

AKTIVITAS DAYA HAMBAT DAN ELUSIDASI GOLONGAN SENYAWA EKSTRAK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC

INHIBITORY ACTIVITY AND ELUCIDATION OF COMPOUND GROUPS OF MORINGA (*Moringa oleifera* L.) LEAF EXTRACT AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC BACTERIA

Wahyuning Dwi Putri^{1*}, Ida Bagus Gede Darmayasa², Ni Made Susun Parwanayoni¹
email: wahyuningdwiputri363@gmail.com

¹Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Udayana, Bali

²Lab. Mikrobiologi, Prodi Biologi, FMIPA, Universitas Udayana, Bali

INTISARI

Penggunaan obat antibiotika sintesis yang tidak tepat dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten. Salah satu upaya yang dilakukan adalah dengan memanfaatkan tanaman. Banyak tanaman mengandung senyawa yang bersifat antibakteri. salah satunya adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak kasar daun kelor dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC dan golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kelor. Ekstrak kasar daun kelor dimaserasi dengan etanol 96% dan diujikan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Konsentrasi ekstrak daun kelor yang digunakan yaitu 25%(b/v), 15%(b/v), 10%(b/v), 5%(b/v), kontrol negatif (etanol 96%), dan kontrol positif (*ciprofloxacin*) serta uji MIC (*Minimum Inhibitor Concentration*). Ekstrak daun kelor pada konsentrasi 25%(b/v) mampu membentuk zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* ATCC dengan diameter 15,81mm dan MIC konsentrasi 2%(b/v) membentuk diameter zona hambat sebesar 6,17mm. Nilai *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) ekstrak daun kelor terhadap bakteri *S. aureus* ATCC sebesar 1,68%. Ekstrak daun kelor mengandung senyawa golongan alkaloid, saponin, steroid, flavonoid, tanin dan fenolik.

Kata Kunci: Daya hambat, Kelor (*Moringa oleifera* L.), *Staphylococcus aureus* ATCC, Sumur Difusi

ABSTRACT

Inappropriate use of antibacterial drugs can cause resistant bacteria. One of the efforts made in reducing the occurrence of resistance is to utilize plants that contain antibacterial compounds, one of which is Moringa leaves (*Moringa oleifera* L.). This study aims to determine the ability of moringa leaf crude extract in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC bacteria and the class of compounds contained in moringa leaf extract. Moringa leaf crude extract was macerated with 96% ethanol and tested using the well diffusion method. The concentrations of moringa leaf extract used were 25% (b/v), 15% (b/v), 10% (b/v), 5% (b/v), negative control (96% ethanol), and positive control (*ciprofloxacin*) and MIC (Minimum Inhibitor Concentration) test. Moringa leaf extract at a concentration of 25% (b/v) was able to form an inhibition zone against *S. aureus* ATCC bacteria with a diameter of 15.81mm and MIC concentration of 2% (b/v) formed an inhibition zone diameter of 6.17mm. The Lethal Concentration 50 (LC₅₀) value of moringa leaf extract against *S. aureus* ATCC bacteria is 1.68%. Moringa leaf extract contains alkaloid, saponin, steroid, flavonoid, tannin and phenolic compounds.

Keywords: Inhibitory Power, Moringa (*Moringa oleifera* L.), *Staphylococcus aureus* ATCC, Diffusion Wells

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan masalah kesehatan yang menjadi penyebab utama kematian pada manusia, baik di negara berkembang maupun di negara maju (Kemenkes RI, 2013). Infeksi tersebut disebabkan oleh virus, parasit dan bakteri. *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang bersifat patogen yang mampu menyebabkan infeksi. Infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan peradangan jaringan dan pembentukan abses (Zhang *et al*, 2015). Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* yaitu bisul, impetigo, jerawat dan infeksi luka. Pada infeksi yang lebih berat dapat menyebabkan mastitis, meningitis, pneumonia, hingga infeksi saluran kemih (Ramadhani dkk., 2017).

Pemberian suatu zat yang bersifat antibakteri mampu menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi. Namun, penggunaan obat antibakteri yang tidak tepat dapat menyebabkan bakteri resisten (Tripati, 2013), maka perlu dilakukan pencarian bahan yang mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yang bersifat aman dan ramah lingkungan (Nurhayati, 2011). Alternatif bahan yang dapat digunakan yaitu bahan yang berasal dari tumbuhan. Masyarakat telah memanfaatkan berbagai jenis tanaman untuk mengobati penyakit secara tradisional, karena dianggap memiliki sedikit efek samping dan keberadaannya mudah ditemukan (Tutik, 2018). Kegunaan tumbuhan sebagai bahan obat mengacu pada kandungan senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh tanaman tersebut (Widjaja dkk., 2014). Salah satu tanaman yang banyak digunakan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, yaitu tanaman kelor (*M. oleifera* L.) (Widowati dkk., 2014).

