

BAB XI

Potensi Senyawa Aktif Fermentasi Daun Kelor Merah (*Moringa Oleifera*) Sebagai Penangkal Stres Oksidatif Akibat Infeksi *Salmonella Typhi*

Maria Magdalena Riyaniarti Estri W

Jurusan S1 Farmasi Fakultas Farmasi IIK Bhakti Wiyata Kediri
Jl.KH Wachid Hasyim 65 Kediri
*E-mail: mm.riyaniarti@.iik.ac.id

11.1 Pendahuluan

Demam tifoid adalah penyakit yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* yang dapat menyebabkan infeksi akut pada usus halus. Sel yang berperan dalam mempertahankan sistem imunitas tubuh dalam mengeliminasi bakteri *Salmonella thypi* adalah sel T CD4⁺ dan sel T CD8⁺ [1,2]. Abbas dan Lichman (2011) [3], berpendapat bahwa sel T CD4⁺ atau yang disebut dengan sel T *helper* berperan dalam proses upaya peningkatkan fagositosis terhadap mikroba yang berada di vesikula dengan cara mengaktifkan fagositosis makrofag, sedangkan sel T CD8⁺ atau yang disebut dengan sel *Cytotoxic T Lymphocyte* (CTL) berperan dalam membunuh sel yang mengandung mikroba dalam sitoplasma sehingga reservoir infeksi bakteri akan hilang.

Sistem imunitas tubuh merupakan sistem yang berperan sangat penting untuk menjaga tubuh dari serangan agen infeksius yang menyerang tubuh. Setiap manusia dapat mengalami penurunan system kekebalan tubuh yang disebabkan oleh bakteri patogen, virus, parasite, radiasi dan polusi dilingkungan sekitar yang dapat menyerang system imun *innate* ataupun *adaptive*. *Salmonella typhi*

adalah bakteri intraseluler yang sering menyebabkan infeksi akut gastroenteritis yang ditandai dengan diare sampai peradangan [4]. Melalui respon imun *innate* dan *adaptive* merupakan respon yang digunakan untuk mengeliminasi *Salmonella typhi* [5]. Sistem imun non spesifik merupakan pertahanan tubuh yang pertama kali menghadapi serangan berbagai mikroorganisme, oleh karena itu memberikan tanggapan secara langsung [6]. Dalam membunuh bakteri intraseluler salah satu cara yang dilakukan, dengan meningkatkan aktivasi makrofag, menstimulasi sel T dan sitokin-sitokin yang dilepas oleh makrofag yang berkaitan dengan proses fagositosis dan membunuh mikroba, dengan cara memacu fungsi makrofag untuk menghancurkan dan mengeliminasi bakteri tersebut dengan menggunakan bahan imunostimulan. Fungsi imunostimulan akan mengakibatkan terpicunya fungsi makrofag untuk melakukan *killing* melalui *respiratory burst*. Makrofag yang sudah teraktivasi akan melepaskan berbagai macam metabolit seperti *reactive oxygen species* (ROS). Makrofag yang sudah teraktivasi dikarakteristikkan dengan adanya peningkatan ROS. Substansi ini merupakan mediator kunci inflamasi, mikrobisidal, dan tumorisidal. ROS berperan penting dalam proses *killing* serta merupakan salah satu *lethal chemical* yang dapat membunuh dan mengeliminasi bakteri. Akan tetapi, akibat semburan ROS ini dapat menghambat kerja antioksidan yang bertanggung jawab untuk menghambat produksi ROS yang berlebih, sehingga menyebabkan stres oksidatif di hati [7]. Jika ROS berlebih akan bereaksi dengan makromolekul biologi, protein, dan DNA dan dapat menimbulkan kerusakan pada hepatosit [8]. Adanya stres oksidatif terjadi akibat ketidak seimbangan antara peningkatan produksi radikal bebas dan penurunan jumlah antioksidan [9] ROS yang muncul akibat salah satu *lethal chemical* yang dapat membunuh dan mengeliminasi

bakteri pada sel fagosit. ROS penyebab utama terjadinya oksidatif stres, termasuk diantaranya anion superoksida, radikal hidroksil, dan hydrogen peroksida [10]. ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stress oksidatif di hati, dengan cara menekan pembentukan jalur transkripsi antioksidan [11]. Nrf-2 adalah faktor transkripsi yang bertanggung jawab atas transkripsi pada sejumlah antioksidan dan gen cytoprotective [12]. HO-1 efektif berperan dalam pencegahan berbagai cedera oksidatif. Sedangkan superoxide dismutase 2 (SOD-2) dikenal sebagai mangan-dependent superoksid dismutase (Mn-SOD), yang terlibat dalam mengatasi terjadinya stres oksidatif [13]. SODs bertindak paling awal pada pertahanan enzim antioksidan terhadap ROS dan terutama radikal anion superoksida [14].

