



Aktivitas dan Analisis KLT Bioautografi Golongan Senyawa Aktif Antimikroba Fraksi Korteks Kelor (*Moringa Oleifera*)

Asrul Ismail¹ Haeria Doloking^{1*}, Hurria²

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.

Jl.H.M Yasin Limpo, No.36 Romang Polong, Gowa, Sulawesi Selatan, 92118, Indonesia.

²Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Palopo

Jl. Jenderal Sudirman No.Km. 03, Binturu, Kec. Wara Sel., Kota Palopo, Sulawesi Selatan 91922

*Corresponding author: haeria.doloking@uin-alauddin.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan: *Moringa oleifera* merupakan salah satu tanaman dari genus *Moringa* yang mempunyai banyak manfaat karena mengandung banyak senyawa bioaktif sehingga sering digunakan sebagai obat tradisional. Adapun tujuan penelitian ini untuk mengetahui daya hambat antimikroba fraksi dari ekstrak korteks kelor terhadap beberapa mikroba patogen yaitu *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeureginosa*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera* dan *Candida albicans*. **Metode:** Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi bertingkat sesuai dengan tingkat kepolaran yaitu n-heksan, etil asetat dan etanol 70% kemudian dilakukan skrining aktivitas ekstrak hingga diketahui jika ekstrak etil asetat yang mempunyai aktivitas antimikroba tertinggi sehingga dilakukan fraksinasi. Hasil fraksinasi kemudian diperoleh fraksi I, II, III dan IV yang diuji kembali aktivitas antimikrobanya dengan masing-masing konsentrasi yaitu 1000, 750, 500, dan 250 µg/mL. **Hasil:** Fraksi III memiliki aktivitas tertinggi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* dan *Vibrio cholera*. **Kesimpulan:** Dari hasil analisis KLT Bioautografi diperoleh adanya 3 spot zona bening yang diketahui jika golongan senyawa yang aktif sebagai antibakteri pada fraksi III yaitu triterpen, flavonoid dan alkaloid.

Kata kunci: Flavonoid, alkaloid, terpenoid, *Moringa oleifera*

PENDAHULUAN

Resistensi bakteri terhadap senyawa antibiotik semakin meningkat dalam tiga decade terakhir. Secara umum, bakteri memiliki kemampuan genetik untuk menularkan dan memiliki resistensi terhadap obat. Fakta ini memprihatinkan, karena banyaknya pasien yang mengalami penurunan imunitas karena berkembangnya strain bakteri baru yang multi-resisten. Akibatnya, penyakit infeksi semakin banyak terjadi sehingga mengakibatkan angka kematian yang tinggi (Nascimento et al., 2000).

Masalah resistensi mikroba semakin meningkat dari tahun ke tahun dan prospek penggunaan obat antimikroba di masa depan masih belum pasti. Oleh karena itu, perlu dilakukan tindakan untuk mengurangi masalah ini, misalnya dengan mengendalikan penggunaan antibiotik, mengembangkan penelitian untuk lebih memahami mekanisme resistensi genetik, dan melanjutkan penelitian untuk mengembangkan obat baru, baik sintesis maupun alami. Tujuan utamanya adalah untuk menawarkan obat antimikroba yang tepat dan efisien kepada pasien.

Penggunaan tanaman obat dalam mengendalikan penyakit telah didokumentasikan sepanjang sejarah manusia. Secara tradisional, berbagai bagian tanaman (daun, batang, kulit kayu, akar, buah) telah digunakan untuk mengobati, mencegah, dan mengendalikan beberapa penyakit (Oteng Mintah et al., 2019). Senyawa aktif dengan aktivitas antimikroba telah diidentifikasi dari tanaman sejauh ini untuk mengembangkan obat baru yang

menjanjikan. Dibandingkan dengan obat sintetik, antibiotik dari tumbuhan dinilai lebih aman karena berasal dari alam. Tumbuhan kaya akan berbagai metabolit sekunder seperti tanin, lignin, karotenoid, flavonoid, alkaloid, terpen, kumarin, kuinon dan lignan yang dapat memberikan aktivitas antimikroba (Chanda et al., 2011; Jeyaseelan et al., 2012; Keita et al., 2022; Savoia, 2012; Srikacha & Ratananikom, 2020).

