

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MORINGA LEAVES EXTRACT AGAINST *Pseudomonas aeruginosa*

Erma Yunita, Dheanissa Galuh Permatasari, Deni Lestari

Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta
Jalan Veteran Gang Jambu, Kebrokan, Pandeyan, Umbulharjo, Yogyakarta

Korespondensi: Erma Yunita (ermayunita@afi.ac.id)

ARTICLE HISTORY

|Received: 31 May 2020

|Revised: 14 August 2020

|Accepted: 18 August 2020

Abstract

Moringa leaves are a plant that has many health benefits. Some of them mention that Moringa leaves have antibacterial activity. This study aims to determine the antibacterial activity of *Moringa oleifera* Lam leaf extract against *P. aeruginosa* bacteria. The test group consisted of 5 groups variations in the concentration of Moringa leaf extract 2%, 4%, 6%, 8%, and 10%, a positive control group, and negative control. An antibacterial activity test was carried out using the wells diffusion method. Incubation was carried out at 37°C for 24 hours. Observations are made by measuring the diameter of the inhibition zone. The results of the antibacterial activity test of Moringa leaf extract against *P. aeruginosa* bacteria showed an inhibition zone at a concentration of $\geq 4\%$. The highest inhibition zone value was obtained at a concentration of 10% with an average inhibition zone diameter of 19.60 ± 0.67 mm. The results of phytochemical screening showed that Moringa leaf extract contained flavonoids, saponins, terpenoids and tannins. Based on the results obtained, it can be concluded that Moringa leaf extract has antibacterial activity against *P. aeruginosa* bacteria..

Key words: Antibacterial, *Moringa oleifera*, *Pseudomonas aeruginosa*

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN KELOR TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa*

Abstrak

Daun kelor merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat dibidang kesehatan. Beberapa diantaranya menyebutkan bahwa daun kelor memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Kelompok uji terdiri dari 5 kelompok perlakuan variasi konsentrasi ekstrak daun kelor 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%, kelompok kontrol positif, dan kontrol negatif. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara metode difusi sumuran. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor terhadap bakteri *P. aeruginosa* menunjukkan adanya zona hambat pada konsentrasi $\geq 4\%$. Nilai zona hambat tertinggi diperoleh pada konsentrasi 10% dengan rata-rata diameter zona hambat $19,60 \pm 0,67$ mm. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor mengandung flavonoid, saponin, terpenoid dan tanin. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *P.*

aeruginosa. Zona hambat yang terbentuk semakin besar seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak.

Kata kunci: Antibakteri, *Moringa oleifera*, *Pseudomonas aeruginosa*

Pendahuluan

Penggunaan tanaman obat sebagai bahan alami untuk penyembuhan infeksi semakin banyak dipilih oleh masyarakat karena efek sampingnya relatif kecil¹. Tanaman yang dapat digunakan sebagai obat dan banyak dibudidayakan di Indonesia, adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam)². Daun kelor mengandung berbagai zat kimia yang bermanfaat. Hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa ekstrak daun kelor memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escheria coli* yang resisten terhadap antibiotik^{3,4}.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi pada luka bakar, infeksi telinga dan luka setelah operasi⁵ (Rahmadani, 2015). Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri patogen oportunistik yang dapat menyebabkan keadaan yang invasif pada pasien dengan penyakit kritis maupun pasien yang memiliki tingkat imunitas yang sangat rendah⁶. Umumnya bakteri ini sering ditemukan sebagai penyebab infeksi nosokomial di Rumah Sakit. Penelitian yang dilakukan di Rumah Sakit Moewardi Surakarta diketahui bahwa bakteri penyebab infeksi nosokomial yaitu *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, dan *Proteus sp.*⁷. Bakteri *P. aeruginosa* yang diuji termasuk dalam kriteria yang resisten terhadap antibiotika amoksisilin, eritromisin, serta kloramfenikol, namun masih memiliki kriteria sensitif terhadap antibiotika siprofloksasin⁶.

Berdasarkan uraian yang telah dipaparkan, maka perlu dilakukan uji aktivitas daun kelor sebagai alternatif antibakteri berbasis bahan alam terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan gambaran dalam pengembangan antibakteri dengan memanfaatkan daun kelor sebagai bahan aktif.

