

LAPORAN AKHIR PENELITIAN



**POTENSI KOMBINASI EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) DAN
BAKTERIOSIN DARI *Bifidobacterium longum* SEBAGAI AGEN
ANTIBAKTERI TERHADAP *Salmonella typhimurium***

TIM PENGUSUL

Vinsa Cantya P., drh.,SKH.,M.Sc.
Tri Yahya Budiarso, S.Si, MP.

Biologi

UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA

November 2021

DUTA WACANA

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI.....	iii
RINGKASAN	v
BAB 1. PENDAHULUAN	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	8
<i>Food Borne Disease</i>	8
<i>Salmonella typhimurium</i>	9
Kelor (<i>Moringa oleifera</i>).....	9
<i>Bifidobacterium longum</i>	10
BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	12
Tujuan Penelitian	12
Manfaat Penelitian	12
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	13
Lokasi Penelitian.....	13
Tahapan Penelitian	13
4.1 Ekstraksi Daun Kelor.....	13
4.2 Skrining Senyawa Fitokimia.....	13
4.3 Kultur Bakteri Patogen	13
4.4 Cell-free culture supernatant (CFCS)	14
4.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>) terhadap <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028.....	14
4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Bakteriosin <i>B. longum</i> FNCC 0210 terhadap <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028.....	15
4.7 Analisis Data.....	15
BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.....	16
Ekstraksi dan Skrining Fitokimia.....	16
Re-identifikasi Isolat <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	18
Re-identifikasi Isolat <i>Bifidobacterium longum</i> FNCC 0210.....	19
Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Daun Kelor terhadap <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028	20

Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari <i>B. longum</i> FNCC 0210 terhadap <i>S. typhimurium</i> ATCC 14028.....	24
Uji Aktivitas Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kelor (EEDK) dan Bakteriosin <i>B. longum</i> (BB) terhadap <i>S. typhimurium</i>	28
Luaran yang Dicapai	32
BAB 6. RENCANA TAHAP BERIKUTNYA.....	33
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	38
Lampiran 1. Artikel Ilmiah	38



RINGKASAN

Foodborne Diseases (FBDs) atau biasa dikenal dengan penyakit tular makanan menunjukkan angka insidensi penyakit yang semakin meningkat dari tahun ke tahun. Salah satu agen utamanya adalah *Salmonella typhimurium* yang mengakibatkan gastroenteritis. Penelitian terkait pencegahan dan pengobatan FBDs terus dilakukan dengan pendekatan mikrobiologi serta pemanfaatan sumber daya alam. Probiotik merupakan organisme menguntungkan bagi manusia. Senyawa antibakterial yang dihasilkan seperti bakteriosin, membuat probiotik digunakan sebagai alternatif antimikrobia. Selain probiotik, ekstrak herbal telah banyak diteliti memiliki kemampuan antibakteri, sehingga kombinasi keduanya diharapkan mampu mencegah dan mengobati gastroenteritis maupun FBDs lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antibakteri kombinasi ekstrak daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan bakteriosin dari *Bifidobacterium longum* terhadap *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 secara *in-vitro*. Daun Kelor diekstraksi dengan pelarut etanol 96% dan metode maserasi. Kandungan senyawa dalam ekstrak diuji secara kualitatif. Potensi antibakteri masing-masing ekstrak daun Kelor dan bakteriosin *B. longum* FNCC 0210 diskirining dengan metode difusi disk Kierby-Bauer, kemudian dilanjutkan uji kombinasi dengan menggunakan metode mikrodilusi untuk melihat *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) serta *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun Kelor mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan fenol. Ekstrak etanol 96% daun Kelor (*Moringa oleifera*) memiliki kemampuan hambat pertumbuhan *S. typhimurium* ATCC 14028 dengan MIC 25% (v/v) dan MBC 50% (v/v). Bakteriosin *B. longum* FNCC 0210 memiliki kemampuan hambat pertumbuhan *S. typhimurium* ATCC 14028 dengan MIC 50% (v/v) dan MBC 50% (v/v). Konsentrasi terbaik kombinasi ekstrak etanol daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan bakteriosin *B. longum* FNCC 0210 yang memiliki sinergisme dalam menghambat pertumbuhan *S. typhimurium* ATCC 14028 yaitu 1:3 (50:50) (%) (v/v).

