

ISOLASI SENYAWA FLAVONOID EKSTRAK BUNGA TUMBUHAN KELOR (*Moringa oleifera* L.) DAN UJI AKTIVITASNYA TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*

Mindawarnis ¹⁾, Nova Rizky Indrawati ²⁾

^{1.}Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Palembang

^{2.}Jurusan Farmasi Poltekkes Kemenkes Palembang

E-mail: nova.rizky28@gmail.com

ABSTRAK

Infeksi bakteri *E.coli* dapat mengakibatkan diare berdarah dan infeksi saluran kemih. Ekstrak dari bunga *Moringa oleifera* L. dapat menghambat beberapa bakteri salah satunya *E.coli*. Hal ini dikarenakan ekstrak bunga *Moringa* positif flavonoid. Penelitian ini bersifat deskriptif. Isolasi senyawa flavonoid bunga *Moringa* dilakukan dengan metode kromatografi kolom yang kemudian dimonitor menggunakan kromatografi lapis tipis. Senyawa murni flavonoid kemudian di uji aktivitasnya terhadap bakteri *E.coli* menggunakan metode difusi agar dengan media *Mueller Hinton Agar*. Hasil penelitian didapatkan rendemen hasil maserasi sebanyak 13,23592%. Hasil fraksinasi menunjukkan fraksi etil asetat dan air positif mengandung flavonoid golongan flavonon karena menunjukkan perubahan warna jingga kemerahan saat diuji dg HCl-Mg. Selanjutnya dilakukan proses kromatografi kolom menggunakan eluen B:A:A (3:1:1), kemudian hasilnya dimonitor dengan KLT dan didapatkan harga Rf (0,808; 0,812; 0,8; 0,792) untuk hasil kolom fraksi etil asetat dan Rf (0,589; 0,586; 0,517; 0,467) untuk hasil kolom fraksi aquadest. Uji aktivitas senyawa flavonoid semua bahan uji menunjukkan positif menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dengan daya hambat paling besar vial 13A sebesar 13,2 mm dan daya hambat paling kecil vial 15E sebesar 7,9mm.

Kata kunci : *Moringa oleifera* L.; Flavonoid; *Escherichia coli*

ABSTRACT

Bacterial infections of *E.coli* can cause bloody diarrhea and urinary tract infections. *Moringa oleifera* flower l. extract may inhibit some bacteria including *E.coli*. This is because the flower extract positive flavonoids. This research is descriptive. Flavonoid compounds from *Moringa* flower were isolated by column chromatography and then monitored using thin layer chromatography. Flavonoid pure compounds then tested for activity against *E.coli* bacteria using agar diffusion method with *Mueller Hinton Agar* media. The results obtained by maceration results yield as much as 13.23592%. The results of the fraction of ethyl acetate and water were positive for flavonon because it shows a reddish orange discoloration when tested with HCl-Mg. Next, do process chromatography column using eluen B:A: A (3:1:1) , then the result is monitored with TLC and the price obtained by the Rf (0.808; 0.8; 0.792 0.812;) for ethyl acetate fraction column results and Rf (0.589; 0.586; 0.517; 0.467) to aquadest fraction column results. Activity tests of all flavonoids compounds show positive inhibits the growth of bacteria *E.coli* with the largest inhibition of vial 13A of 13.2 mm and the smallest inhibition of vial 15E of 7.9mm.

Keywords: *Moringa oleifera* L.; Flavonoids; *Escherichia coli*

PENDAHULUAN

Infeksi adalah masuk dan berkembangnya agen infeksi ke dalam tubuh seseorang atau hewan. Kondisi infeksi disebabkan oleh adanya serangan dan perkembangbiakan mikroorganisme seperti bakteri, virus, dan parasit yang pada dasarnya tidak berasal dari dalam tubuh. Infeksi bisa terjadi pada satu area saja pada tubuh atau bisa menyebar melalui darah sehingga menjadi bersifat menyeluruh (Zulmiyusrini, 2015).