Tanaman kelor (*M. oleifera* L.) merupakan tanaman yang tumbuh di wilayah beriklim tropis, seperti di Indonesia. Tanaman kelor digunakan sebagai bahan obat dengan memanfaatkan bagian biji, kulit kayu, daun hingga akar. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pandey *et al* (2012), menyebutkan bahwa daun kelor (*M. oleifera* L.) mengandung senyawa aktif flavonoid, saponin, alkaloid, tanin dan fenol. Sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Putra dkk., (2016), daun kelor mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolat dan triterpenoida/steroida dan tanin. Lebih lanjut disampaikan oleh Nikmah dkk., (2022) daun kelor (*M. oleifera* L.) mengandung senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, dan saponin sebagai senyawa antibakteri.

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian uji aktivitas ekstrak daun kelor (*M. oleifera* L.) terhadap bakteri *S. aureus* ATCC.

METODE

Peremajaan dan Reidentifikasi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari stok kultur Laboratorium Mikrobiologi, Program studi Biologi, FMIPA, Universitas Udayana. Peremajaan bakteri dilakukan dengan metode menginokulasi 1 ose biakan *S. aureus* ke dalam cawan Petri yang telah berisi media *Mannitol Salt Agar* (MSA). Hasil inokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan reidentifikasi melalui pewarnaan Gram dengan menggunakan mikroskop untuk mengamati bentuk dan warna koloni bakteri (Dewi, 2013). dilanjutkan identifikasi biokimia *S. aureus* ATCC menggunakan metode BD BBL *Crystal Kit* di Laboratorium Daerah, Bali.

Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor yang diperoleh dari pekarangan rumah warga Jimbaran, Kuta Selatan, Badung Bali. Daun kelor yang digunakan yaitu daun kelor yang dipetik dari tangkai daun pertama (di bawah pucuk) hingga tangkai daun ke tujuh kecuali yang menguning (Mubarak dkk., 2017). Daun lalu dicuci dengan air bersih, kemudian dikeringanginkan selama 3 hari. Daun kelor kemudian dihaluskan menggunakan blender. Sebanyak 100g serbuk simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 96%, dengan perbandingan sampel dengan pelarut yaitu 1:10 (b/v) (Azis dan Sellah, 2023). Maserasi dilakukan selama 3x24 jam yang sesekali dikocok (Alifah dkk., 2023). Hasil maserasi kemudian disaring dengan kertas saring untuk memisahkan filtrat. Hasil penyaringan dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* untuk memisahkan antara senyawa aktif dan pelarut sehingga didapatkan ekstrak kasar yang digunakan untuk pengujian (Azis dan Sellah, 2023).

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Daun Kelor

Pengenceran awal dilakukan dengan membuat konsentrasi 75% (b/v) yang digunakan sebagai konsentrasi stok. Selanjutnya, dari konsentrasi stok diencerkan menggunakan pelarut yang sama untuk membuat konsentrasi ekstrak 25%(b/v), 15% (b/v), 10% (b/v), dan 5%(b/v) dengan rumus pengenceran:

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan:

M1: Konsentrasi sebelum pengenceran

M2: Konsentrasi sesudah pengenceran

V1: Volume sebelum pengenceran

V2: Volume setelah pengenceran

Pembuatan Suspensi Bakteri

Disiapkan media *Nutrient Agar* (NA) steril dan cawan petri steril. Media NA dituang pada cawan petri steril, kemudian ditunggu hingga media memadat. Biakan bakteri *S. aureus* kemudian diinokulasikan pada media NA dengan metode *streak plate* menggunakan jarum Ose, hasil inokulasi kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tumbuh pada media NA diambil sebanyak 1 koloni menggunakan jarum Ose dan diinokulasikan pada media *Nutrient Broth* (NB) steril dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kerapatan bakteri yang diperoleh, kemudian disetarakan dengan standar McFarland 0,5 yang setara dengan 1×10^8 sel/ml.

Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor Terhadap *S. aureus* ATCC

Uji daya hambat pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran. Metode ini dilakukan dengan cara disiapkan petri steril, kemudian dituang media NA dan dibiarkan hingga memadat. Diinokulasikan suspensi bakteri *S. aureus* ATCC pada media menggunakan *cotton bud steril* dengan cara digoreskan secara merata di seluruh permukaan media. Media yang telah berisi bakteri tersebut kemudian dibuat sumuran dengan *cork borer* 5mm, pada masing-masing sumuran lalu diisi dengan 20µL ekstrak daun kelor dengan konsentrasi 25%(b/v), 15% (b/v), 10% (b/v), 5%(b/v), kontrol negatif etanol 96% dan kontrol positif ciprofloxacin 1%. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran diukur dengan menggunakan jangka sorong. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Terbentuknya diameter zona bening di sekitar sumuran menjadikan indikasi adanya aktivitas antibakteri (Jagessar *et al*, 2008).

Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Ekstrak Daun Kelor Terhadap *S. aureus* ATCC

Metode pengujian MIC menggunakan metode yang sama dengan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor. Konsentrasi terkecil yang memberikan daya hambat pada pengujian sebelumnya, kemudian diturunkan hingga pada konsentrasi 4%, 3%, 2% dan 1%. Percobaan dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan untuk memperoleh hasil yang representatif.

Uji *Lethal Concentration 50* (LC₅₀)

Pengujian LC₅₀ dilakukan menggunakan metode tuang (*pour plate*). Eppendorf dengan kapasitas volume 1 mL diisi dengan 200 µL suspensi bakteri dan ditambahkan ekstrak dengan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pada pengujian MIC sebelumnya. Lalu pelarut etanol 96% ditambahkan hingga volume mencapai 1 mL, dihomogenkan dengan *vortex* dan diinkubasi selama 60 menit. Larutan dalam Eppendorf yang telah diinkubasi kemudian dipipet seluruhnya ke dalam cawan Petri dan ditambahkan media NA sebanyak 15 mL. Media dibiarkan hingga memadat lalu cawan Petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung menggunakan *colony counter* dengan asumsi satu koloni berasal dari satu sel.

Uji Senyawa Fitokimia

Pengujian fitokimia ekstrak daun kelor dilakukan dengan uji kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun kelor (Meigara dkk., 2016; Yanti dan Vera, 2019):

Uji alkaloid

Ekstrak daun kelor dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan kloroform amoniak, lalu ditambahkan asam sulfat 2N, kocok hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam sulfat dipindahkan ke tabung reaksi baru lalu ditambahkan pereaksi Mayer. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih.

Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak daun kelor ditambahkan dengan kloroform dan aquades, diamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan kloroform dipindah pada plat papan tetes, lalu ditambahkan 2 tetes larutan asam asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat pekat. Warna merah ungu menunjukkan hasil positif senyawa terpenoid sedangkan warna hijau biru hasil positif untuk steroid.

Uji Saponin

Sebanyak 0,5gr ekstrak daun kelor kemudian ditambahkan aquadest lalu dikocok selama 10 detik. Apabila terbentuk buih atau busa, maka sampel positif mengandung saponin.

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gr ekstrak daun kelor ditambahkan serbuk Mg dan larutan HCl 2% sebanyak 4 tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna filtrat menjadi merah-jingga.

Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gr ekstrak daun kelor ditambahkan 5 mL aquadest, kemudian disaring. Filtrat yang terbentuk kemudian ditambahkan larutan FeCl₃ 1% beberapa tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru.

Uji Fenolik

Sebanyak 0,5 gr ekstrak daun kelor ditambahkan larutan FeCl₃ 1% beberapa tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau hingga ungu.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan metode *Analysis of Varians* (ANOVA), apabila data yang diperoleh memiliki pengaruh yang nyata pada taraf 5%, maka analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji *Duncan Multiple Range Test* taraf 5%.

HASIL

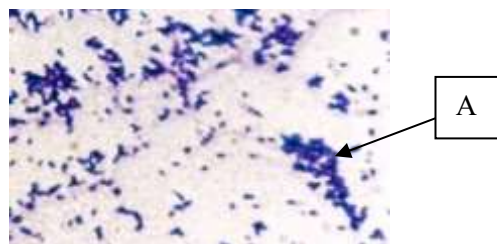
Reidentifikasi Bakteri

Uji konfirmasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC pada media MSA (*Mannitol Salt Agar*) menunjukkan hasil perubahan warna media merah menjadi kuning dan koloni bakteri berwarna kuning yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Uji bakteri *S. aureus* pada media MSA

Uji konfirmasi pewarnaan Gram diamati secara mikroskopis menggunakan mikroskop, diperoleh hasil sebagai berikut: Bakteri yang diduga *S. aureus* memiliki bentuk *coccus*, tersusun bergerombol, berwarna ungu, dan bersifat Gram positif (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil pewarnaan Gram bakteri *S. aureus*
(A) Koloni *S. aureus* yang berbentuk kokus dan bergerombol

Hasil pengujian BBL *Crystal Kit* bakteri terduga *S. aureus* menunjukkan hasil positif pada indikator FPY, FAR, FHO, TRE, LAC, MAB, SUC, MNT, MTT, GLR, FRU, BGL, PHO, PAM, dan ARG. Hasil negatif ditunjukkan pada indikator FGC, FVA, FPH, FGS, FTR, FGA, FGN, FIS, ARA, PCE, PLN, PGO, URE, ESC. Berdasarkan hasil interpretasi katalog reaksi perubahan warna substrat menunjukkan bahwa bakteri yang teridentifikasi adalah *Staphylococcus aureus*.