Di Indonesia, banyak tanaman yang telah digunakan sebagai obat selama berabad-abad. Tanaman tersebut mudah didapat, murah, dan aman, menjadikannya semakin populer dan cocok untuk keperluan farmasi. Salah satu diantaranya adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera*). Kulit batang kelor diaporkan mengandung beberapa senyawa bioaktif diantaranya steroid/triterpenoid, flavonoid, alkaloid, fenolik dan tannin (Ikalinus et al., 2015). Senyawa tersebut memiliki potensi untuk dikembangkan dan dimanfaatkan sebagai antimikroba sebagai upaya untuk mengatasi kasus resistensi terhadap antimikroba saat ini. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menyaring aktivitas antimikroba dari kulit batang kelor terhadap berbagai mikroba patogen dan mengidentifikasi golongan fitokimia yang terkandung di dalamnya.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah aquadest, air steril, dimetil Sulfoksida (DMSO), etanol 70%, etil asetat, H₂SO₄ 10%, lempeng silica gel 60 GF₂₅₄, medium Nutrient Agar, medium Potato Dekstrosa Agar, korteks kelor (*Moringa oleifera*), silica gel, Reagen AlCl₃ 5%, Reagen FeCl₃ 5%, Reagen Dragendorff, Reagen KOH etanolik dan Reagen Liebermann-Burchard.

Alat

Alat yang digunakan adalah alat maserasi, autoklaf (*Hirayama*), cawan petri, cawan porselin, chamber (*Lamag*), erlenmeyer (*Pyrex®Iwaki*) gelas ukur 5 ml, 10 ml, dan 50 ml (*Pyrex®Iwaki*), gelas kimia (*Pyrex®Iwaki*), inkubator (*Memmert*), kompor, lampu spiritus, lampu UV 254 nm dan 366 nm, Laminary Air Flow (LAF), lemari pendingin (*Modena*), mikropipet 1-10, 10-100, 100-1000 µl (*Socorex*), ose bulat, ose lurus, oven (*Memmert*), penangas air, rotary evaporator (*Heidolph*), spoit, tabung reaksi, timbangan analitik, waterbath, vial, vortex mixer dan wadah untuk maserasi ekstrak.

Metode

1. Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Korteks kelor Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian korteks dari tanaman kelor (*Moringa oleifera*) yang diperoleh dari Desa Babang, Kecamatan Larompong, Kabupaten Luwu. Korteks diambil dari tanaman yang sehat dan segar yang ditunjukkan dengan tidak adanya kerusakan pada bentuknya. Korteks diambil dari batang utama dari cabang, dikelupas dengan panjang dan lebar tertentu dengan cara berselang-seling dan sebelum jaringan kambiumnya. Sampel korteks kelor (*Moringa oleifera*) yang telah diperoleh dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan cara dicuci dengan air mengalir kemudian dirajang kecil-kecil lalu dimasukkan dalam lemari pengering selama beberapa hari kemudian diserbukkan dan siap untuk diekstraksi.

2. Ekstraksi secara Maserasi Bertingkat

Ditimbang serbuk sampel korteks kelor (*Moringa oleifera*) sebanyak 1 kg, dimasukkan ke dalam wadah maserasi dan ditambahkan pelarut n-heksan sehingga terendam seluruhnya, wadah maserasi ditutup rapat dan disimpan selama 3x24 jam di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Selanjutnya dipisahkan antara ampas dan filtrat dengan cara disaring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipisahkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental n-heksan. Ampas kemudian diekstraksi kembali menggunakan pelarut etil asetat kemudian disaring dan dipisahkan ampas, kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% dengan prosedur yang sama hingga diperoleh pula ekstrak kental etil asetat dan etanol 70%.

3. Pengujian Aktivitas Antimikroba

Masing-masing sebanyak 20 µl mikroba uji ditambahkan 10 ml pada medium NA untuk bakteri dan PDA untuk jamur. Campuran dibuat dalam botol coklat lalu dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptik dengan digoyang-goyangkan agar merata dan dibiarkan memadat. Larutan stok yang telah dibuat masing-

masing diteteskan diatas paper disk kemudian diletakkan di atas medium yang telah diinokulasi bakteri, selanjutnya diinkubasi bakteri pada suhu 37°C selama 1x24 jam untuk bakteri dan untuk jamur pada suhu kamar selama 3x24 jam. Kemudian diamati zona hambat yang terbentuk hingga diketahui ekstrak yang aktif sebagai antimikroba. Pada pengujian ini ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70% menunjukkan adanya aktivitas antimikroba. Ekstrak etil asetat dilanjutkan ke tahap fraksinasi.

4. Fraksinasi dan Uji Aktivitas Antimikroba

Ditimbang sebanyak 2 g ekstrak etil asetat dan ditambahkan silika sebanyak 7 g yang ditambahkan sedikit demi sedikit sehingga bubuk silika mengering seperti serbuk. Ditimbang lagi sebanyak 13 g silika, dimasukkan dan dimampatkan pada senter glass. Dimasukkan pula silika dan serbuk ekstrak yang sebelumnya telah dicampurkan ke dalam gelas kromatografi cair vakum (KCV) dan dimampatkan kemudian di elusi dengan eluen yang pertama kali digunakan. Cairan pengelusi dibuat dengan gradient kepolaran yang meningkat berdasarkan profil KLT yaitu n-heksan:etil asetat (16:1), (12:1), (8:1), (4:1), (1:1), (1:4), (1:8), etil asetat, etanol:metanol (8:1), (4:1), (1:1) dan metanol. Fraksi-fraksi kemudian dilihat profil KLT-nya dan digabung berdasarkan jarak noda dan warna noda yang mirip hingga diperoleh fraksi I, II,III dan IV. Uji aktivitas antimikroba dilakukan sesuai prosedur pengujian ekstrak.

