

**UJI DAYA ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN  
KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP BAKTERI  
*Klebsiella pneumoniae***



**KARYA TULIS ILMIAH**

**OLEH  
EGA ARFIANTI  
NIM. 2171011**

**PROGAM STUDI DIII FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2020**

**UJI DAYA ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN  
KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP BAKTERI  
*Klebsiella pneumoniae***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF MORINGA LEAF  
(*Moringa oleifera* L.) ETHYL ACETATE FRACTION AGAINST  
*Klebsiella pneumoniae***



**KARYA TULIS ILMIAH  
DIAJUKAN SEBAGAI PERSYARATAN MENYELESAIKAN  
JENJANG PENDIDIKAN DIPLOMA III FARMASI**

**OLEH :  
EGA ARFIANTI  
NIM. 2171011**

**PROGRAM STUDI DIII FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2020**

**KARYA TULIS ILMIAH**

**UJI DAYA ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KELOR  
(*Moringa oleifera* L.) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae***

**DISUSUN OLEH :  
EGA ARFIANTI  
NIM. 2171011**

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji  
dan telah dinyatakan memenuhi syarat/sah

Tanggal 28 Februari 2020

**Tim Penguji**

Yusianti Silviani, M.Pd

(Ketua)

Ardy Prian Nirwana, M.Si

(Anggota)

Aulia Nur Rahmawati, M.Si

(Anggota)

Menyetujui,

**Pembimbing Utama**

Aulia Nur Rahmawati, M.Si

Mengetahui,

**Ketua Program Studi**

**DIII Farmasi**

Iwan Setiawan, M.Sc., Apt

## LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN KTI

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah, dengan judul :

### **UJI DAYA ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae***

Yang dibuat untuk melengkapi persyaratan menyelesaikan Jenjang Pendidikan Diploma III Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, sejauh saya ketahui bukan merupakan tiruan ataupun duplikasi dari Karya Tulis Ilmiah yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar dilingkungan Program Studi DIII Farmasi STIKES Nasional maupun di perguruan tinggi atau Instansi manapun, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebut dalam daftar pustaka.

Apabila terbukti terdapat bukti tiruan atau duplikasi pada KTI, maka penulis bersedia untuk menerima pencabutan gelar akademik yang telah diperoleh.

Surakarta, Februari 2020



Ega Arfianti

NIM 2171011

## MOTTO

"Man jadda Wajadda"

"Sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan" (Q.S Al Insyirah :

6)

"Don't let your stress ruin your happiness" - **Ega Arfianti 2020-**

"You'll never know what exactly happen in the future. Just move forward because we are impossible to stepback" - **Ega Arfianti 2020-**

"Allah won't put you in the situation you can't handle"

Every great wizard in history has started out as nothing more than what we are now: a student. If they can do it, why not us ? -**Harry**

**Potter, Harry Potter and the Order of the phoenix-**

## PERSEMBAHAN

Dengan ini saya persembahkan Karya Tulis Ilmiah untuk :

1. Orang tua saya Bapak Moh Nurrochim Nasution, Ibu Catur Wahyu Utami dan adik saya Ema Arfitasari yang telah mendukung saya, memberi semangat dan mendoakan saya tanpa henti.
2. Teman-teman Tim Mikrobiologi yang sudah memberi saya semangat dan bantuan.
3. Teman-teman DIII Farmasi yang selalu memberikan saya semangat.
4. Kakak kakak tingkat yang selalu memberi saya masukan, dukungan, dan semangat
5. Pihak-pihak lain yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, yang memberi saya dukungan dan dorongan

## PRAKATA

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas karunia dan segala nikmat yang telah dilimpahkan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul **UJI DAYA ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumoniae***. Tujuan dari penulisan laporan ini yaitu sebagai syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Diploma III Farmasi di SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL. Pada kesempatan ini perkenankan penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis untuk dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. Ucapan terimakasih penulis kepada :

1. Allah SWT yang telah melimpahkan kesehatan dan keberkahan kepada kita semua.
2. Hartono, M.Si, Apt., selaku ketua SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL.
3. Aulia Nur Rahmawati, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Ardy Prian Nirwana, M.Si selaku dewan penguji yang telah memberikan pengarahan dan masukan yang berguna bagi sempurnanya Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Yusianti S, M.Si selaku dewan penguji yang telah memberikan pengarahan dan masukan yang berguna bagi sempurnanya Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Susi Rahmawati, A.md selaku asisten dosen yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan masukan yang berguna bagi sempurnanya Karya Tulis Ilmiah ini.