Gambar 3. Hasil uji biokimia menggunakan BD BBL *Crystal Kit*

Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC

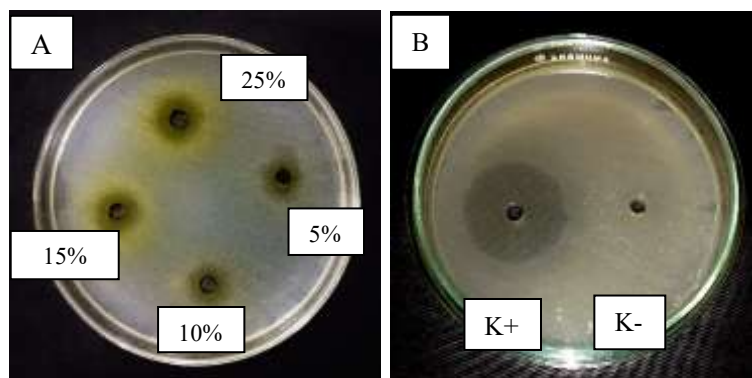
Hasil uji daya hambat ekstrak daun kelor terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC (Gambar 4). Zona hambat ekstrak daun kelor terbesar dihasilkan oleh konsentrasi 25%(b/v) dengan diameter 15,81 mm. Zona hambat terkecil dihasilkan oleh konsentrasi 5%(b/v) dengan diameter 9,18mm. Uji kontrol positif (ciprofloxacin 1%) membentuk diameter zona hambat 30,54mm, sedangkan pada kontrol negatif (etanol 96%) tidak membentuk zona hambat. Data hasil uji daya hambat selengkapnya disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kelor Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* ATCC

Konsetrasi Ekstrak (b/v)	Diameter Zona Hambat (mm)
Kontrol negatif	0 ^a
5%	9,18±0,161 ^b
10%	11,05±0,208 ^c
15%	14,22±0,665 ^d
25%	15,81±0,257 ^e
Kontrol positif	30,54±0,261 ^f

Keterangan:

Nilai-nilai pada Tabel 1. standar deviasi merupakan rata-rata dari 4 kali ulangan. Notasi huruf yang berbeda pada setiap kolom menunjukkan nilai rata-rata berbeda nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji Duncan, setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).



Gambar 4. Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Kelor Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* ATCC (A) Konsentrasi ekstrak 25%, 15%, 10%, 5%, (B) Kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-)

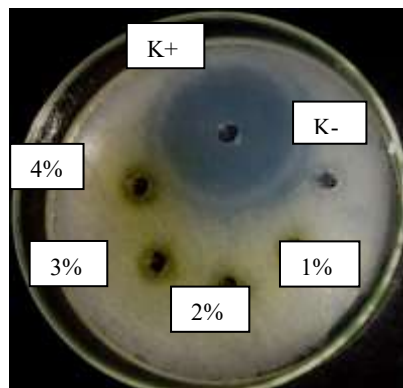
Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Ekstrak Daun Kelor Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC

Konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu pada konsentrasi 2%(b/v) dengan diameter zona hambat 6,17mm. Pengujian pada konsentrasi 1%(b/v) menunjukkan ekstrak daun kelor tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC (Gambar 5). Data lengkap hasil pengujian MIC ekstrak daun kelor terhadap bakteri *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) Ekstrak Daun Kelor Terhadap Bakteri *S. aureus* ATCC

Konsetrasi Ekstrak (b/v)	Diameter Zona Hambat (mm)
Kontrol negatif	0 ^a
1%	0 ^a
2%	6,17±0,206 ^b
3%	8,03±0,295 ^c
4%	8,63±0,232 ^d
Kontrol positif	29,55±0,261 ^e