5. Analisis KLT -Bioautografi

Sebanyak 20 µl mikroba uji ditambahkan 10 ml medium NA untuk bakteri. Campuran dibuat dalam botol coklat lalu dituangkan ke dalam cawan petri secara aseptis dengan digoyang-goyangkan agar merata dan dibiarkan memadat. Lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan di atas permukaan media agar yang telah memadat. Setelah 30 menit lempeng diangkat dan dipindahkan dari medium. Selanjutnya diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C pada suhu kamar. Amati zona hambat yang terbentuk.

6. Identifikasi Senyawa Kimia

Fraksi ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan eluen yang sama sesuai dengan profil KLT yang telah diperoleh. Diamati kromatogramnya kemudian disemprot dengan menggunakan pereaksi penampakan noda, diantaranya.

- Pereaksi H₂SO₄ 10%, Kromatogram dipanaskan pada 105°C hingga nampak perubahan warna dan diamati. Kebanyakan senyawa organik memberikan warna kuning, coklat, hitam.
- Pereaksi Dragendorf, akan dihasilkan warna jingga dengan latar belakang kuning untuk senyawa golongan alkaloida.
- Pereaksi FeCl₃ 5%, akan dihasilkan warna biru atau hijau untuk senyawa golongan fenol.
- Pereaksi Liebermann-Burchardat, Kromatogram terlebih dahulu dipanaskan, kemudian diamati di lampu UV 366 nm, munculnya noda berfluoresensi coklat atau biru menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid.
- Pereaksi AlCl₃ 5%, diamati di lampu UV 366 nm akan dihasilkan noda berfluoresensi kuning untuk senyawa golongan flavanoid
- Pereaksi KOH etanolik, jika sampel positif mengandung senyawa kumarin maka akan dihasilkan warna merah terang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi korteks kelor (*Moringa oleifera*) sebanyak 1 kg dengan metode maserasi bertingkat dengan tiga pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Rendemen ekstrak yang diperoleh dari maserasi bertingkat

Sampel	Pelarut	Berat Ekstrak	% Rendemen
Korteks kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	n-Heksan	7.9381 gram	0.79 %
	Etil asetat	8.3474 gram	0.83 %
	Etanol 70%	11.9560 gram	1.19 %

Pengujian dilakukan terhadap mikroba uji diantaranya *Eschericia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeureginosa*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholera* dan *Candida albicans*, dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 2. Hasil skrining aktivitas antimikroba korteks *Moringa oleifera*

No.	Pelarut	Diameter (mm)	Mikroba Uji								
			EC	PA	VC	ST	SA	SE	SM	BS	CA
1.	Heksan	1	8	6.5	-	7	-	-	-	6.5	-
		2	8	6.5	-	7	-	-	-	7	-
		3	7	7	-	7	-	-	-	6.5	-
		rata-rata	7.6	6.6	-	7	-	-	-	6.6	-
2.	Etil asetat	1	10	8	10	9	8	10	7	7	6.5
		2	9	8	8	9	8	9	6.5	6.5	6.5
		3	9	7	9	9	8	9	6.5	6.5	6.5
		rata-rata	9.3	7.6	9	9	8	9.3	6.6	6.6	6.5
3.	Etanol 70%	1	7	8	6.5	8	7	7	7	6.5	6.5
		2	8	9	7	8	7	8	7	6.5	7
		3	7	8	7.5	7	6	8	7	6.5	6.5
		rata-rata	7.3	8.3	7	7.6	6.6	7.6	7	6.5	6.6

Keterangan:

EC = *Escherichia coli*

PA = *Pseudomonas aeruginosa*

BS = *Bacillus subtilis*

ST = *Salmonella thypi*

SA = *Staphylococcus aureus*

SE = *Staphylococcus epidermidis*

SM = *Streptococcus mutans*

VC = *Vibrio cholerae*

CA = *Candida albicans*

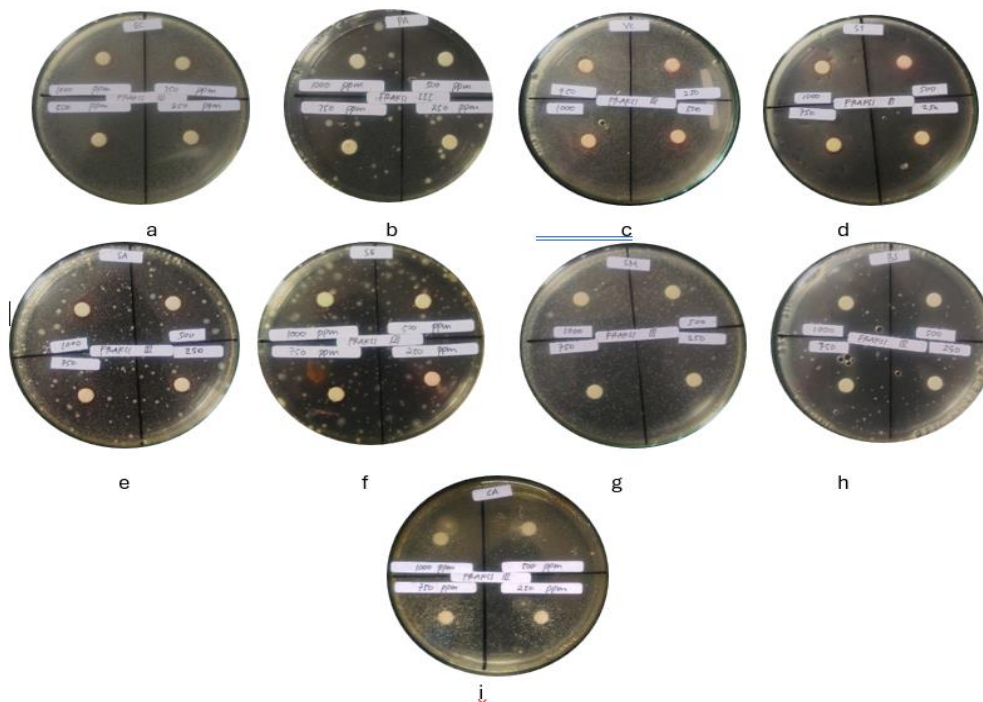
Ekstrak etil asetat korteks kelor difraksinasi dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum untuk memisahkan komponen-komponen kimia ekstrak. Fraksinasi dilakukan dengan fase gerak dari pelarut yang kurang polar ke pelarut yang lebih polar berdasarkan profil KLT yang telah diperoleh sebelumnya yaitu n-heksan: etil asetat (4:1). Diantaranya yaitu n-heksan: etil asetat (16:1), (12:1), (8:1), (4:1), (1:1), (1:4), (1:8), etil asetat, etanol: metanol (8:1), (4:1), (1:1) dan metanol, sehingga diperoleh 12 fraksi. Fraksi-fraksi yang diperoleh kemudian digabung berdasarkan profil KLT yang sama dilihat dari nilai Rf noda yang nampak pada lampu UV 254 nm dan 366 nm yang dielusi dengan eluen heksan: etil (4:1) hingga diperoleh hasil 4 fraksi.

Tabel 3: Profil KLT fraksi etil asetat korteks *Moringa oleifera* (Silika gel F₂₅₄, eluen n-heksan:etil asetat (4:1))

Fraksi gabungan	Fraksi	Eluen	Bercak	Penampak Bercak Noda				Bobot (gram)
				UV 254 mm		UV 366 mm		
				Rf	Warna	Rf	Warna	
I	A	n-heksan: Etil asetat (16:1)	1	0.9	Cokelat	0.9	Biru	0.844
			2	0.8	Cokelat	0.8	Biru	
			3	0.6	Cokelat	0.6	Biru	
			4	0.6	Cokelat	0.6	Biru	
			5	0.5	Cokelat	0.5	Biru	
	B	n-heksan: Etil asetat (12:1)	1	0.9	Cokelat	0.8	Biru	0.773
			2	0.8	Cokelat	0.8	Biru	
			3	0.6	Cokelat	0.6	Biru	
			4	0.6	Cokelat	0.6	Biru	
			5	0.5	Cokelat	0.5	Biru	
	C	n-heksan: Etil asetat (8:1)	1	0.9	Cokelat	0.9	Biru	0.640
			2	0.8	Cokelat	0.8	Biru	
			3	0.6	Cokelat	0.6	Biru	
			4	0.6	Cokelat	0.6	Biru	
			5	0.5	Cokelat	0.5	Biru	
II	D	N-heksan: Etil asetat (4:1)	1	0.8	Cokelat	0.8	Ungu	0.601
			2	0.6	Cokelat	0.6	Ungu	
			3	0.6	Cokelat	0.6	Ungu	
			4	0.5	Cokelat	0.5	Merah	