Fermentasi sebagai perubahan oleh enzim dari beberapa bakteri, khamir, dan jamur di dalam media pertumbuhan. Hasil fermentasi akibat perubahan kinia meliputi pengasaman susu, dekomposisi pati, dan gula menjadi alkohol dan karbondioksida [15]. Mikroba dalam melakukan fermentasi memerlukan energi yang biasanya diperoleh dari glukosa. Dalam suasana aerob, mikroba akan mengubah glukosa menjadi air, CO₂, dan energi yang diperlukan untuk kegiatan pertumbuhan. Beberapa mikroba hanya dapat melangsungkan metabolisme dalam suasana anaerob dan hasilnya adalah substrat setengah terurai [16]. Fermentasi ekstrak daun kelor menghasilkan aroma harum yang dapat meningkatkan kualitas dan palatabilitas [17]. Sejauh ini penelitian fermentasi daun kelor dengan *Lactobacillus plantarum* sebatas mengkaji tentang aktivitas antibakteri [18] dan fermentasi daun kelor mampu meningkatkan antioksidan [19], zat besi, kalsium, serta penurunan asam fitat [20].

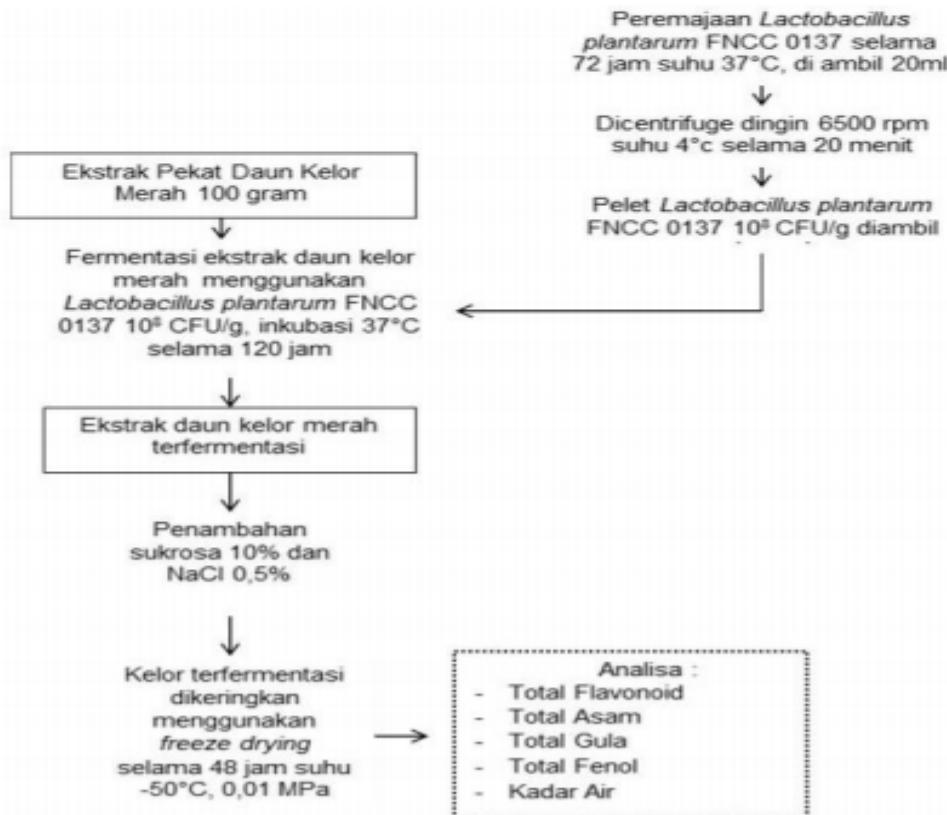
Rumusan Masalah

Apakah ekstrak fermentasi daun kelor merah (*Moringa oleifera*) mempunyai efek sebagai immunomodulatori pada mencit BALB/c setelah diinfeksi oleh *S.typhi* melalui peningkatan Enzim Nrf-2, HO-1, SOD-2.

Tujuan

Menganalisis efek pemberian daun kelor (*Moringa oleifera*) yang terfermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* FNCC terhadap respon sistem imun melalui peningkatan Enzim Nrf-2, HO-1, SOD-2 serta menganalisis kandungan daun kelor hasil fermentasi

11.2 Fermentasi daun kelor merah dengan *Lactobacillus plantarum* (Gambar 28)



11.3 Hasil Dan Pembahasan

11.3.1 Potensi Senyawa Bahan Alam Fermentasi Daun Kelor Merah

Eksplorasi senyawa bahan alam dari tumbuhan sangat diperlukan untuk menambah pengetahuan ataupun penelitian terkait untuk pembuatan obat herbal. Hampir semua, kandungan senyawa bahan alam merupakan senyawa organik, dan sumber utama yang digunakan pada senyawa karbon atau senyawa organik ini adalah glukosa yang dibentuk melalui proses fotosintesis pada tumbuhan autotropik atau diperoleh dari organisme heterotrof.

Fermetasi dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum* dan bakteri asam laktat lainnya dapat untuk menambah konsentrasi dari komponen fenolik pada bahan pangan yang difermentasi menggunakan enzim β -glucosidase [21]. Kandungan Polifenol komplek dihidrolisis menjadi lebih sederhana namun aktivitas biologi dari bahan tersebut lebih tinggi selama proses fermentasi, adanya enzim β -glucosidase memecah gugus yang berikatan berupa glikosida yang akan dihidrolisis menjadi fenol dalam bentuk aglikon sehingga lebih mudah diserap [22,23]. Ng *et al.*, (2011) [24] terbukti melaporkan bahwa bagian tumbuhan mengalami kenaikan total fenol setelah fermentasi.