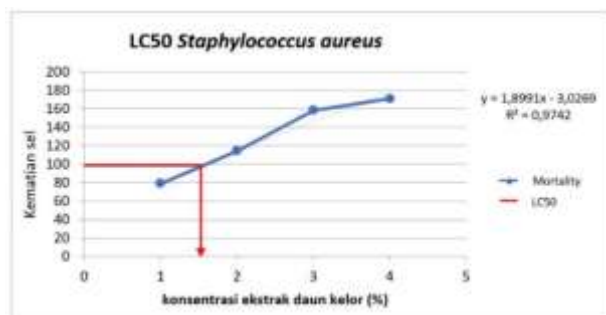
Keterangan: Nilai-nilai pada Tabel 2 standar deviasi merupakan rata-rata dari 4 kali ulangan. Notasi huruf yang berbeda pada setiap kolom menunjukkan nilai rata-rata berbeda nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji jarak berganda Duncan, setelah dilakukan analisis sidik ragam (Anova).



Gambar 5. Diameter zona hambat ekstrak daun kelor terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC konsentrasi 4%, 3%, 2%, 1%, kontrol positif (+) dan kontrol negatif (-)

Uji *Lethal Concentration 50* (LC₅₀)

Nilai LC₅₀ merupakan konsentrasi ekstrak daun kelor yang dapat membunuh 50% pada bakteri *S. aureus* ATCC. Nilai LC₅₀ ekstrak daun kelor terhadap bakteri *S. aureus* ditentukan dengan nilai probit presentase kematian sel dengan persamaan $y=ax+b$ sehingga didapatkan hasil LC₅₀ ekstrak daun kelor berada pada konsentrasi 1,68%. Grafik hubungan ekstrak daun kelor terhadap kematian koloni sel bakteri *S. aureus* ATCC ditunjukkan oleh Gambar 6.



Gambar 6. Hasil Uji *Lethal Concentration 50* (LC₅₀) Ekstrak Daun Kelor Terhadap Bakteri *S. aureus* ATCC.

Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kelor

Hasil uji fitokimia ekstrak daun kelor secara kualitatif menunjukkan ekstrak daun kelor positif mengandung senyawa alkaloid, steroid, saponin, flavonoid, tanin, dan fenolik. Data uji fitokimia ekstrak daun kelor selengkapnya disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengujian Senyawa Fitokimia Ekstrak Daun Kelor

No	Uji	Hasil
1.	Alkaloid	++
2.	Terpenoid	-
3.	Steroid	+++
4.	Saponin	++
5.	Flavonoid	+
6.	Tanin	+++
7.	Fenolik	++

Keterangan:

+++ : memberikan endapan / warna yang banyak / mencolok

++ : memberikan endapan / warna sedang

+: memberikan endapan / warna cukup

-: tidak memberikan endapan / tidak berwarna

PEMBAHASAN

Uji konfirmasi bakteri *S. aureus* ATCC yang ditumbuhkan pada media MSA (*Mannitol Salt Agar*) menunjukkan bakteri tersebut mampu merubah warna media merah menjadi kuning. Menurut Holderman dkk., (2017), MSA merupakan media selektif yang mengandung garam natrium klorida 7,5% dimana hanya bakteri dari kelompok *Staphylococcus* yang mampu tumbuh pada media MSA. Didukung oleh Arif (2017), yang menyebutkan bahwa media MSA mengandung mannitol yang mampu difermentasikan oleh bakteri kelompok *Staphylococcus*, sehingga merubah warna media merah menjadi kuning.

Pewarnaan Gram bakteri *S. aureus* yang diamati secara mikroskopis didapatkan ciri-ciri bakteri berbentuk coccus, tersusun secara berkelompok, dan berwarna ungu. Menurut

Schulthless *et al* (2013), *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk kokus. Terbentuknya warna ungu pada kelompok bakteri mengindikasikan bakteri *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif. Reaksi bakteri terhadap pewarnaan Gram berkaitan dengan struktur dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal tanpa lapisan lipoprotein, sedangkan pada Gram negatif peptidoglikan tipis dan dilapisi oleh lipoprotein (Ijong, 2015).

Uji konfirmasi biokimia dilakukan dengan menggunakan BD BBL *Crystal Kit* bakteri *S. aureus* menunjukkan hasil positif pada Trehasole, Lactose, Methyl- α & β -glucoside, Sucrose, Mannitol, Maltotriose, Glycerol, dan Fructose. Hal tersebut mengindikasikan bakteri *S. aureus* mampu memfermentasi karbohidrat sehingga menurunkan kadar pH dan mengubah warna indikator menjadi kuning. Sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Suerni dkk. (2013), yang menyebutkan *S. aureus* mampu memfermentasi glukosa, sukrosa, maltose, laktosa dan manitol.

