



**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK
BUAH KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh :

KASANG HERU COKRO F

131710101117

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK
BUAH KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh :

KASANG HERU COKRO F

131710101117

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Saya persembahkan skripsi ini untuk :

1. Orangtua tercinta, Ayahku Suryo Hadi dan Ibuku Siti Mudamiroh terima kasih atas kasih sayang, cinta dan doa yang tidak pernah hentinya diberikan untuk ku dalam berjuang hingga detik ini serta semangat yang luar biasa;
2. Guru dan orang tua di Jember, Pak Kyai Ahmad Nafi' dan Bu Nyai Mudliatul Husna, selaku Pengasuh Pondok Pesantren Raden Rahmat Sunan Ampel;
3. Kakak laki – lakiku Zaddal Husen, Kakak perempuanku Maula Paramitha W, dan Adikku Fasisal Fahmi, Maula Nova Ardana P, dan Maula Sandra Rumining T yang telah memberi spirit dan saling menginspirasi dalam mencapai kebahagiaan dunia dan akhirat;
4. Kepada seluruh Keluarga Besar HMI Komisariat Teknologi Pertanian Universitas Jember
5. Seluruh teman – teman seperjuangan THP – B angkatan 2013; dan
6. Almamater tercinta Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

MOTTO

“Menuntut ilmu adalah taqwa. Menyampaikan ilmu adalah ibadah. Mengulang-ulang ilmu adalah zikir. Mencari ilmu adalah jihad.”

-Abu Hamid Muhammad bin Muhammad al Ghazali (Imam Ghazali)-

“Hakikat hidup bukanlah apa yang kita ketahui, bukan buku-buku yang kita baca atau kalimat-kalimat yang kita pidatikan, melainkan apa yang kita kerjakan, apa yang paling mengakar di hati, jiwa dan inti kehidupan kita.”

-Emha Ainun Nadjib-

“Anda tahu bahwa setiap anak memiliki kebutuhan berbeda, tetapi keseragaman telah mengalahkan keberagaman sebagai prinsip dasar birokrasi.”

-Nadiem Makarim-

“Yakinkan dengan Iman, Usahakan dengan Ilmu, Sampaikan dengan Amal. Kerja Keras, Kerja Ikhlas, Kerja Cerdas, Kerja Tuntas. Dengan Ridha ALLAH Yakini Usaha Sampai”

-Himpunan Mahasiswa Islam-

“Buatlah hidupmu berarti dengan selalu mencintai, menyayangi dan berbagi kepada seluruh makhluk, karena hidup di dunia hanya sekali”.

-Kasang Heru C F-

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kasang Heru Cokro F

NIM : 131710101117

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*”** adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 26 Oktober 2019

Kasang Heru Cokro F

NIM 131710101117

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK
BUAH KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

Oleh

Kasang Heru Cokro F

131710101117

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Sony Suwasono, M. App. Sc.
Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Jayus

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***” karya Kasang Heru Cokro F, NIM 131710101117, telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada :

Hari, tanggal :
Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Dr. Ir. Sony Suwasono, M. App. Sc.
NIP. 196411091989021002

Dr. Ir. Jayus
NIP. 196805161992031004

Tim Penguji

Dosen Penguji Utama

Dosen Penguji Anggota

Ir. Giyarto M.Sc.
NIP. 196607181993031013

Ardiyan Dwi Mashadi, S.TP., M.P.
NIP. 198503292019031011

Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember,

Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng
NIP. 196809231994031009

RINGKASAN

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIBAKTERI EKSTRAK BUAH KELOR (*Moringa Oleifera* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*; Kasang Heru Cokro F; 131710101117; 48 halaman; Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan tanaman yang familiar bagi masyarakat karena persebarannya luas dan hampir dapat ditemui di seluruh wilayah Indonesia. Hampir semua bagian kelor dapat dimanfaatkan termasuk bagian daun dan buah kelor (*klentang*). Selama ini pemanfaatan tanaman kelor hanya sebatas dikonsumsi sebagai masakan *sayur* kelor. Biji buah kelor diketahui mampu menurunkan lipid peroksida hati dan antihipertensi. Biji buah kelor mengandung senyawa bioaktif seperti minyak atsiri, polifenol dan saponin. Biji buah kelor berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan antibakteri. Namun, kemampuan antibakteri dari buah kelor belum diketahui secara spesifik. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antibakteri dan antioksidan buah kelor.

Penelitian ini dilakukan dalam empat tahapan proses yaitu pembuatan bubuk buah kelor, pembuatan ekstrak kental buah kelor, karakterisasi ekstrak buah kelor meliputi total polifenol (*Follin-Ciocalteau*) dan aktivitas antioksidan (*DPPH scavenging activity*) serta uji penghambatan pertumbuhan bakteri menggunakan metode dilusi agar dengan penentuan nilai IC_{50} . Bagian buah kelor yang digunakan untuk karakteristik ekstrak buah kelor yaitu, daging, daging kulit dan biji buah kelor. Sedangkan pengujian aktivitas antibakteri bagian buah yang digunakan adalah bagian yang memiliki hasil pengujian polifenol tertinggi yaitu biji buah kelor.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total polifenol ekstrak biji, daging buah, dan kulit buah kelor berturut-turut sebesar 7,78 mgGAE/ml; 4,45 mgGAE/ml; dan 6,93 mgGAE/ml. Nilai aktivitas antioksidan ekstrak biji, daging buah, dan kulit buah

kelor masing-masing adalah 32,46%; 34,19%; dan 42,95%. Perbedaan nilai tersebut disebabkan kadar senyawa flavonoid di dalam setiap ekstrak berbeda. Pengujian antibakteri menggunakan bagian buah yang memiliki hasil uji total polifenol tertinggi yaitu bagian biji. Uji dilusi cair *Escherichia coli* menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 10,16 mg/ml. Uji dilusi cair *Staphylococcus aureus* menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 9,22 mg/ml. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalamnya.

SUMMARY

ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF MORINGA FRUIT (*Moringa Oleifera* L.) EXTRACT TOWARD *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*; Kasang Heru Cokro F; 131710101117; 48 pages; Department of Agricultural Product Technology Faculty of Agricultural Technology University of Jember.

Moringa (Moringa oleifera L.) is a well-known plant in society because of its widespread and easy to find throughout Indonesia. Almost all parts of *Moringa* can be utilized, including the leaves and fruit of *Moringa* (klentang). All this time, the use of *Moringa* plants is limited to consumption as a vegetable only. *Moringa* fruit seeds are known to reduce liver lipid peroxide and antihypertension. *Moringa* fruit seeds contain bioactive compounds such as essential oils, polyphenols, and saponins, which are potential. *Moringa* fruit seeds are one of the natural ingredients that have the potential to be developed as an antibacterial. However, the antibacterial ability of *Moringa* does not observe yet. Therefore, this study aims to determine f the antibacterial activity of *Moringa* fruit seeds ability.

This research has four stages. The stages are *Moringa* fruit powder preparation, *Moringa* fruit thick extract preparation, characterization of *Moringa* fruit extract including total polyphenols (Follin-Ciocalteau), antioxidant activity (DPPH scavenging activity) and continued by bacterial growth inhibition test using dilution method to determine the IC₅₀ score. The parts of *Moringa* fruit which used for the characteristics of *Moringa* fruit extract were meat, skin, flesh, and seeds of *Moringa* fruit. *Moringa* fruit seeds ere used for testing the antibacterial activity since they have the highest polyphenol test results.

The results showed that the total polyphenol extracts of seeds, fruit flesh, and skin of *Moringa* fruit were 7.78 mgGAE/ml, 4.45 mgGAE/ml, and 6.93 mgGAE/ml. The antioxidant activity values of seed extract, pulp, and rind of *moringa* were 32.46%, 34.19%, and 42.95%. The difference in results is due to the level of flavonoid compounds in each extract is different. Antibacterial testing

uses the fruit that has the highest total polyphenol test results, namely the seed. The *Escherichia coli* liquid dilution assay showed an IC_{50} value of 10.16 mg/ml. *Staphylococcus aureus* liquid dilution test showed IC_{50} value of 9.22 mg/ml. Gram-positive bacteria tend to be more sensitive to antibacterial components. It is due to the simple cell structure of gram-positive



PRAKATA

Rasa syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya yang luar biasa besar, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Buah Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* “** dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S-1) di Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karenanya penulis menyampaikan rasa terima kasih yang teramat dalam kepada :

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Dr. Ir. Jayus., selaku Koordinator Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc. selaku dosen pembimbing utama, Dr. Ir. Jayus selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam membimbing penelitian skripsi ini;
4. Ir. Giyarto, M.Sc selaku dosen penguji utama, Ardiyan Dwi Masahid, S.TP., M.P selaku dosen penguji anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran dalam membimbing serta memperbaiki skripsi ini;
5. Ibuku Siti Mudamiroh, Ayahku Suryo Hadi yang telah memberikan cinta kasih, dorongan, doa, dan kerja keras dalam kehidupanku;
6. Guru dan Orang Tua di Jember, Pak Kyai Ahmad Nafi dan Bu Nyai Mudliatul Husna
7. Kakakku Zaddal Husen, Maula P Wulandaru dan Adik – adikku Faisal Fahmi, Maula Nova A P, Maula Sandra R terima kasih atas bantuan, doa, dan semangatnya;
8. Keluarga besar Bani Amdrim yang telah memberikan support dan do'a

terbaik;

9. Keluarga besar HMI Komisariat Teknologi Pertanian, terima kasih atas kekeluargaannya dan pengalaman selama berproses didalamnya. We Are HMI KOMTP (WAH TP);
10. Keluarga besar HMI Cabang Jember, terima kasih atas kekeluargaannya dan pengalaman selama berproses didalamnya. Khususnya saudara seperjuangan Ali Ridho G, Dyah Ratna S, Riza Putri A dan Dimas Y;
11. Sahabat Perjuangan, dulur – dulur HMI angkatan 2013. Terimakasih, bangga bisa mengenal kalian;
12. Seluruh teman – teman Kelas THP B (Keluarga Kapak Corporation) yang selalu support dan saling menyemangati selama perkuliahan;
13. Teman – teman BEM FTP dan BEM KM UNEJ, terima kasih atas kekeluargaannya, cerita dan pengalaman selama berproses di dalamnya;
14. Fi'isatil Kamilah syukur teramat sangat karena aku bisa mengenal mu;
15. Segenap dosen dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian yang telah membantu kelancaran proses pembuatan skripsi ini;
16. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu-satu, terima kasih atas dukungan dan kerjasamanya.