Metode

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan petri disposable (Labware), timbangan digital (Icis 3000 series), autoklaf, spider, borer, konikal (onemed), jarum ose, pinset, bunsen, incubator (Memert), Encase, Hot Plate, mikropipet (Sciloget Smart Gen-Net), jangka sorong, alat-alat gelas (Iwaki) seperti beaker, erlenmeyer, tabung reaksi dan kaca arloji.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kelor yang diperoleh dari penelitian Fatimah pada tahun 2019⁸, isolat bakteri *P. aeruginosa* ATTC 27853 yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Yogyakarta, Nutrient Agar (Oxoid), Siprofloksasin (PT. Quantum Labs), akuades steril (PT. IKA Pharmindo), gelatin serta bahan kimia seperti n-heksan, HCl, NaCl, etanol, serbuk Mg, reagen Dragendroff, dan reagen Liebermann-Burchard.

Prosedur

1. Uji Penapisan Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Ekstrak daun kelor ditambahkan 100 mL air, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 0,5 g ditambahkan serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah-jingga pada filtrat⁹.

b. Uji Saponin

Ekstrak daun kelor ditambahkan 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil selama 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin⁹.

c. Uji Steroid dan Terpenoid

Ekstrak dilarutkan dalam heksan, dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Fase terlarut heksan dipisahkan dan ditambahkan reagen Liebermann-Burchard. Adanya steroid akan membentuk lapisan cincin warna biru atau hijau, sedangkan terpenoid memberikan warna merah atau ungu⁹.

d. Uji Alkaloid

Sampel sebanyak 3 mL diletakkan dalam cawan porselin kemudian ditambahkan 5 mL HCl 2 M, diaduk dan kemudian didinginkan pada temperatur ruang. Setelah dingin ditambahkan 0,5 g NaCl lalu dilakukan pengadukan dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCl 2M sebanyak 3 tetes, lalu ditambahkan reagen Dragendorff. Terbentuknya endapan jingga pada tabung menunjukkan adanya alkaloid⁹.

e. Uji Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan dengan sedikit larutan gelatin dan 5 mL NaCl 10%. Reaksi positif apabila terbentuk endapan kekuningan⁹.

2. Uji Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Sumuran

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. aeruginosa* dilakukan dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA). Stok media yang telah siap kembali dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Langkah selanjutnya adalah pembuatan suspensi bakteri uji dengan mengambil satu ose bakteri murni kemudian ditanamkan dalam NA yang langsung diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Suspensi bakteri dibuat dengan membandingkan kekeruhan menggunakan standar Mc. Farland 0,5. Selanjutnya, pembuatan media uji dan pembuatan sumuran yang dilakukan secara *pour plate*. Media NA yang sudah dingin dan suspensi bakteri uji sebanyak 20 µL ditambahkan secara bersamaan, kemudian media NA dibiarkan hingga memadat, selanjutnya dibuat sumuran menggunakan *borrer* 6 mm. Langkah berikutnya menambahkan ekstrak daun kelor sebanyak 20 µL/sumuran pada lubang sumuran dengan konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% serta kontrol positif siproflksasin 5µg/sumuran dan kontrol pelarut etanol 70% sebanyak 20 µL/sumuran. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam¹⁰. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat menggunakan jangka sorong. Diameter hambat adalah besarnya diameter pengukuran dikurangi diameter sumuran¹¹.

Hasil

1. Hasil Uji Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia terhadap ekstrak daun kelor meliputi pemeriksaan flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, alkaloid, dan tannin. Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak daun kelor tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Kelor

Pengujian	Pereaksi	Hasil Uji	Keterangan
Flavonoid	HCl pekat + Logam Mg	Larutan merah tua	Positif
Saponin	Uji busa	Terbentuk busa	Positif
Steroid	Liebermann-Burchard	Larutan berwarna coklat	Negatif
Terpenoid	Liebermann-Burchard	Larutan berwarna coklat kemerahan	Positif
Alkaloid	Dragendorff	Endapan jingga	Positif
Tanin	NaCl 2% + Gelatin 1%	Terbentuk endapan	Positif

Hasil uji pada Tabel I menunjukkan bahwa dalam ekstrak etanol daun kelor terkandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid dan tanin.