7. Laboran OBAT TRADISIONAL, KIMIA dan MIKROBIOLOGI DAN PARASITOLOGI SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL yang senantiasa membantu dan menemani selama proses praktikum.
8. Rekan-rekan mahasiswa, semua dosen dan asisten dosen Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta yang tidak bisa disebutkan satu persatu dalam membantu terlaksananya Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menerima kritik dan saran dari pembaca mengenai Karya Tulis Ilmiah ini. Harapan penulis semoga penelitian ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu kefarmasian bagi penulis, pembaca dan semua pihak. Amin.

Wassalamu'alaikum Warrahmatullahi Wabarakatuh.

Surakarta, Februari 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUL .....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
LEMBAR PERNYATAAN .....	iv
MOTTO .....	v
PERSEMBAHAN .....	vi
PRAKATA .....	vii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
INTISARI .....	xiv
<i>ABSTRACT</i> .....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	2
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
A. Landasan Teori.....	4
B. Kerangka pikir.....	11
C. Hipotesis .....	12
BAB III METODE PENELITIAN .....	13
A. Desain penelitian .....	13
B. Tempat dan Waktu Penelitian .....	13
C. Populasi dan Sampel .....	13
D. Instrumen Penelitian .....	14
1. Alat .....	14
2. Bahan.....	14

E. Identifikasi Variabel penelitian .....	14
F. Definisi operasional variabel penelitian.....	15
G. Alur penelitian.....	16
1. Bagan.....	16
2. Cara kerja.....	17
H. Analisis data penelitian .....	
I. Rencana jadwal penelitian .....	
BAB IV	
A. Hasil .....	25
B. Pembahasan .....	25
BAB V	
A. Kesimpulan .....	42
B. Saran .....	42
DAFTAR PUSTAKA .....	43
LAMPIRAN .....	46

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Zona kepekaan antibiotik Ciprofloxacin .....	9
<b>Tabel 2.</b> Jadwal penelitian .....	25
<b>Tabel 3.</b> Organoleptis ekstrak daun kelor .....	28
<b>Tabel 4.</b> Organoleptis fraksi etil asetat daun kelor .....	30
<b>Tabel 5.</b> Uji fitokimia .....	31
<b>Tabel 6.</b> Mikroskopis ekstrak daun kelor perbesaran objektif 100x .....	35
<b>Tabel 7.</b> Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada media MC .....	35
Tabel 8. Uji biokimia .....	
<b>Tabel 8.</b> Uji daya hambat .....	40

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Pengecatan bakteri Gram negatif <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	4
<b>Gambar 2.</b> Tumbuhan kelor ( <i>Moringa oleifera</i> L.) .....	6
<b>Gambar 3.</b> Kerangka pikir .....	11
<b>Gambar 4.</b> Bagan penelitian .....	16
<b>Gambar 5.</b> Ekstrak daun kelor .....	28
<b>Gambar 6.</b> Fraksi etil asetat daun kelor .....	30
<b>Gambar 7.</b> Hasil uji flavonoid .....	32
<b>Gambar 8.</b> Hasil uji saponin .....	32
<b>Gambar 9.</b> Hasil uji tanin .....	33
<b>Gambar 10.</b> hasil uji alkaloid .....	34
<b>Gambar 11.</b> Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	35
<b>Gambar 12.</b> Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada media MC .....	36
<b>Gambar 13.</b> Uji biokimia .....	37
<b>Gambar 14.</b> Uji fermentasi karbohidrat .....	38
<b>Gambar 15</b> Hasil uji daya hambat .....	40

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Pembuatan ekstrak .....	46
<b>Lampiran 2.</b> Fraksinasi .....	49
<b>Lampiran 3.</b> Perhitungan konsentrasi .....	51

## INTISARI

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif yang dapat menyebabkan berbagai infeksi. Fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dapat digunakan sebagai antibakteri. Daun kelor mengandung flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui kemampuan Fraksi etil daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dan mengetahui pada konsentrasi berapakah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) ini yang mampu menghasilkan zona hambat paling besar terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*. Metode yang digunakan yaitu *disc diffusion* (Kirby & Bauer) dengan seri konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hasil zona hambat yang diperoleh dianalisis dengan metode deskriptif. Hasil zona hambat yang diperoleh sebesar konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25% sebesar 19,2 mm; 16,1 mm; 14,1 mm; dan 6,63 mm. Kemampuan penghambatan ekstrak etanol fraksi etil asetat daun kelor paling besar pada konsentrasi 100% sebesar 19,2 mm.