Perubahan Komposisi kimia pada daun kelor merah yang difermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum*

Tabel 13: Perubahan komposisi kimia pada daun kelor merah terfermentasi

Komposisi Kimia		Perlakuan		
		Ekstrak	Fermentasi	Ekstrak Kelor Terfermentasi Kering beku
Kadar Air (%)	BB	10.78 ± 0.45a	20.54 ± 0.69b	8.83 ± 0.93c
	BK	12,09 ± 0,56a	25,85 ± 1,09b	9,69 ± 1,11c

Total Gula (%)	BB	7,07 ± 0,27a	4,74 ± 0,12b	5,11 ± 0,09c
	BK	7,89 ± 0,46a	5,97 ± 1,06b	5,66 ± 0,61b
Total Asam (%)	BB	0,02 ± 0,00a	0,10 ± 0,03b	0,06 ± 0,02b
	BK	0,02 ± 0,01a	0,13 ± 0,00b	0,07 ± 0,00c
Total Fenol (mg GAE/g)	BB	124,57 ± 7,64a	145,83 ± 10,93b	144,16 ± 21,30b
	BK	139,02 ± 0,69a	183,66 ± 2,00b	152,24 ± 1,98c
Total Flavonoid (mgQE/g)	BB	39,56 ± 1,40a	77,41 ± 2,73b	74,96 ± 1,93c
	BK	44,15 ± 1,05a	97,49 ± 0,50b	82,28 ± 1,97c

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan beda nyata (*P Value* < 0,05) pada baris yang sama. Ket : BB=Berat Basah, BK=Berat Kering [25].

Setelah difermentasi, kandungan total asam daun kelor merah mengalami peningkatan dan terjadi penurunan terhadap kadar air, total fenol, total gula dan total flavonoid. Adanya peningkatan total flavonoid selama fermentasi diduga akibat adanya aktivitas bakteri asam laktat selama proses fermentasi, bakteri asam laktat akan menghasilkan enzim yang dapat membebaskan senyawa fenolik yang terdapat dalam daun kelor sehingga akan menambah gugus fenol pada senyawa flavonoid [26]. Sedangkan *Lactobacillus plantarum* dapat menghasilkan peningkatan total fenol dengan memproduksi enzim β -glukosidase yang berperanan penting dalam proses biotransformasi seperti memodifikasi metabolit primer dan sekunder sehingga akan menyebabkan bertambahnya komponen bioaktif seperti polifenol [27]. Yang tak kalah penting yaitu peran perlakuan *freeze dry* diketahui menjadi salah satu metode untuk memperpanjang umur simpan bahan makanan dengan mekanisme mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan memperlambat oksidasi lemak [28]. Dan salah satu cara yang banyak digunakan dalam meningkatkan ketersediaan antioksidan dan mineral pada tumbuhan adalah dengan cara fermentasi [19].

Komponen bioaktif, seperti flavonoid banyak dimanfaatkan sebagai agen anti-inflamasi yang mampu menghambat ekspresi dan menekan eksresi sitokin pro-inflamasi, serta meningkatkan sitokin anti-inflamasi [29]. Sedangkan flavonoid untuk golongan fisetin, kaempferol, myrisetin, kuersetin, dan rutin mempunyai efek terhadap produksi sitokin pro-inflamasi dengan cara menghilangkan fungsi anti-inflamasi dengan menghambat produksi sitokin antiinflamasi seperti IL-1 β , IL-6, IL-2, IFN- γ , dan TNF- α [30].

11.3.2 Perubahan Kandungan Senyawa Aktif Daun Kelor Merah

Hasil skrining didapatkan perbedaan hasil antara yang hanya di ekstrak dan ekstrak yang terfermentasi, salah satu bahan aktif yang tidak ditemukan di ekstrak tetapi ditemukan di ekstrak yang terfermentasi adalah golongan flavonoid dalam bentuk glikosida (daidzain). Daidzin termasuk dalam golongan senyawa isoflavon, pada proses fermentasi isoflavon bentuk bebas (aglikon) lebih banyak, sehingga ada di dalam hasil ekstrak yang terfermentasi [31]. Bentuk glikosida isoflavon berubah menjadi senyawa aglikon dalam bentuk bebas yang dihasilkan oleh pelepasan glukosa dari glikosida oleh enzim β glukosidase yang terdapat di *Lactobacillus plantarum*. Proses degradasi dikatalis oleh enzim glukosidase untuk mengubah glikosida menjadi aglikon seperti genistein, daidzein dan glisitein [32]. Senyawa bioaktif isoflavon yang mengandung gugus fenolik yang mampu sebagai antioksidan dan dapat menghalangi terjadinya kerusakan akibat radikal bebas melalui dua cara, yaitu: memberikan ion hidrogen [33], dan bertindak sebagai scavenger radikal bebas secara langsung [33,34]. Demikian juga dengan senyawa hasil fermentasi yaitu, asam piruvat, asam fumarat akan didapatkan pada ekstrak yang terfermentasi karena merupakan hasil metabolit sekunder yang dihasilkan melalui proses glikolisis.