Kata kunci: aktivitas antimikrobia, *Bifidobacterium longum*, ekstrak daun Kelor, *foodborne disease*, *Salmonella typhimurium*

BAB 1. PENDAHULUAN

Foodborne Diseases (FBDs) atau biasa dikenal dengan penyakit tular makanan sekarang ini menunjukkan angka insidensi penyakit yang semakin meningkat dari tahun ke tahun. *World Health Organization* (2018) melaporkan di seluruh dunia setiap tahunnya mengkonsumsi makanan dengan tingkat keamanan yang kurang atau bahkan tidak aman, sehingga menyebabkan 600 juta kasus FBDs dengan angka kematian mencapai 420.000. Menurut Scallan dan Mahon (2012) angka kejadian penyakit dan angka kematian kasus FBDs tertinggi disebabkan oleh bakteri. *Salmonella* merupakan salah satu bakteri penyebab utama FBDs, infeksi *non-typhoidal Salmonella* secara global diperkirakan mencapai 535.000 kasus pada tahun 2017 (Majowic *et al.*, 2010; Tesfaw *et al.*, 2013; GBD, 2017).

Antibiotik memiliki peranan penting dalam pengobatan infeksi bakteri. Seiring berkembangnya zaman, *strain* dengan resistensi terhadap beberapa kelas antibiotik telah muncul baik pada bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif. Akibat yang ditimbulkan dari resistensi ini adalah antibiotik kehilangan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga mempersulit proses pengobatan (Rossolini, 2014). Pemakaian antibiotik dengan tidak teratur dan dengan dosis yang kurang tepat dapat meningkatkan derajat resistensi terhadap berbagai antibiotik (Sheld, 2003). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Noor *et al.* (2006); Butaye *et al.* (2003) Jetacar (1999); *Salmonella*, *Campylobacter*, *Enterococci* dan *Escherichia coli* telah resisten terhadap antibiotik dan diduga dapat mentrasfer gen resisten tersebut ke bakteri lain.

Indonesia yang kaya akan keanekaragaman hayati memiliki berbagai tumbuhan berkhasiat yang turun-temurun telah dimanfaatkan, salah satunya adalah Kelor (*Moringa oleifera*) (Abbas dan Elsharbasy, 2019). Kelor memiliki sejuta manfaat di bidang kesehatan, diantaranya sebagai penurun tekanan darah tinggi, antiinflamasi, antipiretik, obat penenang, dan obat alergi kulit (Aini, 2019). Berdasarkan hasil penelitian Abadallah dan Ali (2019) membuktikan bahwa ekstrak daun Kelor mengandung senyawa fitokimia alkaloid, saponin, tanin, flavonoid yang diduga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen. Selain senyawa

fitokimia, bakteriosin dari Bakteri Asam Laktat (BAL) juga memiliki manfaat sebagai agen antimikroba.

Bifidobacterium longum merupakan BAL yang banyak ditemukan dan hidup dalam pencernaan manusia. Bakteri ini memiliki banyak manfaat, diantaranya menjaga keseimbangan mikroflora dalam intestinal, membantu proses pencernaan, memperkuat sistem kekebalan tubuh, dan berperan melawan bakteri patogen (Wong *et al.*, 2019; Praja, 2011). Secara umum, BAL memiliki bakteriosin. Bakteriosin merupakan protein yang disintesis di ribosom dan berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri lain (de Vuyst dan Leroy, 2007).