Penulis sadar bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna dan memiliki banyak kesalahan. Penulis berharap kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi sempurnanya tulisan ini. Semoga skripsi ini dapat menambah pengetahuan bagi pembaca.

Jember, Maret 2018

Penulis

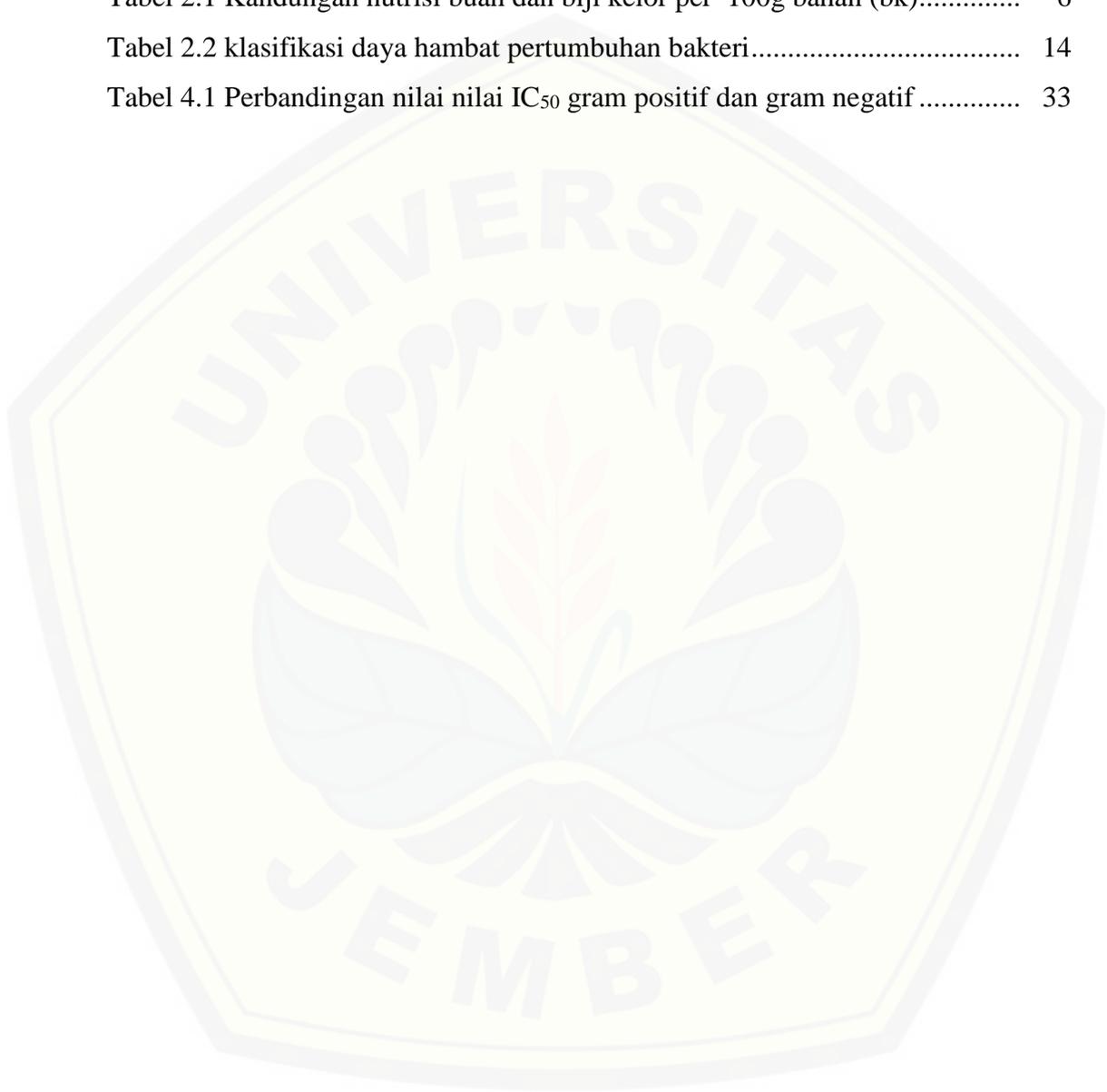
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
PRAKATA	xii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	4
2.2 Buah Kelor (Klentang)	5
2.3 Bakteri	7
2.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.3.2 <i>Escherichia coli</i>	9
2.4 Antioksidan	10
2.5 Polifenol	11

2.6 Antibakteri	12
2.7 Metode Ekstraksi	12
2.7.1 Cara Dingin.....	13
2.7.2 Cara Panas.....	14
2.8 Metode Pengujian Antibakteri	14
2.8.1 Metode Difusi	15
2.8.2 Metode Dilusi	16
2.8.3 Bioautografi	17
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	19
3.2.1 Bahan Penelitian	19
3.2.2 Alat Penelitian.....	19
3.3 Metode Penelitian	20
3.3.1 Pelaksanaan Penelitian.....	20
3.3.2 Prosedur Analisis	22
3.4 Analisis Data	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Total Polifenol Ekstrak Buah Kelor	26
4.2 Aktivitas Antioksidan Buah Kelor	27
4.3 Persen Hambat Escherichia coli	29
4.4 Persen Hambat Bacillus subtilis	32
BAB 5. PENUTUP	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	41

DAGTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan nutrisi buah dan biji kelor per 100g bahan (bk).....	6
Tabel 2.2 klasifikasi daya hambat pertumbuhan bakteri.....	14
Tabel 4.1 Perbandingan nilai nilai IC ₅₀ gram positif dan gram negatif	33

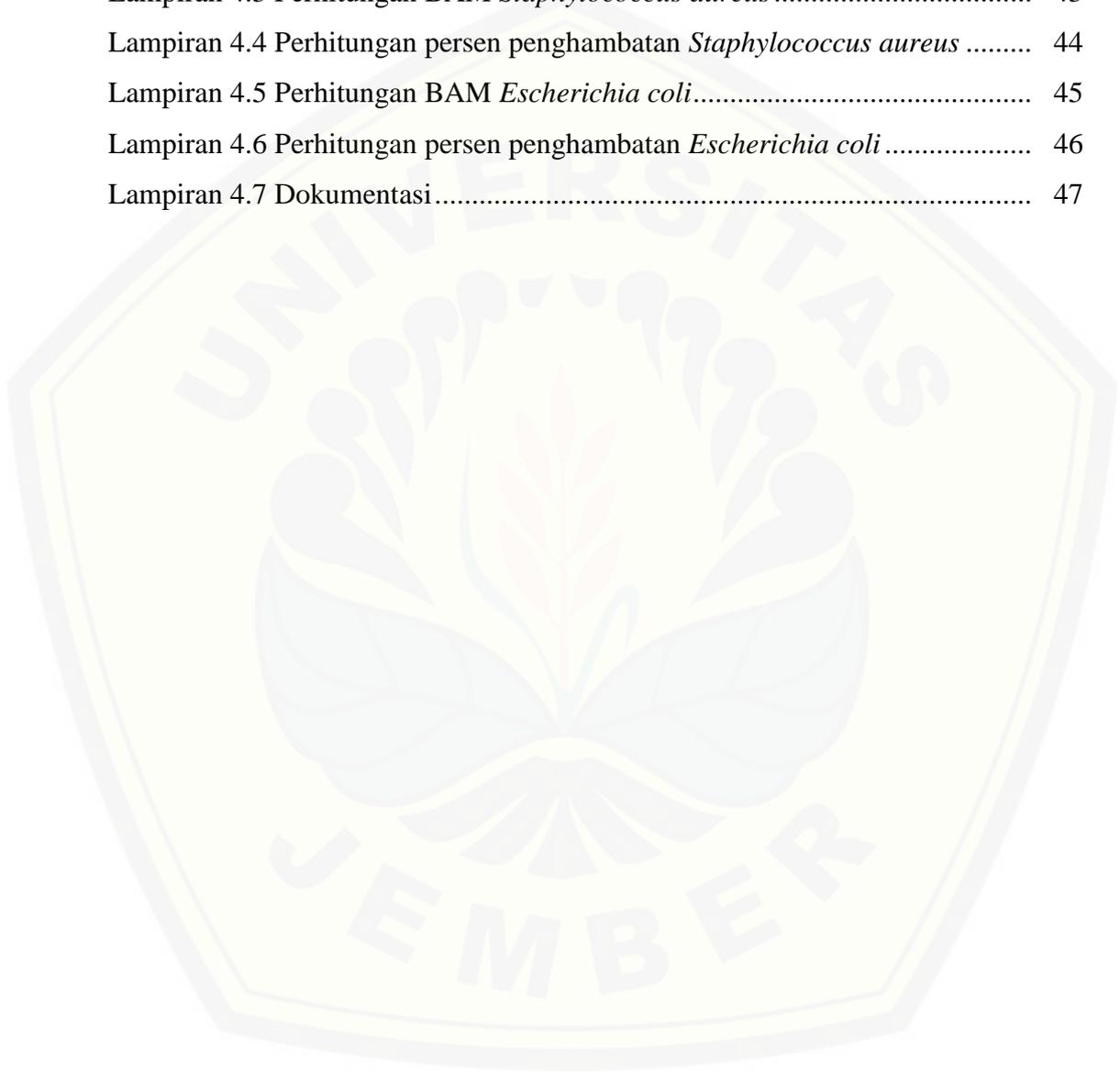


DAGTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman kelor.....	4
Gambar 2.2 Buah kelor (klentang).....	6
Gambar 3.1. Pembuatan serbuk buah kelor	20
Gambar 3.2 Pembuatan ekstrak buah kelor.....	21
Gambar 4.1 Total polifenol ekstrak buah kelor	25
Gambar 4.2 Aktivitas antioksidan ekstrak bagian buah kelor.....	26
Gambar 4.3 Kurva hubungan penghambatan ekstrak buah kelor terhadap <i>E.coli</i> menggunakan kurva reguler	28
Gambar 4.4 Kurva hubungan penghambatan ekstrak buah kelor <i>Escherichia coli</i> menggunakan kurva logaritmik.....	29
Gambar 4.5. Kurva hubungan penghambatan ekstrak buah kelor terhadap pertumbuhan <i>S. aureus</i> . menggunakan kurva reguler.....	31
Gambar 4.6 Kurva hubungan penghambatan ekstrak buah kelor terhadap Pertumbuhan <i>S. aureus</i> menggunakan kurva logaritmik	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 4.1 Perhitungan total polifenol ekstrak buah kelor.....	40
Lampiran 4.2 Perhitungan aktivitas antioksidan ekstrak buah kelor	42
Lampiran 4.3 Perhitungan BAM <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Lampiran 4.4 Perhitungan persen penghambatan <i>Staphylococcus aureus</i>	44
Lampiran 4.5 Perhitungan BAM <i>Escherichia coli</i>	45
Lampiran 4.6 Perhitungan persen penghambatan <i>Escherichia coli</i>	46
Lampiran 4.7 Dokumentasi.....	47