11.3.3 Potensi Senyawa Bahan Alam sebagai Anti Salmonellasis

Peran sistem imun tubuh memiliki peran yang sangat penting untuk menjaga tubuh terhadap serangan agen infeksius yang menyerang tubuh. Setiap manusia dapat mengalami penurunan system kekebalan tubuh yang disebabkan oleh bakteri patogen, virus, parasite, radiasi dan polusi dilingkungan sekitar yang dapat menyerang system imun *innate* ataupun *adaptive*. Melalui respon imun *innate* dan *adaptive* merupakan respon yang digunakan untuk mengeliminasi *Salmonella typhi* [5]. Pertahanan sistem imun non spesifik adalah pertahanan tubuh yang pertama kali dalam menghadapi serangan berbagai macam mikroorganisme, oleh karena itu dapat memberikan tanggapan secara langsung [35].

Salah satu cara untuk membunuh bakteri intraseluler, dengan cara meningkatkan aktivasi makrofag, menstimulasi sel T dan sitokin-sitokin yang sudah dilepas oleh makrofag yang berkaitan dengan proses fagositosis dan proses membunuh mikroba. Makrofag berperan penting di dalam sistem pertahanan tubuh karena kemampuan fagositosis untuk membunuh dan menghasilkan berbagai mediator inflamasi. Sel-sel efektor yang terlibat di dalam proses inflamasi akan melepaskan berbagai jenis substansi. Keberadaan dari sel-sel efektor maupun substansi yang dilepaskannya dapat dihambat ataupun dicegah oleh bahan-bahan imunomodulator, yaitu imunosupresor dan juga imunostimulator yang dapat diperoleh dari dalam maupun dari luar tubuh. Imunosupresor dari luar tubuh di antaranya dapat diperoleh dari tumbuhan herbal [36]. Infeksi yang terjadi di dalam tubuh akan berdampak munculnya berbagai respons imun yang diawali oleh meningkatnya sel fagosit yang menuju ke arah sumber infeksi. Neutrofil maupun makrofag akan bergerak ke arah sumber infeksi, selanjutnya sel yang dianggap

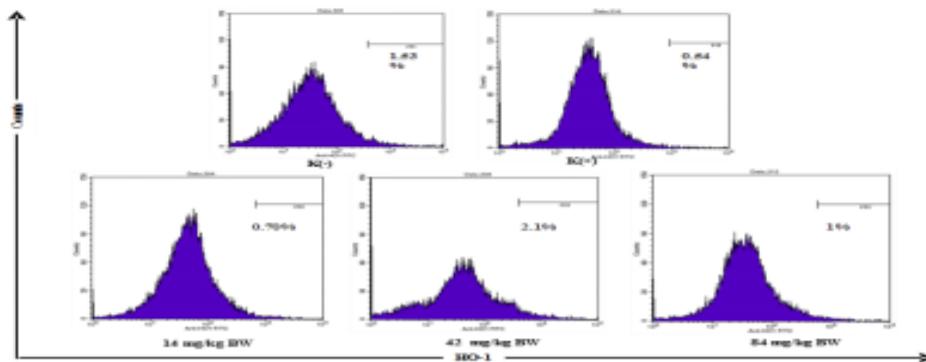
asing tersebut akan difagosit. Sedangkan proses fagositosis di dalam makrofag yang dilakukan oleh berbagai enzim, yang paling dominan adalah enzim lisosim. Hasil fagositosis tersebut berbentuk fragmen protein yang selanjutnya disajikan ke sel T untuk proses pembentukan antibodi. Berbagai sekresi makrofag saat proses eliminasi antigen berguna untuk aktivasi sel fagosit, sel B, dan sel T [37]. Setelah proses eliminasi antigen selesai, sel B akan menghasilkan antibodi.

Tanaman *Moringa oleifera Lam* memiliki sifat imunostimulator karena memiliki kandungan fitokimia maupun zat gizi yang kompleks yaitu mempunyai kandungan asam fenolik dan flavonoid [38-40]. *Lactobacillus plantarum* menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir perombakan karbohidrat, bakteriosin dan hidrogen peroksida sebagai zat antimikroba, yang berakibat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *Escherichia coli* akan dihambat [41].

11.3.4 Peningkatan HO-1, SOD-2 dan Nrf-2

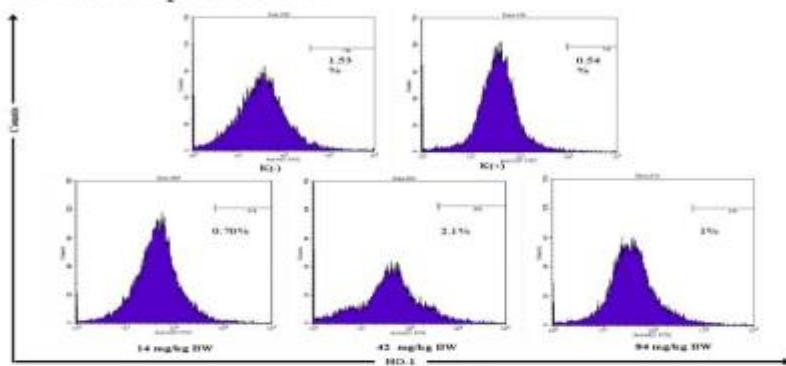
Senyawa anti-oksidatif yang berasal dari ekstrak fermentasi menghasilkan antioksidant yang kuat dengan aktivasi signaling jalur Nrf-2/HO-1, dan SOD-2.

a. Ekspresi hasil analisis HO-1 (Gambar 29)



Dari masing-masing kelompok perlakuan rerata jumlah persentase HO-1 menunjukkan hasil bahwa dosis 14 mg/kg BW , 42mg mg/kg BW, dan 84 mg/kg BW dapat memberikan hasil yang meningkat dibandingkan dengan kelompok control sakit yang tanpa penambahan ekstrak fermentasi daun kelor merah.