			5	0.4	Cokelat	0.42	Jingga				
				0.4	Cokelat	0.4	Jingga				
E	n-heksan: Etil asetat (1:1)	1	1	0.8	Cokelat	0.8	Ungu	0.729			
		2	2	0.6	Cokelat	0.6	Ungu				
		3	3	0.6	Cokelat	0.6	Ungu				
		4	4	0.5	Cokelat	0.5	Merah				
		5	5	0.4	Cokelat	0.4	Jingga				
				0.4	Cokelat	0.4	Jingga				
III	F	n-heksan: Etil asetat (1:4)	1	1	0.6	Cokelat	0.6	Ungu	0.768		
			2	2	0.5	Cokelat	0.5	Biru			
			3	3	0.4	Cokelat	0.4	Jingga			
			4	4	0.3	Cokelat	0.3	Jingga			
G	n-heksan: Etil asetat (1:8)	1	1	0.6	Cokelat	0.6	Ungu	0.659			
		2	2	0.5	Cokelat	0.5	Biru				
		3	3	0.4	Cokelat	0.4	Jingga				
		4	4	0.3	Cokelat	0.3	Jingga				
H	Etil asetat	1	1	0.6	Cokelat	0.6	Ungu	0.702			
		2	2	0.5	Cokelat	0.5	Biru				
		3	3	0.4	Cokelat	0.4	Jingga				
		4	4	0.3	Cokelat	0.3	Jingga				
IV	I	Etil asetat: Metanol (8:1)	1	1	0.3	Cokelat	0.3	Ungu	0.198		
			2	2	0.2	Cokelat	0.2	Ungu			
J	Etil asetat: Metanol (4:1)	1	1	0.3	Cokelat	0.3	Ungu	0.133			
		2	2	0.2	Cokelat	0.2	Ungu				
K	Etil asetat: Metanol (1:1)	1	1	0.3	Cokelat	0.3	Ungu	0.091			
		2	2	0.2	Cokelat	0.2	Ungu				
I	Metanol	1	1	0.3	Cokelat	0.3	Ungu	0.014			
		2	2	0.2	Cokelat	0.2	Ungu				

Dari hasil pengujian diketahui jika fraksi III yang memiliki aktivitas antimikroba tertinggi dimana mampu menghambat 5 mikroba uji dibandingkan fraksi lainnya. Pengujian daya hambat dari fraksi III dapat dilihat pada gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Uji aktivitas antimikroba dari fraksi III. a. *E. coli*; b. *P.aeruginosa*; c. *V.cholerae*; d. *S. typhi*; e. *S.aureus*; f. *S.epidermidis*; g.*S.mutans*; h. *B.subtilis*, dan i; *C. albicans*

Tabel 4. hasil pengujian aktivitas antimikroba hasil fraksinasi

Fraksi	Konsentrasi (µg/mL)	Mikroba uji (mm)								
		EC	PA	BS	ST	SA	SE	SM	VC	CA
Fraksi I	1000	7.3	-	-	-	-	-	-	-	-
	750	6.7	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	250	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fraksi II	1000	11	-	-	8.3	-	9.3	-	7.3	-
	750	8.6	-	-	8	-	8.6	-	7.3	-
	500	8.6	-	-	7.3	-	8.3	-	7	-
	250	8.3	-	-	7	-	8	-	6.8	-
Fraksi III	1000	11.3	-	-	10	9.6	11.3	-	7.6	-
	750	10.3	-	-	9.3	8.6	10.3	-	7	-
	500	10	-	-	7.3	7.6	9.3	-	6.8	-
	250	9.6	-	-	6.6	7.3	8.3	-	6.5	-
Fraksi IV	1000	9	-	-	7.3	-	-	-	7.6	-
	750	7.6	-	-	-	-	-	-	7.3	-
	500	8.6	-	-	-	-	-	-	-	-
	250	7	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan:

EC = *Escherichia coli*

PA = *Pseudomonas aeruginosa*

BS = *Bacillus subtilis*

ST = *Salmonella typhi*

SA = *Staphylococcus aureus*

SE = *Staphylococcus epidermidis*

SM = *Streptococcus mutans*

VC = *Vibrio cholerae*

CA = *Candida albicans*

Lempeng kromatogram fraksi III kemudian diuji aktivitas antibakterinya dengan metode KLT-Bioautografi kontak pada 5 mikroba uji yang peka yaitu diantaranya *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* dan *Streptococcus epidermidis*. Dari hasil pengujian diperoleh adanya 3 spot zona bening yang terbentuk yang selanjutnya diukur masing-masing nilai Rf nya untuk mengetahui golongan senyawa apa yang memiliki aktivitas antibakteri pada fraksi III.

Tabel 5. Hasil uji klt bioautografi fraksi iii

Bakteri	Nilai Rf Spot Zona hambat
<i>Escherichia coli</i>	0.50
	0.58
	0.66
<i>Salmonella typhi</i>	0.50
	0.58
	0.66
<i>Vibrio cholera</i>	0.50
	0.58
	0.66
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.50
	0.58
	0.66
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0.50
	0.58
	0.66

Lempeng kromatogram fraksi kemudian diidentifikasi komponen golongan senyawanya menggunakan beberapa pereaksi semprot yaitu H₂SO₄ 10%, dragendorf, Lieberman-burchard, besi (III) klorida, aluminium klorida dan KOH Etanolik.

