

POTENSI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK *Moringa oleifera* (Lamk.) TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* SECARA *IN SILICO* DAN *IN VITRO*

Dian Islamiyati ¹, Fajar Husen ^{2*}, Nuniek Ina Ratnaningtyas ³

¹ Program Studi Sarjana Farmasi Klinis dan Komunitas, STIKes Bina Cipta Husada Purwokerto

² Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, STIKes Bina Cipta Husada
Purwokerto

³ Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman (UNSOED), Purwokerto

* e-mail: fajar@stikesbch.a.cid

ABSTRAK

Moringa oleifera (Lamk.) atau daun kelor, adalah salah satu jenis tumbuhan khas di Asia Tenggara, khususnya di Indonesia. Daun kelor dikenal sebagai tumbuhan dengan kandungan senyawa bioaktif yang multiaktivitas. Senyawa flavonoid, quercetin, polifenol, tannin, dan saponin pada daun kelor memiliki aktivitas sebagai anti peradangan, antidiabetes, dan antibakteri. Potensi ekstrak daun kelor sebagai antibakteri perlu diuji coba secara *in silico* dan *in vitro* untuk mengetahui kecocokan dari senyawa bioaktif spesifik yang memiliki potensi aktivitas antibakteri tertinggi. Metode penelitian ini adalah deskriptif analitik. Percobaan *in silico* dilakukan dengan menggunakan program software computer untuk senyawa quercetin, dengan kontrol positif adalah antibiotik chloramphenicol. Sementara percobaan *in vitro* antibakteri ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode sumuran. Hasil pengujian *in silico* menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memperlihatkan potensi yang baik sebagai antibakteri khususnya *E. coli*, namun aktivitasnya lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik chloramphenicol. Sementara hasil investigasi dan observasi *in vitro* menunjukkan hasil yang sama, dimana chloramphenicol menunjukkan hasil inhibisi terbaik dengan zona hambat 54 mm, sementara ekstrak *M. oleifera* memiliki zona hambat 24 mm.

Kata Kunci: antibakteri, *chloramphenicol*, daun kelor, *in silico*, *in vitro*

ABSTRACT

Moringa oleifera (Lamk.) or Moringa leaves, is one of the typical plant species in Southeast Asia, especially in Indonesia. Moringa leaves are known to contain bioactive compounds with multi-activity. Flavonoid, quercetin, polyphenol, tannin, and saponin compounds in Moringa leaves have anti-inflammatory, antidiabetic, and antibacterial activities. The potential of moringa leaf extract as an antibacterial, needs to be tested in *silico* and *in vitro* to determine the suitability of specific bioactive compounds that have the highest potential antibacterial activity. This research method is descriptive analytic. In *silico* experiments were conducted using a computer software program for quercetin compounds, with the positive control being the antibiotic chloramphenicol. While the *in vitro* antibacterial experiment of the extract was conducted using the pitting method. The results of *in silico* testing showed that Moringa leaf extract showed good potential as an antibacterial, especially *E. coli*, but its activity was smaller than the antibiotic chloramphenicol. While the results of *in vitro* investigation and observation showed similar results, where chloramphenicol showed the best inhibition results with an inhibition zone of 54 mm, while *M. oleifera* extract had an inhibition zone of 24 mm.

Keywords: antibacterial, *chloramphenicol*, *moringa*, *in silico*, *in vitro*

PENDAHULUAN

Kelor atau *Moringa oleifera* (Lamk.) dikenal sebagai tumbuhan medis, atau medicinal plant yang memiliki banyak aktivitas biologis dan farmakologis. Beberapa aktivitas daun kelor seperti sebagai anti-peradangan/inflamasi, anti-bakteri, anti-nyeri/ analgesik, serta sebagai imunomodulator (Kursia et al., 2018).