**Kata Kunci :** *Moringa oleifera* L., daun kelor, *Klebsiella pneumoniae*, Kirby & Bauer

## ABSTRACT

*Klebsiella pneumoniae* is a Gram negative bacteria that can cause various infections. Moringa leaf ethyl acetate fraction can be used as an antibacterial. Moringa leaves contain flavonoids, tannins, saponins, and alkaloids. The purpose of this study was to study the ability of *Moringa oleifera* L. morphe fraction in inhibiting the growth of *Klebsiella pneumoniae* and to study at what concentration of *Moringa oleifera* L. leaves that could produce the largest inhibitory zone for the growth of *Klebsiella pneumoniae*. The method used is diffusion discs (Kirby & Bauer) with concentration series of 25%, 50%, 75%, and 100%. The inhibition zone results obtained were analyzed by descriptive method. Inhibition zone results obtained by 100%, 75%, 50%, and 25% by 19.2 mm; 16.1 mm; 14.1 mm; and 6.63 mm. The greatest inhibitory ability of ethanol extract of Moringa leaf ethyl acetate at 100% concentration was 19.2 mm.

**Key Words :** *Moringa oleifera* L., Moringa leaf, *Klebsiella pneumoniae*, Kirby & Bauer

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri berbentuk batang, berjenis gram negatif, memiliki ukuran sebesar 0,5-0,5 x 1,2  $\mu\text{m}$  dan merupakan bakteri anaerob. *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan pneumonia, yang menyerang jaringan paru-paru (alveoli). *Klebsiella pneumoniae* yang menyebabkan penyakit paru-paru memberikan penampakan berupa pembengkakan paru-paru sehingga lobus kiri dan kanan paru-paru menjadi tidak sama, demam (panas-dingin), batuk-batuk (bronkhitis), penebalan dinding mukosa dan dahak berdarah. Selain itu, bakteri ini juga dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, dan Abses hati (Tarina dan Kusuma,2017; Abbas et al, 2014)

Beberapa jenis *Klebsiella pneumoniae* diobati dengan antibiotik, terutama antibiotik yang mengandung cincin beta-laktam. Antibiotik tersebut di antaranya ialah siprofloksasin, kloramfenikol, ampicilin, dan meropenem. Tetapi, saat ini bakteri *Klebsiella pneumoniae* sudah mengalami resisten terhadap beberapa jenis antibiotik (Tarina dan Kusuma, 2017).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat diatasi dengan menggunakan bahan alam sebagai obat yang memiliki sifat antibakteri dan mengurangi kasus resistensi bakteri terhadap antibiotik. Indonesia memiliki potensi yang besar

dalam menyediakan berbagai jenis alternatif dari bahan alam. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antibakteri adalah daun Kelor.

Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki senyawa metabolit yang berfungsi sebagai alat pertahanan diri dari gangguan luar. Senyawa yang terkandung antara lain yaitu tanin katekol, tanin galia, steroid, triterpenoid, flavonoid, antrakuinon, alkaloid, dan gula pereduksi. Senyawa tersebut mempunyai kemampuan sebagai obat, manfaatnya yaitu sebagai detoksifikasi, antibakteri, antiinflamasi, tekanan darah, anemia, dan diabetes (Agustie, dan Samsuharto, 2014). Kandungan senyawa metabolit dalam daun Kelor yang berfungsi sebagai antibakteri ialah flavonoid (Putra dkk, 2016). Selain itu, penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kelor dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. Coli* (Lusi et al. 2016). Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian untuk menguji daya antibakteri fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Apakah fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) mampu menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* ?
2. Berapakah konsentrasi fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang menghasilkan zona hambat paling besar terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* ?

### **C. Tujuan**

1. Untuk mengetahui kemampuan fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dalam menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang menghasilkan zona hambat paling besar pada pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*.

### **D. Manfaat Penelitian**

1. Aspek Teoritis

Penelitian ini diharapkan menambah ilmu pengetahuan bahwa daun Kelor (*Moringa oleifera* L.,) memiliki daya antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*

2. Aspek Praktis

Penelitian tentang uji daya antibakteri fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.,) terhadap bakteri *klebsiella pneumoniae* menambah informasi tentang manfaat bahan alam sebagai pengganti antibiotik.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksperimental untuk menguji daya antibakteri fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) pada pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%

#### **B. Tempat dan waktu penelitian**

##### 1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi & Parasitologi Laboratorium Kimia Kualitatif dan Laboratorium Obat Tradisional Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta

##### 2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2019 – Januari 2020

#### **C. Populasi dan Sampel**

##### 1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian yang dilakukan. Dalam penelitian ini, populasi yang digunakan adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang diperoleh dari Jetis, Sukoharjo.

## 2. Sampel

Sampel adalah sebagian dari populasi yang diambil dari keseluruhan objek yang akan diteliti dan diharapkan mampu mewakili populasi. Sampel yang digunakan adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang di dapatkan di Jetis, Sukoharjo diambil secara *Random Probability Sampling* yaitu teknik pengambilan sampel secara acak.