Salah satu bakteri penyebab infeksi adalah *Escherichia coli*. Bakteri *E.coli* merupakan bakteri yang pertumbuhan dan penyebarannya sangat cepat. Kebanyakan *E.coli* tidak berbahaya dan menjadi flora normal di usus manusia, tetapi beberapa, seperti *E.coli* tipe O157:H7, dapat mengakibatkan keracunan makanan yang serius hingga diare berdarah pada manusia. Penyakit yang paling sering disebabkan *E. coli* yaitu infeksi saluran kemih yaitu sebesar 90%, peritonitis akut yang disebabkan *E. coli* sebesar 50% , traveler's diarrhea yang merupakan diare pada orang yang bepergian memiliki angka kejadian sebesar 11-15%, selanjutnya meningitis yang sebesar 28,5%, selain itu ada pula pneumonia dan sepsis neonatus (Fitriana, 2013).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) dikenal sebagai *The Miracle Tree* atau pohon ajaib karena terbukti secara alamiah merupakan sumber gizi berkhasiat obat. Menurut penelitian Napoleon, dkk. (2009) ekstrak dari bunga tanaman dengan nama ilmiah

Moringa oleifera L. ini dapat menghambat beberapa bakteri seperti *Escherichia*

coli, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Proteus mirabilis*. Selain itu ekstrak bunga kelor juga memiliki aktivitas positif sebagai antijamur pada *Candida albicans*. Hal ini dikarenakan ekstrak bunga kelor positif

mengandung tannin, phlobatannin, saponin, flavonoid, steroid, dan glikosida.

Flavonoid merupakan zat antibakteri yang bekerja dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina, 2008).

Dari hasil penelitian Suteja, Rita, dan Gunawan (2016) senyawa flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak n-butanol daun trembesi (*Albizia saman* (Jacq.) Merr) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dengan daya hambat antara 5-10 mm. Selain itu isolat flavonoid yang terkandung dalam daun mangga terbukti lebih kuat dalam menghambat bakteri Gram negatif (*E.coli*) dibandingkan dengan bakteri Gram positif (*S.aureus*) (Suteja, 2016).

Penelitian mengenai tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) memang telah banyak dilakukan, namun sejauh ini belum ditemukan uji aktivitas antibakteri dari senyawa flavonoid yang telah diisolasi pada ekstrak bunga kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli*, maka dari itu peneliti ingin melakukan pemisahan

senyawa flavonoid, dan uji aktivitas antibakteri senyawa flavonoid ekstrak bunga kelor terhadap bakteri *Escherichia coli*.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif dengan mengisolasi dan mengukur diameter hambat senyawa flavonoid ekstrak bunga tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Alat dan Bahan

Gunting, seperangkat alat destilasi, mortir dan stamper, botol maserasi, neraca analitik, seperangkat alat rotary evaporator, pinset, corong pisah, seperangkat alat kromatografi kolom, vial, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, gelas ukur, autoclave, dry heat oven, corong kaca, lampu UV, kertas cakram, erlenmeyer, cawan petri, lampu spiritus, jarum ose, kapas, penggaris mm, kertas saring, tabung reaksi, pengaduk kaca, ekstrak bunga *Moringa oleifera* L., asam asetat glasial Pro Analisis, netanol Pro Analisis, plat KLT, N- Heksan Pro Analisis, silica gel for column chromatography, etil Asetat Pro Analisis, media Muller Hinton Agar (MHA), aquadest, HCl Pekat, biakan murni bakteri *E.coli*, logam Mg, N-butanol Pro Analisis, NaCl, cakram Ceftriaxone, larutan amonia.