Daun kelor juga memiliki flora normal berupa jamur endofit yang memiliki potensi besar sebagai anti-mikroba, namun eksplorasinya masih belum terlalu banyak, mengingat isolasi jamur endofit cukup susah dilakukan jika tidak benar-benar diperhatikan langkahnya dengan detail. Namun, senyawa bioaktif yang dapat diekstrak dari daun kelor cenderung lebih mudah dan sederhana untuk dilakukan, cukup dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut tertentu untuk dapat mendapatkan jenis senyawa yang diinginkan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa seperti flavonoid dan tanin cukup banyak ditemukan pada ekstrak *M. oleifera* yang diekstraksi dengan menggunakan chloroform. Hasil

pengujian sebagai antibakteri dari ekstrak chloroform *M. oleifera* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium* menunjukkan nilai penghambatan yang sangat baik, dengan MIC value pada rentang 1 sampai dengan 4 mg/mL (Bukar et al., 2010).

Aktivitas antibakteri ekstrak *M. oleifera* memang sudah banyak diujicoba seperti terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dimana hasil menunjukkan konsentrasi 50% ekstrak secara sangat signifikan mampu menekan pertumbuhan *P. aeruginosa*. Senyawa fitokimia aktif seperti triterpenoid, flavonoid, dan senyawa tanin merupakan senyawa yang terkandung sangat melimpah pada daun kelor, dan memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa tersebut akan mengganggu integritas, permeabilitas, dan konsistensi dari komponen sel bakteri, yang kemudian dapat menyebabkan gangguan fisiologis dan replikasi materi genetik bakteri, sehingga terjadi kematian sel (Widowati et al., 2014).

Potensi aktivitas antimikroba dari daun kelor memang sudah cukup

banyak dilakukan, namun uji pendahuluan potensi dari senyawa yang lebih spesifik secara *in silico* dan uji konfirmasi secara *in vitro* perlu dilakukan lebih lanjut, untuk mengetahui kemajuan dan perkembangan ada tidaknya resistensi ataupun kemampuan lain dari senyawa tunggal spesifik yang terkandung pada ekstrak *M. oleifera*, seperti quercetin, rutin, atau flavonol. Pada riset ini difokuskan pada senyawa quercetin yang cukup banyak terkandung pada ekstrak dengan kontrol menggunakan senyawa chloramp. Begitupun pada uji konfirmasi *in vitro* dilakukan dengan menggunakan antibiotik chloramphenicol serta ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan ethanol 96% dengan tujuan senyawa flavonoid (quercetin) dapat terbawa dalam ekstrak.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah riset deskriptif, dimana hasil pengujian secara *in silico* kemudian diobservasi juga secara *in vitro* dengan percobaan ekstrak *M. oleifera* dengan satu dosis yang diujicobakan melalui metode

sumuran. Tanda positif aktivitas antibakteri adalah terbentuknya zona jernih disekitar ekstrak.

Bahan yang digunakan pada studi *in silico* meliputi struktur 3D protein *topoisomerase IV* (PDB ID: 1S16) yang diunduh pada website database PDB <http://www.rscb.org> dan struktur 3D senyawa fitokimia dalam daun kelor yaitu Quer dan kontrol positif berupa senyawa chloramp yang diunduh pada *chemical web library database* melalui link <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan pada studi *in silico* ini terdiri dari perangkat keras berupa laptop dengan windows 9, 64 bit. Adapun *software* yang digunakan berupa PubChem yang diakses melalui <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, RCSB PDB yang diakses melalui <http://www.rscb.org>, *software* penambatan molekul *PyRx 0.8*, *software* visualisasi *Discovery Studio*. Alat pengujian observatif meliputi jarum ose, refrigerator, *hotplate* dan magnetic stirrer, autoclave, cawan

petri, beaker glass, labu Erlenmeyer, bor gabus, mikropipet dan tip, Laminar Air Flow (LAF), dan kamera. Bahan yang digunakan meliputi medium Natrium Agar (NA), laurtan ethanol 96%, aquades, antibiotik chloramphenicol, kertas tissue dan isolat bakteri *Escherichia coli*.