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Permasalahan infeksi saluran pencernaan di Indonesia tergolong tinggi. Salah satu penyakit infeksi saluran pencernaan yang sering menjangkit masyarakat adalah diare. Diare adalah buang air besar dengan konsistensi lembek atau cair, bahkan dapat berupa air saja dengan frekuensi lebih sering dari biasanya (tiga kali atau lebih) dalam satu hari (Kemenkes RI, 2015). Munculnya penyakit diare adalah salah satu indikator minimnya masyarakat dalam menjaga kebersihan sanitasi. Dalam kondisi yang paling parah, diare dapat menyebabkan kematian. Tercatat pada tahun 2013 terjadi 646 kasus dengan jumlah kematian 7 orang dan mengalami peningkatan pada tahun 2015 menjadi 30 orang (Kemenkes RI, 2015). Infeksi disebabkan karena bakteri patogen yang masuk kedalam tubuh manusia menyerang terhadap sistem pencernaan atau sistem yang lain, sehingga menyebabkan manusia menjadi sakit.

Tindakan pengendalian infeksi akibat bakteri patogen dilakukan dengan pemberian antibiotik. Menurut Ivanova *et al.*, (2015) antibiotik adalah agen yang dapat menghambat dan mencegah pertumbuhan dan proliferasi oleh bakteri serta efektif membunuh sel bakteri tertentu dalam tubuh manusia. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan terus menerus dalam kurun waktu yang lama dapat menimbulkan resistensi. Oleh sebab itu, salah satu cara untuk menggantikan penggunaan antibiotik sintetis yaitu dengan menggunakan zat alami atau bioaktif alami yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri.

Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai tanaman padat nutrisi dan berkhasiat obat. Tanaman kelor banyak mengandung berbagai molekul penghambat radikal bebas, seperti senyawa fenolik (asam fenolik, flavonoid, kuinon, kumarin, lignan, stilbenes, tanin), senyawa nitrogen (alkaloid, amina, betalain), vitamin, terpenoid (termasuk karotenoid), dan beberapa metabolit endogen lainnya yang kaya akan aktivitas antioksidan (Karyadi, 2004). Senyawa ini umumnya bersifat polar sehingga

diperlukan pelarut yang juga bersifat polar. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah air. Penggunaan pelarut air dikarenakan murah, mudah diperoleh, stabil, tidak beracun, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar sehingga diharapkan dapat mencari lebih banyak senyawa bioaktif. Selain itu untuk memperoleh ekstrak buah kelor dilakukan dengan metode digesti. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes, 2000).

Pencarian senyawa bioaktif yang memiliki sifat antibakteri dari buah kelor telah dilakukan. Salah satunya penelitian yang dilakukan Manurung, *et al* (2016), menunjukkan ekstrak biji kelor memiliki aktivitas antibakteri untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi hambat minimum masing-masing adalah 200 mg/mL dan 100 mg/mL serta konsentrasi bunuh minimum untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah 500 mg/mL dan 400 mg/mL. Oleh karena itu, penelitian terkait aktivitas antibakteri ekstrak buah kelor dengan pelarut air perlu dilakukan sebagai alternatif sediaan alami yang dapat digunakan sebagai antibakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Buah kelor berpotensi untuk digunakan sebagai antibakteri alami. Kandungan senyawa bioaktif diantaranya adalah flavonoid, saponin dan minyak atsiri dapat berperan sebagai antibakteri. Namun, senyawa bioaktif ini berada didalam buah yang harus dilakukan ekstraksi terlebih dahulu untuk mendapatkan komponen senyawa bioaktif dalam buah kelor. Penelitian ini dilakukan dengan cara memanfaatkan bagian dari buah kelor menjadi beberapa bagian seperti daging buah, daging yang menyatu dengan kulit dan biji buah kelor. Pemanfaatan selanjutnya digunakan sebagai antibakteri pada *Escherichia coli* dari jenis bakteri gram negatif dan *Staphylococcus aureus* dari bakteri gram positif.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

1. mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak buah kelor (*Moringa oleifera* L.), dan
2. mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak buah kelor terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah :

1. meningkatkan nilai guna dan nilai ekonomi buah kelor dalam bentuk ekstrak, dan
2. informasi sumber antibakteri baru dan memberikan referensi apabila akan dilakukan penelitian lebih lanjut yang berhubungan dengan aktivitas antibakteri dari ekstrak buah kelor (*Moringa oleifera* L.).

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

Indonesia merupakan salah satu negara dengan kekayaan biodiversitas yang tinggi, hampir 90% jenis tanaman tumbuh di tanah Indonesia. Termasuk salah satunya adalah tanaman kelor atau dalam bahasa latin tanaman ini bernama *Moringa oleifera*. Tanaman ini familiar hampir seluruh masyarakat di Indonesia. Tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) ditunjukkan pada Gambar 2.1 dan Klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Klas	: Magnoliopsida
Ordo	: Capparales
Familia	: Moringaceae
Genus	: <i>Moringa</i>
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i> Lamk (Krisnadi, 2015)



Gambar 2.1 Tanaman kelor (ACIAR, 2010)

Di Indonesia setiap daerah memiliki nama tersendiri untuk tanaman kelor diantaranya kelor (Jawa, Sunda, Bali, Lampung), maronggih (Madura), moltong

(Flores), Keloro (Bugis), ongge (Bima), murong atau barunggi (Sumatera) dan hau fo (Timur).

Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tumbuhan berbentuk pohon yang tingginya mencapai 7 – 12 m. Tanaman ini memiliki umur panjang (perennial). Tanaman kelor memiliki batang berkayu (*lignosus*), tegak, berwarna putih bercorak, kulitnya tipis, dan memiliki permukaan besar. Budidaya tanaman kelor dapat dilakukan dengan dua cara yaitu menanam biji (generatif) dan Stek batang (vegetatif). Tanaman ini dapat tumbuh di daratan rendah maupun dataran tinggi hingga ketinggian ± 1000 m dpl. Salah satu keunikan tanaman ini yaitu dapat mudah tumbuh di segala jenis tanah dan kondisi lingkungan meski dalam kondisi ekstrim seperti temperatur yang sangat tinggi, di bawah naungan dan dapat bertahan hidup di daerah bersalju. Tanaman kelor biasa ditanam sebagai tanaman pagar di halaman rumah atau ladang.

Pada tanaman kelor hampir semua bagiannya dapat dimanfaatkan mulai dari daun, akar, biji, kulit kayu, buah, bunga dan polong matang. Manfaat tersebut yaitu stimulan jantung dan peredaran darah, memiliki antitumor, antipiretik, antiepilepsi, antiinflamasi, antiulcer, antispasmodic, diuretik, antihipertensi, penurun kolesterol, antioksidan, antidiabetik, aktivitas hepatoprotektif, antibakteri dan antijamur (Anwar, *et al*, 2007). Daun Kelor telah dilaporkan menjadi sumber yang kaya β -karoten, protein, vitamin C, kalsium dan kalium, dan menjadi sumber makanan yang baik sebagai antioksidan alami, karena adanya berbagai jenis senyawa antioksidan seperti asam askorbat, flavonoid, fenolat dan karotenoid (Becker, 2003).

2.2 Buah Kelor (Klentang)

Buah kelor atau orang jawa menyebutnya klentang, merupakan buah yang dihasilkan oleh tanaman kelor. Tanaman kelor akan berbuah pada saat usianya 12 – 18 bulan. Buah kelor berbentuk segi tiga memanjang dengan panjang sekitar 20 – 60 cm, berwarna hijau ketika masih muda dan berubah warna menjadi coklat ketika tua (Tilong, 2012).



Gambar 2.2 Buah kelor (kentang)

Adanya kandungan gizi yang kompleks pada buah kelor menjadikannya sebagai bahan makanan yang bergizi dan memiliki khasiat tertentu. Nutrisi yang terkandung didalam buah kelor disajikan dalam tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi buah dan biji kelor

No	Komponen	Buah	Biji
1.	Kadar air (%)	86.9	3.11
2.	Kalori (Kcal/100 g)	26	32.19
3.	Protein (g)	2.5	32.4
4.	Lemak (g)	0.1	15.87
5.	Karbohidrat (g)	3.7	5.58
6.	Serat (g)	4.8	15.96

Sumber : Syarifah *et al.*, 2015

Kemampuan tanaman kelor sebagai antibakteri telah ditunjukkan oleh beberapa penemuan diantaranya yang dilakukan oleh Manurung, *et al* (2016), menunjukkan bahwa ekstrak biji kelor memiliki aktivitas antibakteri untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi hambat minimum masing masing adalah 200 mg/mL dan 100 mg/mL serta konsentrasi bunuh minimum untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* adalah 500 mg/mL dan 400 mg/mL dilihat dari tidak adanya pertumbuhan koloni pada media agar pada masing masing bakteri.

2.3 Bakteri Patogen Penyebab Diare

Bakteri adalah mikroorganisme yang termasuk dalam kelas Schizomycetes. Susunan struktur tubuh bakteri sangat sederhana, yaitu : genom (DNA), ribosom, membran sel, dinding sel dan lapisan permukaan (surface layer). Karena ukuran sel yang kecil, satuan unit untuk menyatakan ukuran bakteri adalah μm (mikron). Secara umum bakteri berukuran antara 0.1 – 600 μm . Bakteri yang berbentuk bulat berdiameter 0.2 – 2 μm sedangkan bakteri dengan bentuk basilus memiliki panjang 2 – 10 μm dengan lebar 0.2 – 1.5 μm (Agustina, 2017).