Pengujian aktivitas ekstrak daun kelor terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* menunjukkan hasil bahwa pada setiap konsentrasi ekstrak daun kelor mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Adanya aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor dapat diketahui dari terbentuknya zona hambat yang berupa zona bening di sekitar difusi sumuran (Mansour *et al*, 2021). Berdasarkan kriteria kekuatan antibakteri Davis and Stout (1971), maka diketahui bahwa ekstrak daun kelor pada konsentrasi 25%, 15% dan 10% memiliki daya hambat kuat, sedangkan pada konsentrasi 5% memiliki daya hambat sedang.

Masing-masing perlakuan konsentrasi ekstrak daun kelor memberikan diameter zona hambat yang berbeda yang disebabkan oleh adanya perbedaan kadar senyawa aktif yang terdapat pada masing-masing konsentrasi (Surjowardojo dkk., 2015). Menurut Azis dan Sellah (2023) terdapat hubungan yang berbanding lurus antara konsentrasi ekstrak dengan diameter zona hambat yang terbentuk. Pernyataan di atas diperkuat dengan hasil penelitian yang dilakukan Savitri dkk., (2018) yang menyimpulkan bahwa diameter zona hambat yang terbentuk akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya kadar konsentrasi ekstrak.

Uji MIC pada penelitian ini diperoleh konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* yaitu konsentrasi 2% dengan diameter zona hambat 6,17mm. Sedangkan pada konsentrasi 1% ekstrak daun kelor tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Menurut Widiani dkk., (2020) penurunan diameter zona hambat dapat terjadi karena berkurangnya jumlah senyawa aktif pada konsentrasi ekstrak sehingga ekstrak tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Uji LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) yang dilakukan pada penelitian ini merupakan konsentrasi ekstrak daun kelor yang dapat membunuh 50% pada bakteri *S. aureus*. Hasil pengujian LC_{50} ekstrak daun kelor terhadap bakteri *S. aureus* didapatkan nilai 1,68%. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Cunha dkk., (2020) nilai LC_{50} ekstrak daun kelor terhadap larva udang *Artemia salina* sebesar 888,3436 ppm.

Ekstrak daun kelor positif mengandung senyawa alkaloid yang ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih. Uji alkaloid dengan pereaksi Mayer menyebabkan nitrogen dalam senyawa alkaloid bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (III) dalam pereaksi Mayer. Reaksi tersebut lalu membentuk endapan kompleks kalium alkaloid berwarna putih (Marliana dkk., 2005). Senyawa alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mengganggu komponen penyusunan peptidoglikan yang merupakan lapisan pada dinding sel

bakteri. Hal tersebut menyebabkan komponen dinding bakteri terbentuk tidak lengkap, sehingga menyebabkan lisis sel dan kematian sel (Widhowati dkk., 2022).

Ekstrak daun kelor positif mengandung steroid diketahui dari terbentuknya warna biru-hijau. Pada uji steroid ditambahkan larutan asam anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann Burchard). Terbentuknya warna hijau disebabkan oleh adanya oksidasi golongan senyawa steroid oleh sintesis ikatan rangkap terkonjugasi (Sriwahyuni, 2010). Sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri, senyawa steroid mampu berinteraksi dengan membran sel bakteri dan memodifikasi struktur primer membran sel yang berakibat pada lisis sel (Sapara dkk., 2016).

Hasil uji saponin ekstrak daun kelor positif mengandung saponin yang ditandai dengan terbentuknya busa. Terbentuknya busa tersebut menandakan adanya glikosida yang mampu membentuk buih saat ditambahkan dengan larutan HCl (Meigara dkk., 2016). Mekanisme saponin menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri, sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel. Hal tersebut kemudian menyebabkan terjadinya hemolisis pada sel sehingga senyawa intraseluler akan keluar dan menyebabkan kematian sel (Sapara dkk., 2016).

Uji flavonoid menunjukkan diperoleh hasil positif yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah. Penambahan serbuk Mg dan HCl pekat akan mereduksi inti benzopiron pada struktur senyawa flavonoid, sehingga membentuk garam flavilium yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah (Marliana dkk., 2005). Flavonoid memiliki sifat antibakteri yang bekerja dengan cara menghambat fungsi membran sel, menghambat sintesis asam nukleat dan menghambat metabolisme energi. Flavonoid merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit penting sehingga fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk dan menyebabkan bakteri mati (Veronika, 2017).

Pada uji tanin didapat hasil positif dengan terbentuknya warna biru hingga hijau. Tanin merupakan senyawa dari gugus polifenol yang apabila ditambahkan dengan FeCl₃ akan membentuk senyawa kompleks berwarna hijau (Harborne, 1987). Sebagai senyawa antibakteri, tanin bekerja dengan bereaksi dengan membran sel, menginaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik (Carolia dan Noventi, 2016). Selain itu, tanin mampu bereaksi dengan mengganggu permeabilitas membran dan dinding sel sehingga sel mengalami kematian karena dinding sel tidak dapat terbentuk dengan sempurna (Sinta dkk., 2020).