Ekstraksi *Moringa oleifera*

Ekstraksi daun kelor dilakukan dengan metode maserasi. Sejumlah 100 gram simplisia serbuk daun kelor di rendam dalam larutan ethanol 96% selama 24 jam dengan perbandingan 3:1, kemudian di remaserasi pada hari kedua dan ketiga dengan perbandingan simplisia dan pelarut 1:1 dan 1:3. Total maserat yang didapatkan kemudian di evaporasi dengan *hotplate* (Ratnaningtyas, Hernayanti, et al., 2022).

Pengujian observatif terhadap potensi ekstrak *Moringa oleifera* dilakukan dengan metode sumuran. Dimana sebanyak 50 mikroliter dimasukan ke dalam medium natrium agar (NA).

Uji Potensi Ekstrak *In Vitro* (Konfirmasi Hasil Uji *In Silico*)

Sebanyak 100 mikroliter suspensi bakteri yang telah diencerkan pada aquades steril kemudian dipipet pada medium nutrien agar (NA) padat pada cawan, kemudian di ratakan dengan batang L/ *durgalsky*. Selanjutnya sebanyak 50 mikroliter ekstrak yang sudah diencerkan pada larutan DMSO (Dimethyl sulfoxide) kemudian dipipet pada sumuran yang telah dibuat sebelumnya pada bagian tengah medium uji coba. Medium kemudian yang berisi isolat dan ekstrak di inkubasi pada suhu 27°C pada inkubator selama 2x24 jam. Hal yang sama berlaku untuk kontrol yang dilakukan dengan menggunakan antibiotik chloramphenicol.

Observasi Hasil Uji Konfirmasi *In Vitro*

Setelah 2x24 jam medium yang telah diinkubasi sebelumnya dilihat dan diamati, apakah terbentuk zona jernih atau tidak, untuk memastikan ada tidaknya efek inhibisi/ penghambatan terhadap bakteri *E. coli* baik medium yang berisi ekstrak atau disk antibiotik chloramphenicol (Husen & Ratnaningtyas, 2022).

Uji In Silico Molecular Docking

Protein *topoisomerase IV* (PDB ID: 1S16) di preparasi terlebih dahulu menggunakan *software Discovery Studio*. Aplikasi tersebut digunakan untuk mempersiapkan protein dengan menghilangkan ion, air dan *native ligand* lain dengan klik delete, kemudian disimpan dalam bentuk PDB.

Ligan struktur 3D dari senyawa Quer dan Cloramp di preparasi menggunakan *PyRx 0.8* melalui sistem *Open Babel* dengan cara klik *minimize selected*. Senyawa Quer dan Cloramp yang sudah di preparasi kemudian di tambatkan molekulnya dengan protein *topoisomerase IV* yang telah di preparasi menggunakan *software PyRx 0.8*, menggunakan sisten *Vina Wizard*. Hasil yang didapatkan dipilih dengan nilai RMSD $< 2 \text{ \AA}$ untuk selanjutnya divisualisasikan pada *software Discovery Studio*. Validasi metode dilakukan dengan parameter RMSD, jika nilainya $< 2 \text{ \AA}$, maka metode dikatakan valid (Hadi et al., 2023).

Hasil dari penambatan molekul antara ligan dan protein yang mempunyai nilai binding affinity

terkecil divisualisasikan menggunakan *Discovery Studio*, interaksi ligan disajikan dalam 3D dan 2D.

Analisis Data

Data hasil uji *in silico* berupa energi ikatan (*binding affinity*). Nilai dari energi ikatan kekuatan ikatan antara ligan dan protein. Semakin kecil nilai energi ikatan, maka semakin kuat dan stabil ikatan yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Moringa oleifera L. merupakan salah satu tanaman yang terkenal sebagai obat untuk beragam aktivitas farmakologis. Salah satu senyawa fitokimia yang terkandung dalam *Moringa oleifera L* adalah senyawa Quercetin (Sulastri et al., 2018). Studi ini dilakukan untuk aktivitas antibakteri dari senyawa quer yang ada pada *Moringa oleifera L* secara *in silico* dan pembuktian dengan studi *in vitro*.