Tabel 6. Hasil uji identifikasi golongan senyawa

Pereaksi	Golongan Senyawa	Ket.	Nilai Rf
Dragendorf	Alkaloid	+	0.58
Besi (III) klorida	Fenolik	-	-
Lieberman-burchard	Steroid/Triterpenoid	+	0.50
Alumunium klorida	Flavanoid	+	0.66
KOH etanolik	Khumarin	-	-

Ekstrak etil asetat diketahui memiliki aktivitas antimikroba terbaik sehingga dilakukan fraksinasi dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV). Proses fraksinasi bertujuan untuk menyederhanakan komponen senyawa dalam ekstrak etil asetat. Dalam proses penyederhanaan ini, ekstrak akan terpisahkan oleh pelarut berdasarkan perbedaan kepolarannya. Fraksinasi dilakukan menggunakan eluen yang kepolarannya dari yang rendah ke tingkat kepolaran yang tinggi untuk memisahkan komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak etil asetat. Hasil fraksi diperoleh 12 fraksi yang kemudian dielusi dengan eluen yang diperoleh sebagai profil KLT ekstrak yaitu heksan: etil asetat (4:1) kemudian diamati penampakan noda pada kromatogram di lampu UV 254 nm dan 366 nm. Kromatogram yang memiliki nilai Rf dan warna noda yang sama kemudian digabung hingga didapatkan 4 fraksi gabungan yaitu Fraksi I, II, III dan IV.

Selanjutnya fraksi yang telah digabung kemudian di uji aktivitas antimikrobanya untuk mengetahui fraksi teraktif dari ekstrak etil asetat korteks kelor (*Moringa oleifera*) pada ke 9 mikroba uji pada konsentrasi yang berbeda yaitu 1000, 750, 500 dan 250 µg/mL. Hingga diperoleh jika fraksi yang paling aktif yaitu fraksi III yang ditandai dengan diameter zona bening tertinggi pada medium agar. Hal ini menunjukkan jika senyawa antibakteri dari ekstrak etil asetat korteks kelor (*Moringa oleifera*) lebih banyak terdapat pada fraksi III dibandingkan pada fraksi lainnya, yaitu mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus epidermidis* dan *vibrio cholera*.

Menurut Davis dan Stout (1971), ketentuan antibakteri adalah sebagai berikut; daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah (Davis & Stout, 1971). Jadi dapat dikatakan bahwa korteks kelor (*Moringa oleifera*) memiliki daya hambat yang kuat pada bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*, dan daya hambat sedang pada bakteri *Vibrio cholera* dan *Staphylococcus epidermidis*.

Identifikasi senyawa aktif antibakteri dilakukan dengan metode KLT-bioautografi. Metode ini didasarkan pada difusi agar dimana senyawa antibakteri akan berdifusi dari lapisan lempeng kromatogram ke medium agar yang masing-masing telah diinokulasikan dengan bakteri uji yang peka yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Vibrio cholera*. Senyawa antibakteri yang telah berdifusi dari lempeng kromatogram ke dalam media agar akan menghambat pertumbuhan bakteri dan membentuk zona bening pada medium agar setelah diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Dari hasil penelitian terbentuk tiga zona yang berdempetan pada bagian tengah kromatogram. Untuk mengetahui senyawa yang berperan sebagai antibakteri tersebut maka dilakukan uji identifikasi golongan senyawa.

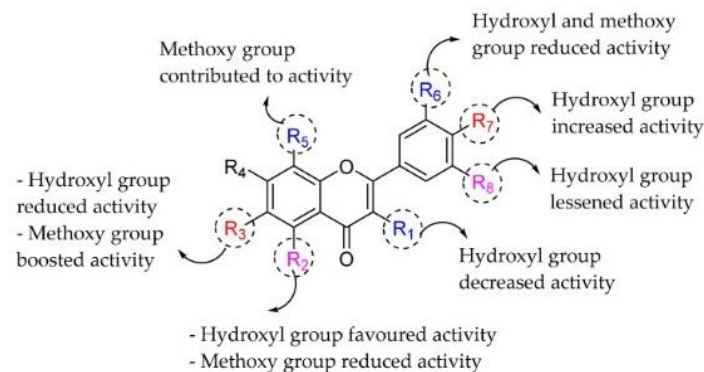
Selanjutnya dilakukan identifikasi golongan senyawa dengan bantuan pereaksi penampak bercak. Penampak bercak disini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa apa yang terdapat dalam kromatogram hasil elusi KLT yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri dengan cara melihat perubahan warna dari bercak noda pada kromatogram. Penampak bercak H₂SO₄ menghasilkan warna coklat kehitaman pada kromatogram yang menandakan positif mengandung senyawa organik. Pereaksi dragendorf memberikan warna jingga dengan latar belakang kuning sehingga positif mengandung alkaloid. Pereaksi FeCl₃ 5% tidak menunjukkan warna biru atau hijau sehingga negatif untuk senyawa golongan fenol. Pereaksi Lieberman-Burchard memberikan hasil positif untuk golongan senyawa triterpen yang ditandai dengan noda berwarna coklat pada lampu UV 366. Pereaksi AlCl₃ 5% juga memberikan hasil positif untuk senyawa golongan flavonoid yang ditandai dengan noda berfluorosensi kuning pada lampu UV 366 nm. Pereaksi KOH etanolik menunjukkan hasil negatif terhadap senyawa golongan khumarin. Dari hasil pengujian identifikasi senyawa, dapat diketahui jika senyawa yang berperan sebagai antibakteri pada KLT Bioautografi yaitu triterpenoid, alkaloid dan flavonoid.