Hasil uji fitokimia juga menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor positif mengandung senyawa fenolik yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau. Fenolik mengandung gugus fenol yang apabila ditambahkan dengan FeCl₃ akan bereaksi dengan membentuk warna hijau gelap (Harborne, 1987). Senyawa fenol mampu mendenaturasi protein sel dan menghambat kerja enzim pada reaksi biokimia yang menyebabkan terganggunya metabolisme sehingga menyebabkan sel akan mati (Ghosh, 2016).

SIMPULAN

Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC. Konsentrasi 25%(b/v) memberikan diameter zona hambat terbesar dengan rata-rata 15,81mm. Nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ekstrak daun kelor pada konsentrasi 2%(b/v) menghasilkan rata-rata diameter zona hambat 6,17mm. Nilai LC₅₀ ekstrak daun kelor terhadap bakteri *S. aureus* ATCC adalah 1,68%. Golongan

senyawa yang terkandung pada ekstrak daun kelor yaitu alkaloid, steroid, saponin, flavonoid, tanin, dan fenolik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Ibu Prof. Dr. Dra. Retno Kawuri, M.phill, Bapak Drs. Martin Joni, MSi dan Bapak Prof. Dr. Drs Anak Agung Ketut Darmadi, MSi yang telah memberikan dukungan dan saran untuk penyempurnaan artikel ilmiah ini. Juga ucapan terimakasih kepada Koordinator Prodi Biologi FMIPA Universitas Udayana yang telah menyediakan sarana dan fasilitas dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alifah, Faizal, I.A., dan Swandari, M.T.K. 2023. Metode Perbandingan Maserasi dan Soxhletasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Efektivitas Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 4(1): 64-72.
- Arif, A. 2017. Uji Sensitivitas Ampisilin, Imipenem dan Tetrasiklin Terhadap *Staphylococcus* Penyebab Mastitis Pada Kambing Peranakan Etawa Asal Kabupaten Asal Kabupaten Polewali Mandar. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Azis, A., dan Sellah, H. 2023. Uji Aktivitas Sediaan Masker Gel Peel-Off Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Kesehatan Yamas* Makassar. 7(2): 9-17.
- Carolia, N., dan Noventi, W. 2016. Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Sebagai Alternatif Terapi *Acne vulgaris*. *Majority*. 5(1): 140–5.
- Cunha, T., Dodi, K., Antonius, R.O., Theodorus, Y.K., dan Alfius, R.K. 2020. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) Asal Lahan Kering Nusa Tenggara Timur. *Chemical Notes*. 1(2):1-10.
- Davis W.W. and Stout, T.R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. *Apply Microbiology*. 22(4): 659-665.
- Dewi, A.K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* Terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Sains Veteriner*. 31(2): 138-150.
- Ghosh, S. 2016. Are Antiseptics and Disinfectants Commonly Used Against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Effective? A Study in A Tertiary Care Hospital. *Indian Journal of Basic and Applied Medical Research*. 5 (4): 640 – 648.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan II. Penerbit ITB. Bandung.
- Holderman, M. V., Edwin, Q., dan Sendy, B. R. 2017. Identifikasi Bakteri Pada Pegangan Eskalator Di Salah Satu Pusat Perbelanjaan Di Kota Manado. *Jurnal Ilmiah Sains*. 17(1): 13-18.
- Ijong, F. G. 2015. *Mikrobiologi Perikanan dan Kelautan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Jagessar, R.C., Mohammed, A., Gomes, A. 2008. An Evaluation of The Antibacterial and Antifungal Activity of Leave Extract *Momordica charantica* Against *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nature and Science*. 6(1): 1-14.
- Kemenkes RI. 2013. Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. *Departemen Kesehatan RI*. Jakarta.