2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kelor

Aktivitas antibakteri daun kelor terhadap *P. aeruginosa* dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk setelah diinkubasi selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor Terhadap Bakteri *P. aeruginosa*

Kelompok Uji	Diameter Zona Hambat (mm) X ± SD	Kategori*
EDK 2%	0±0	-
EDK 4%	13,93±0,14	Resisten
EDK 6%	13,68±0,38	Resisten
EDK 8%	18,60±0,66	Intermediet
EDK 10%	19,60±0,67	Intermediet
Kontrol Positif	27,01±0,80	Sensitif
Kontrol Pelarut	0±0	-

Keterangan:

- EDK : Ekstrak Daun Kelor
- Tanda (-) : Tidak terbentuk zona hambat
- Kontrol Positif : Siprofloksasin 5 µg
- Kontrol Pelarut : Etanol 70%
- *kategori berdasarkan CLSI 2012

Hasil diameter zona hambat yang diperoleh dibandingkan dengan standar perfoma antibiotik siprofloksasin dari *Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) 2012*¹², dimana interpretasi daya hambat dikategorikan berdasarkan besaran nilai diameter zona hambat. Nilai zona hambat ≤15 mm dikategorikan resisten, zona hambat 16-20 mm dikategorikan intermediet dan zona hambat ≥21 mm dikategorikan sensitif¹².

Pembahasan

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa kimia pada ekstrak daun kelor. Dilakukan enam uji yaitu uji flavonoid, saponin, steroid, terpenoid, alkaloid, dan tannin. Hasil penapisan fitokimia ekstrak daun kelor ditampilkan pada Tabel I. Ekstrak didapatkan melalui maserasi menggunakan pelarut etanol 70%⁸. Pemilihan metode ekstraksi dapat mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat tersari¹³. Berdasarkan uji penapisan fitokimia yang sudah

dilakukan, diketahui bahwa dalam ekstrak etanol daun kelor terkandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, terpenoid dan tannin. Penelitian lainnya menyebutkan jika kandungan fitokimia dalam daun kelor diantaranya tanin, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, antarquion, dan alkaloid serta mengandung mineral, asam amino esensial, antioksidan, dan vitamin¹⁴.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor dilakukan dengan metode difusi sumuran menggunakan bakteri *P. aeruginosa*. Kelompok uji antibakteri terdiri dari 5 kelompok perlakuan ekstrak daun kelor dengan variasi konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8% dan 10%, kontrol positif siprofloksasin, kontrol pelarut etanol 70%. Jumlah volum larutan uji yang dimasukkan dalam tiap sumuran adalah 20 µL. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam¹⁰. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor dapat dilihat pada Tabel II. Kelebihan metode difusi sumuran yaitu lebih mudah mengukur zona hambat yang terbentuk dikarenakan sampel beraktivitas tidak hanya dipermukaan atas NA tetapi juga sampai ke bawah¹⁵. Metode ini juga dapat menghasilkan zona hambat yang lebih baik karena adanya daya osmolaritas pada lubang sumuran¹⁶. Berdasarkan data pada Tabel II dapat diketahui bahwa ekstrak daun kelor responsif terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

Penggunaan siprofloksasin sebagai kontrol positif didasarkan sensitivitas antibiotik tersebut terhadap bakteri *P. aeruginosa*^{6,12}. Kontrol positif siprofloksasin menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang ditandai dengan adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan diameter zona hambat rata-rata 27,01±0,80 mm. Kepekaan antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri *P. aeruginosa* dapat diinterpretasikan sensitif¹². Etanol 70% yang digunakan sebagai kontrol pelarut menunjukkan tidak adanya aktivitas antibakteri, ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *P. aeruginosa* pada konsentrasi ≥4%, sedangkan pada konsentrasi 2% tidak menunjukkan adanya zona hambat (Tabel II). Hal ini menggambarkan bahwa pada konsentrasi 2%, ekstrak daun kelor belum memberikan efek sebagai antibakteri. Nilai diameter zona hambat ekstrak daun kelor yang dihasilkan pada penelitian ini hanya pada rentang 13,68-19,60 mm, dimana interpretasi masih berada pada kategori resisten-intermediet¹². Hal ini terjadi karena konsentrasi tertinggi ekstrak daun kelor yang digunakan pada penelitian ini masih cukup kecil. Kenaikan zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun kelor memberikan gambaran bahwa konsentrasi yang lebih tinggi lagi memungkinkan untuk menghasilkan zona hambat yang lebih tinggi.