Prosedur Kerja

Satu kilogram simplisia kering Bunga Kelor (*Moringa oleifera* L.)

diekstraksi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan 1:7,5 setiap kali maserasi, kemudian disaring dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat, dan aquadest sama banyak sebanyak tiga kali. Hasil partisi tiap pelarut diuji

flavonoidnya menggunakan HCl-Mg, setelahnya dilakukan uji eluen terbaik menggunakan campuran butanol: asam asetat : aquadest (BAA) dengan perbandingan 3:1:1, 4:1:5, dan (9:2:6). Hasil uji eluen dilihat menggunakan sinar UV₂₅₄ dan larutan penyempnot noda (amonia) untuk melihat pemisahan noda yang terbaik. Ekstrak yang positif mengandung flavonoid dilanjutkan ke proses pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Hasil kromatografi kolom kemudian dimonitor menggunakan KLT serta dihitung harga R_f nya. Vial hasil kromatografi kolom yang positif flavonoid dilanjutkan dengan pengujian aktivitas daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan kontrol positif berupa Ceftriaxone dan kontrol negatif eluan B:A:A.

HASIL DAN PEMBAHASAN**Ekstraksi, Uji Fitokimia, dan Isolasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Bunga Kelor**

Ekstraksi 1 kg simplisia kering bunga kelor menggunakan 15 liter metanol menghasilkan ekstrak kental sebanyak 132,3592 gram berwarna hijau tua kecoklatan dengan rendemen 13,23592%. Hasil partisi ketiga fraksi

didapatkan ekstrak kental fraksi n- Heksan 4,2695 gram yang berwarna hijau tua, fraksi Etil Asetat 29,0446 gram yang berwarna hijau tua kecoklatan, dan fraksi aquadest 31,8727 gram yang berwarna coklat kemerahan. Lalu dilakukan uji kandungan kimia flavonoid pada tiap hasil fra

Tabel 1. Uji Kandungan Senyawa Flavonoid \Hasil Fraksinasi

N o.	Fraksi	Senyawa Flavonoid	Warna	Keterangan Golongan
1	n- Heksan	-	Hijau Tua	
2	Etil Asetat	+	Jingga Kemerahan	flavonon
3	Aquadest/ Air	+	Merah jingga kecoklatan	Flavonon

Sukadana (2009) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa fraksi air paling kuat mengandung flavonoid ditandai dengan warna merah magenta. Hal ini sesuai dengan hasil fraksinasi aquadest bunga kelor yang juga mengandung flavonoid, ditandai dengan perubahan warna menjadi merah jingga kecoklatan. Sedangkan dalam penelitian Ritna,dkk (2016) didapatkan hasil fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid ditandaidengan

perubahan warna menjadi merah, sedangkan fraksi n-heksan negatif flavonoid, warnanya berubah menjadi hijau kehitaman. Hal ini sesuai dengan hasil uji perubahan reaksi warna fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat ekstrak bunga kelor seperti yang tertera pada tabel 1.

Berdasarkan hasil uji KLT, eluen perbandingan 3:1:1 dinyatakan paling baik karena memberikan pemisahan noda yang jelas. Fraksi Etil Asetat dan Aquadest selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi kolom menggunakan eluen B:A:A (3:1:1) sebagai fase gerak dan fase diam Silica Gel F₂₅₄ for column yang ditimbang sebanyak 20 kali berat ekstrak. Hasil kromatografi kolom fraksi etil asetat didapatkan 19 vial masing-masing 10 ml, sedangkan fraksi aquadest didapatkan hasil 21 vial masing-masing 10 ml.

Seluruh vial dari hasil kromatografi kolom selanjutnya dimonitor menggunakan KLT untuk melihat pola pengembangan noda yang dilihat menggunakan sinar UV₂₅₄ nm seperti pada tabel 2. Ternyata pada vial pertama hingga ketujuh belum terdapat noda yang naik pada kedua fraksi. Noda baru terlihat naik pada vial ke-8 hingga 15 pada fraksi etil asetat dan vial ke-8 hingga 14 pada fraksi aquadest.