## D. Instrumen Penelitian

### 1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah ohse bulat, ohse tegak, kapas lidi steril, oven, cawan petri, erlenmeyer, blender, jangka sorong, spidol, inkubator, timbangan, lampu bunsen, tabung reaksi, *rotary evaporator*, *beaker glass*, ayakan mesh, botol flakon, autoklaf, kertas saring, *deck glass*, mikroskop, *object glass*, penggaris, gunting, bejana.vortex, pipet, pipet ukur, pipet mikro, spatula.

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kelor, *Klebsiella pnumoniae*, etanol 70%, DMSO, NA miring, NA *plate*, larutan standart *Neflometer McFarland* 0,5, NaCl 0,9%, blankdisk, aquadest,

minyak emersi, alkohol, alkohol mikroskop, media KIA, media SIM, media UREA, media CITRAT, media MR/VP, media PAD, indikator *phenol red*, reagen Barried, reagen KOH 40%, FeCl<sub>3</sub> 10%, media MC/ENDO, media BHI, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a, HCl, FeCl<sub>3</sub> 5%, *disc* ciprofloxacin.

#### **E. Identifikasi Variabel Penelitian**

##### 1. Variabel bebas

Variabel bebas di penelitian ini yaitu variasi konsentrasi fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.)

##### 2. Variabel terikat

Variabel terikat di penelitian ini yaitu besarnya diameter zona hambat fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap *Klebsiella pneumoniae*

#### **F. Definisi Operasional Variabel Penelitian**

##### 1. Variabel bebas

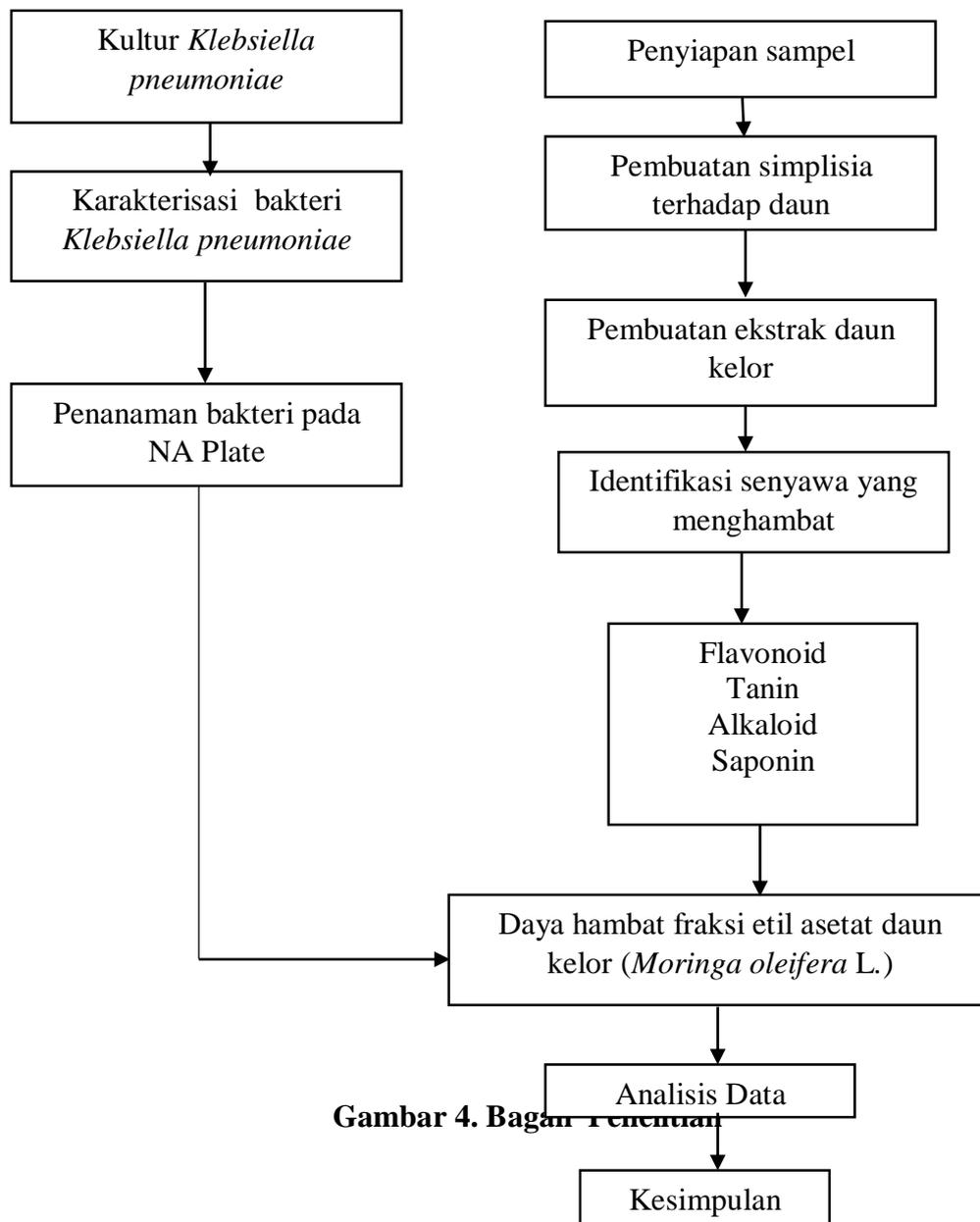
Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 25%, 50%, 75%, dan 100% fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dengan kriteria berwarna hijau tua, tidak cacat, dipetik pada pagi atau sore hari di Jetis, Sukoharjo.