Dinding sel adalah struktur kompleks yang membungkus bagian inti bakteri. Berdasarkan susunan dinding sel, bakteri dapat dibedakan menjadi bakteri gram positif dan gram negatif. Menurut Madigna *et al.*, (2000), bakteri gram positif mengandung 90 % peptidoglikan serta lapisan tipis asam teikoat dan asam teikuronat. Sedangkan bakteri gram negatif, terdapat lapisan di luar dinding sel yang mengandung 5-20 % peptidoglikan. Lapisan ini tersusun oleh fosfolipid, polisakarida dan protein.

2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Jenis	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Rosenbach, 1884)

S. aureus adalah bakteri gram positif berbentuk bulat dengan diameter 0,7 – 1,2 μm , hidup berkelompok yang tidak teratur seperti buah anggur dan membentuk pigmen kuning keemasan. Bakteri ini bersifat aerob dan anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, tidak bergerak (non-motil) dan mampu memfermentasi mannitol serta dapat menjalankan dua macam metabolisme yaitu respirasi maupun fermentasi. Suhu pertumbuhan *S. aureus* berkisar pada

temperatur 7 – 48,5°C dengan suhu optimum pertumbuhan 30 - 37°C. Kisaran pH pertumbuhan antara 4,5 hingga 9,3, dengan pH optimum berkisar 7,0 – 7,5 (Bannet dan Monday, 2003). Pada kondisi aktivitas air (aw) 0,83 – 0,99 bakteri ini masih mampu tumbuh (Le Loir *et al.*, 2003).

S. aureus merupakan penyebab terjadinya infeksi dan keracunan makanan pada manusia. Menurut Kusuma (2009), *S. aureus* merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindrom syok toksik. Kontaminasi *S. aureus* pada makanan dikenal dengan istilah *foodborne disease* (FBD), proses kontaminasi ini terjadi selama persiapan dan pengolahan makanan. Hal ini disebabkan karena bakteri tersebut mampu menghasilkan toksin yang berupa enterotoksin di dalam saluran pencernaan seseorang yang terkontaminasi. Gejala awal keracunan akibat enterotoksin stafilokoki ditandai dengan mual, muntah, kram perut dan prostrasi.

2.3.2 *Escherichia coli*

Klasifikasi *E. coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Eubacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Jenis	: <i>Escherichia coli</i> (Songer dan Post, 2005)

E. coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang pendek yang dengan panjang sekitar 2 µm, diameter 0,7 µm, lebar 0,4 – 0,7 µm dan bersifat anaerob fakultatif. Bakteri ini hidup berkoloni dengan bentuk bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz *et al.*, 2012). *E. coli* dapat hidup pada rentang suhu 20 - 40°C dengan suhu optimumnya pada 37°C (Sutiknowati, 2016). Berdasarkan serotipe dan virulensi, strain *E. coli* dibedakan menjadi enam golongan, yaitu *enterotoksigenik* (ETEC), *enteroinvasif* (EIEC), *enteropatogenik* (EPEC), *enterohemorhagik* (EHEC), *enteroagregatif* (EAEC), dan *nekrotoksigenik* (NTEC) (Sommer *et al.*, 1994).

Secara alami *E. coli* banyak ditemukan pada saluran pencernaan hewan dan manusia karena bakteri ini merupakan mikro flora dalam tubuh. Menurut Kaper *et al.*, (2004) bakteri ini banyak terdapat di usus besar. Bakteri *E. coli* yang berada di dalam usus besar manusia berfungsi untuk menekan pertumbuhan bakteri jahat dan berperan sebagai mikrobiota usus yang membantu proses pencernaan termasuk pembusukan sisa-sisa makanan dalam usus besar. Bakteri ini akan berbahaya apabila jumlahnya berlebihan dari ambang batas normal keberadaannya dalam tubuh sehingga dapat mengakibatkan diare dan jika menjalar ke sistem atau organ yang lain, maka akan dapat menyebabkan infeksi (Sutiknowati, 2016).

2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang dapat menyerap dan menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah munculnya penyakit – penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Sejatinya antioksidan di dalam tubuh dibutuhkan untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah terjadinya kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein dan lemak. Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa pemberi elektron (electron donors) dan secara biologis merupakan senyawa yang mampu mengatasi dampak negatif oksida dalam tubuh seperti kerusakan elemen vital sel tubuh. Jika dibedakan berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi tiga golongan :

1. Antioksidan endogen atau enzim antioksidan adalah antioksidan yang diproduksi di dalam tubuh manusia secara alami, contohnya seperti enzim Superoksida Dismutase (SOD), Glutation Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT).
2. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang dibuat menggunakan senyawa kimia sehingga memiliki fungsi seperti antioksidan umumnya. Antioksidan golongan ini banyak digunakan pada produk pangan, contohnya seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).

3. Endogen dan eksogen. Antioksidan endogen adalah enzim – enzim yang bersifat antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutathione peroksidase, sedangkan antioksidan eksogen yaitu antioksidan yang didapatkan dari luar tubuh atau makanan.

Menurut Werdhasari (2014), bahan alam banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya, antara lain vitamin C, vitamin E, provitamin A, organosulfur, dan flavonoid.

2.5 Polifenol

Polifenol adalah senyawa yang terdiri dari banyak rangkaian sejumlah gugus fenol dan disertai dengan adanya satu cicin gugus aromatik. Polifenol banyak ditemukan pada tumbuhan seperti sayuran, buah – buahan, kacang – kacangan dan minyak zaitun. Senyawa polifenol dapat dikelompokkan dalam subkelas yakni flavonol, isoflavon (dalam kedelai), flavanon, antosianidin, katekin, dan biflavan. Turunan dari katekin seperti epikatekin, epigalo-katekin, epigalo-katekin galat, dan quercetin umumnya ditemukan dalam teh dan apel (Pazil, 2009).

Polifenol sering ditemukan dalam bentuk glikosida polar dan mudah larut dalam pelarut polar (Hosttetman *et al.*, 1986). Polifenol memiliki sifat kelarutan pada suatu pelarut yang berbeda – beda karena dipengaruhi oleh perbedaan jumlah dan posisi gugus hidroksil. Turunan polifenol sebagai antioksidan dapat berfungsi untuk menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Menurut Gill (2002) polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan pengganti konsumsi antioksidan sintetis.

Kandungan polifenol pada tumbuhan dipengaruhi beberapa faktor lingkungan dan proses pengolahan seperti paparan sinar matahari, curah hujan, tingkat kematangan, penyimpanan dan metode pengolahan pangan (Watson *et al.*, 2013). Polifenol akan mengalami degradasi saat kelembaban atau kadar air tinggi

pada sampel yang menyebabkan aktivasi enzim, sehingga penggunaan sampel dalam bentuk kering atau beku dapat meminimalisir terjadinya degradasi (Tsao, 2010).

2.6 Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang memiliki efek dan cara kerjanya bertujuan untuk mencegah atau menghambat pertumbuhan dan proliferasi bakteri. Pada kondisi tertentu antibakteri juga dapat secara efektif membunuh sel bakteri tertentu (Ivanova *et al.*, 2015). Berdasarkan aktivitasnya, antibakteri dibagi menjadi dua yaitu aktivitas bakterostatik dan aktivitas bakterisidal (Brooks *et al.*, 2005). Didalam mekanisme kerja antibakteri untuk mencegah atau menghambat pertumbuhan dan proliferasi bakteri, antibakteri memiliki efektivitas yang berbeda – beda. Beberapa faktor yang mempengaruhi efektivitas antibakteri yaitu, ukuran volume populasi bakteri, kadar air, suhu, konsentrasi antibakteri, pH dan kandungan bahan organik (Ristiati, 2000).

Kerja antibakteri dalam mencegah atau menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan merusak salah satu bagian pada struktur sel bakteri. Menurut Pelczar dan Chan (1998), Kerusakan yang sengaja dilakukan dengan menggunakan bahan antibakteri antara lain merusak dinding sel, mengubah permeabilitas sel, mengubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja enzim serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein. Menurut Agustina (2017) struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubahnya setelah dibentuk. Sedangkan permeabilitas sel berkaitan dengan keluar masuknya bahan-bahan tertentu dalam sel dan memelihara integritas komponen-komponen seluler, bila membran dirusak akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau kematian sel. Perubahan protein dan asam nukleat dapat dilakukan dengan mendenaturasinya menggunakan suhu tinggi dan zat kimia pada konsentrasi pekat dapat mengakibatkan koagulasi pada komponen sel yang bersifat irreversibel.

2.7 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan dua zat atau lebih dengan menggunakan pelarut yang tidak saling campur sehingga menghasilkan dua bagian yang terpisah. Ekstraksi biasanya bertujuan untuk menargetkan senyawa tertentu, diantaranya : senyawa bioaktif yang tidak diketahui, senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme, dan sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural (Sarker *et al.*, 2006). Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisan dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan fenol. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang terkandung dalam simplisan akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Depkes RI, 2000).

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstrak senyawa aktif dari simplisan nabati atau simplisan hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditentukan. Hasil ekstrak yang diperoleh tergantung pada beberapa faktor, yaitu kondisi alamiah senyawa tersebut. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000). Ada beberapa cara metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu:

1. Cara Dingin

- a. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.
- b. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahapan pengembangan bahan,

tahapan maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

2. Cara Panas

- a. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna.
- b. Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
- c. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C.
- d. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air 96-98 °C (bejana infus tercelup dengan penangas air mendidih selama 15-20 menit). Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI, 2000).

