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan rendamen

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi daun *M. oleifera* dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Metode maserasi digunakan karena sampel daun yang tidak tahan pemanasan, serta pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Dalam penelitian ini diperoleh ekstrak etanol sebesar 92,53 g (rendamen 18,51 %).

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi dengan menggunakan etanol 70% sebagai larutan pengestraksi. Hasil ekstraksi daun *M. oleifera* 500 g diperoleh ekstrak kental sebesar 92,53 g (rendamen 18,51%). Hasil ekstraksi tersebut dilarutkan dengan etanol dibuat profil secara KLT. Pembuatan profil KLT menggunakan eluen kloroform : etil asetat (2:1) (Gambar 1).

Uji Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba terhadap ekstrak etanol daun *M. oleifera* menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram yang mengandung ekstrak. Kemampuan ekstrak untuk menghambat pertumbuhan bakteri meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Konsentrasi tertinggi 200 mg/mL, memiliki diameter zona hambat yang paling luas dari kedua bakteri uji, yaitu 9,15 mm untuk *S. aureus* dan 11,85 untuk *E. coli*. Hasil uji aktivitas antimikroba tersebut dapat diasumsikan bahwa ekstrak dari daun *M. oleifera* bersifat antibakteri (Tabel 1).

Beberapa penelitian sebelumnya menyimpulkan ekstrak etanol dari daun, biji serta tangkai daun *M. oleifera* menunjukkan potensi aktivitas antimikroba terhadap bakteri gram positif dan gram negatif, serta fungi (Abalaka *et al.*, 2012).

Berdasarkan hasil pengukuran diameter zona hambat (Gambar 2) menunjukkan kemampuan ekstrak untuk menghambat pertumbuhan bakteri meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Diketahui bahwa aktivitas antibakteri terbesar didapat pada konsentrasi tertinggi 200 mg/mL, dengan diameter zona hambat yang paling besar terhadap kedua bakteri uji, yaitu 9,15 mm untuk *S. aureus* dan 11,85 mm untuk *E. coli*.

Uji KLT-Bioautografi

Hasil uji KLT-Bioautografi dari ekstrak etanol daun *M. oleifera* memperlihatkan adanya noda yang aktif. Uji KLT-Bioautografi dilakukan untuk mendeteksi zat yang mempengaruhi tingkat pertumbuhan organisme uji dalam ekstrak yang kompleks serta untuk mendeteksi golongan senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba. Pengujian dilakukan menggunakan metode kontak dengan eluen kloroform : etilasetat (2:1) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Hasil KLT-bioautografi didapatkan satu noda yang menunjukkan aktivitas antibakteri. Nilai Rf dari noda tersebut adalah 0,6857 (Gambar 1).

Identifikasi Komponen Kimia

Berdasarkan warna yang ditunjukkan pada setiap pereaksi maka ekstrak etanol daun *M. oleifera* diduga mengandung senyawa golongan alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik, dan flavanoid. Noda di lempeng KLT yang menunjukkan aktivitas antibakteri menunjukkan reaksi dengan reagen Liebermann-Burchard dengan menghasilkan warna merah kecoklatan. Hal tersebut menunjukkan bahwa noda tersebut mengandung senyawa dari golongan terpenoid. Pada penelitian sebelumnya, kandungan senyawa dari ekstrak daun *M. oleifera* sedikit berbeda dengan yang didapatkan dari penelitian ini, seperti dari penelitian oleh Sachan (2011)

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun *M. oleifera*

Kadar (mg/mL)	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
50	6,08	9,20
100	6,85	10,62
150	8,22	11,15
200	9,15	11,85
Kontrol pelarut	-	-

Tabel 2. Hasil uji identifikasi komponen kimia umum

Pereaksi	Ekstrak etanol	Golongan senyawa
Wagner	Coklat	Alkaloid
Lieberman-Burchard	Hijau-biru	Steroid
Lieberman-Burchard	Merah-Coklat	Terpenoid
FeCl ₃	Hijau-hitam	Fenolik
AlCl ₃	Kuning pucat	Flavanoid
Asam sitroborat	Kuning pendar	Flavanoid

tidak terdapat senyawa steroid dan terpenoid, tetapi mengandung senyawa saponin. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan habitat tanaman dan metode ekstraksi akan mempengaruhi kandungan dari ekstrak yang dihasilkan. Oleh karena itu dilakukan uji untuk mengetahui keberadaan senyawa golongan terpenoid dalam ekstrak etanol dengan menggunakan uji Salkowski. Hasil uji ini menunjukkan adanya lapisan berwarna merah-kecoklatan yang menunjukkan bahwa ekstrak mengandung senyawa golongan terpenoid.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa (1) Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) aktif terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotik dengan diameter zona hambat 9,15 mm untuk *S. aureus* dan 11,85 untuk *E. coli* pada konsentrasi 200 mg/mL; dan (2) Hasil uji KLT-Bioautografi dari ekstrak etanol daun kelor menunjukkan aktivitas antibakteri pada Rf 0,6857 yang diduga mengandung senyawa terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Abalaka, ME. Daniyan, SY. Oyeleke, SB. Adeyemo, SO. *The Antibacterial Evaluation of Moringa Oleifera Leaf Extracts on Selected Bacterial Pathogens*. In *Journal of Microbiology Research*. 2012
- Brunton, Laurence L., *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics 11th Edition*. New York: McGraw Hill. 2006
- Bukar, A., Uba A., Oyeyi, T.I., *Antimicrobial Profile of Moringa oleifera Lam. Extracts Against Some Food-Borne Microorganisms*. In *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, Vol 3. 2010. Hal 43-44
- Fahey, J. W. *Moringa oleifera: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties*. In *Trees for Life Journal*. 2005
- Pushker, AK., Kaushik, S., Lakhanpaul, S., Sharma, K.K., dan Ramani, R. *Preliminary Phytochemical Investigation on the Bark of Some of the Important Host Plants of Kerria lacca-The Indian Lac Insect*. In *Botany Research International*. 2011
- Sachan, D., et al., *in vitro and in vivo Efficacy of Moringa oleifera Plant Constituents in Urolithiasis as Antilithiatic Drugs*. In *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research Vol 2*. 2011
- Singh, G.P., dan Sharma, S.K. *Antimicrobial Evaluation of Leaf Extract of Moringa Oleifera Lam*. In *International Research Journal of Pharmacy*. 2012
- Vieira, G.H., Mourao, J.A., Angelo, AM., Costa RH., Viera, RH., *Antibacterial effect (in vitro) of Moringa oleifera and Annona muricata against gram positive and gram negative bacteria*. In *Inst. Med. Trop Sao Paulo*. 2010. hal 129
- Vinoth, B., and Balamurugan, S., *Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of Moringa oleifera LAM*. In *International Journal of Research in Biological Sciences*. 2012. Hal 98-99