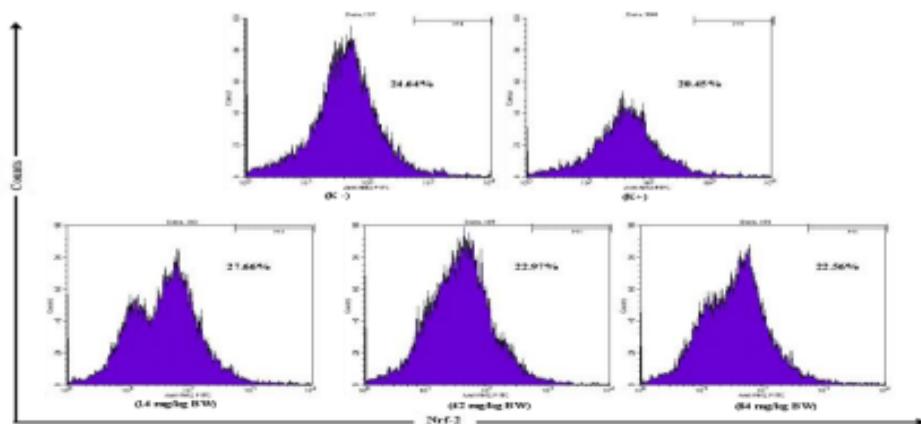
b. Hasil ekspresi SOD-2



Gambar 30

Dari masing-masing kelompok perlakuan rerata jumlah persentase SOD-2 menunjukkan hasil bahwa dosis 14 mg/kg BW , 42mg mg/kg BW, dan 84 mg/kg BW dapat memberikan hasil yang meningkat dibandingkan dengan kelompok control sakit yang tanpa penambahan ekstrak fermentasi daun kelor merah

c. Hasil ekspresi Nrf-2



Gambar 31

Dari masing-masing kelompok perlakuan rerata jumlah persentase HO-1 menunjukkan hasil bahwa dosis 14 mg/kg BW , 42mg mg/kg BW, dan 84 mg/kg BW dapat memberikan hasil yang meningkat dibandingkan dengan kelompok control sakit yang tanpa penambahan ekstrak fermentasi daun kelor merah

Hasil ekstrak fermentasi daun kelor merah oleh *lactobacillus plantarum* salah satu diantaranya dapat memberikan efek meningkatkan total protein dan bioavailabilitas zat besi [42]. Di mana zat besi berperan sebagai sebagai kofaktor enzim-enzim pada proses respirasi mitokondrial. Penurunan hasil rerata total gula pada ekstrak fermentasi daun kelor merah dikarenakan gula sukrosa, glukosa dan fruktosa yang terdapat pada daun kelor [43] digunakan oleh bakteri asam laktat dalam proses pertumbuhannya. Pada proses fermentasi terjadi metabolisme bakteri yang menggunakan glukosa sebagai nutrisi pertumbuhannya, kemudian glukosa tersebut diubah menjadi asam laktat sehingga total gula menjadi turun [44]. Keadaan glikolisis ini digunakan monosit dan makrofag sebagai energy untuk meningkatkan komsumsi oksigennya selama fagositosis [3]. Molekul oksigen akan di konversi oleh Makrofag dan neutrofil ke dalam *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang dibantu oleh

enzim IFN- γ dan TLRs untuk membunuh mikroba. Salah satu hasil respon imun seluler berupa produksi Nitrit Oksida (NO) oleh makrofag [45]. Makrofag yang diaktifasi oleh LPS (lipopolisakarida) bakteri, sel tubuh yang rusak, maupun oleh IFN- γ (interferon gamma). Jika makrofag teraktivasi maka transkripsi gen yang menginduksi iNOS akan meningkat, sehingga akan dihasilkan NO dalam jumlah yang lebih banyak. NO dalam hal ini akan berperan sebagai immunoregulator yang akan digunakan untuk membunuh *Salmonella* [3].

Senyawa flavonoid yang meningkat berperan sebagai imunostimulan yang dapat memberikan rangsangan intraseluler pada sel makrofag dan sel T agar bekerja lebih baik dan dapat menghancurkan agen infeksi yang masuk [47]. Marofag yang diaktifkan IFN- γ menyebabkan peningkatan aktivitas fagositosis. Sehingga akan menyebabkan makrofag dapat membunuh bakteri lebih cepat. Peran senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja dengan cara mengaktifasi sel NK untuk memproduksi IFN- γ . IFN- γ merupakan sitokin penting MAC (*Macrophage Activating Cytokine*) yang akan mengaktifkan makrofag dan memacu peningkatan aktivitas fagositosis [46]. Serta dapat sebagai imunostimulan yang dapat memberikan rangsangan intraseluler seperti sel T dan makrofag supaya bekerja lebih baik dalam menghancurkan infeksi yang masuk [47].