2.8 Metode Pengujian Antibakteri

Metode pengujian antibakteri biasanya dilakukan menggunakan tiga metode yaitu difusi, dilusi dan bioautografi (Cos *et al.*, 2006). Berikut adalah penjelasan mengenai metode pengujian antibakteri :

2.8.1 Metode difusi

Metode difusi merupakan metode yang sering digunakan pada uji antibakteri (Coyle dan Marie, 2005). Metode difusi dilakukan dengan memasukkan senyawa uji pada konsentrasi tertentu kedalam media yang telah diinokulasi dengan bakteri, selanjutnya diukur luasan zona hambat pada akhir inkubasi. Setelah itu, hasil inkubasi disimpan pada suhu yang lebih rendah selama beberapa jam agar mengoptimalkan difusi dan menjaga diameter zona hambat mengalami perubahan (Cos *et al.*, 2006). Ada tiga macam metode difusi

yaitu difusi cakram, difusi sumuran, dan metode agar plag diffusion (Coyle dan Marie, 2005). Macam – macam metode difusi sebagai berikut :

a. Metode difusi cakram

Prinsip dari metode difusi cakram adalah bahan atau sample yang akan dijadikan antimikroba direndam bersamaan dengan kertas cakram. Kemudian cakram dimasukkan ke dalam media padat yang berisi kultur bakteri (Filho dan Cordeiro, 2014). Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam. Selanjutnya agen antibakteri berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan adanya zona jernih disekitar cakram uji. Efektifitas antibakteri didasarkan pada klasifikasi respond penghambatan pertumbuhan bakteri menurut Greenwood (1995). Tabel Daya hambat pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 klasifikasi daya hambat pertumbuhan bakteri

Diameter Zona Hambat	Daya Hambat Pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada

Sumber : Greenwood, 1995

b. Metode difusi sumuran

Prinsip dari metode difusi sumuran adalah media agar padat diinokulasi dengan bakteri uji dan dibuat lubang yang selanjutnya diisi dengan senyawa atau bahan antibakteri. Metode ini dilakukan dengan menggosokkan okulum bakteri pada permukaan bagian atas agar padat. Kemudian dibuat lubang dengan diameter 6 sampai 10 mm secara aseptik dengan jarum ose steril atau tip. Selanjutnya ditambahkan agen antibakteri atau larutan ekstrak pada konsentrasi yang diinginkan dengan volume (20 – 100 μ L) kedalam lubang (sumuran) (Agustina, 2017). Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat disekeliling lubang (sumuran) (Pratiwi,

2008). Secara umum metode difusi digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari ekstrak tumbuhan.

c. Metode agar *plug diffusion*

Metode agar *plug diffusion* merupakan metode yang sering digunakan untuk membedakan mikroorganisme. Metode ini hampir sama dengan metode difusi cakram yaitu strain bakteri dibiakan pada media yang sesuai dengan menggoreskan pada permukaan cawan. Selama proses pertumbuhan, bakteri akan mensekresikan molekul yang dapat berdifusi dalam media agar. Setelah diinkubasi, sebuah media agar silinder dipotong secara aseptis dengan cork borer steril dan diendapkan pada permukaan agar dari cawan lain yang sebelumnya diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Zat akan berdifusi dengan media agar. Kemudian aktivitas antibakteri dari molekul bakteri yang disekresikan akan terdeteksi dengan adanya zona hambat pada sekitar Agar plug (Balouiri *et al.*, 2016).

2.8.2 Metode dilusi

Metode dilusi adalah metode yang tepat digunakan untuk menentukan nilai konsentrasi hambat karena dapat memperkirakan konsentrasi agen antibakteri pada media agar atau suspensi. Metode dilusi dapat digunakan untuk mengukur secara kuantitatif aktivitas antibakteri secara *in vitro* terhadap bakteri dan jamur. Nilai konsentrasi hambat didefinisikan sebagai konsentrasi dari antibakteri uji yang menghambat pertumbuhan terlihat dari mikroorganisme yang diuji, biasanya dinyatakan dalam mg/mL atau mg/L (Balouiri *et al.*, 2016).

Pada metode dilusi, senyawa uji dicampur dengan media yang telah disesuaikan sebelum diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Metode dilusi dapat diterapkan pada media padat maupun cair. Pada metode ini pembacaan hasil uji ditunjukkan dengan adanya kekeruhan yang dapat dilihat secara visual atau agar lebih akurat dilakukan pengukuran densitasnya. Namun, bila sampel uji tidak larut sempurna kemungkinan mengganggu pembacaan kekeruhan, karena akan dapat menimbulkan bias. Pengujian ini tidak memerlukan kontrol

negatif atau kontrol steril (ekstrak dilarutkan dalam media kosong tanpa mikroorganisme) (Cos *et al.*, 2006).

Metode dilusi dibagi menjadi dua berdasarkan perbenihan cair yaitu mikrodilusi dan makrodilusi. Secara prinsip pengerjaannya sama hanya berbeda dalam volume (Soleha, 2015). Dimana untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 mL, sedangkan mikrodilusi volume yang digunakan 0,05 sampai 0,1 mL. antibakteri yang digunakan disediakan pada berbagai macam pengenceran biasanya dalam satuan $\mu\text{g/mL}$. Mikrodilusi merupakan teknik yang lebih menguntungkan dibandingkan makrodilusi karena lebih ekonomis dari segi bahan yang dipergunakan (Filho dan Cordeiro, 2014).

2.8.3 Bioautografi

Metode bioautografi dilakukan dengan mencelupkan kromatografi tipis ke dalam suspensi bakteri. Bioautogram diinkubasi pada suhu 25 °C selama 48 jam di bawah kondisi lembab. Untuk visualisasi pertumbuhan bakteri, sering menggunakan garam tetrazolium. Garam tersebut akan mengalami konversi warna dengan dehidrogenase dari sel – sel hidup. p-iodonitrotetrazolium violet adalah reagen deteksi yang paling cocok. Garam – garam ini disemprotkan ke bioautogram, yang diinkubasi pada suhu 25 °C selama 24 jam atau suhu 37 °C selama 3-4 hari. Penggunaan Mueller Hinton Broth dengan agar dapat memberikan media cair yang cukup untuk memungkinkan adheren atau penempelan untuk plat TLC dan menjaga kelembaban yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri. Bioautografi dapat langsung dimanfaatkan dengan baik untuk jamur atau bakteri. Metode ini adalah teknik paling mudah untuk mendeteksi zat antijamur dan memberikan hasil yang konsisten untuk jamur penghasil spora seperti *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Cladosporium* (Balouiri *et al.*, 2016).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan dan Hasil Pertanian, Rekayasa Proses Pangan dan Hasil Pertanian, serta Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai Agustus 2019.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu buah kelor (Klentang) muda berwarna hijau tua cerah, karena bauh klentang yang masih muda memiliki kandungan kimia dan senyawa bioaktif yang masih optimum untuk diekstrak. Buah kelor diperoleh dari Desa Kalipuro Kabupaten Banyuwangi. Aquades, DPPH (2,2- *Diphenyl-1-Picrylhydrazyl*), reagen *Follin-ciocalteau*, Na_2CO_3 , NB (*Nutrient Broth*), NA (*Nutrient Agar*), DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 2%, larutan garam fisiologis 0,85%, alkohol 70%, kultur murni *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh dari koleksi di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Universitas Jember.

3.2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, ayakan 60 mesh, kain saring, *shaker waterbath* (Memmert D-91126, Jerman), neraca analitik, *rotary evaporator* (Butchi, Jerman), *blender*, *vortex* (Medline VM- 3000-MD, German), spektrofotometer (Thermo Scientific Genesys 10S UV-VIS, Cina), pipet mikro (Eppendorf Research[®] plus, USA), *blue tip*, *yellow tip*, bunsen, cawan petri, *magnetic stirrer*, *laminar air flow* (Crumair, Spanyol), inkubator (Heraeus Inst B6200, Jerman), *colony counter* (Stuart Scientific), autoklaf (Hirayama HL 36 Jepang), neraca analitik (Ohaus, USA) dan ose.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Tahapan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian experimental yang dilakukan pengukuran sebanyak tiga kali ulangan. Penelitian ini terdiri atas tiga tahap antara lain :

a. Tahap Pertama

1. Pembuatan serbuk daging, biji dan daging kulit buah kelor

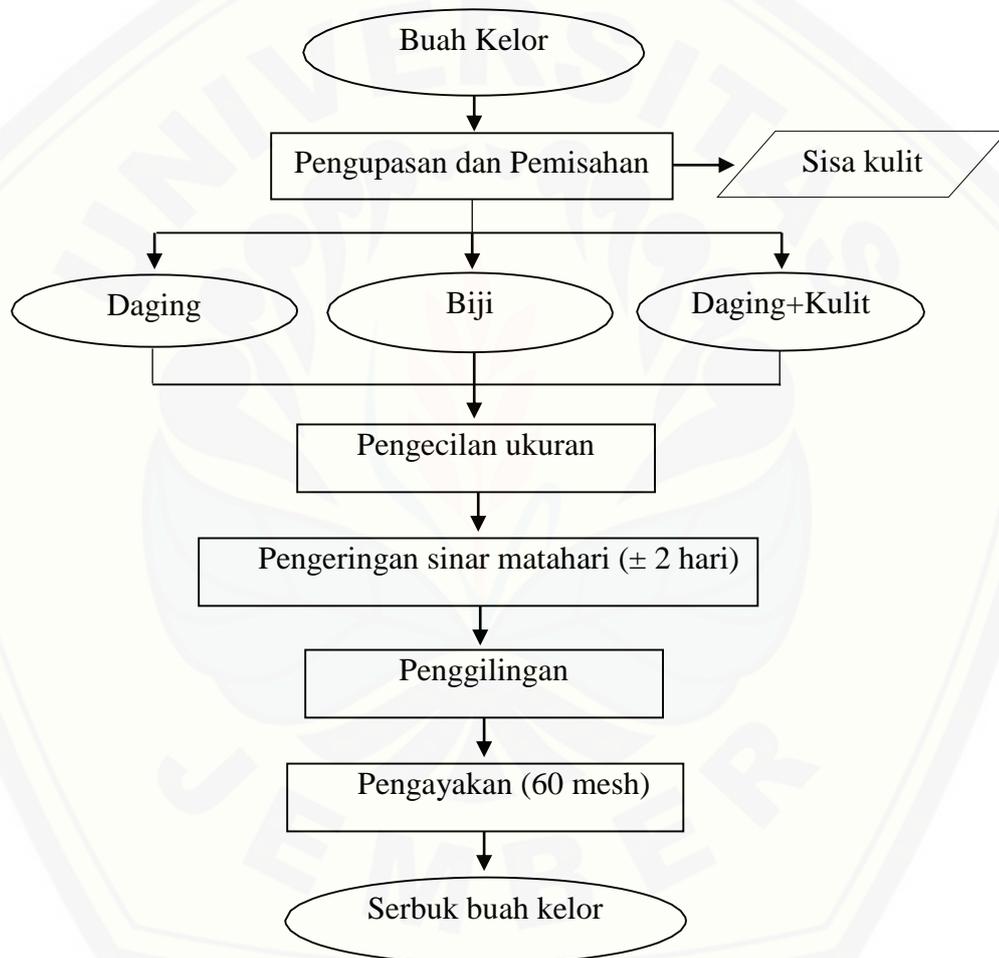
Penelitian ini diawali dengan membuat bubuk sampel buah kelor terlebih dahulu. Bubuk buah kelor dibuat dari tiga bagian yang berbeda dari buah kelor (daging, biji, dan daging kulit) Buah kelor yang digunakan adalah buah kelor yang masih muda dengan ciri fisik berwarna hijau tua (cerah). Buah kelor disortir terlebih dahulu untuk memisahkan bagian yang kurang baik dan dicuci untuk memisahkan kotoran yang masih menempel pada permukaan buah. Buah dikupas dan dipisahkan sehingga diperoleh bagian daging, biji dan daging kulit yang terpisah. daging buah dipotong pendek memanjang untuk mempermudah proses pengeringan dan penggilingan. Buah yang telah dipotong, dikeringkan menggunakan sinar matahari selama kurang lebih tiga hari hingga kering merata. Semua bahan tersebut kering, dilakukan penghancuran dan penghalus menggunakan *blender* sampai terbentuk serbuk. Serbuk diayak menggunakan ayakan berukuran 60 mesh untuk menghasilkan serbuk yang lebih halus dan seragam. Proses pembuatan serbuk tiap bagian buah kelor disajikan pada Gambar 3.1 dan Lampiran 3.1.