##### 2. Variabel terikat

Penelitian ini ditentukan oleh zona radikal/zona bening yang diukur dengan jangka sorong dalam satuan (mm) replikasi dilakukan sebanyak 3 kali. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi STIKES Nasional.

## G. Alur Penelitian.

### 1. Bagan penelitian



Gambar 4. Bagan Penelitian

## 2. Cara Kerja

### a. Pembuatan fraksi etil asetat daun kelor

#### 1) Maserasi

Sebanyak 800 g serbuk daun kelor ditimbang. Kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi lalu ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1:10 lalu dimaserasi dengan 8 liter etanol 70% selama 5 hari , terlindung dari sinar matahari langsung, dan berada dalam suhu ruang. Kemudian disaring hingga mendapatkan maserat. Kemudian uapkan maserat menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50° C dengan kecepatan sampai didapat ekstrak yang kental (Wigati dkk, 2018).

#### 2) Partisi dengan n-heksana

Fraksi etil asetat yang telah dipekatkan ditimbang sebanyak 4 gram, kemudian dilarutkan dalam 40 mL campuran air dan metanol dengan perbandingan air:metanol yaitu 4:1. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah 250 mL lalu ditambahkan 40 mL n-heksana. Larutan dalam corong pisah kemudian dikocok dan didiamkan beberapa saat hingga membentuk dua fasa. Setelah terbentuk larutan dua fasa yang stabil, fasa atas (n-heksana) dipisahkan dari fasa bawah (air). Fasa air digunakan untuk partisi dengan pelarut etil asetat (Ghaffar dkk, 2018)

### 3) Partisi dengan Etil asetat

Fraksi air yang dihasilkan pada pemisahan dengan n-heksana dilakukan partisi kembali dengan menggunakan etil asetat. Fraksi air yang dihasilkan diukur volumenya kemudian ditambahkan etil asetat dengan perbandingan volume 1:1 ke dalam corong pisah. Larutan dalam corong pisah dikocok lalu didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua fasa. Setelah terbentuk dua fasa, fasa atas (etil asetat) dipisahkan dari fasa bawah (air). Fraksi etil asetat kemudian dipisahkan menggunakan waterbath dengan suhu 50° C dengan kecepatan (Ghaffar dkk, 2018).

#### b. Skrinning fitokimia

##### 1) Flavonoid

Sebanyak 2ml sampel daun kelor ditambah beberapa tetes HCl pekat kemudian ditambah bubuk Mg. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah (Ngajow dkk, 2013)

##### 2) Tanin

Sebanyak 2 ml sampel daun kelor ditambahkan gelatin, hasil positif ditandai adanya endapan (Ngajow dkk, 2013)

##### 3) Saponin

Sebanyak 2ml sampel daun kelor dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah aquades kemudian di kocok kuat Adanya senyawa

sponin ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil. (Ngajow dkk, 2013)

#### 4) Alkaloid

Sebanyak 1-2 ml sampel daun kelor ditambah reagen mayer jika positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih,. Ditambahkan Dragendorff terbentuk endapan jingga jika positif (Ngajow dkk, 2013)

#### c. Pembuatan stok variabel konsentrasi ekstrak

Penelitian dengan menggunakan fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.). Stok konsentrasi dalam berbagai variasi mulai dari 25%, 50%, 75%, dan 100% dengan pelarut DMSO, serta kontrol negatif menggunakan DMSO. Penimbangan ekstrak untuk membuat larutan uji :

##### 1) Konsentrasi 100%

5 gram sampel dimasukkan ke labu ukur 5 ml lalu, ditambahkan dengan DMSO hingga tanda batas

##### 2) Konsentrasi 75%

Dipipet 3,75 gram sampel dimasukkan ke labu ukur 5 ml, lalu ditambahkan dengan DMSO hingga tanda batas