Baik ekstrak daun Kelor maupun bakteriosin dari *B. longum*, keduanya dapat menghambat pertumbuhan patogen, namun potensi aktivitas antibakteri kombinasi keduanya belum banyak diteliti. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi kombinasi ekstrak daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan bakteriosin dari *B. longum* FNCC 0210 terhadap *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 secara *in vitro*. Kombinasi ekstrak daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan bakteriosin dari *B. longum* FNCC 0210 diharapkan memiliki sinergisme dan hasil yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, sehingga nantinya dapat dijadikan sebagai alternatif antibiotik dan memiliki nilai ekonomis yang tinggi.

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Ekstrak etanol 96% daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki senyawa antibakteri flavonoid, alkaloid, dan fenol.
2. Ekstrak etanol 96% daun kelor memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. typhimurium* ATCC 14028 dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) 25% (v/v) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) 50% (v/v).
3. Bakteriosin *B. longum* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. typhimurium* dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) 50% (v/v) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) 50% (v/v).
4. Kombinasi terbaik ekstrak etanol daun kelor dan bakteriosin *B. longum* yang memiliki sinergisme dalam menghambat pertumbuhan *S. typhimurium* yaitu dengan perbandingan volume dan konsentrasi 1:3 (50:50) (%) (v/v).

Saran

1. Adanya pengujian lebih lanjut mengenai interaksi kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dan bakteriosin dari *B. longum* terhadap *Salmonella typhimurium*.
2. Hasil aktivitas antibakteri dapat dilakukan uji MBC dengan uji *Total Plate Count* (TPC) agar mendapatkan hasil kuantitatif yang lebih valid.
3. Dapat dilakukan uji pre-klinis sebagai dasar pengembangan pengobatan alternatif gastroenteritis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadallah, M.S. dan Ali, M. (2019). Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* Leaf Extracts against Bacteria Isolated from Patients Attending General Sani Abacha Specialist Hospital Damaturu. *J Allied Pharm Sci.*: 61-66.
- Abbas, R.K. dan Elsharbasy, F.S. (2019). Antibacterial Activity of *Moringa oleifera* against Pathogenic Bacteria in Sudan. *International Journal of Current Research.* 11(01): 27-30.
- Aini, Q. (2019). *Analisis Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera) pada Pengobatan Diabetes Mellitus*. Syiah Kuala University Press.
- Amer, A.E., El-Salam, B.A.A., dan Salem, A.S. (2014). Effect of *Moringa oleifera* Leaves Extract as A Growth Factor on Viability Of Some Encapsulated Probiotic Bacteria. *World Journal of Dairy & Food Sciences.* 9(2): 86-94.
- Aminah, S. (2015). Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*). *Buletin Pertanian Perkotaan.* 5(2).
- Baloch, M.N., Siddiqi, R., Erum, H., dan Zia, M. 2015. Exploration of probiotic potential in indigenous lactic acid bacteria. *International Journal of Current Research* 7(3): 13431-13436.
- Bhunia, A. 2008. *Foodborne Microbial Pathogens*. Springer. USA.
- Crump, J.A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M.A., dan Parry, C.M. 2015. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clin Microbiol Rev.* doi: 10.1128/CMR.00002-15.
- De Vuyst L. dan Leroy, F. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *J Mol Microbiol Biotechnol* 13: 194-199.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2006). *Pedoman Pengendalian Demam Tifoid*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Deraz S.F, Karlsson, E.N., Hedström, M., Andersson, M.M., dan Mattiasson, B. (2005). Purification and Characterisation of Acidocin D20079, A Bacteriocin Produced by *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079. *J. Biotechnol.* 117:343 54.
- Franz, C.M.A.P., Schillinger, U., Holzapfel, W.H. 1996. Production and characterization of enterocin 900, a bacteriocin produced by *Enterococcus faecium* BFEE 900 from black olives. *Int J Food Microbiol.* 29: 255-270.
- Groves, Nicole. (2017). Curli fimbriae of *Salmonella Typhimurium* induce an immune response in chickens producing IgY detectable in serum and yolk. Thesis. Faculty of Science. UNSW Australia.