2. Pembuatan ekstrak buah kelor

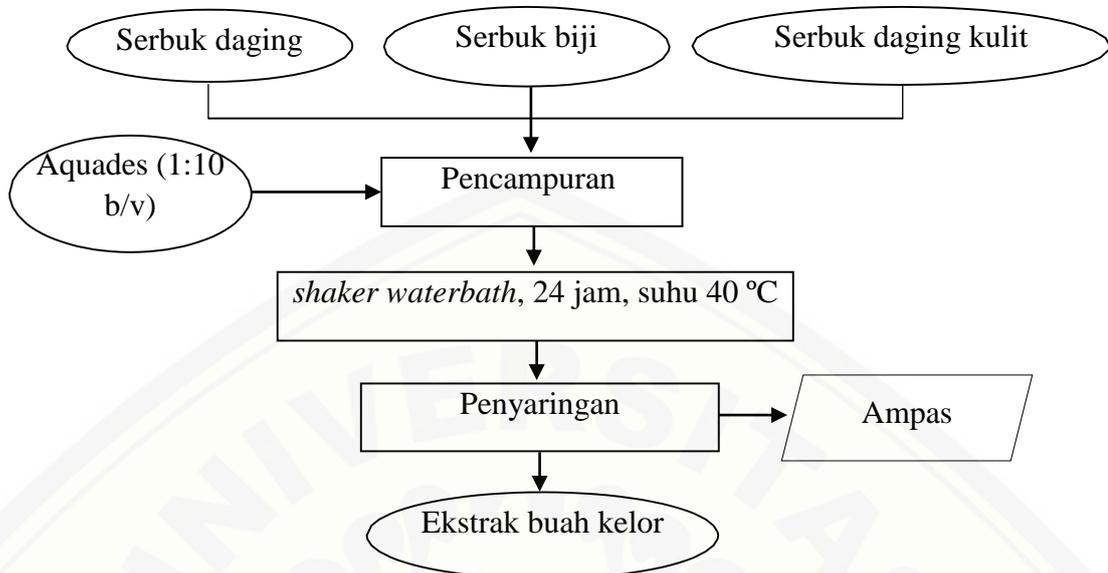
Penelitian tahap kedua adalah pembuatan ekstrak buah kelor dalam bentuk cair kental. Ekstrak dilakukan dengan cara maserasi. Serbuk sampel sebanyak 25 gram dimasukkan dalam erlenmeyer dan dicampur dengan pelarut aquades (perbandingan 1 : 10). Masukkan ke dalam *shaker waterbath* dengan suhu 40°C selama 24 jam, tujuannya adalah untuk melarutkan komponen yang terdapat pada bubuk buah kelor.

Proses selanjutnya yaitu pemisahan maserat dengan residu ekstraksi. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan kain saring untuk memisahkan cairan

dengan ampas yang berukuran besar. cairan hasil ekstraksi diperas dan dipisahkan dari residunya menggunakan kertas saring dan corong *bucher*. Hasil filtrat yang disaring selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C, 2 – 3 jam hingga diperoleh volume ekstrak sebesar 30 ml. Proses pembuatan ekstrak daging, biji dan daging kulit buah kelor disajikan pada Gambar 3.2 dan Lampiran 3.2.



Gambar 3.1. Pembuatan serbuk buah kelor



Gambar 3.2. Pembuatan ekstrak buah kelor

b. Tahap Kedua

1. Pembuatan Serbuk Polifenol Ekstrak Buah Kelor

Ekstrak cair pekat yang telah diperoleh dari tahap sebelumnya dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama ± 24 jam hingga menjadi ekstrak kering berbentuk serbuk.

2. Uji Antioksidan dan Total Polifenol

Uji total polifenol dilakukan dengan menggunakan metode *Follin-Ciocalteu*. Sampel sebanyak 100 μl dimasukkan kedalam tabung reaksi dengan menggunakan mikro pipet dan ditera hingga 1 ml dengan menggunakan aquades. Kemudian ditambahkan Follin-Ciocalteu sebanyak 500 μl dan Na_2CO_3 1 M sebanyak 1 ml. Campuran dihomogenisasikan menggunakan vortex dan didiamkan selama 1 jam di ruang tertutup (gelap). Tahap terakhir adalah pengukuran nilai absorbansi dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 760 nm (Thabti *et al.*, 2012). Pengujian selanjutnya adalah uji antioksidan menggunakan metode yang DPPH (1,1-diphenyl-1-2-Picrylhidroksil). Sebanyak 0,02 gram serbuk buah kelor dilarutkan dalam 10 ml etanol. Siapkan DPPH yang dilarutkan dalam etanol p.a konsentrasi 0,1576 mg/ml. Sampel yang diencerkan

diambil 0,1 ml ditambahkan ke tabung reaksi, ditambahkan 0,9 ml etanol dan 2 ml DPPH. Selanjutnya divortex dan didiamkan selama 15 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517nm.

c. Tahap Ketiga

Penelitian tahap ketiga adalah uji penghambatan ekstrak buah kelor terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode dilusi media padat untuk penentuan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dan IC50 (*Inhibition Concentration*). Uji penghambatan bakteri dilakukan tahapan persiapan dengan pembuatan media dan peremajaan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* terlebih dahulu.

3.3.2 Prosedur Analisis

a. Total Polifenol (*Metode Follin Ciocalteu*)

Pengujian total polifenol diawali dengan pembuatan kurva standart menggunakan larutan asam galat konsentrasi ditentukan. Konsentrasi asam galat yang digunakan yaitu 0; 125; 250; 500; 1000; 2000; 4000; 8000 μM , lalu diambil 0,04 ml dan dimasukkan dalam 8 tabung reaksi yang berbeda serta masing – masing ditambahkan 0,8 ml reagen *Folin-Ciocalteu* yang telah diencerkan 10 kali pada masing-masing tabung reaksi. Diamkan selama 5 menit. Tambahkan 0,8 ml larutan Na_2CO_3 7% dan 0,36 ml aquades (total volume 2 ml). tabung reaksi yang berisi larutan kurva standart tersebut ditutup menggunakan aluminium foil dan didiamkan ditempat gelap selama 60 menit, ukuran absorbansi pada panjang gelombang 765 nm.

Penentuan total polifenol ekstrak buah kelor dilakukan dengan cara penimbangan sampel sebanyak 0,02 gram yang dimasukkan ke dalam labu takar dan dilarutkan menggunakan 10 ml aquades. Sebanyak 0,04 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,8 ml reagen *Folin-Ciocalteu* yang telah diencerkan 10 kali. Sampel tersebut divortex dan didiamkan selama 5 menit, lalu ditambahkan 0,8 ml Na_2CO_3 dan aquades hingga volumenya menjadi 2 ml. Sampel dalam tabung reaksi tersebut ditutup dengan menggunakan

aluminium foil dan didiamkan selama 120 menit. Setelah diinkubasi selama 120 menit, dilakukan pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang 765 nm.

Hasil pengukuran dianalisa untuk menentukan kandungan total polifenol berdasarkan kurva standart asam galat yang diperoleh. Nilai absorbansi (y) dimasukkan pada persamaan kurva standart asam galat, sehingga diperoleh nilai (x) yang kemudian dikali faktor pengenceran dan dikonversi berat molekul asam galat.

d. Aktivitas antioksidan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan melarutkan 0,1 ml ekstrak cair buah kelor ke dalam 0,9 ml etanol. Siapkan larutan DPPH konsentrasi 0,1567 mg/ml . Sebanyak 0,01567 gram DPPH, dimasukkan dalam beaker glass dan ditambahkan etanol hingga volume 100 ml. Sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,9 ml etanol dan DPPH sebanyak 2 ml. Campur hingga homogen menggunakan vortex dan diamkan selama 15 menit dengan ditutup menggunakan aluminium foil dan ditempatkan di tempat gelap. Setelah didiamkan selama 15 menit, dilakukan pengukuran nilai absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Sedangkan blanko dibuat dengan cara mengganti sampel dengan etanol dan dilakukan dengan tahap sama seperti pengukuran sampel. Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

e. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Kelor

1. Tahap Persiapan Sampel

Tahap persiapan sampel merupakan tahapan awal sebelum melakukan pengujian. pengujian antibakteri membutuhkan peralatan yang steril dan bahan yang terhindar dari kontak langsung dengan udara. Peralatan dicuci hingga bersih dan keringkan sampai benar – benar kering dan dibungkus menggunakan kertas. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

Pembuatan larutan uji (stok larutan ekstrak buah kelor) dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak cair buah kelor kedalam aquades steril (1:10). Larutan uji dibuat dalam berbagai konsentrasi konsentrasi 0 mg/ml; 2 mg/ml; 4 mg/ml; 8 mg/ml; 16 mg/ml; 32 mg/ml. Larutan uji dimasukkan kedalam media NA yang telah dipersiapkan untuk masing – masing konsentrasi. Setelah itu tambahkan DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) masing – masing sebanyak 20 μ l dan larutan fisiologis berturut-turut adalah 980 μ l, 930 μ l, 880 μ l, 780 μ l, 580 μ l, dan 180 μ l pada cawan petri yang akan digunakan. Buat kontrol negatif (0%) dengan menggunakan DMSO 20 μ l dan larutan fisiologis 980 μ l serta media NA yang masih hangat.

