EFEK ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

Oleh :

Ara Bella Diyanti

NIM. 145070107111007

PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

DAFTAR ISI

Judul i
Halaman Persetujuan ii
Pernyataan Keaslian Tulisan iii
Kata Pengantar iv
Abstrak vii
Abstract viii
Daftar Isi ix
Daftar Tabel xiii
Daftar Gambar xiv
Daftar Singkatan xv
BAB 1 PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan Penelitian 4
1.3.1 Tujuan Umum 4
1.3.2 Tujuan Khusus 4
1.4 Manfaat Penelitian 4
1.4.1 Manfaat Akademik 4
1.4.2 Manfaat Praktis 5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA 6
2.1 Bakteri *Escherichia coli* 6
2.1.1 Taksonomi *Escherichia coli* 6
2.1.2 Morfologi *Escherichia coli* 7

2.1.3 Struktur Antigenik 9
2.1.4 Klasifikasi 11
2.1.5 Epidemiologi *Escherichia coli* 14
2.1.6 Penyakit yang disebabkan bakteri *Escherichia coli* 15
2.1.7 Pengobatan Infeksi *Escherichia coli* 18
2.2 Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) 20
2.2.1 Taksonomi *Moringa oleifera* Lam. 20
2.2.2 Morfologi *Moringa oleifera* Lam. 21
2.2.3 Kandungan pada *Moringa oleifera* Lam. 22
2.3 Cara Kerja Antimikroba 24
2.3.1 Menghambat Sintesa Dinding Sel 24
2.3.2 Menghambat Fungsi Membran Sel 25
2.3.3 Menghambat Sintesa Protein 25
2.3.4 Menghambat Sintesa Asam Nukleat 25
2.3.5 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri 26
BAB 3 KERANGKA KONSEP 27
3.1 Kerangka Konsep Penelitian 27
3.2 Deskripsi Konsep Penelitian 28
3.3 Hipotesis Penelitian 29
BAB 4 METODE PENELITIAN 30
4.1 Rancangan Penelitian 30
4.2 Sampel dan Estimasi Jumlah Pengulangan 30
4.3 Variabel penelitian 31
4.3.1 Variabel bebas 31
4.3.2 Variabel tergantung 31

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian 32
4.5 Bahan dan Alat Penelitian 32
4.5.1 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor 32
4.5.2 Alat dan Bahan Untuk Identifikasi Dan Tes Kepekaan Bakteri *Escherichia coli* 33
4.6 Definisi Operasional 33
4.7 Prosedur Penelitian 34
4.7.1 Sterilisasi alat 34
4.7.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor 35
4.7.3 Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* 36
4.7.3.1 Pewarnaan Gram 36
4.7.3.2 Biakan Bakteri Pada EMB Agar 37
4.7.3.3 Biakan Bakteri Pada MacConkey Agar 37
4.7.3.4 Uji Microbact 38
4.7.3.5 Uji Resistensi Antibiotik pada Bakteri 39
4.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji 40
4.7.5 Uji Kepekaan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Metode Dilusi Agar 41
4.8 Analisis Data 43
4.9 Rancangan Penelitian 45
BAB 5 HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN 46
5.1 Data Hasil Penelitian 46
5.1.1 Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* 46
5.1.2 Hasil Penentuan KHM 49
5.2 Analisis Data 54
5.2.1 Uji *Kruskal Walis* 55

5.2.3 Uji *Mann Whitney* 56
5.3 Pengujian Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kelor dengan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* 58
5.3.1 Uji Korelasi *Rank Spearmann* 58
BAB 6 PEMBAHASAN 60
6.1 Keterbatasan Peneliti 65
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN 66
7.1 Kesimpulan 66
7.2 Saran 66
DAFTAR PUSTAKA 68
LAMPIRAN 74

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Escherichia coli* SECARA *IN VITRO*

Oleh:

Ara Bella Diyanti

NIM: 145070107111007

Dinyatakan lulus pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 3 Juli 2018

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I,

dr. Rahmad, Sp.KFR
198310112009121002

Pembimbing I / Penguji II,

Prof.Dr.dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp.MK(K)
NIP. 194811220198002 1002

Pembimbing II / Penguji III,

dr. Cholid Tri Tjahjono, M.Kes, Sp.JP(K), FIHA
NIP. 196207241989031002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter,

dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 196310221996012001

ABSTRAK

Diyanti, Ara Bella. 2018. ***Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Kelor (Moringa oleifera Lam.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli Secara In Vitro***. Tugas Akhir, Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&H, SpMK(K) (2) dr. Cholid Tri Tjahjono, M.Kes, SpJP(K). FIHA

Escherichia coli merupakan penyebab utama dari penyakit infeksi saluran kencing di dalam lingkungan masyarakat yang apabila tidak segera ditangani dapat menyebabkan komplikasi berupa peradangan ginjal dan gagal ginjal akut. Penanganan untuk infeksi yang disebabkan oleh bakteri ini seringkali tidak memerlukan pengobatan dengan antibiotik, tetapi beberapa kondisi lainnya, seperti sepsis karena penanganan infeksi yang terlambat, memerlukan pengobatan dengan antibiotik. Namun, pemberian antibiotik saat ini telah dilaporkan mulai menyebabkan resistensi pada *Escherichia coli*, seperti antibiotik golongan penicillin dan cephalosporin, atau dikenal dengan *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBL). Berdasarkan alasan diatas, perlu dilakukan penelitian untuk menemukan agen antimikroba baru yang efektif terhadap bakteri *Escherichia coli*. Daun kelor memiliki komponen yang berperan sebagai antimikroba, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin. Penelitian ini menggunakan *true experimental* dengan menggunakan metode dilusi agar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antimikroba dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, dan 0% dengan empat kali pengulangan. Berdasarkan hasil penelitian, pada konsentrasi 20% tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri. Analisis statistik menggunakan uji *Kruskal Walis* menunjukkan perubahan yang signifikan pada perubahan konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ($p<0,05$). Pada uji korelasi *Rank Spearmann* menunjukkan ada hubungan yang sangat kuat dengan arah negatif (koefisien=-0,978) yang dapat disimpulkan semakin meningkat konsentrasi ekstrak etanol daun kelor maka potensi antimikroba semakin kuat. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memiliki efek antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Kata kunci: *Escherichia coli*, daun kelor, etanol, antimikroba

ABSTRACT

Diyanti, Ara Bella. 2018. ***Antimicrobial Effect of Ethanol Extract of Moringa Leaves (Moringa oleifera Lam.) Against Growth of Escherichia Coli Bacterial In Vitro***. Final Assignment, Study Program of Medicine, Faculty of Medicine Brawijaya University. Advisors: (1) Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&H, SpMK(K) (2) dr. Cholid Tri Tjahjono, M.Kes, SpJP(K). FIHA

Escherichia coli is the main cause of urinary tract infection in society, which will develop complications such as kidney inflammation and acute kidney failure if not be treated as soon as possible. Treatment for this infection caused by the bacteria usually does not need antibiotics, but some conditions, such as sepsis caused by late treatment of infection, needs antibiotics. Unfortunately, antibiotics these days have been reported being resistant to *Escherichia coli*, for example penicillin and cephalosporin, or is known as *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBL). Based on that fact, studies are needed to find new antimicrobial agent which is effective to eradicate *Escherichia coli*. Moringa leaf has antimicrobial components, like flavonoids, alcaloids, saponins, and tannins. This true experimental study uses agar dilution method. The objective of this study is to find the antimicrobial effect from ethanol extract of Moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam.) to *Escherichia coli* in vitro. The concentrations of the ethanol extract used in this study are 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, and 0% with 4 times repetitions. Based on the result of the study, in 20% concentration group, we did not find bacteria colony growth. Statistic analysis of this study, using Kruskal Walis test, shows a significant change in concentration difference to *Escherichia coli* growth ($p<0.05$). In Rank Spearmann corelation test, we found a very strong relationship with negative direction (coefficient=-0.978) which can be concluded that the higher the ethanol extract of Moringa leaves, the stronger its antimicrobial potency. It can be concluded from this study that ethanol extract of moringa leaves (*Moringa oleifera* Lam.) has antimicrobial effect on *Escherichia coli*.

Keywords: *Escherichia coli*, Moringa leaves, ethanol, antimicrobial

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang dan paling banyak diderita oleh penduduk di negara yang sedang berkembang, salah satunya adalah Indonesia. Menurut Gibson (1996) dalam Mulyati (2009), Infeksi disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, riketsia, jamur, dan protozoa.

Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri. Contoh dari beberapa bakteri yang dapat menyebabkan infeksi, diantaranya adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Menurut Jawetz *et al* (1996) pada Hutapea (2017), *Escherichia coli* adalah bakteri Gram negatif yang merupakan anggota flora normal usus yang dikenal sebagai bakteri enterik dan pada umumnya bersifat tidak patogen. Tetapi, bakteri ini dapat bersifat patogen apabila berpindah tempat, seperti berada diluar lokasi normalnya berada atau berada di lokasi lain yang jarang didapatkan flora normal, seperti infeksi saluran kencing. Untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri sering digunakan antibiotik.

Bakteri *Escherichia coli* sendiri merupakan penyebab utama dari penyakit infeksi saluran kencing yang didapat dalam masyarakat dan secara nosokomial serta penyebab kedua dari diare setelah infeksi *Rotavirus*. Salah satu kelompok *Escherichia coli* yang paling sering menyebabkan infeksi adalah kelompok *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) yang dapat

menimbulkan penyakit kolitis hemoragik yang ditandai dengan diare berdarah dan sindrom uremik hemolitik (HUS). Diketahui bakteri ini menyebabkan sekitar 12-50% infeksi nosokomial dan 4% kasus diare (Bakri *et al.*, 2015; Madappa, 2017). Sedangkan dicatat oleh WHO (2017), angka kejadian infeksi bakteri EHEC pada tahun 2004 paling tinggi terjadi di Argentina dengan perkiraan sekitar 22% kasus HUS per 100.000 anak usia 6 sampai 48 bulan.

Antibiotik merupakan substansi yang sangat bermanfaat di bidang kesehatan dan banyak dimanfaatkan oleh tenaga kesehatan sebagai obat untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri. Namun, seiring berkembangnya penemuan mengenai antibiotik dan penggunaan antibiotik sebagai agen terapi berlebihan atau *overuse* dan tidak terkontrol, menyebabkan terjadinya resistensi terhadap beberapa antibiotik tersebut.

Mekanisme utama dari resistensi bakteri terhadap antibiotik adalah inaktivasi agen antibiotik oleh enzim yang diproduksi oleh bakteri, alterasi target antibiotik sehingga melemahkan efek dari antibiotik ke bakteri, menurunkan permeabilitas antibiotik sehingga konsentrasi antibiotik yang efektif tidak tercapai untuk melawan bakteri dan secara aktif mengeksklusi agen antibiotik (Levinson, 2008). Hidrolisis dari antibiotik beta laktam oleh enzim beta laktamase adalah mekanisme tersering dari resistensi antibiotik golongan beta-laktam dari kelas bakteri Gram-negatif yang penting secara klinis (Bush dan Jacoby, 2010).

Resistensi bakteri terhadap antibiotik ini dapat menyebabkan kegagalan pengobatan antibiotik dan meningkatkan biaya pengobatan bagi penderita infeksi bakteri tersebut. Untuk itu, saat ini sudah banyak dilakukan penelitian untuk menemukan obat baru yang efektif terhadap bakteri, salah

satunya adalah penelitian yang menggunakan bahan-bahan alami. Penelitian yang dilakukan saat ini banyak mengambil bahan dari bahan alami karena lebih aman dan terbukti efektif serta memiliki efek samping yang lebih minim dibandingkan dengan obat antibiotik sintesis lainnya yang dijual dipasaran.

Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati yang bermanfaat bagi kesehatan dan berpotensi besar dalam pengembangan obat-obatan yang mengandung bahan-bahan alami. Penelitian pada bahan-bahan alam sendiri sudah banyak diteliti di Indonesia untuk dijadikan pengobatan alternatif selain obat-obatan sintesis, salah satunya adalah *Moringa oleifera* Lam. atau yang dikenal sebagai daun kelor. Hal ini terkait dengan kandungan bahan aktif sebagai hasil dari metabolisme sekunder pada daun kelor yang dapat memberikan manfaat, seperti sebagai antihipertensi, antitumor, antibakteri, dan antifungal (Anwar *et al*, 2007).

Menurut Oda (2018) dalam TribunJogja.com, masyarakat menggunakan daun kelor untuk mempercepat penyembuhan luka dengan cara menumbuk daun kelor sampai halus lalu ditorehkan ke luka. Hal ini karena masyarakat percaya daun kelor memiliki zat antibiotik untuk mencegah infeksi. Menurut Anwar *et al* (2005) dan Makkar dan Becker (1996), daun kelor memiliki peran sebagai sumber antioksidan alami yang baik karena adanya berbagai senyawa antioksidan, seperti asam askorbat, flavonoid, fenolat, dan karotenoid (Anwar *et al*, 2007). Selain itu, berdasarkan penelitian dari Pius *et al.* (2015), ditunjukkan bahwa ekstrak metanol dari daun kelor memiliki kandungan saponin, flavonoid, steroid, dan alkaloid yang mempunyai aktifitas antibakteri pada bakteri infeksi saluran kencing.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dibuatlah usulan penelitian yang berjudul "Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara *In Vitro*".

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek antimikroba dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhambat bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro.*

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk menentukan besarnya Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap bakteri *Escherichia coli.*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Mengembangkan ilmu pengetahuan di bidang kedokteran tentang bahan alam yang berhubungan dengan mikrobiologi
2. Memberikan alternatif baru antimikroba dari daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) bagi institusi Fakultas Kedokteran
3. Memberikan informasi baru untuk peneliti selanjutnya mengenai bahan alami lainnya yang bisa digunakan sebagai alternatif antimikroba.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memberikan pengobatan alternatif untuk infeksi bakteri, terutama oleh karena bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.).
2. Menambah pengetahuan tentang tanaman yang dapat dipakai sebagai pengobatan alternatif sehingga dapat mengurangi efek samping penggunaan obat sintesis
3. Meningkatkan kesadaran dan upaya dari masyarakat dalm eksplorasi sumber daya alam yang ada di Indonesia

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri yang termasuk dalam kelompok bakteri batang gram-negatif enterik (Enterobactericeae) (Jawetz *et* al, 2010).

Escherichia coli merupakan kuman oportunis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Bakteri ini memiliki sifat yang unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan *travelers diarrhea* dan juga memiliki kemampuan menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain diluar usus (Karsinah *et al.*, 2010).

Escherichia coli awalnya disebut "*Bacterium coli commune*", pertama kali diisolasi dari feses seorang anak pada tahun 1885 oleh dokter spesialis anak asal Austria bernama Theodor Escherich. Bakteri ini biasa ditemukan didalam saluran gastrointestinal manusia dan hewan, terutama di usus besar (Welch, 2006).

2.1.1 Taksonomi *Escherichia coli*

Taksonomi dari bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut (Brooks *et al*., 2013):

Kingdom	: Prokaryotae
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: *Escherichia*

Species : *coli*

Subtype : *Escherichia coli* O157: H7

2.1.2 Morfologi *Escherichia coli*

Gambar 2.1 bakteri *Escherichia coli* pada pewarnaan gram berbentuk basil berwarna merah (basil Gram negatif)

Escherichia coli berbentuk batang pendek (kokobasil), gram negatif dan berukuran kecil sekitar 0,4-0,7µm x 1,0-3,0 µm, dapat hidup secara soliter ataupun berkelompok, sebagian besar gerak positif dengan flagel peritrikh, tidak berkapsul atau hanya berupa selubung tipis, beberapa *strain* mempunyai kapsul dan tidak dapat membentuk spora. Bakteri ini juga memiliki pili atau fimbriae yang berfungsi sebagai alat berlekatan dengan bakteri lain dan bakteriofag, serta berfungsi untuk berenang (Karsinah *et al.*, 2010).

Dinding sel bakteri ini terdiri dari lapisan murein, lipoprotein, fosfolipid, protein dan lipopolisakarida. Lapisan murein-lipoprotein membentuk 20% dari total dinding sel, menyerupai jala/net dan bertanggung jawab terhadap rigiditas seluler. Lapisan fosfolipid, protein dan lipopolisakarida membentuk 80% dari dinding sel. Komponen utama yang terpenting dari dinding sel adalah lapisan lipopolisakarida, terdiri dari rantai polisakarida yang spesifik, untuk menentukan sifat antigenik dan aktivitas endotoxin (Karsinah *et al.*, 2010). Pada permukaan luar dan dalam dari dinding sel bakteri terdapat membran sel. Pada permukaan luar jarak antara membran sel dan ruang periplasmik sangat sempit, sedangkan

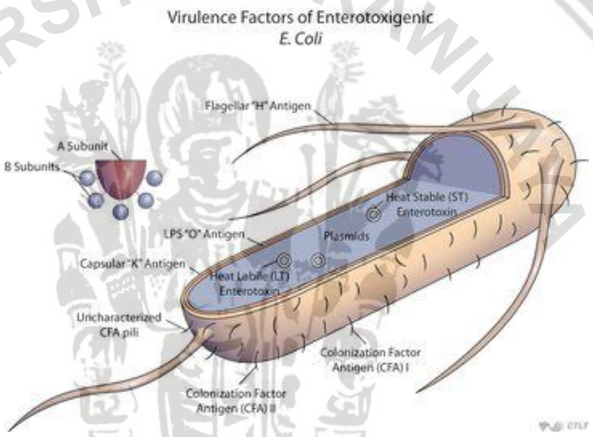
pada permukaan dalam memiliki jarak lebih luas antar ruang periplasmik. Di dalam ruang periplasmik terdapat racun dan enzim untuk menghancurkan zat-zat atau senyawa yang dapat membahayakan bakteri (Black, 2013).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang fakultatif anaerob (pada suhu 37°C), dapat memfermentasikan laktosa dan dapat memproduksi asam dan gas ketika di inkubasi pada suhu 44°C di saat terjadi fermentasi laktosa (Croxen *et al*., 2013; Filho *et al*., 2015). Bakteri ini secara khas memberikan hasil positif pada uji indol, lisin dekarboksilase, dan fermentasi manitol. Pada kultur, bakteri *Escherichia coli* membentuk koloni bundar, cembung, permukaan halus dan tepi yang tegas, serta memperlihatkan hemolisis pada media kultur *Blood Agar Plate* (BAP). Pada medium diferensial *Eosine-Methylene Blue* (EMB) akan membentuk morfologi koloni yang khas dengan inti berwarna hijau kegelapan dengan kilap logam atau disebut dengan *metalic green sheen*, koloni datar, dan tak berlendir. Pada medium *MacConkey Agar* (MAC), bakteri *Escherichia coli* akan memfermentasikan laktosa akan menghasikan suasana asam dan menghasilkan warna pink atau merah terang pada koloni tersebut dan *Bile salts* yang merupakan bagian dari agar juga akan mengendap karena adanya perubahan pH pada agar tersebut. Bakteri ini juga memberikan hasil uji bercak indol yang positif. Lebih dari 90% isolat *Escherichia coli* memberikan hasil positif untuk glukoronidase-β dengan menggunakan substrat 4-methyl-umbelliferyl-β-glucuronide (MUG) (Alam *et* al, 2017; Antony *et al*, 2016; Brooks *et al*, 2013).

Gambar 2.2 Koloni bakteri *Escherichia coli* berwarna *metallic green sheen* pada media *Eosine-Methylene Blue* (EMB)

Gambar 2.3 Koloni bakteri *Escherichia coli* berwarna merah muda pada media *MacConkey Agar* (MAC)

2.1.3 Struktur Antigenik



Gambar 2.4 Struktur antigen pada bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli memiliki 3 struktur antigen yang diklasifikasikan menjadi lebih dari 150 antigen O somatik (lipopolisakarida) yang stabil-panas, lebih dari 100 antigen K (kapsul) yang labil-panas, dan lebih dari 50 antigen H (flagella) (Brooks *et al*, 2010).

a. Antigen O

Antigen O merupakan bagian terluar lipopolisakarida dinding sel dan tersusun atas unit berulang lipopolisakarida. Antigen O bersifat resisten terhadap panas dan alkohol, dan biasanya dapat terdeteksi melalui aglutinasi bakteri. Antibodi yang peka terhadap antigen O paling utama adalah IgM. *Escherichia coli* memiliki satu atau lebih antigen O yang sama dengan sebagian besar bakteri Shigella. Selain itu, *Escherichia coli* dapat

bereaksi-silang dengan beberapa spesies *Providencia*, *Klebsiella*, dan *Salmonella*. Terkadang, antigen O dapat berkaitan dengan penyakit pada manusia yang spesifik, misalnya grup O spesifik *Eschechia coli* ditemukan pada diare dan infeksi saluran kemih (Brooks *et al*, 2010).

b. Antigen K

Antigen K pada bakteri *Escherichia coli* terletak diluar antigen O dan merupakan suatu polisakarida. Antigen K dapat mengganggu aglutinasi oleh antiserum O, dan antigen ini mungkin berkaitan dengan virulensi, misalnya galur *Escherichia coli* penghasil antigen K1 banyak ditemukan pada meningitis neonatorum, dan antigen K dari bakteri *Escherichia coli* menyebabkan perlekatan bakteri ke sel epitel sebelum menginvasi saluran cerna atau saluran kemih (Brooks *et al*, 2010).

c. Antigen H

Antigen H terletak pada flagella dan terdenaturasi atau dirusak oleh panas atau alkohol dan akan rusak pada suhu 100 derajat Celcius. Antigen H dipertahankan dengan pemberian formalin pada varian bakteri yang motil. Antigen H terdiri dari protein dan bersifat antigenik, dimana protein ini dapat di denaturasi dengan panas atau alkohol. Antigen H tersebut beraglutinasi dengan antibodi anti-H, terutama IgG. Penentu pada antigen H adalah fungsi susunan asam amino pada protein flagela (flagelin). Dalam serotipe tunggal, antigen flagela bisa terdapat dalam satu ataupun dua bentuk,dinamakan fase 1 dan fase 2. Dua jenis antigen ini terjadi karena ada mikroorganisme yang cenderung mengalami perubahan dari fase 1 ke fase 2, dinamakan variasi fase. Antigen H pada permukaan bakteri dapat mengganggu aglutinasi oleh antibodi anti-O. *Escherichia coli* memiliki antigen O14 yang sama dimiliki oleh sebagian besar bakteri Enterobacteriaceae. Karena itu, *Escherichia coli* 075:K100:H5 dapat menginduksi antibodi yang bereaksi dengan *H. influenzae* tipe b (Brooks *et al*, 2010).

2.1.4 Klasifikasi

Bakteri *Escherichia coli* biasanya hidup di dalam usus manusia dan hewan sebagai flora normal. Kebanyakan bakteri ini tidak berbahaya dan merupakan bagian penting dari saluran pencernaan manusia yang sehat. Namun, ada beberapa bakteri bersifat patogen atau dapat menyebabkan penyakit di luar saluran usus. Bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare dapat ditularkan melalui air atau makanan yang terkontaminasi, atau melalui kontak dengan hewan atau manusia yang terinfeksi (CDC, 2015).