Griffin dkk. (1999) melaporkan dalam penelitiannya bahwa sebagian besar terpenoid mampu menghambat dua proses penting yang penting untuk kelangsungan hidup mikroba, yaitu penyerapan oksigen dan fosforilasi

oksidatif. Mikroba aerob memerlukan oksigen untuk menghasilkan energi untuk pertumbuhannya (Griffin et al., 1999). Sebelumnya, terbukti bahwa konsentrasi oksigen yang rendah menyebabkan keterbatasan laju respirasi bakteri (Shaw & Ingraham, 1967). Sedangkan fosforilasi oksidatif adalah proses biokimia penting yang bertanggung jawab untuk respirasi sel yang terjadi di membran sitoplasma. Dengan demikian, interaksi terpen menyebabkan perubahan respirasi sel yang kemudian menyebabkan terputusnya fosforilasi oksidatif pada mikroba (Zengin & Baysal, 2014). Selain itu, karbonilasi terpenoid diyakini meningkatkan aktivitas bakteriostatik namun belum tentu aktivitas bakterisida (Mahizan et al., 2019). Sebuah kajian sistematis melaporkan bahwa senyawa terpen bekerja sebagai inhibitor pompa efflux bakteri. Selanjutnya dikatakan bahwa strain bakteri Gram-positif mungkin lebih rentan terhadap aksi terpen, yang melibatkan penghambatan ekspresi gen atau interaksi dengan tempat pengikatan protein penghabisan yang berhubungan dengan membran (Dias et al., 2022).

Alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri melalui berbagai mekanisme, termasuk penghambatan asam nukleat dan sintesis protein (Larghi et al., 2015) bakteri, modifikasi permeabilitas membran sel bakteri, kerusakan membran sel dan dinding sel (Li et al., 2014), dan penghambatan metabolisme (Yan et al., 2021). Sebuah kajian literatur melaporkan bahwa senyawa alkaloid berperan sebagai antibakteri melalui mekanisme penghambatan pompa efflux bakteri (Cushnie et al., 2014)

Senyawa flavonoid dikenal sebagai antimikroba melalui berbagai mekanisme kerja seperti penghambatan sintesis asam nukleat, penghambatan fungsi membrane sitoplasma dan penghambatan metabolisme energi (Cushnie & Lamb, 2005). Flavonoid juga telah dilaporkan sebagai penghambat topoisomerase yang signifikan, yang berkontribusi terhadap aktivitas antimikroba. Misalnya, DNA girase merupakan enzim penting untuk replikasi DNA dan eksklusif untuk prokariota, sehingga menjadikannya target yang menarik untuk obat antibakteri (Plaper et al., 2003). Sebuah studi melaporkan bahwa flavonoid berikatan dengan subunit B girase dan penyumbatan kantong pengikat ATP melalui pembentukan ikatan hidrogen melalui gugus 5, 7, dan 3' -OH ke residu asam amino DNA girase (Shamsudin et al., 2022).



Gambar 2. Hubungan struktur-aktivitas flavonoid sebagai agen antibakteri dengan menghambat aktivitas DNA girase (Shamsudin et al., 2022)