2. Tahap Pengujian

Pada tahap pengujian dilakukan penentuan KHM dan IC50 pada bakteri menggunakan metode dilusi agar padat dengan cara menghitung jumlah koloni. Sebanyak 200 μ l suspensi bakteri yang telah dibuat dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah disiapkan sebelumnya. Larutan uji yang telah dibuat dengan berbagai konsentrasi dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah diberikan suspensi bakteri uji. Tambahkan media NA yang masih hangat sebanyak 4 ml sehingga total volume 5,2 ml dan diratakan serta dibiarkan hingga memadat. Inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.4 Analisa Data

Data yang diperoleh dibahas secara deskriptif yang disusun dalam tabel dan dibuat dalam bentuk grafik, Hasil diinterpretasikan sesuai dengan pengamatan yang ada.

BAB 5. PENUTUP

51 Kesimpulan

1. Total polifenol ekstrak biji kelor memiliki nilai sebesar 7,78 mgGAE/ml; daging buah memiliki nilai 4,45 mgGAE/ml; dan daging kulit memiliki nilai 6,93 mgGAE/ml.
2. Pengujian antioksidan ekstrak biji buah memiliki nilai penghambatan sebesar 32,46%; daging buah memiliki nilai penghambatan sebesar 34,19%; dan daging kulit memiliki nilai penghambatan sebesar 42,95%. Pengujian antibakteri menggunakan bagian biji yang memiliki hasil uji total polifenol tertinggi. Uji dilusi cair ekstrak biji kelor terhadap *Escherichia coli* menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 10,16 mg/ml dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 9,22 mg/ml.

52 Saran

Perlu dilakukan penelitian pengukuran kandungan senyawa bioaktif yang dilarutkan selain menggunakan etanol, karena

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, Riza P. 2017. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Waru Gunung (*Hibiscus macrophyllus* Roxb. ex Hornem) Terhadap *Bacillus cereus*. Skripsi. Jember : Universitas Jember.
- Aminah Syarifah, Tezar Ramdhan, Muflihani Yanis. 2015. Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*). Jakarta : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian.
- Anwar, F. Latif, S., Ashraf, M., dan Gilani, A. H. 2007. *Moringa oleifera*: A Food Plant with Multiple Medical Uses. *Phytotherapy res.*
- Ariesdyanata, C. 2008. Perbedaan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* linn) dengan Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Staphylococcus aureus*. Tesis. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Australian Centre For International Agricultural Research (ACIAR). 2010. *Drumstick Tree*. Australia Government : Australia.
- Balouiri, M. Sadiki, M. dan Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.
- Becker, K. 2003. *Moringa oleifera*: An Underutilised with Amazing Versatility. Department of Aquaculture Systems and Animal Nutritions. Germany: University of Hohenheim.
- Bennet, R. dan W Monday, S. R. 2003. *International Handbook of Foodborne Pathogen*. Marcel Dekker Inc., New York.
- Brooks, G. F. Butel, J.S., dan Morse, S. A. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran* Jawetz, Melnick, & Adelber. Edisi 23. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Cos, P. A. J., Vlietinck, D., Vander Berghe, dan L. Maes. 2006. Anti-infective Potential of Natural Products: How to Develop a Stronger in Vitro “Proof of Concept”. *Journal of Ethnopharmacology*. 106(3): 290-302.

- Coyle, B. Marie. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing*. USA : American Society for Microbiology.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan.
- Eilert, U., Wolters, B., dan Nadrtedt, A. 1981. The Antibiotic Principle of seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*. *Journal Planta Med.* 42:55-61.
- Filho, J. V. dan Cordeiro, R. de A. 2014. In Vitro and In Vivo Antibacterial and Antifungal Screening of Natural Plant Products: Prospective Standardization of Basic Methods. *Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology*, 311–319.
- Gill, M.I., Tomas-Barberan, F.A., Hess-Pierce, B. and Kader, A.A. 2002. Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California. *Journal Agric Food Chem.* 50 (17) : 4976-82.
- Greenwood. 1995. *Antibiotic susceptibility (sensitivity) test, antimicrobial and chemotherapy*. USA: Mc Graw Hill Company.
- Hastuti, S. P. 2017. Uji aktivitas antibakteri campuran ekstrak biji kelor dan daun kersen terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis*. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*. Eds (2) : 10-15.
- Hidayat, S. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Januari. Jakarta: AgriFlo
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., dan Marston, A. 1985. *Preparative Chromatography Techniques: Applications in Natural Product Isolation*. Terjemahan oleh Padmawinata, K. *Cara Kromatografi Preparatif : Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam*. Bandung: Penerbit ITB.
- Ivanova, E. P., J, R., dan Crawford. 2015. *Antibacterial Surfaces*. New York London: Springer International Publishing Switzerland.
- Jasipovic A, Sudar R, Sudaric A, Jurkovic V, Kocar MM, Kulundzic AM. 2016. Total phenolic and total flavonoid content variability of soybean genotypes in eastern Croatia. *Croatia Journal of Food Technology* 8(2):60-65.

- Jawetz E., Melnick GE., dan Adelberg CA .2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Surabaya : Selamba Medika.
- Kadiri O. 2017. A review on yhe status of the phenolics compounds and antioxidant capacity of the flour: Effects of cereal processing. *International Journal of Food Properties* 20(1): 798-809.
- Karyadi. 2004. Antioksidan resep sehat dan umur panjang: <http://www.kompas.com/kesehatan/news/0601/29/185345.htm>. Diakses 24 Januari 2020.
- Kementrian Kesehatan RI. 2015. *Buku Pedoman Pengendalian Penyakit Diare*. Jakarta : Departemen Kesehatan.
- Krisnadi, A.D. 2015. *Kelor Super Nutrisi*. Blora : Moringa Organik Indonesia
- Kusuma, S. A. F. 2009. *Staphylococcus aureus*. *Makalah kuliah*. Sumedang: Universitas Padjajaran. 12 Juni.
- Le Loir, Y., Florence, B., dan Michel, G. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Journal Genetic Molecular Research* 2(1): 63-76.
- Madigan, M.T., J.M.Martinko dan J. Parker. 2000. *Biology of Microorganisms*. 9th edition. Prentice Hall International, Inc. New Jersey.
- Manurung, Putri Mariana. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Sumatra Utara : Universitas Sumatra Utara (USU).
- Nepolean, P., Anitha, J., & Renitta, R. E. (2009). Isolation, analysis and identification of phytochemicals of antimicrobial activity of moringa oleifera lam. *Journal Current Biotica*. 3(1), 33-39.
- Oluduro, O.A., Idowu, T.O., Aderiye,B.I., Famurewa, O dan Omoboye,O.O., 2012, Evaluation of Antibacterial Potential of Crude Extract of Moringa oleifera seed on Orthopaedics Wound Isolates and Characterization of Phenylmethanamine and Benzyl Isothiocyanate Derivatives. *Research Journal of Medicinal* . 1-12.

- Pazil, P. 2009. *Applications of Natural Products in Food*. New York: Nova Science Publishers, Inc.
- Pelczar, M.J., dan E.S. Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Edisi ke-2. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Post, K W. and Songer, GJ. 2005. *Microbiology Bacterial and Fungal Agent of Animal Disease*. Philadelphia : Elsevier Saunders.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi. Jakarta*. Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Rahayu, T., dan Tuti R. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffe Terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 1 : 10-17.
- Ristiati, Ni Putu. 2000. *Pengantar mikrobiologi umum: Proyek pengembangan guru sekolah menengah* IBRD Loan No. 3979. Direktorat Jenderal Tinggi Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Rosahdi T. D., Yuli S., dan Dede S. 2013. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Biopigmen Pada Fraksi Aseton Dari Mikroalga *Chlorella Vulgaris*. *Jurnal Istek*. Eds (9): 1.
- Rosenbach, A. J. F. 1884. *Mikro-organismen bel den Wund-infections-krankhelten des Menschen*. JF Bergmann.
- Salman, A.N. 2018. Aktivitas Antioksidan Dan Sifat Fisik Tepung Dari Biji Kelor (*Moringa oleifera*) Hasil Pemanasan Basah. *Skripsi*. Bogor: Institute Pertanian Bogor.
- Sarker, S.D., Latif Z, dan Gray A. I. 2006. *Natural Products Isolation*. 2nd ed. Totowa : Humana Press Inc. hal. 6-10, 18.
- Soleha, T.,U. 2015. *Uji Kepekaan terhadap Antibiotik*. Lampung: Universitas Bandar Lampung.
- Sommers, H. M, Shulman S. T, dan Phair J. P. 1994. *The Biologic and Clinical Basic of Infectious Disease Dasar*. Terjemahan oleh Wahab A. S. *Biologis dan Klinis Penyakit Infeksi*. Ed ke-4. Yogyakarta: UGM Press.

Sutiknowati, Lies I. 2016. *Bioindikator Pencemar, Bakteri Escherichia coli*. Oseana.

Tilong AD. 2012. *Ternyata, Kelor Penakluk Diabetes*. Yogyakarta: DIVA Press.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G., Dan Kaur H. 2011. Phytochemical Screening And Extraction: A Review, *International Pharmaceutica Scientia*. Eds (1): 98-106.

Tsao, R. 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Journal Nutrients*. (2): 1231–1246.

Watson, R.R., V.R. Preedy dan S. Zibadi. 2013. *Chocolate in Health and Nutrition*. New York: Humana Press.