Escherichia coli terdiri dari beberapa kelompok bakteri. Strain *Escherichia coli* dikategorikan menjadi patotipe yang dikaitkan dengan diare dan secara kolektif disebut sebagai *diarrheagenic Escherichia coli* (CDC, 2015)

a. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

EPEC atau *Escherichia coli* enteropatogenik merupakan penyebab diare pada bayi yang paling penting, khususnya di negara berkembang. Dulu EPEC dikaitkan dengan wabah diare di ruang perawatan bayi di negara maju. EPEC melekat ke sel mukosa usus halus dengan dibantu faktor yang menyandi kromosom sehingga EPEC dapat melekat lebih erat. EPEC menyebabkan hilangnya kemampuan mereabsorbsi karena mikrovili yang mendatar, memicu pembentukan struktur yang mirip mangkok atau alas aktin filamentosa, dan terkadang EPEC juga dapat masuk ke dalam sel mukosa. EPEC berkolonisasi di epitel usus terlebih dahulu, kemudian membentuk pendataran dan lesi di epitel intestinal yang menyebabkan diare cair dan berdarah. Lesi khas dari infeksi EPEC dapat dilihat melalui mikrograf elektron pada hasil biopsi lesi usus halus. Biasanya diare cair yang disebabkan oleh infeksi dari EPEC dapat sembuh spontan (*self-limited*), tapi juga ada yang menjadi kronis. Diare EPEC dikaitkan dengan berbagai serotipe spesifik *Escherichia coli*; galur diidentifikasi dengan menentukan tipe antigen O dan sesekali antigen H. Pemeriksaan identifikasi EPEC

dilakukan di laboratorium rujukan. Durasi diare karena infeksi EPEC dapat dipersingkat dan diare kronis dapat disembuhkan dengan terapi antibiotik (Brooks *et al*, 2010; Hussain, 2015).

b. *Enterotoxigenic Eschericia coli* (ETEC)

ETEC atau *Escherichia coli* enterotoksigenik merupakan penyebab utama "diare turis" atau *travellers diarrhea* dan penyebab diare pada bayi di negara berkembang. ETEC juga merupakan penyebab penting diare pada anak-anak dan memiliki konsekuensi yang fatal pada anak usia dibawah 5 tahun di negara dengan penghasilan rendah. ETEC ditularkan melalui makanan atau air yang terkontaminasi oleh kotoran hewan atau manusia. Infeksi ini dapat dicegah dengan menghindari makanan dan minuman yang bisa terkontaminasi oleh bakteri, serta sesering mungkin mencuci tangan dengan sabun (Brooks *et al*, 2010; CDC, 2015; Hussain, 2015).

Diare yang dimediasi ETEC disebabkan karena karakteristik toksin yang di sekresi, yaitu: eksotoksin labil-panas (*heat-labile exotoxin*-LT), enterotoksin stabil-panas (*heat-stable enterotoxin*-STa), atau kombinasi dari keduanya. LT bersifat antigenik dan merangsang pembentukan antibodi penetralisasi dalam serum pada seseorang yang pernah terinfeksi ETEC. LT yang dikendalikan oleh plasmid mengaktifkan adenilat siklase yang kemudian meningkatkan konsentrasi siklik adenosin monofosfat (cAMP) di sel epitel usus halus sehingga terjadi hipersekresi air dan klorida yang sangat banyak dan terus menerus serta menghambat reabsorbsi natrium. Lumen usus akan teregang oleh karena air dan terjadi hipermotilitas yang menyebabkan diare yang berlangsung selama beberapa hari. Selain itu, STa yang dikendalikan sekelompok plasmid yang heterogen mengaktifkan guanilat siklase dalam sel epitel usus dan merangsang sekresi cairan. Banyak galur STa-positif yang juga menghasilkan LT. Galur yang memiliki kedua macam toksin tersebut menyebabkan diare yang lebih berat (Brooks *et al*, 2010; Hussain, 2015).

c. *Shiga Toxin Producing Escherichia coli* (STEC)

STEC atau *Escherichia coli* penghasil toksin Shiga juga dapat disebut sebagai *Escherichia coli* penghasil Verositotoksin (VTEC) atau *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) merupakan patotipe yang paling sering berkaitan dengan wabah makanan (CDC, 2015). STEC dikenal sebagai penyebab utama dari diare berdarah atau kolitis hemoragik. Ciri khas dari kelompok bakteri ini adalah memproduksi verositotoksin yang dikenal juga sebagai toksin Shiga (Stx). Stx diproduksi oleh bakteri ini di usus besar dan merusak jaringan yang kemudian mengakibatkan diare berdarah atau kolitis hemoragik. Selain itu, STEC juga dikaitkan dengan sindrom uremik hemolitik atau *Hemolitic Uremic Syndrome* (HUS), yang selanjutnya berjalan ke ginjal melalui aliran darah yang merusak sel endotel ginjal sehingga terjadi peradangan ginjal dan menyebabkan gagal ginjal akut. Penyakit yang juga dikaitkan dengan EHEC adalah anemia hemolitik mikroangiopati dan trombositopenia (Brooks *et* al, 2010; Hussain, 2015).

Di antara serotipe pada STEC, O157:H7 merupakan serotipe yang paling umum ditemukan dan satu-satunya yang dapat diidentifikasi dalam spesimen klinis. STEC O157:H7 tidak menggunakan sorbitol, berbeda dari kebanyakan *Escherichia coli* lainnya, dan tidak tumbuh pada agar sorbitol MacConkey (menggunakan sorbitol sebagai pengganti laktosa), galur O157:H7 juga memberikan hasil yang negatif pada uji menggunakan 4-methylumbelliferyl-β-glucuronide (MUG) dimana pada kebanyakan bakteri *Escherichia coli* memberikan hasil positif untuk glukuronidase- β pada uji MUG (Brooks *et al*, 2010).

d. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

EIEC atau *Escherichia coli* enteroinvasif menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis dan paling umum terjadi pada anak-anak di negara berkembang serta pada turis yang sedang bepergian ke daerah tersebut. EIEC dikarakteristikkan sangat mirip dengan *Shigella* sp.

dalam aspek biokimia, genetik, dan patogenik. Seperti *Shigella* sp., galur EIEC bersifat nonmotil dan tidak memfermentasi atau lambat memfermentasi laktosa. EIEC menyebabkan penyakit dengan cara menginvasi sel epitel mukosa usus (Brooks *et al*, 2015; Hussain, 2015)

e. *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC)

EAEC atau *Escherichia coli* enteroagregatif menyebabkan diare akut dan kronis (durasi > 14 hari) pada masyarakat berkembang dan dikenal sebagai penyebab diare persisten pada anak-anak dan orang dewasa serta dikenal sebagai penyebab diare endemik dan epidemik di seluruh dunia. Organisme ini juga merupakan penyebab penyakit yang ditularkan melalui makanan di negara maju. Galur EAEC ini ditandai oleh pola perlekatannya yang khas pada sel manusia. EAEC menghasilkan toksin yang mirip STa dan hemolisin. EAEC pertama kali menyebabkan kolonisasi di usus besar, diikuti sekresi enterotoksin dan sitotoksin yang mengakibatkan kerusakan mukosa yang signifikan (Brooks *et al*, 2010; Hussain, 2015).

2.1.5 Epidemiologi *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan penyebab utama penyakit infeksi saluran kemih yang didapat dalam masyarakat dan nosokomial serta merupakan penyebab kedua diare setelah infeksi *Rotavirus*. Infeksi saluran kemih lebih sering terjadi pada wanita daripada pria dikarenakan adanya perbedaan struktur anatomi. Diketahui bahwa sekitar 50% wanita memiliki setidaknya satu episode infeksi saluran kemih. Selain itu, bakteri *Escherichia coli* menyebabkan 12-50% infeksi nosokomial dan 4% kasus diare (Bakri *et al*, 2015; Madappa, 2017). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Rangel *et al.*(2005), bakteri ini paling sering ditularkan melalui makanan, selain itu juga dapat ditularkan melalui penularan dari manusia ke manusia, air yang terkontaminasi, kontak hewan, dan didapat dari laboratorium. Salah satu kelompok *Escherichia coli* yang paling sering menyebabkan infeksi adalah

Escherichia coli O157:H7 yang merupakan kelompok utama *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) yang dapat menimbulkan penyakit kolitis hemoragik yang ditandai dengan diare berdarah dan sindrom uremik hemolitik (HUS) (Bakri *et al*, 2015; WHO, 2017). Infeksi dari EHEC terjadi di semua negara dan angka kejadian bakteri ini bervariasi antar negara. Menurut Mead *et al.*(1999), Neil *et al.*(1987) dan Siegler *et* al.(1994), pada tahun 1982 sampai 2002, angka kejadian penyakit infeksi bakteri ini mencapai sekitar 73.480 setiap tahunnya, yang menyebabkan sekitar 2.168 penderita rawat inap dan 61 angka kematian setiap tahunnya, dan bakteri ini merupakan penyebab penting dari gagal ginjal akut pada anak-anak (Rangel *et al.*, 2015). Pada tahun 2004, jumlah kasus infeksi bakteri EHEC yang dikonfirmasi dari laboratorium di Uni Eropa dan Norwegia adalah 1,3% kasus per 100.000 penduduk, sementara di Amerika Serikat sekitar 0,9% kasus per 100.000 penduduk. Angka kejadian infeksi EHEC, khususnya HUS, paling tinggi terjadi di Argentina dengan perkiraan sekitar 22% kasus HUS per 100.000 anak usia 6 sampai 48 bulan (WHO, 2017).

2.1.6 Penyakit yang Disebabkan oleh *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan berbagai macam penyakit tergantung dari tempat infeksinya dan dapat muncul manifestasi klinis dari yang ringan sampai berat pada tubuh manusia. Beberapa penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* antara lain adalah:

1. Infeksi saluran kemih (ISK)

   Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang paling umum menyebabkan infeksi saluran kemih dan menjadi penyebab sekitar 90% infeksi pertama saluran kemih pada perempuan muda. Gejala dan tanda meliputi sering berkemih, disuria, hematuria, dan piuria serta terkadang disertai dengan demam ringan. Pada penderita ISK bagian atas, seperti *Escherichia coli pyelonephritis* atau ISK yang telah berkomplikasi akan

muncul gejala nyeri pinggul atau punggung bawah lokal, demam tinggi (>38,9°C), adanya peningkatan frekuensi dan urgensi kencing. Terkadang gejala dapat disertai dengan berkeringat, sakit kepala, mual, dan muntah. Apabila terjadi abses ginjal, akan muncul gejala demam, nyeri dada pleura akibat iritasi dari diafragma dan nyeri panggul dengan atau tanpa massa abdomen yang teraba. ISK juga dapat menyebabkan bakteremia dengan tanda klinis sepsis (Brooks *et al,* 2010; Madappa, 2017).

Sebagian besar ISK yang mengenai kandung kemih atau ginjal pada penderita yang sebelumnya sehat disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* yang memiliki sejumlah antigen O yang membentuk dan memproduksi faktor virulensi secara spesifik untuk memfasilitasi kolonisasi yang selanjutnya akan menyebabkan infeksi klinis. Bakteri tersebut dinamakan bakteri *Escherichia coli* uropatogenik yang memiliki ciri khas menghasilkan hemolisin yang bersifat sitotoksik dan memfasilitasi invasi jaringan (Brooks *et al*, 2010).

2. Diare

Diare didefinisikan sebagai buang air besar dengan feses tidak berbentuk (*unformed stools*) atau cair dengan frekuensi lebih dari tiga kali dalam 24 jam. Bila diare berlangsung selama kurang dari 2 minggu disebut diare akut, sedangkan bila berlangsung lebih dari 2 minggu disebut diare kronik. Gejala yang muncul dapat berupa feses yang cair dengan atau tanpa disertai lendir, darah, atau pus. Gejala yang menyertai dapat berupa mual, muntah, nyeri abdominal, mulas, tenesmus, demam, dan tanda-tanda dehidrasi (Amin, 2015). Infeksi bakteri merupakan salah satu penyebab dari diare. Namun, gejala-gejala yang mucul berbeda-beda tergantung dari jenis bakteri yang menginfeksi, salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli*. Gejala diare yang ditimbulkan oleh infeksi bakteri *Escherichia coli* juga berbeda-beda, tergantung dari sifat virulensi bakteri *Escherichia coli*, misalnya EPEC yang menyebabkan diare yang cair (*watery*) sering disertai

demam, distensi abdomen, paralisis ileus dan tanda-tanda dehidrasi; EIEC menimbulkan gejala seperti disentri yang disebabkan oleh *Shigella* (diare cair dengan atau tanpa disertai darah atau lendir, sering kali feses disertai darah, demam, muntah, nyeri kram perut, tenesmus); EHEC yang menimbulkan gejala diare dengan atau tanpa darah, seringkali disertai darah dan kram perut; ETEC menimbulkan gejala diare cair (*watery*) dan kram perut, seringkali menyerang turis atau pendatang, sehingga disebut *traveller's diarrhea* atau diare turis; dan EAEC menimbulkan gejala diare cair (*watery*) disertai tanda-tanda dehidrasi (Gee, 2016).