Studi *in silico* menggunakan senyawa quer dan cloramp yang ditambatkan dengan protein *topoisomerase IV*. *Topoisomerase IV* merupakan enzim yang jika di hambat

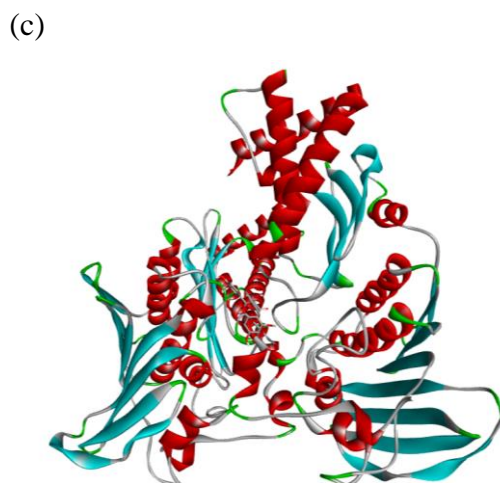
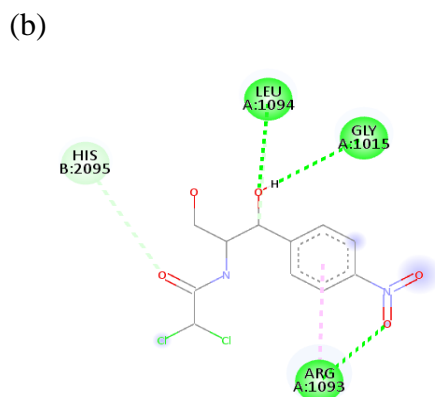
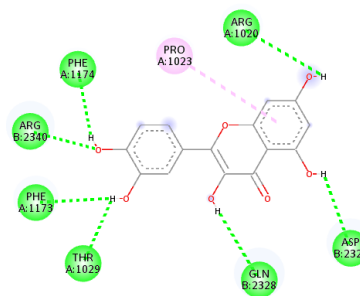
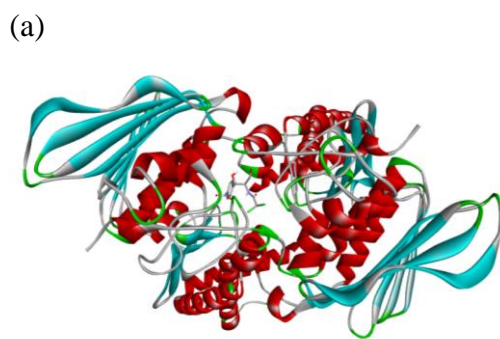
dengan ikatan maka dapat menghambat replikasi enzim seperti DNA gyrase sehingga menjadi target antibiotic dari bakteri *E. Coli* (Balansa et al., 2023). Penambatan molekul dilakukan untuk memperoleh nilai energi ikatan yang merupakan nilai prediksi dari potensi sebagai antibakteri dari senyawa quer dan cloramp. Tinggi rendahnya nilai dari energi ikatan biasanya di pengaruhi oleh energi Gibbs, elektronegatifitas, dan muatan energi serta banyaknya ikatan residu asam amino pada senyawa uji. Semakin negatif nilai dari energi ikatan maka semakin kuat potensi aktivitas antar molekul senyawa dengan protein target (Vennila et al., 2014).

Hasil penambatan molekul menunjukan bahwa nilai energi ikatan antara cloramp dengan *Topoisomerase IV* memiliki nilai lebih rendah dibandingkan nilai dari quer dengan *Topoisomerase IV*, masing-masing dengan nilai energi ikatan -7.3 kkal/mol dan 6.4 kkal/mol (Tabel 1). Visualisasi menggunakan software Discovery Studio dilakukan untuk melihat interaksi secara 3D dan 2D

dari senyawa uji pada *topoisomerase IV*. Hasil visualisasi diperlihatkan dengan adanya ikatan asam amino dengan ligan senyawa uji. Cloramp dengan *Topoisomerase IV* memiliki ikatan asam amino lebih banyak dibandingkan dengan quer. Hal tersebut dapat menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi rendahnya nilai energi ikatan sehingga menggambarkan adanya aktivitas penghambatan bakteri *E-Coli* (Gambar 1).