##### 3) Konsentrasi 50%

Dipipet 2,5 gram sampel dimasukkan ke labu ukur 5 ml, lalu diencerkan dengan DMSO hingga tanda batas

4) Konsentrasi 25%

Dipipet 1,25 gram sampel dimasukkan ke labu ukur 5 ml, lalu ditambahkan dengan DMSO hingga tanda batas

Kontrol negatif menggunakan DMSO sebanyak 5 ml

5) Kontrol positif menggunakan *disc* ciprofloxacin

d. Sterilisasi alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam melakukan uji seperti pisau, erlenmeyer, dan tabung reaksi dicuci dengan sabun cuci antiseptik dan dikeringkan ke dalam suhu oven dengan suhu 170° C selama 1 jam. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ose dan pinset di panaskan di api bunsen (Makalew dkk, 2016).

e. Penyuburan bakteri

Isolat bakteri diinokulasikan pada media cair BHI (Brain Heart Infuction) kemudian diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C. Kekeruhan yang terjadi pada media BHI dibandingkan dengan standart Mc Farland 1,5x10<sup>8</sup> cfu/ml. (Sulviana dkk, 2017)

f. Pengecatan

Sampel dari media BHI diambil 1 ujung mata ose dan diratakan pada gelas obyek yang telah dibebaslemakkan dengan dipanasi diatas nyala Bunsen hingga kering kemudian kemudian dikeringkan lagi dan preparat siap dicat. Preparat yang telah siap dicat digenangi dengan cat Gram A selama 1-3 menit kemudian digenangi cat Gram B selama 0,5-

1 menit, setelah itu cat dibuang dan dicuci dengan air. Preparat kemudian ditetesi cat Gram C sampai warna cat dilunturkan. Setelah itu preparat digenangi cat Gram D selama 1-2 menit kemudian dicuci dan dikeringkan dalam udara kamar. Preparat siap diperiksa di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali (Muhtadi dkk, 2012).

g. Inokulasi pada media *Mac Conkey*

Stok bakteri *Klebsiella pneumoniae* diambil menggunakan ose dan digoreskan diatas media *Mac Conkey* Agar (MCA), kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. (Makalew dkk, 2016)

h. Uji Biokimia

Koloni bakteri Gram negatif yang telah diisolasi dari agar *Mac Conkey* ditanam di media :

1) Media KIA/TSIA

Sebanyak satu ose bakteri ditusukkan ke media hingga dasar, lalu di goreskan secara zig-zag pada kemiringan media. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Apabila media berwarna kuning menandakan adanya Acid atau asam yang terbentuk. Alkali positif ditandai dengan pembentukan warna merah, adanya gas ditandai dengan bagian yang terangkat pada media sedangkan H<sub>2</sub>S positif ditandai dengan terbentuknya warna hitam pada media.

2) Media SIM

Sebanyak satu ohse bakteri ditusukkan pada media hingga dasar. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perubahan warna hitam tanda adanya H<sub>2</sub>S pada media tersebut. Motil ditandai dengan adanya pertumbuhan menyebar disekitar bekas tusukan. Indol terbentuk setelah ditambahkan 5 tetes reagen Erlich/Kovac

### 3) Media Urea

Sebanyak satu ohse bakteri ditusukkan pada media hingga dasar. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika positif ditandai dengan warna merah.

### 4) Media Citrat

Sebanyak satu ohse bakteri ditusukkan ke media hingga dasar, lalu di goreskan secara zig-zag pada kemiringan media. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna biru pada media.

### 5) Media MR/VP

Sebanyak satu ohse bakteri dimasukkan ke dalam media, homogenkan. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. VP positif ditandai dengan terbentuknya warna merah setelah ditambahkan 10 tetes reagen Barried dan 4 tetes reagen KOH 40 %. MR positif ditandai dengan warna merah setelah ditambahkan 5 tetes reagen Methyl Red ke dalam media.

6) Media PAD

Sebanyak satu ohse bakteri dimasukkan ke dalam media, homogenkan. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ditandai dengan adanya perubahan warna hijau setelah ditambahkan HCl 0,1N hingga media berwarna kuning lalu ditambahkan 5 tetes reagen FeCl<sub>3</sub> 10%

7) Media Gula-gula (glukosa, manitol, maltosa, laktosa, glukosa)