3. Sepsis dan Meningitis

Sepsis adalah kondisi medis serius yang disebabkan oleh respon imun yang sangat besar dan mengancam jiwa terhadap infeksi yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan, kegagalan organ, dan kematian (NIH, 2017; CDC, 2017). Sedangkan, meningitis adalah inflamasi (pembengkakan) selaput pelindung yang melapisi otak dan *spinal cord* karena infeksi bakteri atau virus pada cairan di sekitar otak dan *spinal cord* (CDC, 2017). Salah satu penyebab dari sepsis dan meningitis pada bayi adalah *Escherichia coli* yang merupakan penyebab tersering kedua setelah infeksi bakteri *group B streptococci* (Nizet dan Klein, 2011). Diketahui strain *Escherichia coli* dengan antigen kapsul K1 polisakarida menyebabkan hampir 40% kasus septisemia dan 75% kasus meningitis yang disebabkan oleh *Escherichia coli* (Gee, 2016). Sepsis yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Escherichia coli* merupakan infeksi sekunder akibat infeksi saluran kemih. Hal ini terjadi saat pertahanan normal tubuh penderita tidak adekuat sehingga bakteri ini masuk ke aliran darah dan menyebabkan sepsis. Sepsis karena bakteri *Escherichia coli* sering menyerang bayi karena masih belum memiliki antibodi IgM (Brooks *et al*, 2010). Bakteri yang telah masuk ke aliran darah akan menuju ke otak melalui aliran darah. Ketika bakteri sampai di otak, bakteri akan mengeluarkan serangkaian protein di permukaan bakteri

yang menengahi pengikatan dan menyerang sel endotel otak, yang kemudian akan terjadi meningitis (Nizet dan Klein, 2011).

Gejala sepsis yang paling sering adalah adanya demam, menggigil, pernafasan dan denyut jantung yang cepat, adanya ruam, kebingungan, dan disorientasi. Gejala ini juga sering ada pada kondisi lain, sehingga sepsis sulit didiagnosis, terutama pada tahap awal (NIH, 2017). Sedangkan gejala dari meningitis tergantung dari usia penderita. Pada bayi baru lahir dengan meningitis muncul gejala demam, gagal berkembang, atau tanda neurologis yang abnormal. Gejala lainnya dapat berupa penyakit kuning, penurunan makan, muntah, adanya periode apnea, gerak bayi lambat atau inaktif, juga dapat ditemukan adanya penonjolan di fontanella (titik lemah di kepala bayi) atau refleks abnormal. Pada bayi usia diatas 4 bulan dapat ditemukan gejala demam, adanya kekakuan leher, dan fontanella yang tegang. Pada penderita anak-anak dan orang dewasa dengan meningitis akut dapat ditemukan gejala demam, sakit kepala, muntah, bingung, lesu, dan kejang (Madappa, 2017; CDC, 2017).

4. Pneumonia

Pneumonia pada infeksi *Escherichia coli* merupakan infeksi sekunder yang sebelumnya didahului infeksi saluran kemih. Gejala yang muncul biasanya adalah sesak nafas, demam, peningkatan laju pernafasan, peningkatan sekresi di saluran pernafasan, dan adanya suara *rales* pada pemeriksaan auskultasi. Pada foto radiografi dada ditemukan bronkopneumonia, paling sering pada lobus bawah dan dapat menyebabkan empyema (Madappa, 2017).

2.1.7 Pengobatan Infeksi *Escherichia coli*

Pengobatan untuk infeksi bakteri *Escherichia coli* O157:H7 tergantung dari tingkat keparahan penyakitnya. Pada penderita, terutama orang dewasa

yang sehat, seringkali tidak memerlukan pengobatan untuk infeksi bakteri ini karena beberapa infeksi bakteri ini dapat sembuh dengan sendiri. Biasanya pada infeksi yang ringan dapat diobati dengan pemberian beristirahat dan pemberian asupan cairan yang cukup, serta memakan makanan yang bergizi, bersih dan sudah dimasak untuk menghindari malnutrisi. Tetapi, beberapa infeksi yang disebabkan oleh infeksi ini juga ada yang memerlukan pengobatan menggunakan antibiotik, seperti meningitis karena *Escherichia coli* dapat diberi antibiotik cephalosporin generasi ketiga (contoh: ceftriaxone), *traveller's diarrhea* diberi antibiotik doxycycline, trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMZ), fluoroquinolon, dan rifaximin, dan sistitis *Escherichia coli* dapat diberi dosis tunggal floroquinolon, TMP/SMZ, atau nitrofurantoin. Namun, ada beberapa penelitian yang menunjukkan antibiotik belum terbukti bermanfaat pada infeksi bakteri ini dan dapat meningkatkan kemungkinan terserang HUS hingga 17 kali lipat. Efek ini diperkirakan terjadi karena antibiotik yang merusak bakteri menyebabkan bakteri melepaskan racun lebih banyak ke dalam tubuh. Sebagian besar penelitian menyarankan penggunaan antibiotik digunakan hanya jika penderita mengalami sepsis atau ada indikasi penggunaan antibiotik. Selain itu, penggunaan obat-obatan untuk mengendalikan diare, seperti atropin dan diphenoxylate (Lomotil), juga dapat meningkatkan gejala dan memicu gejala (Davis, 2017; Madappa, 2017).

Beberapa bakteri *Escherichia coli* diketahui resisten terhadap beberapa antibiotik. Menurut hasil penelitian dari *Antimicrobial Resistant in Indonesia (AMRIN-Study)* tahun 2000-2005 pada 2494 individu di masyarakat, memperlihatkan bahwa 43% *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik antara lain: ampisilin (34%), kotrimoksazol (29%) dan kloramfenikol (25%). Sedangkan, pada 781 pasien yang dirawat di rumah sakit didapatkan 81% *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik, yaitu ampisilin (73%), kotrimoksazol (56%), kloramfenikol (43%), siprofloksasin (22%), dan gentamisin (18%) (Permenkes, 2015). Resistensi pada bakteri ini dikarenakan

bakteri *Escherichia coli* menghasilkan enzim beta-laktamase, disebut dengan *extended spectrum beta-lactamases* (ESBLs). Menurut Aztal *et al* (2004) dan Al-Jasser (2006), ESBLs adalah enzim plasmid yang menyebabkan hidrolisis dan inaktifasi antibiotik beta-laktam, termasuk sefalosporin, penicillin, dan aztreonam (Bramantono, 2013; Madappa, 2017).

2.2 Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

Moringa oleifera Lam. atau tanaman kelor merupakan salah satu jenis tanaman tropis yang mudah tumbuh di daerah tropis dan subtropis, seperti Indonesia, India, Pakistan, Bangladesh, Afghanistan. Kelor dapat tumbuh pada semua jenis tanah dan tahan terhadap musim kering dengan toleransi terhadap kekeringan sampai 6 bulan (Basra *et al*., 2015).

Menurut Broin (2010) dalam Aminah *et al*. (2015), tanaman kelor dikenal diseluruh dunia sebagai tanaman yang bergizi dan WHO telah memperkenalkan tanaman kelor sebagai salah satu pangan alternatif untuk mengatasi masalah gizi, seperti malnutrisi. Di Afrika dan Asia, daun kelor direkomendasikan sebagai suplemen yang kaya zat gizi untuk ibu menyusui dan anak pada masa pertumbuhan. Selain itu, menurut Anwar *et al*. (2007), Fahey (2005) dan Paliwal *et al*. (2011), tanaman kelor disebut juga "*the miracle's tree*" atau pohon ajaib dan "*mother's bestfriend*" karena memiliki banyak kandungan nutisi yang baik, serta memiliki potensial untuk mengobati beberapa penyakit, seperti kanker, hipertensi, dan diabetus melitus. Selain itu, daun kelor secara tradisional digunakan sebagai obat-obatan herbal untuk antidiabetes, antimikrobial, antihipertensi, antidemam, dan antiinflamasi (Akinlolu *et al*., 2014).

2.2.1 Taksonomi *Moringa oleifera* Lam.

Taksonomi dari *Moringa oleifera* Lam. adalah sebagai berikut (Arora *et al.*, 2013):

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta

Super division : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Class : Eudicots

Subclass : Rosids

Order : Brassicales

Family : Moringaceae

Genus : *Moringa*

Species : *Moringa oleifera* Lam.

2.2.2 Morfologi *Moringa oleifera* Lam.

Moringa oleifera Lam. atau tanaman kelor adalah jenis pohon yang tumbuh dengan cepat, biasanya tumbuh setinggi 10-12 m dan batangnya bisa mencapai diameter 45 cm. Kulit kayu memiliki warna abu-abu keputihan dan dikelilingi oleh gabus tebal. Tunas muda tanaman ini memiliki warna keunguan atau putih-kehijauan dan berbulu. Pohon ini memiliki bunga dengan mahkota yang terbuka dan terkulai, cabang yang rapuh, dan daun yang membentuk dedaunan lebat hingga dua sampai tiga kali lipat (Roloff *et al.*, 2009).

Tanaman kelor memiliki daun dengan panjang dapat mencapai 25-45cm dan tersusun secara spiral. Setiap lembar daun memiliki bulu-bulu kecil yang halus, berwarna hijau, dan memiliki pinggiran daun yang tidak bergerigi, bulat, berbentuk tumpul pada bagian ujung daun dan berbentuk runcing pada bagian dasar daun. Ranting dari daunnya berwarna hijau dan berbulu halus, yang kemudian akan berubah warna menjadi coklat saat menjadi dahan. Bunga dari tanaman kelor berbau harum, biseksual, dikelilingi oleh lima kelopak bunga

berwarna putih kekuningan, tipis, dan dasar bunga berwarna hijau. Bunga ini memiliki panjang sekitar 1,0-1,5 cm dan lebar sekitar 2,0 cm, serta tumbuh di batang yang ramping dan berbulu (Ramachandran *et al.*, 1980; Roloff *et al.*, 2009).

Gambar 2.5 Daun dari tanaman kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

2.2.3 Kandungan pada *Moringa oleifera* Lam.

Moringa oleifera Lam. atau kelor memiliki kandungan nutrisi mikro sebanyak 7 kali vitamin C jeruk, 4 kali vitamin A wortel, 4 gelas kalsium susu, 3 kali potassium pisang, dan protein dalam 2 yoghurt. Selain itu, tanaman ini juga mengandung beberapa vitamin dan kandungan mineral lainnya, seperti vitamin B (B1, B2, B3, B6, B7), D, E, K, Magnesium, dan zat besi (Mahmood *et al*, 2010). Daun kelor sendiri telah diidentifikasi mengandung antioksidan tinggi dan antimikroba. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan asam askorbat, flavonoid, phenolic, dan karotenoid (Anwar *et al*, 2007).