Tabel 1. Hasil uji Penambatan molekul senyawa Quer dan Cloramp pada *Topoisomerase IV*.

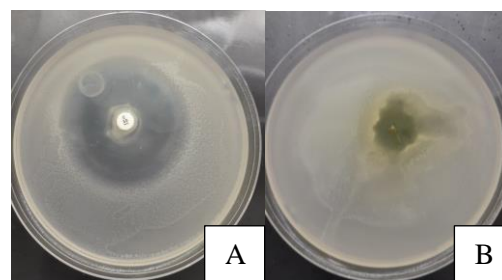
Ligan	Energi ikatan	Ikatan asam amino
Quer	-6.4	Chain A: ARG1093 LEU1094 GLY1015 Chain B: HIS2095
cloramp	-7.3	Chain A: THR1029 PHE1173 PHE1174 ARG1020 PRO1023 Chain B: ARG2340 GLN2328 ASP2326



(d)

Gambar 1. (a) Visualisasi Interaksi senyawa kuersetin dengan *topoisomerase IV* 3D, (b) visualisasi 2D, (c) visualisasi Interaksi senyawa chloramphenicol dengan *topoisomerase IV* 3D, (d) visualisasi 2D

Hasil pengamatan secara in vitro terhadap aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor menunjukkan hasil yang hampir mirip dengan prediksi in silico, dimana zona hambat/ *inhibition zone* dari chloramphenicol lebih besar. Hasil diperlihatkan pada gambar berikut:



Gambar 2. Hasil observasi uji aktivitas antibakteri chloramphenicol (A) dan ekstrak *M. oleifera* (B).

Hasil uji konfirmasi potensi ekstrak *M. oleifera* sebagai antibakteri terhadap *E. coli* menunjukkan hasil yang cukup baik. Terdapat zona jernih/*inhibition zone* yang terlihat pada bagian sumuran yang berisi ekstrak. Sementara hasil yang lebih baik lagi ditunjukkan pada kontrol yang dilakukan dengan menggunakan chloramphenicol, dimana zona jernih yang tampak lebih besar dan konsisten. Efek penghambatan yang ditunjukkan ekstrak ataupun antibiotik chloramphenicol mengindikasikan bahwa bakteri *E. coli* mati pada tidak dapat tumbuh karena efek antibiosis/antibacterial yang dimiliki oleh senyawa yang terkandung pada masing-masing. Senyawa flavonoid terutama quercetin yang banyak terkandung pada ekstrak menjadi salah satu jenis senyawa bioaktif yang mungkin menunjukkan peran besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Hasil pengukuran zona hambat menunjukkan bahwa penghambatan ekstrak *M. oleifera* terhadap bakteri *E. coli* sebesar 24 mm, sementara antibiotik chloramphenicol

menunjukkan nilai penghambatan sebesar 54 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penghambatan chloramphenicol lebih besar dibandingkan ekstrak, dan hasil tersebut sesuai dengan pengujian hipotesis awal yang dilakukan dengan menggunakan metode *in silico*.

Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan menggunakan ethanol 96%, dengan harapan bahwa senyawa flavonoid terutama quercetin akan lebih banyak didapatkan (Husen et al., 2021; Ratnaningtyas, Hernanyanti, et al., 2022). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa beberapa ekstrak *M. oleifera oleifera* yang diekstraksi dengan menggunakan etil asetat, chloroform, aseton, dan methanol memperlihatkan hasil yang sangat beragam. Pengujian dilakukan terhadap 4 jenis bakteri patogen yaitu *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *S. gallinarum*. Hasil menunjukkan bahwa semua jenis ekstrak dari berbagai jenis pelarut dari daun *M. oleifera* berpotensi sangat signifikan dikembangkan sebagai antimikroba/ antibiotik, dengan nilai penghambatan terbaik dan tertinggi

terhadap bakteri *S. gallinarum* dan *S. aureus* dengan rata-rata dari seluruh jenis pelarut >19 mm, sementara pengambatan terbaik kedua yaitu terhadap *P. aeruginosa* dengan rata-rata inhibisi >18 mm. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik ciprofloxacin, namun nilai inhibisi terhadap *E. coli* dari antibiotik ini terbaik dibandingkan terhadap bakteri lainnya, walaupun potensi inhibisi ekstrak terhadap *E. coli* paling rendah dengan rata-rata hanya >11 mm (Kumar et al., 2011).