Selain itu hasil ekstrak fermentasi daun kelor merah oleh *Lactobacillus plantarum* salah satu diantaranya dapat memberikan efek meningkatkan total protein dan bioavailabilitas zat besi [42]. Di mana zat besi penting sebagai kofaktor enzim-enzim pada respirasi mitokondrial. *Lactobacillus plantarum* yang terdapat didalam ekstrak daun *Moringa oleifera* meningkatkan sintesa IL-10 dan

sekresi makrofag yang berasal dari kolon yang mengalami inflamasi [48].

Makrofag dapat diaktivasi oleh LPS (lipopolisakarida) bakteri, sel tubuh yang rusak, maupun oleh IFN- γ (*interferon gamma*). Jika makrofag teraktivasi maka transkripsi gen yang menginduksi iNOS akan berrambah, sehingga akan menghasilkan NO dalam jumlah yang lebih banyak. NO berperan sebagai immunoregulator yang digunakan untuk membunuh *Salmonella* [3]. Makrofag berperan penting di dalam sistem pertahanan tubuh dalam hal fagositosis bakteri dan menghasilkan berbagai mediator inflamasi. Sel efektor yang terlibat di dalam proses inflamasi akan melepaskan berbagai jenis substansi. Fungsi sel-sel efektor maupun substansi yang dilepaskannya dapat dihambat ataupun didorong oleh bahan-bahan imunomodulator, yaitu imunosupresor dan juga imunostimulasi yang dapat diperoleh dari dalam maupun dari luar tubuh. Imunosupresor dari luar tubuh dapat diperoleh dari tumbuhan herbal [36].

11.4 Ringkasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa anti-oksidatif yang berasal dari ekstrak fermentasi menghasilkan antioksidan yang kuat dan berkontribusi untuk aktivasi signaling jalur Nrf-2/HO-1, dan SOD-2. SOD-2 bekerja dengan cara menangkap dan menghambat produksi ROS dengan menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas atau menangkap senyawa radical (*radical scavenging*) sebagai perlindungan awal terhadap kerusakan oksidatif[49]. Sebagai pengatur stres anti-oksidatif, Nrf-2 mengatur ekspresi gen antioksidan dan fase II enzim-enzim detoksifikasi seperti heme oxygenase-1 (HO-1), NAD (P) H quinon oksidoreduktase 1 (NQO-1), dan glutamat sistein ligase katalitik subunit (GCLC) yang menangkal stres oksidatif dengan

meningkatkan penghambatan ROS [50,51]. Peradangan kronis yang tidak terkontrol dapat menyebabkan munculnya penyakit, dan karena itu agen anti-inflamasi baik dari sumber alami atau sintetis diperlukan sebagai agen terapi untuk mencegah penyakit tersebut. Adanya peningkatan total flavonoid selama fermentasi diduga akibat adanya aktivitas bakteri asam laktat selama proses fermentasi berlangsung. Bakteri asam laktat akan memproduksi enzim yang bisa membebaskan senyawa fenolik yang terdapat dalam daun kelor sehingga dapat menambah gugus fenol pada senyawa flavonoid [52]. Flavonoid merupakan imunostimulan yang dapat memberikan rangsangan intraseluler terhadap sel makrofag dan sel T agar dapat membunuh dan mengeliminasi infeksi yang masuk [47].

Daftar Pustaka

- [1] Lapaquea N, James L H, Des C J, Ste P M R, David W H, John T, Adrian P K. (2009). *Salmonella* regulates polyubiquitination and surface expression of MHC class II antigens. *PNAS* 106 : 14052-14057.
- [2] Warrington, R. Wade Watson, Harold L Kim and Francesca Romana Antonetti. (2011). An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 7(Suppl 1).
- [3] Abbas K A, Lichman A H. dan Pillai, Shiv. (2016). Basic Immunology 3e Updated Edition. Philadelphia: Elsevier. 103-107, 113-121
- [4] Santos RL, Zhang S, Tsolis RM, Bäumler AJ, and Adams LG. (2002). Morphologic and molecular characterization of *Salmonella typhimurium* infection in neonatal calves. *Vet. Pathol.* 39, 200-215
- [5] Niedergang, F., J. C. Sirard, C. T. Blanc, and J. P. Kraehenbuhl. (2000). Entry and survival of *Salmonella typhimurium* in dendritic cells and presentation of recombinant antigens do not

- require macrophagespecific virulence factors. *Proc.Natl. Acad. Sci. U.S. A* 97, 14650-1465
- [6] Mayer G. (2011). *Innate (Non Spesific) Immunity .Microbiology and Immunology on-line*. University of South Carolina
 - [7] H. Zhu, Z. Jia, H. Misra, and Y. R. Li. (2012). “Oxidative stress and redox signaling mechanisms of alcoholic liver disease: updated experimental and clinical evidence,” *Journal of Digestive Diseases*. 13, 133–142.
 - [8] D. Wu and A. Cederbaum. (2009). “Oxidative stress and alcoholic liver disease,” *Seminars in Liver Diseases*. 29, 141–154
 - [9] Ruiz S, Pergola PE, Zager RA, Vaziri ND. (2013). Targeting the transcription factor Nrf2 to ameliorate oxidative stress and inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 83(6), 10291041
 - [10] Jaeschke, H., McGill, M.R., Ramachandran. (2012). Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metab. Rev.* 44, 88–106.
 - [11] T. M. Leung and N. Nieto. (2013). “CYP2E1 and oxidant stress in alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease,” *Journal of Hepatology*. 58, 395–398.
 - [12] Itoh, K., Mimura, J., Yamamoto, M. (2010) Discovery of the negative regulator of Nrf2, Keap1: a historical overview. *Antioxid. Redox Signal.* 13, 1665–1678
 - [13] Truong, V.L., Ko, S.Y., Jun, M., Jeong, W.S. (2016). Quercitrin from Toona sinensis (Juss.) M. Roem. attenuates acetaminophen-induced acute liver toxicity in HepG2 cells and mice through induction of antioxidant machinery and inhibition of inflammation. *Nutrients*. 8, 1–16.
 - [14] Zelko IN, Mariani TJ, Folz RJ. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Bio Med* 33, 337–349
 - [15] Hidayat, Nur., Masdiana CP., dan Sri H. (2006). Mikrobiologi Industri. Penerbit Andi. Yogyakarta