Tanaman kelor memiliki khasiat dan manfaat pada setiap bagian dari tanaman kelor, salah satunya adalah daun kelor. Daun kelor diketahui memiliki efek antimikroba. Menurut Patel *et al.* (2014), kandungan antimikroba yang ada pada daun kelor, antara lain:

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol alami yang tersebar luas pada tumbuhan, yang disintesis dalam jumlah sedikit (0,5-1,5%) dan dapat ditemukan pada hampir semua bagian tumbuhan (Havsteen, 1983; Markham, 1982). Penelitian secara *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan aktifitas dari senyawa flavonoid sangat beragam, salah satu diantaranya adalah memiliki aktivitas antimikroba. Mekanisme kerja antimikroba dari flavonoid adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, dan metabolisme energi dari bakteri (Cushnie dan Lamb, 2005). Selain itu, flavonoid juga dapat menginaktivasi adhesi mikroba, enzim, dan protein transport pada membran sel (Kumar dan Pandey, 2013).

b. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa kimia alami yang mengandung atom nitrogen dasar dan merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid seringkali memiliki efek farmakologis dan digunakan sebagai pengobatan medis dan pengobatan tradisional (Anwar *et al*, 2007; Bukar *et al*, 2010). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Mekanisme dari alkaloid dalam menghambat bakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel tidak terbentuk secara utuh (Chavasco *et al.*, 2014).

c. Saponin

Saponin merupakan glikosida dari triterpen, steroid atau alkaloid steroid yang tersebar secara luas di tumbuh-tumbuhan dan beberapa organisme laut (Hostettmann dan Marston, 1995). Pada penelitian yang dilakukan oleh Ajayi dan Fadeyi (2015), didapatkan data bahwa tanaman kelor mengandung beberapa senyawa yang memiliki aktifitas antimikroba, salah satunya adalah saponin. Saponin memilik efek antimikroba karena dapat membentuk kompleks dengan steroid, protein, dan fosfolipid membran sel

sehingga dapat mengubah permeabilitas atau bahkan menyebabkan kehancuran dari sel membran bakteri (Chavasco *et al*., 2014).

d. Tanin

Tanin merupakan senyawa polifenol dengan berat molekul relatif besar, banyak terdapat pada tanaman obat dan dianggap memiliki sifat antioksidan dan antimikroba (Gong *et al*., 2014). Pada penelitian yang dilakukan oleh Dodiya dan Amin (2015), tanaman kelor mengandung senyawa tanin yang bertanggung jawab atas aktivitas antimikroba. Senyawa tanin diduga berhubungan dengan kemampuan menghambat enzim bakteri, mengubah metabolisme membran sel bakteri, dan mempengaruhi terjadinya kompleksasi makromolekul dengan ion logam pada bakteri sehingga dapat mengurangi ketersediaan ion penting untuk metabolisme mikroba (Chavasco *et al*., 2014).

e. Terpenoid

Terpenoid atau senyawa terpen merupakan kelompok senyawa alami yang sebagian besar terdapat pada tanaman. Senyawa ini mudah menguap dan memberi aroma pada tanaman dan bunga (Yadav *et al*., 2014). Pada penelitian yang dilakukan Vinoth *et al*. (2012), daun kelor mengandung senyawa terpenoid pada ekstrak etanol dan air dan diketahui terpenoid memiliki aktivitas antimikroba. Senyawa terpenoid bersifat aktif terhadap bakteri. Mekanisme antimikroba dari senyawa terpenoid dalam menghambat bakteri tidak sepenuhnya dipahami, namun diduga terlibat dalam perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik (Cowan, 1999).

2.3 Cara Kerja Antimikroba

2.3.1 Menghambat Sintesa Dinding Sel

Dinding sel bakteri memiliki fungsi sebagai pelindung osmotik protoplasma di bawahnya dari trauma osmotik maupun mekanik. Tekanan

osmotik yang tinggi di dalam sel akan mendorong cairan dari dalam sel bakteri sehingga terjadi kebocoran dan kematian dari sel bakteri tersebut. Hal ini menjadi dasar efek bakterisidal pada bakteri. Contoh antimikroba jenis ini adalah antimikroba golongan β-laktam (penisilin dan sefalosporin) (Cowan, 1999).

2.3.2 Menghambat Fungsi Membran Sel

Membran sel merupakan suatu pembatas membran bagi bebasnya difusi antara lingkungan dalam dan luar sel. Gangguan dalam keutuhan membran sel tersebut dapat menyebabkan terjadinya kebocoran dan kematian sel, mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi di dalam sel, menghambat proses pernafasan dan aktivitas biosintetis tertentu yang secara keseluruhan mempengaruhi kehidupan sel bakteri tersebut. Contoh antimikroba jenis ini adalah polimiksin yang akan berikatan dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri sehingga merusak struktur membran sel tersebut (Cowan, 1999).

2.3.3 Menghambat Sintesa Protein

Sintesa protein merupakan hasil dari 2 proses utama yaitu transkripsi dan translasi. Sintesa ini terjadi pada ribosom. Antimikroba streptomisin dapat berikatan dengan ribosom 30S sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA dan terbentuk protein abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri tersebut (Cowan, 1999).

2.3.4 Menghambat Sintesa Asam Nukleat

Sintesis asam nukleat erat kaitannya dengan proses duplikasi dan transkripsi. Setiap zat yang mengganggu sintesa ini akan mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme sel bakteri. Antimikroba rifampisin dapat berikatan dengan enzim Polymerase-RNA sehingga menyebabkan terhambatnya sintesa RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Cowan, 1999).

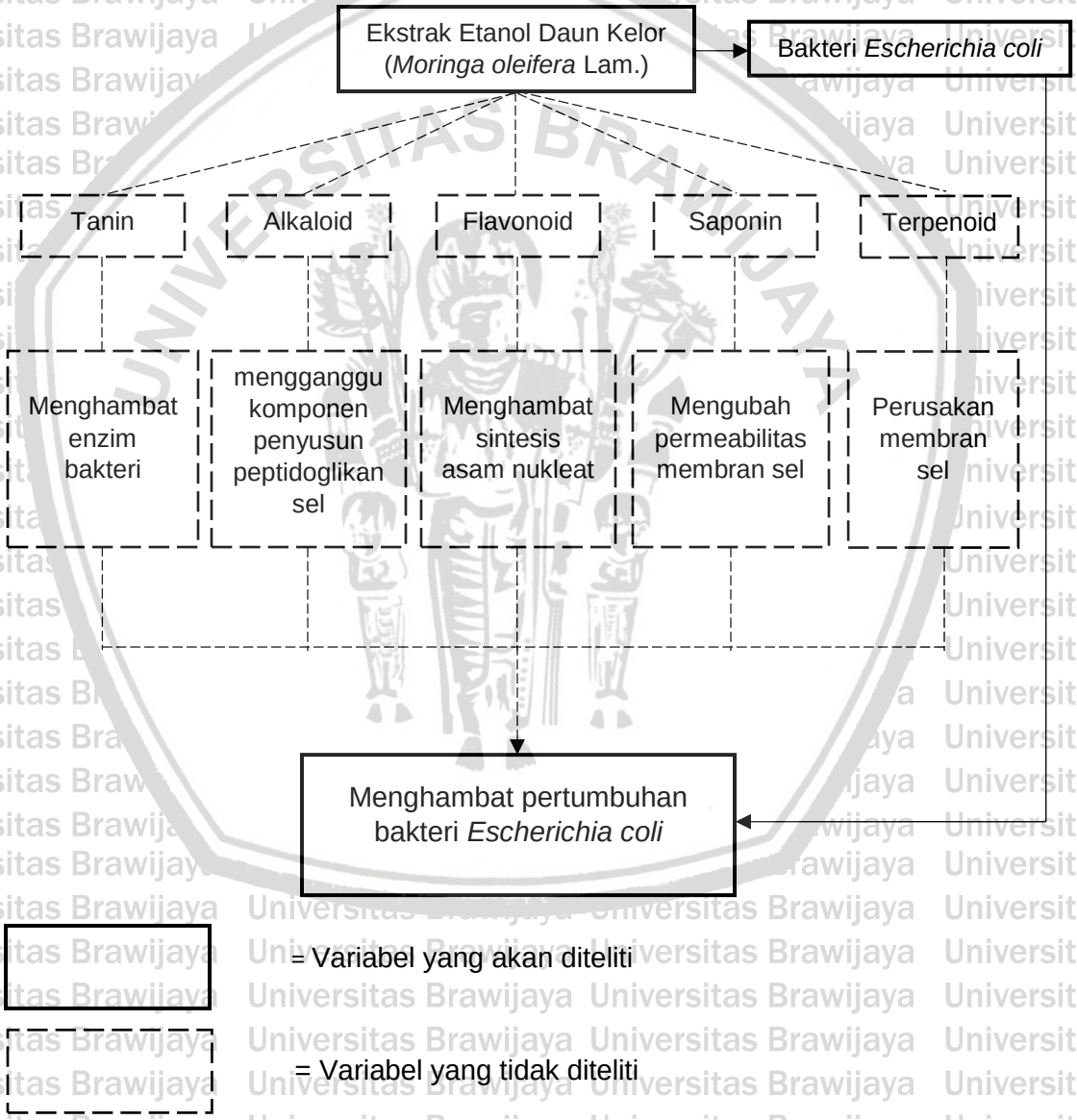
2.3.5 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri

Enzim-enzim yang memiliki peran dalam proses metabolisme seringkali dihambat oleh senyawa-senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa ini akan bergabung dengan enzim tersebut sehingga mencegah kombinasi substrat-enzim dan reaksi-reaksi katalitik. Antimikroba sulfonamid bersaing dengan PABA (*Para-Amino Benzoic Acid*) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat yang non-fungsional. Proses ini mengakibatkan kelangsungan hidup bakteri terganggu (Cowan, 1999).

BAB III

KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Daun kelor mengandung banyak senyawa aktif yang bermanfaat, seperti vitamin C, Kalsium, β- karoten, flavonoid, potassium, alkaloid, asam askorbat, saponin, karotenoid, tanin, fenol, dan terpenoid. Namun, senyawa aktif yang akan diteliti saat ini berkaitan dengan adanya aktivitas antimikroba adalah senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid.

Mekanisme kerja antimikroba dari flavonoid adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, dan metabolisme energi dari bakteri (Cushnie dan Lamb, 2005). Mekanisme dari alkaloid dalam menghambat bakteri adalah dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan sel tidak terbentuk secara utuh. Saponin memilik efek antimiroba karena dapat membentuk kompleks dengan steroid, protein, dan fosfolipid membran sel sehingga dapat mengubah permeabilitas atau bahkan menyebabkan kehancuran dari sel membran bakteri. Senyawa tanin diduga berhubungan dengan kemampuan menghambat enzim bakteri, mengubah metabolisme membran sel bakteri, dan mempengaruhi terjadinya kompleksasi makromolekul dengan ion logam pada bakteri sehingga dapat mengurangi ketersediaan ion penting untuk metabolisme mikroba (Chavasco *et al*., 2014). Kerja antimikroba senyawa terpenoid diduga terlibat dalam perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik (Cowan, 1999). Dengan demikian, efek antimikroba dari

kandungan senyawa dalam ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) mempunyai efek antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true eksperimental*, dengan menggunakan *post test only control group*. Metode yang dipakai adalah dilusi agar (*agar dilution test*) untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli*.

4.2 Sampel dan Estimasi Jumlah Pengulangan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* dari koleksi urin penderita infeksi saluran kemih yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Dalam penelitian ini digunakan 6 macam konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang berbeda dan 1 kontrol positif, sehingga estimasi jumlah pengulangan dapat ditentukan dengan menggunakan rumus (Rachma L, 2012):

$p\ (n-1) \geq 15$

keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan

Dengan demikian, untuk memenuhi persyaratan uji statistik pada penelitian ini, maka:

$p = 7$

$p\ (n-1) \geq 15$

$7(n-1) \geq 15$

$7n - 7 \geq 15$

$7n \geq 20$

$n \geq 4$

Jadi jumlah pengulangan yang perlu dilakukan pada penelitian ini adalah paling sedikit empat kali.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan berbagai konsentrasi yang didapatkan melalui penelitian pendahuluan.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan bakteri melalui ketebalan koloni yang tumbuh pada medium agar yang telah dicampur dengan 6 macam konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM).

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Waktu pelaksanaan penelitian pada bulan Februari – April 2018.

4.5 Bahan dan Alat Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor

Alat pembuatan ekstrak etanol daun kelor yaitu timbangan analitik, pisau, oven, blender, *rotary vacuum evaporator,* gelas ukuran 10 mL, erlenmeyer 500 mL, erlenmeyer 1 L, *beaker glass,* tabung reaksi, mikro pipet, *vortex*, pengaduk kaca, kertas saring/whatman, gelas ekstraksi dan sentrifus set.

Bahan untuk pembuatan ekstrak etanol daun kelor yaitu tumbukan daun kelor (300 gram sediaan kering), ethanol 96% dan aquadest steril. Bahan uji kepekaan ekstrak etanol daun kelor terdiri dari isolate *Escherichia coli,* ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), *Nutrient Agar* (NA), NaCl dan aquadest steril.