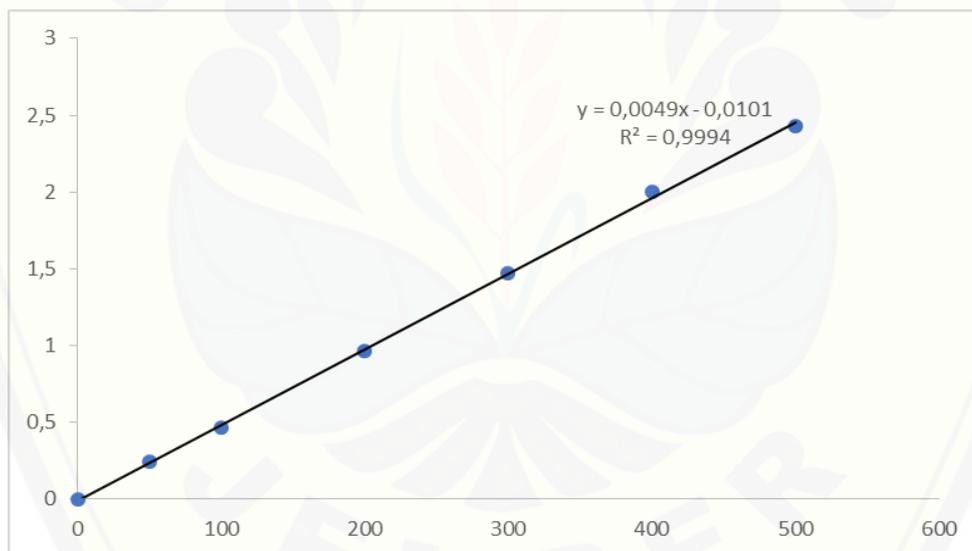
Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Eds 3 (2): 59-68.

LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Perhitungan Total Polifenol Ekstrak Buah Kelor

Kurva Standar Asam Galat

Konsentrasi (μM)	Absorbansi
0	0,104
125	0,173
250	0,19
500	0,282
1000	0,428
2000	0,789
4000	1,473
8000	2,615



Konsentrasi Asam galat	Berat Molekul
1 M	170.12 g/L
1 M	0.17012 g/ml
1 μM	0.17012 $\mu\text{g/ml}$
1 μM	0.00017012 mg/ml
1 μM	0.0017012 mg/10ml

Sampel	Ulg	Abs Sampel	X	Konstanta	Konsentrasi	mg/GAE/100 μ l	Konsentrasi Ekstrak	Konversi Asam galat	mg GAE/ml	Rata2
Daging	U1	1,286	0,0049	0,0101	263,053	260,3877551	26038,776	0,17012	4,429716	4,450548
	U2	1,310	0,0049	0,0101	267,892	265,2857143	26528,571	0,17012	4,513041	
	U3	1,280	0,0049	0,0101	269,892	259,1632653	25916,327	0,17012	4,408885	
Daging + Kulit	U1	2,009	0,0049	0,0101	409,998	407,9387755	40793,878	0,17012	6,939854	6,93754
	U2	2,011	0,0049	0,0101	410,226	408,3469388	40834,694	0,17012	6,946798	
	U3	2,005	0,0049	0,0101	408,236	407,122449	40712,245	0,17012	6,925967	
Biji	U1	2,246	0,0049	0,0101	458,109	456,3061224	45630,612	0,17012	7,76268	7,777724
	U2	2,251	0,0049	0,0101	458,974	457,3265306	45732,653	0,17012	7,780039	
	U3	2,254	0,0049	0,0101	457,984	457,9387755	45793,878	0,17012	7,790454	

Contoh Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 y &= 0,0003x + 0,134 \\
 1,286 &= 0,0003x + 0,134 \\
 1,286 - 0,134 &= 0,0003x \\
 1,152 &= 0,0003x \\
 x &= 384
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Total Polifenol} &= \frac{X}{\text{Pengenceran}} \times \text{Konversi} \\
 &= \frac{26038,776 \times 0,17012}{1000} \\
 &= 4,4297 \text{ mg GAE/ml}
 \end{aligned}$$

Lampiran 4.2 Perhitungan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Kelor

Sampel	Ulangan	Blanko	Absorbansi	% Penghambatan	Rata - rata	Rata - rata	STDEV
B	U1	2,451	1,526	37,740	32,541	32,4571	0,12
		2,400	1,567	34,708			
		2,300	1,721	25,174			
	U2	2,430	1,548	36,296	32,374		
		2,335	1,634	30,021			
		2,490	1,723	30,803			
D	U1	2,451	1,572	35,863	33,689	34,1883	0,71
		2,400	1,624	32,333			
		2,300	1,544	32,870			
	U2	2,430	1,573	35,267	34,688		
		2,335	1,521	34,861			
		2,490	1,645	33,936			
DK	U1	2,451	1,340	45,328	42,332	42,9456	0,87
		2,400	1,425	40,625			
		2,300	1,356	41,043			
	U2	2,430	1,339	44,897	43,559		
		2,335	1,342	42,527			
		2,490	1,413	43,253			

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{2,451 - 1,526}{2,451} \times 100\%$$

$$\% \text{ Penghambatan} = 37,740$$

Lampiran 4.3 Perhitungan BAM *Staphylococcus aureus*

Ulangan 1

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Tingkat Pengenceran	
	(10 ⁶)	(10 ⁷)
0	256	87
2	244	35
4	200	35
8	184	22
16	130	17
32	44	11

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Ekstrak
0	312
2	254
4	214
8	187
16	134
32	50

Ulangan 2

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Tingkat Pengenceran	
	(10 ⁶)	(10 ⁷)
0	236	80
2	222	45
4	196	40
8	185	37
16	112	23
32	53	11

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Ekstrak
0	287
2	243
4	215
8	202
16	123
32	58

Ulangan 3

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Tingkat Pengenceran	
	(10 ⁶)	(10 ⁷)
0	269	82
2	236	45
4	213	44
8	200	41
16	112	28
32	70	16

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Ekstrak
0	319
2	255
4	234
8	219
16	127
32	78

Lampiran 4. 4 Perhitungan Persen Penghambatan *Staphylococcus aureus*

Polifenol (mg/ml)	jumlah koloni (CFU/ml) (U1)	jumlah koloni (CFU/ml) (U2)	jumlah koloni (CFU/ml) (U3)	rata-rata (CFU/ml)			log jumlah koloni	SD	% penghambatan
0	1,56E+10	1,44E+10	1,60E+10	1,53E+10			10,185	8,34E+08	0,00%
2	1,27E+10	1,21E+10	1,28E+10	1,25E+10			10,098	3,44E+08	18,12%
4	1,07E+10	1,07E+10	1,17E+10	1,10E+10			10,043	5,65E+08	27,92%
8	9,36E+09	1,01E+10	1,10E+10	1,01E+10			10,006	7,96E+08	33,76%
16	6,68E+09	6,14E+09	6,36E+09	6,39E+09			9,806	2,74E+08	58,22%
32	2,50E+09	2,91E+09	3,91E+09	3,11E+09			9,492	7,25E+08	79,70%

Lampiran 4. 5 Perhitungan BAM *Escherichia coli*

Ulangan 1

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Tingkat Pengenceran	
	(10 ⁶)	(10 ⁷)
0	144	125
2	180	89
4	119	87
8	98	63
16	51	47
32	39	22

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Ekstrak
0	245
2	245
4	187
8	146
16	89
32	55

Ulangan 2

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Tingkat Pengenceran	
	(10 ⁶)	(10 ⁷)
0	150	121
2	146	105
4	108	60
8	70	57
16	67	32
32	36	25

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Ekstrak
0	246
2	228
4	153
8	115
16	90
32	55

Ulangan 3

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Tingkat Pengenceran	
	(10 ⁶)	(10 ⁷)
0	140	127
2	128	110
4	119	84
8	110	30
16	56	43
32	40	5

Konsentrasi Ekstrak (ml/ml)	Ekstrak
0	243
2	216
4	185
8	127
16	90
32	41

Lampiran 4. 6 Perhitungan Persen Penghambatan *Escherichia coli*

Polifenol (mg/ml)	jumlah koloni (CFU/ml) (U1)	jumlah koloni (CFU/ml) (U2)	jumlah koloni (CFU/ml) (U3)	rata-rata (CFU/ml)	log jumlah koloni	SD	% penghambatan
0	1,22E+10	1,23E+10	1,21E+10	1,22E+10	10,087	9,09E+07	0,00%
2	1,22E+10	1,14E+10	1,08E+10	1,15E+10	10,060	7,08E+08	6,07%
4	9,36E+09	7,64E+09	9,23E+09	8,74E+09	9,942	9,60E+08	28,50%
8	7,32E+09	5,77E+09	6,36E+09	6,48E+09	9,812	7,80E+08	46,96%
16	4,45E+09	4,50E+09	4,50E+09	4,48E+09	9,652	2,62E+07	63,32%
32	2,77E+09	2,77E+09	2,05E+09	2,53E+09	9,403	4,20E+08	79,31%

Lampiran 4. 7 Dokumentasi



Pengupasan buah kelor



Buah kelor



Bubuk buah kelor



Ekstraksi buah kelor



Proses waterbath bubuk buah kelor



Ekstrak buah kelor



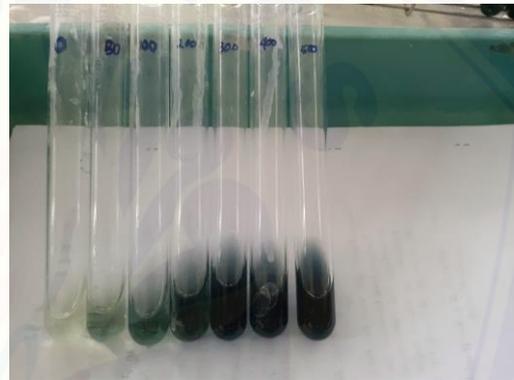
Proses Evaporasi bubuk buah kelor



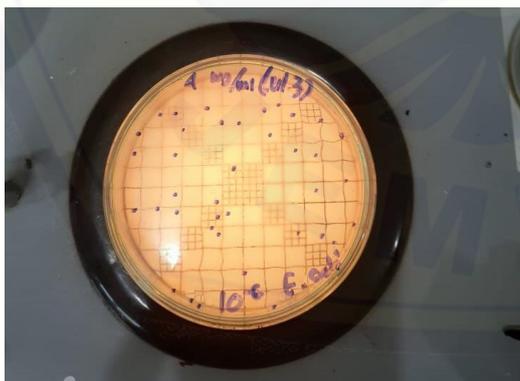
Ekstrak kental buah kelor



Pengujian antioksidan



Pengujian total polifenol



Penghitungan jumlah mikroba