- Mansour, A.N., Loubet, P., Pouget, C., Dunyach-Remy, and C., Sotto, A. 2021. *Staphylococcus aureus* Toxins: an Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. *Toxins (Basel)*. 13(677):1–22.
- Marliana, S.D., Suryanti, V., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis tipis Komponen Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. 3(1): 1693-2242.
- Meigara, K.M., Mudianta, I.W., dan Martiningsih, N.M. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*Moringa Oleifera*). *Jurnal Wahan Matematika dan Sains*. 10(2): 1-11.
- Mubarak, K., Natsir, H., Wahab, A.W., Satrimafitrah, P. 2017. Analisis Kadar Tokoferol (Vitamin E) dalam Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) dari Daerah Pesisir dan Pegunungan Serta Potensinya Sebagai Antioksidan. *Kovalen*. 3(1): 78-88.
- Nikmah, Majid, A., dan Paulus, A.Y. 2022. Identifikasi Golongan Senyawa Tanin, Flavonoid, Alkaloid, dan Saponin Sebagai Senyawa Antibakteri Pada Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Asal Kota Kupang NTT. *Scientific Journal*. 5(1): 1-7.
- Nurhayati. 2011. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.), Cultivar Umbi Putih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Makassar.
- Pandey, A., Pandey R.D., Triphati, P., Gupta, P.P., Haider, J., Bhatt, S., Singh, A.V. 2012. *Moringa oleifera* L. – a Plant with Plethora of Diverse Theurapeutic Benefits: an Update Retrospection. *Medical and Aromatic Plants*. 1(1): 2-8.
- Putra, W.D.P., Dharmayudha, A.A.G.O., dan Sudimartini, L.M. 2016. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*. 5(5): 464-473.
- Ramadhani, P., Erly, dan Asterina. 2017. Hambat Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* V.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 6(3):590-595.
- Sapara TU, Waworuntu O, Juliatri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *PHARMACON J Ilm Farm*. 5(4): 10–7.
- Savitri, E., Fakhurrazi, dan Abdul, H. 2018. Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jimvet*. 2(3): 373-379.
- Schulthless, B., Katharina, B., Guido, V.B., Reinmhard, Z., Erik. C.B., and Michael, H. 2013. Identification Of Gram-Positive Cocci By Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry: Comparison Of Different Preparation Methods and Implementation of a Practical Algorithm for Routine Diagnostic. *Journal Clinic Microbiology*. 51(6): 1834-1840.
- Sinta, P.H. 2020. Furtuna, d.K., dan Fatmaria. 2020. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 96% Umbi Bawang suan (*Allium schoenoprasum* L.) Terhadap Pertumbuahn Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus saprophyticus* dengan Metode difusi Cakram Kirby-Bauer. *Herb Medicine Journal*. 3(2): 7-14.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) dengan variasi pelarut dan uji toksisitas menggunakan brine shrimp (*Artemia salina* leach).

- Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Suerni, E., Alwi, M., dan Guli, M.M. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus* L. Merr.), Salak (*Salacca edulis* Reinw.) dan Mangga Kweni (*Mangifera odorata* Griff.) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. *Biocelbes*. 7(1): 35-47.
- Surjowardojo, P., Susilorini, T.E., dan Sirait, G.R.B. 2015. Daya Hambat Dekok Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. *J. Ternak Tropika*. 16(2): 40-48.
- Tripati, K. D. 2013. *Essentials of Medical Pharmacology Seventh Edition*. Ajanta Offset. New Delhi. Identifikasi Dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor Pada Variasi Pelarut Dengan Metode Dpph. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 1(2): 80-97.
- Tutik, Dwipayana, N. A. dan Elsyavana, V. 2018. Identifikasi dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor pada Variasi Pelarut dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati*. 1(2): 80-87.
- Veronika, M. 2017. Efektivitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Sebagai Bio-Sanitizer Tangan dan Daun Selada (*Lactuca sativa*). *[skripsi]*. Universitas Atma Jaya Yogyakarta. Yogyakarta.
- Widiani, P.I., dan Komang, J.P.P. 2020. Uji Daya Hambat Ekstrak etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal Medika Udayana*. 9(3): 22-28.
- Widjaja, E.A. 2014. *Kekinian Keanekaragaman Hayati Indonesia*. LI. Jakarta.
- Widhowati, D., Musayannah, B.G., Nussa, O.R.P.A. 2022. Efek Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) Sebagai Anti Bakteri Alami Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *VITEK Bid Kedokt Hewan*. 12(1):17–21.
- Widowati, I, Siti E dan Sari W. 2014. *Uji Aktivitas antibakteri Ekstrak Daun Kelor (Moringa Oleifera) Terhadap Bakteri Pembusukan Ikan Segar (Pseudomonas aeruginosa)*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Yanti, S. dan Vera, Y. 2019. Skrinning Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*). *J. Kesehatan Ilmiah Indonesia*. 4(1): 41-46.
- Zhang, L.J., Guerrero-Juarez, C.F., Hata, T., Bapat, S.P., Ramos, R., Plikus, M.V., Gallo, R.L. 2015. Dermal Adipocytes Protect Against Invasive *Staphylococcus aureus* Skin Infection. *Science*. 347(6217): 67-71.