Sebanyak satu ohse bakteri dimasukkan ke dalam media, homogenkan. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

i. Penanaman media NA miring

Bakteri dari media Mc Counkey ditusukkan sebanyak 1-2 ohse kedalam NA miring hingga dasar, lalu digoreskan secara zig-zag di area kemiringan media. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C (Wuryanti dkk, 2010)

j. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri yang diambil dari NA miring sebanyak 1-2 ohse disuspensikan dalam 2 ml NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar *Mc Farland* (Ngajow dkk, 2013)

k. Metode *Kirby bauer*

Metode Metode uji daya antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode Kirby-Bauer (difusi cakram). Untuk

pengujian ini digunakan media *Nutrient Agar Plate* (NA plate) sebanyak empat cawan petri, empat buah *disc* meropenem . Sebelum bakteri ditanam pada media *Nutrient Agar Plate* (NA plate), bagian belakang cawan petri ditandai enam dan diberi kode menggunakan spidol . Lidi kapas dicelupkan ke dalam suspensi bakteri pada media *Brain Heart Infusion-Broth* (BHI-B) dan ditekan sedikit di dinding tabung lalu digoreskan pada media *Nutrient Agar Plate* (NA plate) fraksi etil asetat daun kelor yang ada di dalam tabung reaksi dihomogenkan terlebih dahulu menggunakan vortex kemudian *blank disc* dicelupkan pada masing-masing fraksi etil asetat daun kelor (100%, 75, 50%, 25%) setelah itu diletakkan pada cawan petri yang telah di beri suspensi bakteri. Diletakkan juga *blank disc* yang telah dicelupkan ke DMSO sebagai kontrol negatif dan disc ciprofloxacin sebagai kontrol positif. Selanjutnya media *Nutrient Agar Plate* (NA plate) diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Makalew dkk, 2016)

#### **H. Analisis data penelitian**

Hasil penelitian uji daya antibakteri fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dianalisis menggunakan metode deskriptif yaitu melihat langsung pebandingan besarnya cakram uji yang mengandung kontrol negatif dan konsentrasi fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dalam menghambat *Klebsiella pneumoniae*.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan diameter zona hambat fraksi etil asetat daun kelor pada konsentrasi 100% sebesar 19,2 mm, konsentrasi 75% sebesar 16,1 mm, konsentrasi 50% sebesar 14,1 mm, dan konsentrasi 25% sebesar 6,63 mm.
2. Fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) pada konsentrasi 100% dapat menghasilkan diameter zona hambat paling besar terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

#### B. Saran

Perlu dilakukan penelitian mengenai uji daya hambat fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap bakteri lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, M.T., Khan, F.Y., A, Saif.,Muhsin.,Al-Dehwe, B., Abukamar, M., Elzouki, Abdel-Naser 2014. Epidemiology, Clinical Features and Outcome of Liver Abscess: A single Reference Center Experience in Qatar. Jurnal, ISSN: 1693-8615 EISSN : 2302
- Agustie, A. W. D. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Maserasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lamk) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Universitas Setia Budi Surakarta).
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)., 2019, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement
- Gaffar, S., Apriani, R.,Herlina,T., 2018 Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat dan n-heksana Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D: Jurnal Penelitian Kimia, Vol. 14(2) 2018, 303-313
- Akbar, T.C,2018,Panen Dan Pascapanen Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Organik Di PT. Moringa Organik Indonesia, Blora, Jawa Tengah,Skripsi,Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor
- Dima,L.RH, Fatimawali, Widya Astuty L,2016, Uji Aktivitas Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Terhadap Bakteri E.Coli Dan S. Aureus: Jurnal ISSN 2301-2493
- Darna, Darna, Masnur Turnip, Rahmawati, 2018, Identifikasi Bakteri Anggota Enterobacteriaceae pada Makanan Tradisional Sotong Pangkong : Jurnal Labora Medika Vol 2 No 2 (2018) 6-12
- Entjang I. 2001. Ilmu Kesehatan Masyarakat. Citra Aditya Bakti:Bandung
- Krisnadi, D.A. 2015. Kelor Super Nutrisi. Pusat Informasi Dan Pengembangan Tanaman Kelor Indonesia : Buletin Pertanian Perkotaan Volume 5 Nomor 2Blora
- Kundarto,W,2018, Potensi Ekstrak Daun Kangkung Darat (*IpomeareptansPoir*) sebagai agen sedatif Herbal. Journal of Pharmaeutical Science and clinical research, 2018,01,12-17
- Makalalag, A.K., Sangi, M., Kumaunang, M., 2015, SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DARI DAUN TURI (*Sesbania grandiflora* Pers) : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan AlamUniversitas Sam Ratulangi
- Makalew, Miranda A.J., Nangoy, E., Pensi, M., Kandidat,Wowor.,2016. Efek Antibakteri Air Perasan Daging Buah Nanas (*Ananas comosus* (L)Merr) Terhadap Bakteri *Klebsiella Pneumoniae*. Jurnal e-Biomedik (eBm), Volume 4, Nomor 1, Januari-Juni 2016
- Manik, D.F, Triana, H., 2014 ANALISIS KORELASI ANTARA KADAR FLAVONOID DENGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSI-FRAKSI DAUN KERSEN (*Muntingia calabura* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*:KHAZANAH, Jurnal Kimia Vol. 6 No.2 Januari 2014