4.5.2 Alat dan Bahan untuk Identifikasi dan Tes Kepekaan bakteri *Escherichia coli*

Alat yang digunakan untuk identifikasi dan tes kepekaan bakteri *Escherichia coli* adalah alat Microbact 12A/E atau 24E, cawan petri, ose, tabung reaksi, inkubator, gelas obyek, korek api, spidol permanen, pipet steril 10 mL, mikroskop, penggaris, bunsen, minyak emersi, alat inkubasi, spektrofotometri dan kertas penghisap.

Bahan untuk identifikasi *Escherichia coli* yaitu biakan murni *Escherichia coli* dengan kepadatan 10^8 bakteri/cc, aquadest, pewarna gram (kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin), bahan EMB (*Eosine Methylene Blue)*, dan bahan identifikasi Microbact 12A/E atau 24E.

Bahan untuk identifikasi uji resistensi bakteri yaitu biakan murni bakteri *Escherichia coli* dengan kepadatan 10^8 bakteri/cc, aquadest, lidi kapas, *Nutrient Agar Plate* (NAP), 13 macam obat dalam bentuk *susceptibility disc.*

4.6 Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) adalah ekstrak yang diperoleh dari daun kelor yang telah dikeringkan, kemudian dihaluskan, direndam dengan etanol 96%, diaduk, didiamkan (metode maserasi), dan diambil filtratnya dengan penyaringan yang kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C. Ekstrak etanol daun kelor diperoleh dan diproses di Balai Penelitian Tanaman Obat Materia Medika, Batu.
2. Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif (-) bersifat anaerob fakultatif dan tidak dapat membentuk spora. Sampel bakteri *Escherichia coli* didapatkan dari koleksi urin penderita infeksi saluran kemih yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya .
3. Kontrol Negatif atau Kontrol Bakteri (KB) adalah larutan dengan ekstrak 0% (larutan *Nutrient Agar*).
4. Kontrol Positif atau Kontrol Bahan atau Kontrol Ekstrak (KE) adalah larutan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan konsentrasi 50% dan dicampur *Nutrient Agar*.
5. Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah kadar atau konsentrasi minimal ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji (*Escherichia coli*). KHM didapatkan dari mengamati dan membandingkan ketebalan dari koloni bakteri dengan kontrol yang ditanam diatas media agar yang dicampur dengan berbagai macam konsentrasi ekstrak etanol daun kelor yang berbeda. Penelitian KHM dilakukan dengan metode dilusi agar (*agar dilution method*).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan:

a. Mencuci semua alat dengan sabun hingga bersih dan membiarkannya hingga kering

b. Alat-alat yang bisa disterilisasi dalam autoklaf dibungkus dengan kertas roti dan dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 atm, selama 15 menit. Sedangkan alat-alat yang tidak bisa disterilisasi dengan autoklaf disterilkan dengan alkohol 70%.

4.7.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kelor

Tahapan pembuatan ekstrak etanol daun kelor adalah sebagai berikut:

1. Daun kelor kering dihaluskan dengan blender
2. Daun kelor kering ditimbang dan diambil sebanyak 300g.
3. Daun kelor kering dimasukkan dalam tabung erlenmeyer.
4. Kemudian ditambahkan etanol 96% sampai 1000 mL.
5. Tutup tabung erlenmeyer dengan rapat lalu kocok sampai homogen. Pengocokan dilakukan 1-2 jam, lalu disimpan pada suhu kamar selama 24 jam.
6. Setelah 24 jam, campuran disaring dengan kertas filter hingga diperoleh cairan yang bebas dari partikel kasar.
7. Hasil selanjutnya dievaporasi untuk memisahkan pelarut etanol dengan ekstrak etanol daun kelor menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada temperatur 60°C (sesuai titik didih etanol) hingga semua pelarut terpisah dan didapatkan cairan ekstrak yang kental dengan konsentrasi 100%.
8. Hasil akhir nilai yang akan digunakan dalam percobaan yaitu ekstrak etanol daun kelor konsentrasi 100% yang telah dipisahkan dengan pelarut etanol 96%.

4.7.3 Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

4.7.3.1 Pewarnaan Gram

Langkah-langkah melakukan pewarnaan gram menurut Pommerville (2011), adalah sebagai berikut:

- Bersihkan gelas obyek dengan kapas dan lewatkan diatas api untuk menghilangkan lemak. Kemudian biarkan dingin.
- Buat sediaan bakteri diatas gelas obyek dengan ketebalan yang cukup (tidak terlalu tebal dan tidak terlalu tipis) dan biarkan kering diudara. Kemudian difiksasi diatas lampu Bunsen.
- Sediaan dituangi dengan kristal Violet. Setelah 1 menit, sediaan dibilas air.
- Kemudian sediaan dituangi dengan Lugol. Setelah 1 menit, sediaan dibilas dengan air.
- Sediaan dituangi dengan alkohol 96% setelah 5-10 detik, sediaan dibilas dengan air.
- Sediaan dituang dengan Safranin. Setelah setengah menit, sediaan dibilas dengan air.
- Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap, selanjutnya dilihat dibawah mikroskop dengan obyektif perbesaran 100x

Hasil positif. *Escherichia coli* berbentuk batang dan berwarna merah (bersifat gram negatif)

4.7.3.2 Biakan Bakteri pada EMB Agar

- Siapkan sediaan bakteri yang akan dibiarkan dan siapkan media EMB Agar yang akan digunakan.
- Buat goresan pada media EMB Agar dan sediaan bakteri yang sudah disiapkan.

- Inkubasi dengan temperatur 35°C selama 18 jam sampai 24 jam untuk diidentifikasikan.

Hasil positif. Koloni berdiameter 2 mm – 3 mm warna hitam atau gelap pada bagian pusat koloni, dengan metalik kehijauan yang mengkilap (*metalic green sheen*) pada media EMB Agar.

4.7.3.3 Biakan Bakteri pada *MacConkey Agar*

- Siapkan sediaan bakteri yang akan dibiakan dan siapkan media *MacConkey Agar* yang akan digunakan.
- Buat goresan pada media *MacConkey Agar* dari sediaan bakteri yang sudah disiapkan.
- Inkubasi dengan temperatur 35°C selama 18 jam sampai 24 jam untuk diidentifikasi

Hasil positif. Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* berwarna merah muda atau merah terang.

4.7.3.4 Uji *Microbact*

Langkah-langkah untuk melakukan uji *Microbact* adalah:

- Melakukan tes oksidase terlebih dahulu dengan menggunakan strip oksidase. Tes oksidase digunakan untuk menentukan kit yang akan digunakan pada uji *Microbact*. Tes oksidase positif jika strip oksidase berubah warna menjadi ungu sampai kehitaman. Uji oksidase negatif jika tidak berubah warna.
- Uji oksidase dilakukan dengan cara mengambil koloni bakteri dari media EMB agar menggunakan tusuk gigi dan menggoreskan pada strip oksidase. Tunggu selama 10 detik, amati perubahan yang terjadi. Hasil uji

oksidase pada bakteri *Escherichia coli* adalah negatif, sehingga *Microbact test* 12A/12E.

- Menyiapkan perbenihan cair bakteri dengan cara mengambil koloni bakteri *Escherichia coli* pada media EMB dengan menggunakan ose, lalu larutkan ke dalam 3-6ml larutan NaCl pada tabung reaksi steril, homogenkan dengan menggunakan *vortex*.
- Siapkan strip *Microbact* dan tuliskan nama spesimen pada bagian samping selotip.
- Buka selotip pada baris yang akan digunakan dan teteskan bakteri uji sebanyak 100µL atau hingga separuh tinggi sumur pada seluruh sumuran
- Teteskan mineral oil sebanyak 2 tetes pada sumuran dengan plat hitam untuk membuat kondisi anaerob. Kemudian, tutup kembali selotip dan inkubasi strip *Microbact* ke dalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu 37°C.
- Keluarkan strip *Microbact,* amati hasil dari uji *Microbact*. Evaluasi hasil dilihat dari sumur-sumur *Microbact* dan hasil dari uji *Microbact* dapat diinterpretasikan menggunakan program tertentu yang telah disertakan dalam paket *Microbact*.

4.7.3.5 Uji Resistensi Antibiotik pada Bakteri

Langkah-langkah uji resistensi bakteri adalah:

- Menyiapkan perbenihan cair bakteri dengan mengambil sedikit koloni pada media EMB dengan menggunakan ose lalu larutkan ke dalam 10mL *Nutrient Broth*, homogenkan dengan menggunakan vortex, kemudian inkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- Hari kedua, ambil perbenihan cair bakteri dari dalam inkubator dan siapkan 2 media *Nutrient Agar Plate* (NAP). Perbenihan cair bakteri

dengan jumlah bakteri 10^8 CFU/mL diswab merata pada perrmukaan NAP dengan menggunakan kapas lidi. Diamkan selama 5 menit.

- Kemudian, meletakkan *susceptibility disc* berupa 13 macam obat antibiotik, yaitu: chloramphenicol, sulphamethoxazole/trimethoprim, tetracycline, amoxycillin/clavulanic acid, meropenem, amikacin, ampicillin/sulbactam, ceftriaxone, cefadroxil, amoxycillin, cefotaxime, norfloxacin, ciprofloxacin diatas permukaan NAP yang telah di swab dengan perbenihan cair bakteri dengan jarak tidak terlalu dekat dan agak ditekan agar menempel. Inkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- Hari ketiga, hitung diameter dari masing-masing *disc* obat.

4.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Untuk menumbuhkan bakteri *Escherichia coli* pada media *Nutrient Broth* dilakukan tahap sebagai berikut:

1. Strain bakteri *Escherichia coli* yang telah diidentifikasi dimasukkan ke dalam tabung yang berisi *Nutrient Broth*.
2. Setelah itu, *Escherichia coli* yang telah dicampur dengan *Nutrient Broth* diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C
3. *Nutrient Broth* berisi bakteri dimasukkan ke dalam alat spektofotometer kemudian diukur *Optical Density* (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada λ = 625 nm. Dari nilai absorbansi dapat diperkirakan jumlah kuman pada perbenihan cair dengan kalibrasi yang sudah diketahui yaitu OD = 0,1 sebanding dengan $1x10^8$ CFU/mL, kemudian dilakukan pengenceran hingga $1x10^6$ CFU/ml dengan rumus:

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan :

N_1 = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V_1 = Volume bakteri yang akan ditambah pengencer

N_2 = Optical Density (0,1 setara dengan 10^8 CFU/mL)

V_2 = Volume suspensi bakteri uji (10 mL)

4. Didapat nilai absorbansi bakteri adalah 0,790, maka volume suspensi bakteri yang didapat berdasar perhitungan menggunakan rumus diatas adalah 1,26 mL suspensi bakteri yang kemudian ditambahkan dengan 8,74 mL NaCl untuk di dapat jumlah kuman 10^8 CFU/mL.
5. Setelah didapat perbenihan cair dengan jumlah bakteri 10^8 CFU/mL, dilakukan pengenceran dengan menggunakan larutan NaCl sampai didapatkan perbenihan cair dengan jumlah bakteri 10^6 CFU/mL. Pengenceran dilakukan dengan cara mengambil perbenihan cair dengan jumlah bakteri 10^8 CFU/mL sebanyak 1mL dan dimasukkan ke dalam tabung berisi 9mL NaCl, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*, maka didapat perbenihan cair dengan jumlah bakteri 10^7CFU/mL. Lalu, perbenihan cair dengan jumlah bakteri 10^7 CFU/mL diambil sebanyak 1mL dan diletakkan kedalam tabung berisi 9mL NaCl, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*, maka didapat perbenihan cair dengan jumlah bakteri 10^6 CFU/mL.