Tabel 2. Harga Rf KLT hasil Kromatografi Kolom Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Aquadest

Fraksi Etil Asetat				Fraksi Aquadest			
No. Vial	Harga Rf	Warna	Jumlah Noda	No. Vial	Harga Rf	Warnna	Jumlah Noda
8	0,808	Kuning kecoklatan	1	8	0,589	Kuning terang	1
9	0,808	Kuning kecoklatan	1	9	0,586	Kuning muda	1
10	0,8	Kuning Muda	1	10	0,586	Kuning muda	1
11	0,812	Kuning keemasan	1	11	0,517	Kuning keemasan	1
12	0,812	Kuning keemasan	1	12	0,517	Kuning keemasan	1
13	0,8	Kuning Muda	1	13	0,467	Kuning terang	1
14	0,8	Kuning Muda	1	14	0,467	Kuning terang	1
15	0,792	Kuning Muda	1	-	-	-	-

Berdasarkan harga Rf hasil kromatografi kolom pada tabel 2 menunjukkan bahwa vial fraksi etil asetat dan fraksi aquadest memiliki noda Rf yang berbeda-beda dan menunjukkan noda tunggal yang menyatakan bahwa senyawa hasil

kromatografi kolom relatif murni. Vial- vial yang memiliki pola pengembangan yang sama selanjutnya digabungkan menjadi satu fraksi lalu dilakukan identifikasi kimia senyawa flavonoid menggunakan HCl-Mg dengan hasil seperti yang terdapat di tabel 3.

Tabel 3. Hasil Identifikasi Flavonoid dengan Pereaksi Warna

No. Vial Gabungan Fraksi Etil Asetat	Kode Gabungan	Warna	No. Vial Gabungan Fraksi Aquadest	Kode Gabungan	Warna
8 dan 9	E1	Jingga kemerahan	8	E1	Jingga kekuningan
10,13, dan 14	E2	Jingga kekuningan	9 dan 10	E2	Jingga kekuningan
11 dan 12	E3	Jingga terang	11 dan 12	E3	Jingga terang
15	E4	Kuning	13 dan 14	E4	Jingga terang

Uji aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Kelor

Vial yang dinyatakan positif flavonoid selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas daya hambat terhadap bakteri *E.coli* dengan kontrol

positif berupa Ceftriaxone dan kontrol negatif eluen B:A:A. Zona bening yang terbentuk disekitar cakram merupakan daya hambat yang kemudian diukur menggunakan penggaris.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Diameter Hambat Senyawa Flavonoid Bunga Kelor (*Moringa oleifera* .) terhadap bakteri *Escherichia coli*.

No.	Bahan Uji	Diameter Zona Hambat (mm)			
		P1	P2	Rata-rata	mm B.U – mm Eluen
1	Vial 8 E (E1)	22	22,8	22,4	10,4
2	Vial 12 (E2)	20,5	22,6	21,5	9,5
3	Vial 13 (E3)	21,1	20,6	20,8	8,8
4	Vial 15 E (E4)	20	19,8	19,9	7,9
5	Vial 8 A (A1)	22,6	20	21,3	9,3
6	Vial 9 (A2)	20,6	21,3	20,9	8,9
7	Vial 12 A (A3)	25,3	25	25,1	13,1
8	Vial 13 A (A4)	24,6	25,8	25,2	13,2

KontrolPositif : Ceftriaxone : 28,5 mm

KontrolNegatif : Eluen B:A:A : 12mm

Keterangan : E : Hasil kromatografi kolom fraksi etilasetat

: A : Hasil kromatografi kolom fraksi aquadest

: B.U : Bahan Uji

Dari tabel terlihat bahwa eluen yang menjadi kontrol negatif memiliki diameter hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli*. Untuk mengetahui diameter hambat dari masing-masing bahan uji maka diameter hambat pada perlakuan dikurangkan diameter zona hambat pada kontrol (Sherley, 1998 dalam Abdullah,S. (2011) sehingga zona hambat yang disebabkan oleh isolat bunga kelor dikurangkan dengan zona hambateluen.