- [16] Muchtadi, Tien R., dan Fitriyono A. (2010). Teknologi Proses Pengolahan Pangan. Alfabeta. Bandung
- [17] Wang, J., Cao, F., Zhu, Z., Zhang, X., Sheng, Q., Qin, W. (2018). Improvement of Quality and Digestibility of *Moringa Oleifera* Leaves Feed via Solid-State Fermentation by *Aspergillus Niger*. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*.
- [18] Muñoz, R. Rivas, B. de las F. Felipe, López de. Reverón, I. (2017). Biotransformation of Phenolics by *Lactobacillus plantarum* in Fermented Foods. *Journal of Fermented Food in Health and Disease Prevention* 4, 63-79
- [19] Hossain, Arzina. Khatun, Afifa. Munshi, M. Kamruzzaman. Hussain, Md Shakhawat. Islam, Mahfuza dan Huque, Roksana. Study on Antibacterial and Antioxidant Activities of Raw and Fermented *Moringa oleifera lam.* Leaves. *Journal of Microbiol Biotech* 4, 23-29.
- [20] Mohite, B. V., Chaudhari, G. A., Ingale, H. S. and Mahajan, V. N. (2013). Effect of fermentation and processing on *in vitro* mineral estimation of selected fermented foods. *Journal International Food Research*. 20(3), 1373-1377
- [21] Duenas. Montserrat, Dolores Fernandez, Teresa Hernandez, Isabel Estrella And Rosario Munoz. (2005). Bioactive Phenolic Compounds Of Cowpeas (*Vigna sinensis* L.). Modifications By Fermentation With Natural Microflora And With *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. *J Sci Food Agric* 85, 297–304
- [22] Martins, S., Mussatto, S. I., Avila, M. G., Saenz, M. J., Aguilar, C. N. and Teixeira, J. A. (2011). Bioactive phenolic compounds: Production and extraction by solid-state fermentation. A review. *Biotechnology Advances* 29(3), 365–373.
- [23] Wang, J., Cao, F., Zhu, Z., Zhang, X., Sheng, Q., Qin, W. (2018). Improvement of Quality and Digestibility of *Moringa Oleifera* Leaves Feed via Solid-State Fermentation by

Aspergillus Niger. International Journal of Chemical Reactor Engineering.

- [24] Ng, C. C., Wang, C. Y., Wang, Y. P., Tzeng, W. S. and Shyu, Y. T. (2011). Lactic acid bacterial fermentation on the production of functional antioxidant herbal *Anoectochilus formosanus* Hayata. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 111(3), 289–293.
- [25] Rd Laili, Erryana Martati, Muhammin Rifa'i. (2019). Immunomodulator effect of Moringa oleifera Leaves Fermented by *Lactobacillus plantarum* FNCC 0137 on *Salmonella typhi* infected Balb/C Mice. *Research Journal of Pharmacy and Technology* 12(8), 3595
- [26] Hernandez, T., Estrella, I., Perez-Gordo, M., Alegria, E. G., Tenorio, C., Ruiz-Larrea, F. (2007). Contribution of malolactic fermentation by *Oenococcusoeni* and *Lactobacillus plantarum* to the changes in the nonanthocyanin polyphenolic composition of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 5260–5266.
- [27] Djonu, A., Andayani, S., Nursyam, H. (2018). Identification Of Moringa Oleifera Leaves Content Fermented By *Rhizopus Oligosporus*. *International Journal Of Scientific & Technology Research*. Vol. 7, Issue 4
- [28] Marques, L.G.; Prado, M.M.; Freire, J.T. (2009). Rehydration characteristics of freeze-dried tropical fruits. *J. Food Sci. Technol.* 42, 1232–1237.
- [29] Comalada, M. Xaus, J. dan Gálvez, J. (2013). Flavonoids and Immunomodulation. E-book of Bioactive Food as Dietary Interventions for Arthritis and Related Inflammatory Diseases. Cahpter 43. Halaman 556, 560 dan 563
- [30] Park, H.H.; Lee, S.; Son, H.Y.; Park, S.B.; Kim, M.S.; Choi, E.J.; Singh, T.S.; Ha, J.H.; Lee, M.G.; Kim, J.E.; Hyun, M.C.; Kwon, T.K.; Kim, Y.H.; Kim, S.H. (2008). Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Arch. Pharm. Res.* 31(10), 1303-1311.