4.7.5 Uji kepekaan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* Menggunakan Metode Dilusi Agar

Tahapan uji aktifitas antibakteri ekstrak etanol daun kelor terhadap *Escherichia coli* menggunakan metode dilusi agar adalah sebagai berikut:

1. Disediakan 7 *plate* steril , 6 *plate* uji antibakteri dan 1 *plate* sebagai kontrol bakteri (kontrol negatif)
2. Dilakukan penelitian pendahuluan digunakan untuk pencarian konsentrasi. Diawal dengan konsentrasi ekstrak 25%; 20%; 15%; 10%; 5%; dan 0%. Setelah itu dilakukan perapatan konsentrasi berdasarkan hasil dari penelitian

tersebut hingga dicapai rentang konsentrasi tertentu. Dari hasil penelitian pendahuluan, didapat rentang konsentrasi 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%.

3. Menyiapkan 7 *plate* steril dan beri tanda *plate* steril dengan 0%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, dimana 0% sebagai bakteri kontrol.
4. Membuat media pertumbuhan bakteri dengan menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dengan dicampur berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kelor. Volume yang digunakan dalam setiap *plate* untuk mencampur agar adalah 15ml, sehingga volume yang dimasukkan ke dalam masing-masing *plate* adalah:

   Plate 1 (konsentrasi 20%) = 3 mL ekstrak daun kelor 100% +12 mL NA

   Plate 2 (konsentrasi 19%) = 2,85 mL ekstrak daun kelor 100% + 12,15 mL NA

   Plate 3 (konsentrasi 18%) = 2,7 mL ekstrak daun kelor 100% + 12,3 mL NA

   Plate 4 (konsentrasi 17%) = 2,55 mL ekstrak daun kelor 100% + 12,45 mL NA

   Plate 5 (konsentrasi 16%) = 2,4 mL ekstrak daun kelor 100% + 12,6 mL NA

   Plate 6 (konsentrasi 15%) = 2,25 mL ekstrak daun kelor 100% + 12,75 mL NA

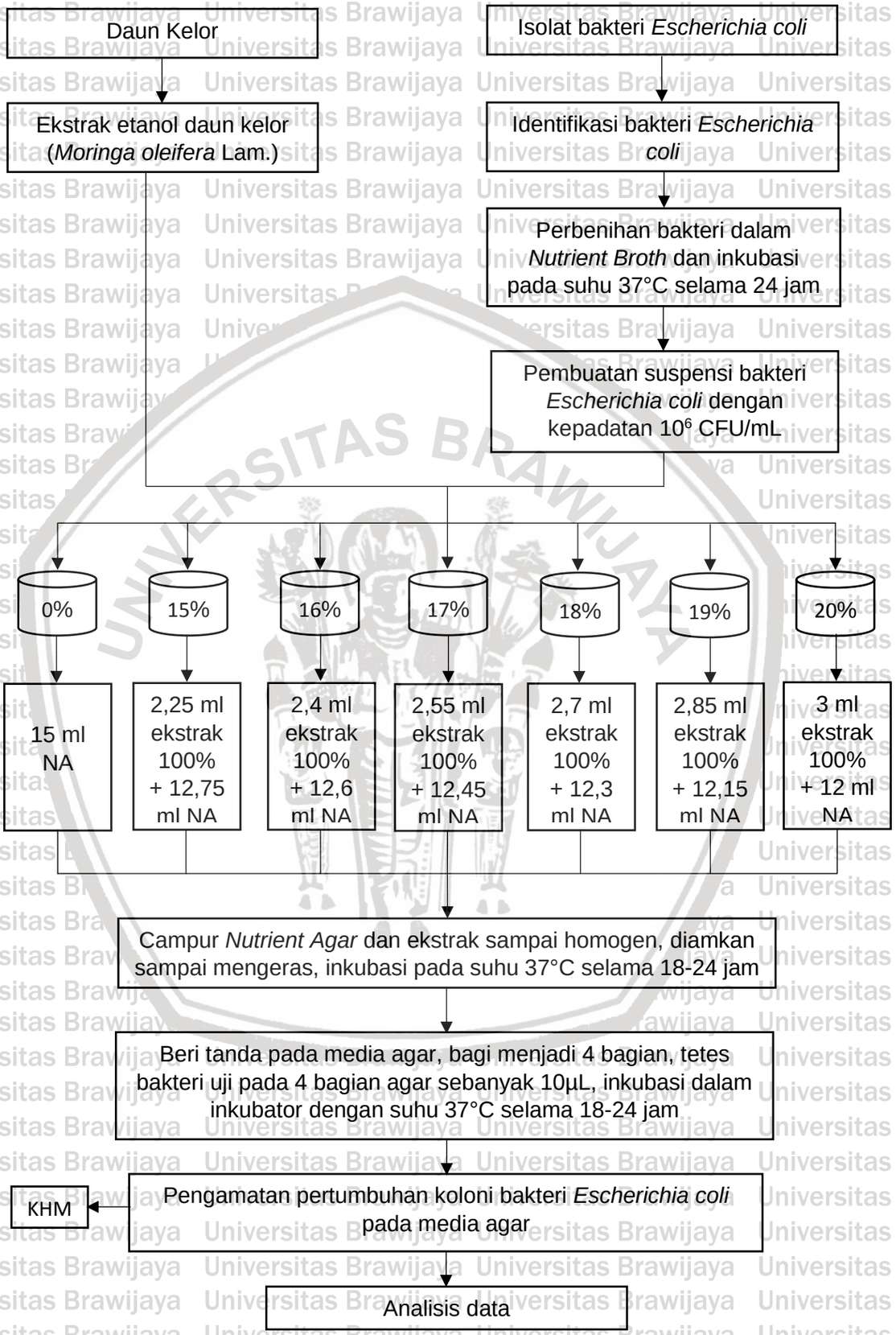
   Plate 7(konsentrasi 0%) = 15mL NA

   Masing-masing *plate* dibiarkan terlebih dahulu sampai media agar mengeras dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
5. Pada hari kedua, semua *plate* dikeluarkan dari inkubator dan tandai *plate* menjadi 4 bagian, kemudian media agar ditetesi dengan bakteri uji pada 4 bagian tersebut sebanyak 10 µL. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri uji yang telah diencerkan sampai 10^6 CFU/mL.
6. *Plate* yang sudah ditetesi dengan bakteri uji diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24jam.
7. Pada hari ketiga, amati dan bandingkan ketebalan dari masing-masing *plate*. Bandingkan antara *plate* kontrol dan *plate* perlakuan. Hasil pengamatan dianalisis untuk mendapatkan konsentrasi yang tepat sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun kelor.

4.8 Analisis Data

Setelah dilakukan empat kali pengulangan percobaan, hasil data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas varian. Apabila sebaran data normal dan varian data homogen, uji statistik komparasi data yang digunakan adalah uji statistik *one way* ANOVA. Jika sebaran data tidak normal atau tidak homogen, maka uji statistik komparasi data yang digunakan adalah uji *Kruskal Walis*. Uji statistik komparasi dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. selanjutnya, dilakukan uji korelasi untuk mengetahui hubungan pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan ketebalan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Apabila data terdistribusi normal, maka uji korelasi menggunakan uji korelasi *Pearson*. Apabila data terdistribusi tidak normal, maka uji korelasi menggunakan uji korelasi *Rank Spearman*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program *Statistical Product of Service Solution* (SPSS) versi 10.2.

4.9 Rancangan Penelitian



Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan metode Dilusi Agar

BAB V

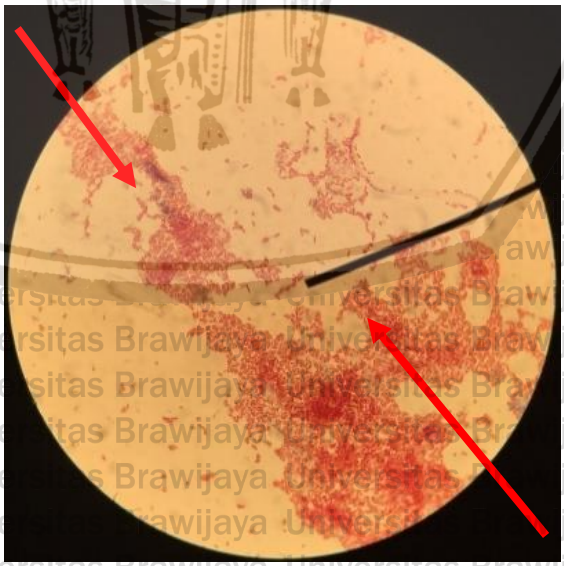
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Sebelum melakukan penelitian, dilakukan identifikasi bakteri terlebih dahulu terhadap sampel bakteri *Escherichia coli* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Identifikasi ulang bakteri *Escherichia coli* meliputi pewarnaan Gram, penanaman pada media MacConkey Agar dan EMB Agar, uji *Microbact* dan uji resistensi antibiotik.

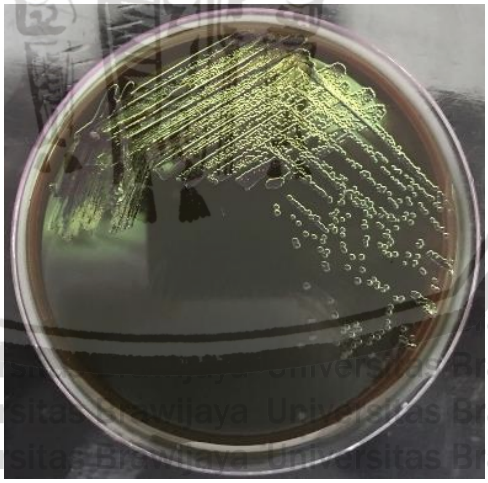
Pewarnaan Gram pada bakteri *Escherichia coli* menunjukkan sel bakteri berwarna merah dan berbentuk panjang (Gram negatif), sel-sel bakteri ada yang bergerombol dan ada yang tidak (bakteri ditunjuk dengan panah warna merah). Hasil pemeriksaan Gram dapat dilihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Bakteri *Escherichia coli* berbentuk batang Gram negatif pada Pewarnaan Gram

Penanaman bakteri *Escherichia coli* pada media *MacConkey Agar* (MAC) menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna pink dan merah terang dengan disekeliling koloni berwarna jingga (Gambar 5.2). Penanaman bakteri *Escherichia coli* pada media EMB menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna hijau kegelapan dengan kilatan logam (*metalic green sheen*) (Gambar 5.3).

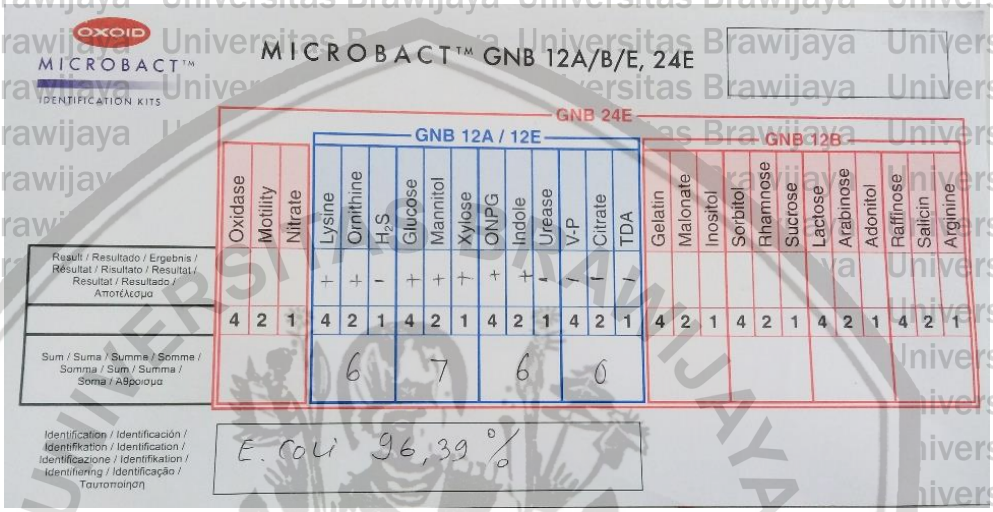
Gambar 5.3 Koloni bakteri *Escherichia coli* berwarna merah muda pada media MAC



Gambar 5.2 Koloni bakteri *Escherichia coli* berwarna *metalic green sheen* pada EMB

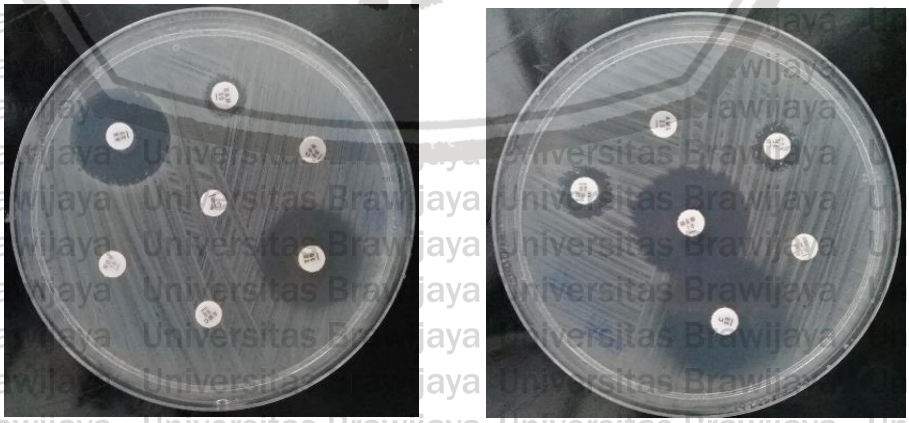
Hasil dari uji reaksi biokimia menggunakan Microbact 12A/12E yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, dapat dilihat pada Gambar 5.4. Pada hasil reaksi biokimia

didapatkan bahwa bakteri *Escherichia coli* memberikan hasil positif pada Lysine, Ornithine, Glucose, Manitol, Xylose, ONPG, dan Indole, sedangkan memberikan hasil negatif pada H_2S, Urease, V-P (*Voges-Proskauer*), Citrate, dan TDA.