Kemampuan daya aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor terhadap bakteri *P. aeruginosa* dikarenakan adanya kandungan kimia dalam ekstrak daun kelor. Senyawa flavonoid dan tanin diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif maupun Gram negatif¹⁷. Daun kelor yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol dapat menarik sebagian besar senyawa aktif yang berada di daun kelor tersebut, sehingga ekstrak dapat menghambat bakteri yang sedang mengalami pertumbuhan. Hal ini dapat terjadi karena senyawa metabolit sekunder yang ada di daun kelor seperti flavonoid, alkaloid dan senyawa fenolik lainnya¹⁸.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri aeruginosa *P. aeruginosa* pada konsentrasi $\geq 4\%$. Kemampuan daya aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor dikarenakan adanya kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan terpenoid.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta yang telah mendanai penelitian ini dalam program Hibah Penelitian Dosen Anggaran Tahun 2020.

Daftar Pustaka

1. Faradiba A, Gunadi A, Praharani D. Daya Antibakteri Infusa Daun Asam Jawa terhadap *Streptococcus mutans*. *Pustaka Kesehatan*. 2016;4(1);55-60. <https://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/view/2496>
2. Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. Moringa oleifera: A food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research*. 2007;21(1);17-25. <https://doi.org/10.1002/ptr.2023>
3. Dima LLRH, Fatimawali, Widya AL. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 2006;5(2);282-289.
4. Purnasari, Cahyani. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap Bakteri Patogen Resisten Antibiotik [Skripsi]. Makassar: Program Universitas Hasanuddin; 2013.
5. Rahmadani, Fitri. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah; 2015.
6. Putri AA, Rasyid R, Rahmatini R. Perbedaan Sensitivitas Kuman *Pseudomonas aeruginosa* Penyebab Infeksi Nosokomial Terhadap Beberapa Antibiotika Generik dan Paten. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2014;3(3);327-331. <https://doi.org/10.25077/jka.v3i3.112>
7. Raihani, Nadia. Profil Kultur dan Uji Sensitivitas Bakteri Aerob dari Infeksi Luka Operasi Laparatomi di Bangsal Bedah RSUP DR. M. Djamil Padang [Artikel]. Padang: Program Pascasarjana Universitas Andalas; 2011.
8. Fatimah, Siti. Validasi Metode Analisis dan Penetapan Kadar Kuersetin Daun Kelor (*Moringa oleifera*) [Karya Tulis Ilmiah]. Yogyakarta : Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta; 2019.
9. Harborne, J B. 1996. Metode Fitokimia. Edisi kedua. ITB: Bandung.
10. Budiana SM, Kojong NS, Wewengkang DS. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Dan Biji Tanaman Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia Coli* Secara In-Vitro. *Pharmacon*. 2015;4(4);214-223.
11. Jagessar RC, Mohamed A, Gomes G. An Evaluation of the Antibacterial AND antifungal Activity of Leaf Extract of *Momordica charantia* Against *Candida*

- albicans, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nature and Science*. 2008;6(1); 1-14.
12. CLSI. Performance Standars for Antimicrobial Susceptybility Testing; Twenty-Second Infromational Supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2012.
 13. Muchsin, I. Perbandingan Metode Pembuatan Ekstrak Daun *Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg Secara Maserasi dan Infundasi Berdasarkan Kadar Flavonoid Total [Disertasi]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta; 2014.
 14. Hardianti, F. Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oliefera*) Dalam Sediaan Hand and Body Cream [Skripsi]. Jakarta: Program Studi Kimia UIN Syarif Hidayatullah; 2015.
 15. Haryati SD, Darmawati S, Wilson W. Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat: Implementasi Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Untuk Peningkatan Kekayaan Intelektual*. 2017:348-352.
 16. Prayoga, Eko. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) dengan Metode Difusi Disk dan Metode Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* [Tesis]. Jakarta: Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah; 2013.
 17. Yuliana SR, Leman MA, Anindita PS. Uji Daya Hambat Senyawa Saponin Batang Pisang (*Musa paradisiaca*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *e-GiGi*, 2015;3(2); 616-620. <https://doi.org/10.35790/eg.3.2.2015.10486>
 18. Pandey A, Pandey RD, Tripathi P, Gupta PP, Haider J, Bhatt S, Singh AV. 2012. *Moringaoleifera* Lam. (Sahijan) – A plant with a plethora of diverse therapeutic benefits: an update retrospection. *Medicinal and Aromatic Plants*. 2012;1(1);1-8. <http://dx.doi.org/10.4172/map.1000101>