- [31] Coward, L., M. Smith, M. Kirk, and S. Barnes. (1998). Chemical modification of isoflavones in soyfoods during cooking and processing. Am. J. Clin. Nutr. 68(Suppl): 1486S-1491S.
- [32] Schmild, M.K. and T.P. Labuza. (2001). *Essentials of Functional Foods*. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- [33] Arora, A., M.G. Nair, and G.M. Strasburg. (1998). Structure – activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radic. Biol. & Med.* 24(9): 1355-1363.
- [34] Nijveldt, R.J. et al. (2001). Flavonoids : a review of probable mechanism of action and potential applications. Am. J. Clin. Nutr. 74:418-425.
- [35] Mayer G. (2011). *Innate (Non Specific) Immunity*. Microbiology and Immunology on-line. University of South Carolina
- [36] Kusmardi, Kumala S, Triana EE. (2007). Efek immunomodulator ekstrak daun ketepeng cina (Cassia allata L.) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag. J Makara Kesehatan. 11(2), 50–3
- [37] Noss, E.H., R.K. Pai, T.J. Sellati, J.D. Radolf, J. Belisle, D.T. Golenbock, W.H. Boom, and C.V. Harding. (2001). Toll-like receptor 2-dependent Inhibition of macrophage class II MHC expression and antigen processing by 19-kDa lipoprotein of *M. tuberculosis*. *J. Immunol.* 167(2), 910-918.
- [38] Mbikay, M. (2012). Therapeutic potential of *Moringa oleifera* leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review. *Front. Pharmacol.* 3, 24
- [39] Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., Gritsanapan, W. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. Ind. *Crops Prod.* 44, 566–571

- [40] Al Khateeb, W., Bahar, E., Lahham, J., Schroeder, D., Hussein, E. (2013). Regeneration and assessment of genetic fidelity of the endangered tree *Moringa peregrine* (Forssk.) Fiori using inter simple sequence repeat (ISSR). *Physiol. Mol. Biol. Plants* 19, 157–164.
- [41] Puspadiwi R, Putranti A, Gina A. (2011). Aktivitas Metabolit Bakteri *Lactobacillus plantarum* dan Perannya dalam Menjaga Kesehatan Saluran Pencernaan. *Konferensi Nasional Sains dan Aplikasinya*
- [42] Nirina, Harimalala Andriambelo. Miora, Rasoarinanahary. Vincent, Porphyre. (2007). Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of Fermented *Moringa oleifera* Leaf Powder. *European Journal of Nutrition & Food Safety* 7(1), 77-83
- [43] Leone, A., Fiorillo G., Criscuoli F., Ravasenghi S., Santagostini L., Fico G., Spadafranca A., Battezzati A., Schiraldi A., Pozzi F., DiLello S., Filippini S., Bertoli S. (2015). Nutritional Characterization and Phenolic Profiling of *Moringa oleifera* Leaves Grown in Chad, Sahrawi Refugee Camps, and Haiti *Int. J. Mol. Sci.* 16, 18923-18937
- [44] Kamsina, Anova, I. T., Firdausni. (2015). The Influence of Juice and Sugar Ratio on The Quality of Functional Drink of Pumpkin. *Jurnal Litbang Industri* Vol. 5 No. 2, 113-122
- [45] Tripathi AK, Kohli S. (2013). Phytochemical Screening And Evaluation Of Antidiabetic Activity Of Colocasia Esculenta (L) Leaves On Stz Induced Diabetic Rats. *Adv. Pharmacol. Toxicol.* 14 (2):1-12 ISSN - 0973– 2381
- [46] Sulistiani, P., R., Hesti, R., M.(2015). Pengaruh Ekstrak Lompong Mentah (*Colocasia esculenta L. Schoot*) Terhadap Aktivitas Fagositosis dan Kadar NO (Nitrit Oksida) Mencit Balb/C Sebelum dan Sesudah Terinfeksi *Listeria monocytogens*. *Journal of Nutrition College.* 4(2), 409-415.
- [47] Choudhury, S.S., Bashyam, L., Manthapuram, N., Bitla, P., Kollipara, P., Tetali, S.D., (2014).Ocimum sanctum leaf

- extracts attenuate human monocytic (THP-1) cell activation. *J. Ethnopharmacol.* 154, 148–155.
- [48] He F, Morita H, Ouwehand AC. (2002). *Stimulation of the secretion of proinflammatory cytokine by *Bifidobacterium* strain.* *Microbiol Immunol* 46; 781 -785.
- [49] Nishino Y, Takemura S, Minamiyama Y, Kazuhiro H, Tetsuya O, Inoue M, Okada S and Kinoshita H. (2003). Targeting superoxide dismutase to renal proximal tubule cells attenuates vancomycin-induced nephrotoxicity in rats. *Free Radic Res* 37, 373-379.
- [50] Khan, I., Zaneb, H., Masood, S., Yousaf, M., Rehman, H. (2017). Effect of *Moringa oleifera* Leaf Powder Supplementation on Growth Performance and Intestinal Morphology in Broiler Chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 101:114-121.
- [51] Ma, Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. (2013). *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 53, 401–426
- [52] Hernandez, T., Estrella, I., Perez-Gordo, M., Alegria, E. G., Tenorio, C., Ruiz-Larrea, F., et al. (2007). Contribution of malolactic fermentation by *Oenococcusoeni* and *Lactobacillus plantarum* to the changes in the nonanthocyanin polyphenolic composition of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5260–5266.