KESIMPULAN

Hasil studi *in silico* dan *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa quer diperkirakan memiliki potensi sebagai antibakteri dari bakteri *E. coli* namun aktivitasnya masih lebih kecil dari pada antibiotik chloramphenicol.

DAFTAR PUSTAKA

Balansa, W., Lukas, L. C., Rieuwpassa, F. J., & Tomasoa, A. M. (2023). Aktivitas Antibakteri Sponge Agelas Nakamurai Terhadap Bakteri Gram Negative : Study In Vitro dan In

Silico. *Jurnal Ilamu Perikanan*, 14(1), 76–85.

Bukar, A., Uba, A., & Oyeyi, T. (2010). Antimicrobial profile of moringa oleifera lam. Extracts against some food – borne microorganisms. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 3(1), 43–48. <https://doi.org/10.4314/bajopas.v3i1.58706>

Hadi, I., Ulfah, M., Efriani, L., Putra, T. A., & Irawan, A. (2023). *Studi In Silico Dan In Vitro : Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Mangrove (Rhizophora Stylosa) Dengan Target Perusakan Dinding Sel Escherichia Coli An In Silico And In Vitro Study : Antibacterial Activity Of Mangrove Ethanolic Extract Rhizophora* . 8(2), 549–558.

Husen, F., Hernayanti, H., Ekowati, N., Sukmawati, D., & Ratnaningtyas, N. I. (2021). Antidiabetic effects and antioxidant properties of the saggy ink cap medicinal mushroom, *Coprinus comatus* (Agaricomycetes) on

- streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 23(10), 9–21. <https://doi.org/10.1615/intjmedmushrooms.2021040020>
- Husen, F., & Ratnaningtyas, N. I. (2022). Inhibitory Test of Gentamicin Antibiotics Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria Using Disc Method. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 10(2), 126–131. <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2022.010.02.06>
- Kumar, S. V., Kumar, S. P., Rupesh, D., & Nitin, K. (2011). Journal of Chemical and Pharmaceutical Research preparations. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(1), 675–684.
- Kursia, S., Aksa, R., & Nolo, M. M. (2018). Potensi Antibakteri Isolat Jamur Endofit dari Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 4(1), 30–33. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v4i1.4631>
- Ratnaningtyas, N. I., Hernanyanti, Ekowati, N., Husen, F., Maulida, I., Kustianingrum, R., & Vidiyanti, V. (2022). Antioxidant activities and properties of *Coprinus comatus* mushroom both mycelium and fruiting body extracts in streptozotocin-induced hyperglycemic rats model. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 14(1), 9–21.
- Ratnaningtyas, N. I., Hernayanti, H., Ekowati, N., & Husen, F. (2022). Ethanol extract of the mushroom *Coprinus comatus* exhibits antidiabetic and antioxidant activities in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 60(1), 1126–1136. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2074054>
- Sulastri, E., Zubair, M. S., Anas, N. I., Abidin, S., Hardani, R., Yulianti, R., & Aliyah. (2018). Total phenolic, total flavonoid, quercetin content and antioxidant activity of standardized extract of

moringa oleifera leaf from regions with different elevation.

Pharmacognosy Journal, 10(6), S104–S108.

<https://doi.org/10.5530/pj.2018.6s.20>

Vennila, S., Bupesh, G., Saravanamurali, K., SenthilKumar, V., SenthilRaja, R., Saran, N., & Magesh, S. (2014). Insilico docking study of compounds elucidated from helicteres isora fruits with ampkinese- insulin receptor. *Bioinformation*, 10(5), 263–266. <https://doi.org/10.6026/97320630010263>

Widowati, I., Efiyati, S., & Wahyuningtyas, S. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera) terhadap Bakteri Pembusukan Ikan Segar. *Universitas Negeri Yogyakarta*, IX, 146–157.