- Haagsma, J.A., Polinder, S., Stein, C.E., dan Havelaar, A.H. (2013). Systematic Review of Foodborne Burden of Disease Studies: Quality Assessment of Data and Methodology. *Int. J. Food Microbiol.* 166: 34-47.
- Hohmann, E.L. (2001). Nontyphoidal Salmonellosis. *Clin Infect Dis.* 32: 263-269.
- Huijbers, P.M.C. (2016). Transmission of Antibiotic Resistance from Animals to Humans: Broilers as a Reservoir of ESBL-Producing Bacteria. Ph.D. Thesis, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. Available online: <https://research.wur.nl/en/publications/transmission-of-antibiotic-resistance-from-animalsto-humans-broil> (accessed on 29 January 2020).
- Muloi, D., Ward, M.J., Pedersen, A.B., Fèvre, E.M., Woolhouse, M.E.J., dan van Bunnik, B.A.D. (2018). Are Food Animals Responsible for Transfer of Antimicrobial-Resistant *Escherichia coli* or Their Resistance Determinants to Human Populations? A Systematic Review. *Foodborne Path. Dis.* 15: 467-474.
- Nugraha, A., Swacita, Ida Bagus N., Ketut Tono P.G. (2012). Deteksi Bakteri *Salmonella* spp. dan Pengujian Kualitas Telur Ayam Buras. *Indonesia Medicus Veterinus.* 1(3): 320- 329.
- Putra, I. W. D. P., Dharmayudha, A. A. G. O., & Sudimartini, L. M. (2016). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus,* 5(5), 464-473.
- Praja, D.I. (2011). *The Miracle of Probiotics.* Yogyakarta: DIVA Press.
- Rial D.R. (2000). The Role of Probiotic Cultures in The Control of Gastrointestinal Health. *J Nutr.* 130: 396-420.
- Salminen S.J., Ouwehand A.C., Isolauri E. (1998). Clinical Applications of Probiotic Bacteria. *Int Diary J.* 8: 563-572.
- Sauveur, A.S., Broin, M. dan Nambiar, V. 2010. *Growing and Processing Moringa Leaves.* France: Imprimerie Horizon. 1-69.
- Sucipta, A. (2015). Baku Emas Pemeriksaan Laboratorium Demam Tifoid pada Anak. *Jurnal Skala Husada.* 12 (1): 22-26.
- Syarif, A. (2007). *Farmakologi dan Terapi.* Edisi 5. Jakarta: Gaya Baru.
- Torpahl, M., Tsai-Ling, L., Shiu-Yun, L., Ishien, L., Sung-His, W., dan ChienShun, C. (2013). Human Isolates of *Salmonella Enterica* Serovar Typhimurium from Taiwan Displayed Significantly Higher Levels of Antimicrobial Resistance than Those from Denmark. *International Journal of Food Microbiology.* 161(2): 69-75.

Wardah, dan Tatang, S. (2014). *Mikrobiologi Pangan*. Edisi ke-1. Yogyakarta: Andi Offset.

World Health Organization. (2018). *Salmonella* (non-typhoidal). [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)). Diakses tanggal 22 Januari 2021 pukul 22.04 WIB.

Wong, C.B., Odamaki, T., dan Xiao, J.Z. (2019). Beneficial Effects of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BB536 on Human Health: Modulation of Gut Microbiome as The Principal Action. *Journal of Functional Foods*. 54: 506-519.

Zen, N.A., Muhammad, Edwin de Queljoe, dan Marina S. (2015). Uji Bioaktivitas Ekstrak *Padina australis* dari Pesisir Pantai Molas Sulawesi Utara terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 2 (1): 3.