KESIMPULAN

Dari hasil pengujian diketahui ekstrak etil asetat korteks kelor (*Moringa oleifera*) yang mempunyai aktivitas antimikroba tertinggi yaitu fraksi III pada bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Vibrio cholera*. Fraksi III korteks kelor (*Moringa oleifera*) mengandung komponen kimia flavanoid, alkaloid, dan terpenoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Chanda, S., Rakholiya, K., & Nair, R. (2011). Antimicrobial Activity of *Terminalia catappa* L. Leaf Extracts against Some Clinically Important Pathogenic Microbial Strains. *Chinese Medicine*, 02(04), 171–177. <https://doi.org/10.4236/cm.2011.24027>
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B., & Lamb, A. J. (2014). Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 44, Issue 5, pp. 377–386). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 26, Issue 5, pp. 343–356). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay I. Factors Influencing Variability and Error1. In *APPLIED MICROBIOLOGY*.
- Dias, K. J. S. D. O., Miranda, G. M., Bessa, J. R., Araújo, A. C. J. De, Freitas, P. R., Almeida, R. S. De, Paulo, C. L. R., Neto, J. B. D. A., Coutinho, H. D. M., & Ribeiro-Filho, J. (2022). Terpenes as bacterial efflux pump inhibitors: A systematic review. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.953982>
- Griffin, S. G., Wyllie, S. G., Markham, J. L., & Leach, D. N. (1999). The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity { . *FLAVOUR AND FRAGRANCE JOURNAL*.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Luh, N., & Setiasih, E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Jeyaseelan, E. C., Jenothiny, S., Pathmanathan, M. K., & Jeyadevan, J. P. (2012). Antibacterial activity of sequentially extracted organic solvent extracts of fruits, flowers and leaves of *Lawsonia inermis* L. from Jaffna. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10), 798–802. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60232-9](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60232-9)
- Keita, K., Darkoh, C., & Okafor, F. (2022). Secondary plant metabolites as potent drug candidates against antimicrobial-resistant pathogens. In *SN Applied Sciences* (Vol. 4, Issue 8). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/s42452-022-05084-y>
- Larghi, E. L., Bracca, A. B. J., Aguilar, A. A. A., Heredia, D. A., Pergomet, J. L., Simonetti, S. O., & Kaufman, T. S. (2015). Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.ae Neocryptolepine: A Promising Indoloisoquinoline Alkaloid with Interesting Biological Activity. Evaluation of the Drug and its Most Relevant Analogs. In *Current Topics in Medicinal Chemistry* (Vol. 15).
- Li, N., Tan, S. N., Cui, J., Guo, N., Wang, W., Zu, Y. G., Jin, S., Xu, X. X., Liu, Q., & Fu, Y. J. (2014). PA-1, a novel synthesized pyrrolizidine alkaloid, inhibits the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by damaging the cell membrane. *Journal of Antibiotics*, 67(10), 689–696. <https://doi.org/10.1038/ja.2014.49>
- Mahizan, N. A., Yang, S. K., Moo, C. L., Song, A. A. L., Chong, C. M., Chong, C. W., Abushelaibi, A., Erin Lim, S. H., & Lai, K. S. (2019). Terpene derivatives as a potential agent against antimicrobial resistance (AMR) pathogens. In *Molecules* (Vol. 24, Issue 14). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules24142631>

- Nascimento, G. G. F., Locatelli, J., Freitas, P. C., & Silva, G. L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*.
- Oteng Mintah, S., Asafo-Agyei, T., Archer, M.-A., Atta-Adjei Junior, P., Boamah, D., Kumadoh, D., Appiah, A., Ocloo, A., Duah Boakye, Y., & Agyare, C. (2019). Medicinal Plants for Treatment of Prevalent Diseases. In *Pharmacognosy - Medicinal Plants*. Intechopen. www.intechopen.com
- Plaper, A., Golob, M., Hafner, I., Oblak, M., Šolmajer, T., & Jerala, R. (2003). Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 306(2), 530–536. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(03\)01006-4](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(03)01006-4)
- Savoia, D. (2012). Plant-derived antimicrobial compounds: Alternatives to antibiotics. In *Future Microbiology* (Vol. 7, Issue 8, pp. 979–990). <https://doi.org/10.2217/fmb.12.68>
- Shamsudin, N. F., Ahmed, Q. U., Mahmood, S., Shah, S. A. A., Khatib, A., Mukhtar, S., Alsharif, M. A., Parveen, H., & Zakaria, Z. A. (2022). Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study: A Comparative Interpretation. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27041149>
- Shaw, M. K., & Ingraham, J. L. (1967). Synthesis of Macromolecules by Escherichia coli near the Minimal Temperature for Growth. In *JOURNAL OF BACTERIOLOGY*.
- Srikacha, N., & Ratananikom, K. (2020). Antibacterial activity of plant extracts in different solvents against pathogenic bacteria: An in vitro experiment. *Journal of Acute Disease*, 9(5), 223. <https://doi.org/10.4103/2221-6189.291288>
- Yan, Y., Li, X., Zhang, C., Lv, L., Gao, B., & Li, M. (2021). *Review Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids: A Review*. <https://doi.org/10.3390/antibiotics>
- Zengin, H., & Baysal, A. H. (2014). Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. *Molecules*, 19(11), 17773–17798. <https://doi.org/10.3390/molecules191117773>