- Meigaria, K. M., Mudianta, I. W., & Martiningsih, N. W. (2017). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak aseton daun kelor (*Moringa oleifera*). *Wahana Matematika dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya*, 10(2), 1-11.
- Mukhriani,dkk. 2014. Penetapan Kadar Tanin Total Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Secara Spektrofotometri Uv-Vis. *J F FIK UINAM Jurnal Kimia* Vol.2 No.4 2014
- Munte, L., Runtuwene R.M., Gayatri, C. 2015.Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Daun Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.). *UNSRAT* Vol. 4 No. 3 Agustus 2015 ISSN 2302 – 2493
- Mycek, Mary J. 2001. *Farmakologi* ed 2. Alih bahasa Awar Agoes. Jakarta:Widya Medika (Hal 327-329)
- Risma, Wahyu Ananda Putri, 2016, Identifikasi bakteri *E. Coli* dan *Salmonella* sp PADA JAJANAN BATAGOR DI SEKOLAH NEGRI DI KELURAHAN PISANGAN, CIRANDEU, DAN CEMPAKA PUTIH, CIPUTAT TIMUR, Skripsi, Fakultas Kedokteran Dan Profesi Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan Uin Syarif Hidayatullah Jakarta
- Pamujingtyas, A., 2019, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI INFUSA DAUN SIRIH HIJAU (*Piper batle* L.) dan DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP BAKTERI *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031, Skripsi,FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS SETIA BUDI
- Pratiwi. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Prestiantia,I., Baharuddina, M., Sappewalia,S.,2018.Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah Hutan (*Apis dorsata*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.*ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, Vol. 14(2) 2018, 314-322.
- Putra, P.D.W.I., Dharmayudha, A.A.G.O., Sudimartini, L.Made. 2016. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Jurnal*, pISSN : 2301-7848; eISSN : 2477-6637
- Sarah, C.A, 2017,AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI DAUN *Moringa oleifera* DAN KULIT BATANG *Jatropha curcas*, skripsi, FAKULTAS ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG
- Sari, P.P., Rita, W.S., dan Puspawati, M.N.,2015.Identifikasi Dan Uji Senyawa Tanin Dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri *Escherichia coli* (*E.coli*). *Jurnal Kimia* 9 (1) Januari 2015 27-34: ISSN 1907-9850.
- Siswandono.2008.*Kimia Medisinal* ed 2. Surabaya:Airlangga University Press (Hal: 134)
- Sulviana,A.W., Puspawati, N., dan Rukmana, R.M., 2017 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa* dan Uji Sensitivitas terhadap Antibiotik dari Sampel Pus Infeksi Luka Operasi di RSUD Dr. Moewardi. *Jurnal* ISSN : 2302 - 1306

- Susilo,J., Sartono,T.R., Sumarno.2004. DETEKSI BAKTERI Klebsiella pneumoniae Pada Sputum Dengan Metode Imunositokimia Menggunakan Anti Outer Membrane Protein Berat 40 Kda Klebsiella pneumoniae Sebagai Antibodi. Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XX.
- Syamsinar.2015. Pola Resistensi Antibiotik Dan Profil Plasmid Bakteri Klebsiella sp. Yang Berpotensi Sebagai Penyebab Infeksi Nosokomial Di Rsud Abdul Moeloek Provinsi, SKRIPSI, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- Tarina, N.T.I., Kusuma, S.A.F.,2017.Deteksi Bakteri Klebsiella pneumonia., Suplemen Volume 15 Nomor 2
- Ulfa, Atiq, Endang Suarsini, Mimien Henie Irawati al Muhdhar, 2016, Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan : Proceeding Biology Education Conference (ISSN: 2528-5742), Vol 13(1) 2016: 793-799
- Wigati, D., Ayu,R., A.A Hesti Wulan S.2018.Pengaruh Pemberian Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Terhadap Histopatologi Ginjal, Kadar Kreatinin Dan Ureum Tikus Jantan Galur Wistar yang Terinduksi Monosodium Glutamat.Media Farmasi Indonesia. Jurnal Vol 13 No 2
- Wuryanti, Mulyani NS, Asy'ari M, Sarjono,P.R.2010. Uji Ekstrak Bawang Bombay sebagai Anti Bakteri Gram Positif Staphylococcus aureus dengan Metode Difusi Cakram. Jurnal Vol. 12, No. 2, Hal. 69-73. ISSN: 1410-8801.