Menurut Davis dan Stout dalam Jannata (2014), klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri yang dilihat berdasarkan zona bening terdiri atas 4 kelompok yaitu respon lemah (diameter ≤ 5 mm), sedang (diameter 5-10 mm), kuat (diameter 10-20 mm), sangat kuat (diameter ≥ 20 mm). Uji aktivitas antibakteri dari 8 bahan uji hasil kromatografi kolom menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* kategori kuat (bahan uji 1E, 3A, dan 4A) dan kategori

sedang (bahan uji 2E, 3E, 4E, 1A, dan 2A). Dapat disimpulkan bahwa isolat senyawa flavonoid fraksi air memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat dibandingkan dengan senyawa flavonoid fraksi etil asetat. Kontrol positif ceftriaxone memiliki diameter hambat 28,5 mm. Eluen BAA sebagai kontrol negatif memiliki zona hambat dan 12 mm.

Flavonoid memiliki mekanisme kerja sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Juliantina, 2008). Pelczar dan Chan dalam Nofitasari (2016) menyatakan semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas antibakterinya semakin kuat. Pada tabel 4 menunjukkan bahan uji 4E mempunyai daya hambat paling kecil. Hal ini diduga karena rendahnya senyawa flavonoid aktif pada vial tersebut.

Senyawa flavonoid bunga tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E.coli* dengan diameter terkecil 7,9 mm dan terbesar 13,2 mm dan yang memiliki daya hambat terbesar adalah bahan uji 4A. Hal ini sesuai dengan penelitian Napoleon, P. dkk (2009) bahwa bunga kelor (*Moringa oleifera* L.) mengandung senyawa flavonoid dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*.

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat dan fraksi aquadest ekstrak bunga tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L.) menghasilkan isolat yang berwarna kuning kecoklatan dan mengandung flavonoid golongan flavonon yang memberikan noda tunggal saat diuji dengan KLT, dengan R_f 0,476 – 0,812. Senyawa flavonoid ekstrak bunga tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* kategori kuat (bahan uji 1E, 3A, dan 4A) dan kategori sedang (bahan uji 2E, 3E, 4E, 1A, dan 2A).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi jenis senyawa flavonoid yang terkandung di dalam isolat bunga tumbuhan kelor (*Moringa oleifera* L.) menggunakan spektrofotometri serta uji aktivitas antibakteri kandungan metabolit sekunder lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, S.H., 2011. Uji Daya Hambat Ekstrak Makro Alga *Sargassum polycystum* Terhadap Pertumbuhan *Bacillus subtilis* Secara In Vitro, Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan MIPA FKIP Universitas Khairudin, Ternate.
- Fitriana, I.N. 2013. Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun

- Adas (Foeniculum Vulgare Mill.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif Dan Gram Negatif Secara In Vitro.* Jurnal Eprints UMS. (http://eprints.ums.ac.id/22645/3/BAB_I.pdf, Diakses 4 Februari 2018)
- Juliantina F., Dewa A.C.M., Bunga N., Titis N dan Endrawati T. B., 2008. *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.* Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.
- Napolean, P., J. Anitha, R.E. Renita, 2009. *Isolation, Analysis and Identification of Phytochemicals of Antimicrobial Activity of Moringa oleifera* Lam. Current Biotica. Vol 3 , Issue 1. Hal. 34 – 39
- Sukadana, I.M., 2009. *Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid dari Buah Belimbing Manis (Averrhoa carambola Linn.L).* Jurusan Kimia MIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. Jurnal Kimia 3 (2), Juli 2009 : 109-116
- Suteja, I.K.P., Rita, W.S., Gunawan, I. W. G. 2016. *Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid dari ekstrak Daun Trembesi (Albiza saman (Jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri Escherichia coli.* Jurnal Kimia 10(1), ISSN 1907-9850. Hal.141-148
- Zulmiyusrini, Putri. 2015. *Infeksi.* (<http://www.kerjanya.net/faq/12111-infeksi.html>, Diakses 23 Januari 2018)