Gambar 5.4 Hasil Uji *Microbact* pada bakteri *Escherichia coli*

Uji resistensi antibiotik menunjukkan bahwa bakteri ini sensitif terhadap antibiotik golongan cefalosporin generasi 2 dan 3. Pertumbuhan bakteri pada uji resistensi antibiotik dapat dilihat pada Gambar 5.5. Hasil uji resistensi antibiotik dapat dilihat pada Tabel 5.1.



Gambar 5.5 Hasil uji Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli*

Tabel 5.1 Hasil uji resistensi antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

No.	Antibiotik	D (mm)	Ket.
1.	Norfloxacin	6mm	Resistent
2.	Amikacin	23mm	Sensitif
3.	Ampicillin/sulbactam	10mm	Sensitif
4.	Cefadroxil	6mm	Resistent
5.	Tetracyclin	24mm	Sensitif
6.	Amoxicyllin/clavulanic acid	6mm	Resistent
7.	Ciprofloxacin	6mm	Resistent
8.	Ceftriaxone	12mm	Sensitif
9.	Amoxycillin	6mm	Resistent
10.	Cefotaxime	10mm	Sensitif
11.	Sulphamethoxazole/trimethoprim	6mm	Resistent
12.	Chloramphenicol	30mm	Sensitif
13.	Meropenem	28mm	Sensitif

5.1.2 Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini menggunakan beberapa macam konsenstrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang didapat dari hasil penelitian pendahuluan dengan variasi 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20% dan satu kelompok kontrol tanpa diberi ekstrak daun kelor (konsentrasi 0%). Pengamatan hasil penelitian ini dilakukan dengan melihat secara langsung pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada masing-masing *plate* yang

berisi campuran media *Nutrient Agar* dengan ektrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan berbagai konsentrasi ekstrak yang berbeda.

Konsentrasi ekstrak terendah yang dilarutkan dengan media *Nutrient Agar* yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni dari bakteri *Escherichia coli* dengan cara diamati secara langsung adalah Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli.* Hasil penentuan KHM dapat dilihat pada Gambar 5.6.

Gambar 5.6 Hasil Dilusi Agar

Gambar diatas menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0% (kontrol kuman) terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* yang tebal. Hal ini menunjukkan bahwa suspensi bakteri yang digunakan memang mengandung bakteri. Suspensi bakteri diteteskan pada 6 *plate* yang berisi media *Nutrient Agar* yang dicampur dengan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.), lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, dan ditemukan adanya pengurangan pertumbuhan koloni bakteri yang sebanding dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Hasil pengamatan terhadap uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan bahwa KHM dari ekstrak daun kelor terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah 20%. KHM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* yang terlihat pada konsentrasi tersebut.

Contoh evaluasi ketebalan koloni dengan histogram pada foto *plate* yang masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 5.6. hasil histogram pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Skoring dari Pertumbuhan Koloni Bakteri *Escherichia coli* setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.)

No.	Konsentrasi	Pengamat	Pengulangan				Rerata Skor
			I	II	III	IV	
1.	0%	A	4+	4+	4+	4+	4+
		B	4+	4+	4+	4+	
		C	4+	4+	4+	4+	
2.	15%	A	3+	3+	2+	3+	2,84+
		B	3+	3+	2+	3+	
		C	3+	3+	3+	3+	
3.	16%	A	2+	2+	2+	2+	2+
		B	2+	2+	2+	2+	
		C	2+	2+	2+	2+	
4.	17%	A	2+	2+	2+	2+	2+
		B	2+	2+	2+	2+	
		C	2+	2+	2+	2+	
5.	18%	A	1+	2+	2+	1+	1,25+
		B	1+	1+	2+	2+	
		C	2+	2+	2+	2+	
6.	19%	A	1+	1+	1+	1+	1+
		B	1+	1+	1+	1+	
		C	1+	1+	1+	1+	
7.	20%	A	0	0	0	0	0
		B	0	0	0	0	
		C	0	0	0	0	

Keterangan:

A = pengamatan dilakukan oleh peneliti

B = pengamatan dilakukan oleh analis laboratorium

C = pengamatan dilakukan oleh non-peneliti dan non-analis

Skoring:

a. 0 = tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri pada media agar

b. 1+ = didapatkan pertumbuhan bakteri yang tipis dan jumlah koloni bakteri dapat dihitung

c. 2+ = didapatkan pertumbuhan bakteri yang tipis dan jumlah koloni bakteri tidak dapat dihitung

d. 3+ = didapatkan pertumbuhan bakteri yang sedang (tidak tebal dan tidak tipis) dan jumlah koloni bakteri tidak dapat dihitung

e. 4+ = didapatkan pertumbuhan bakteri yang tebal dan rapat

Berdasarkan hasil pengamatan seperti yang tertulis pada Tabel 5.2 terlihat bahwa kenaikan konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebanding dengan kemampuan ekstrak untuk menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*. Hal ini dapat dilihat dari semakin meningkat konsentrasi dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) maka tingkat kecerahan koloni semakin kecil dan semakin tipis pertumbuhan koloni dari bakteri *Escherichia coli.* Berdasarkan data pada tabel diatas dapat disimpulkan bahwa bahan aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan yang tidak diberi ekstrak. Hasil penelitian tersebut kemudian dianalisis secara statistik

5.2 Analisis Data

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi antimikroba ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar. Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Variabel terikat pada penelitian ini adalah pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*. Hasil dari penelitian ini diinterpretasikan berdasarkan pada sistem skoring (4+, 3+, 2+, 1+).

Hasil penelitian ini dinilai secara pengamatan langsung dan melalui uji statistik. Data penelitian merupakan data ordinal dan variabel penelitian berupa

tingkat ketebalan pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*, maka digunakan uji statistik nonparametrik. Uji statistik nonparametrik dapat dilakukan tanpa dilakukan uji asumsi data terlebih dahulu. Uji statistik nonparametrik yang digunakan yaitu Uji *Kruskal Walis*, uji *Mann Whitney*, dan uji *Rank Spearman.*

5.2.1 Uji *Kruskal Walis*

Uji *Kruskal Walis* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh konsentrasi ekstrak etanol daun kelor terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*. Analisis ini menggunakan hipotesis berikut ini:

H0 : Tidak ada perbedaan pengaruh yang signifikan pada konsentrasi ekstrak etanol daun kelor terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*

H1 : Minimal ada satu pasang konsentrasi ekstrak etanol daun kelor yang menghasilkan pertumbuhan *Escherichia coli* yang berbeda signifikan.

Kriteria pengujian yaitu apabila $p < 0,05$ maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang konsentrasi ekstrak etanol daun kelor yang menghasilkan pertumbuhan *Escherichia coli* yang berbeda signifikan.

Hasil pengujian perbedaan pengaruh konsentrasi ekstrak etanol daun kelor terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Analisis Uji *Kruskal Walis*

	***One Way* ANOVA**
Chi-square	19,592
Probabilitas	0,003

Berdasarkan data diatas, nilai signifikansi dari hasil uji analisis *Kruskal Walis* yaitu 0,003 ($p < 0,05$) yang dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara ketujuh kelompok perlakuan, yaitu antara konsentrasi ekstrak etanol daun kelor 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, dan *Nutrient Agar* (0%) sebagai Kontrol terhadap rerata ketebalan pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*.

5.2.2 Uji *Mann Whitney*

Uji *Mann Whitney* digunakan untuk membandingkan rerata ketebalan pertumbuhan koloni bakteri pada setiap kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dan untuk melihat perbedaan hasil yang signifikan antar kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun kelor. Perbandingan rerata ketebalan pertumbuhan koloni bakteri pada setiap kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dikatakan berbeda secara signifikan apabila nilai signifikansi < 0,05 ($p < 0,05$).

Ringkasan dari hasil uji *Mann Whitney* pada setiap kelompok konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Ringkasan Hasil Uji *Mann Whitney*

Konsentrasi	Probabilitas						
	0%	**15%**	**16%**	**17%**	**18%**	**19%**	**20%**
0%		0,034	0,025	0,025	0,034	0,025	0,025
15%	0,034		0,034	0,034	0,043	0,034	0,034
16%	0,025	0,034		1,000*	0,114*	0,025	0,025
17%	0,025	0,034	1,000*		0,114*	0,025	0,025
18%	0,034	0,043	0,114*	0,114*		0,034	0,034
19%	0,025	0,034	0,025	0,025	0,034		0,025
20%	0,025	0,034	0,025	0,025	0,034	0,025	

Keterangan : * = hasil tidak signifikan

Berdasarkan hasil analisis di atas, kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi 0% memiliki pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* yang paling tinggi dan memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi 15%, 16%, 17%, 18%,19%, dan 20%. Sedangkan kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi 20% memiliki pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* paling rendah dan memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi 0%, 15%, 16%, 17%, 18% dan 19%. Sementara pada kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun kelor dengan konsentrasi 16%, 17%, dan 18% memiliki perbedaan ketebalan pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* yang tidak signifikan (tidak jauh berbeda).

5.3 Pengujian Hubungan Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Kelor dengan Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*

5.3.1 Uji Korelasi *Rank Spearmann*

Uji korelasi *Rank Spearmann* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dengan pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*. Analisis hubungan ini menggunakan hipotesis berikut ini:

H0 : Tidak ada hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dengan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

H1: Ada hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dengan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

Kriteria pengujian yaitu apabila p < 0,05 maka H0 ditolak, sehingga dapat dinyatakan bahwa ada hubungan yang signifikan konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Hasil analisis hubungan konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dengan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Ringkasan Hasil Uji Korelasi *Rank Spearmann*

Koefisien Korelasi	Probabilitas
-0,978	0,000

Berdasarkan data diatas, nilai signifikansi dari hasil uji korelasi *Rank Spearmann* yaitu 0,000 (p < 0,05) yang berarti terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Nilai koefisiensi korelasi sebesar -0,978 yang menunjukkan ada hubungan yang negatif (berlawanan) dan sangat kuat. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kelor, maka semakin rendah pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, dan sebaliknya, semakin rendah konsentrasi ekstrak etanol daun kelor, maka pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* semakin tinggi.

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode dilusi agar. Metode ini digunakan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Metode ini tidak dapat digunakan untuk menilai Kadar Bunuh Minimum (KBM). Penelitian ini tidak menggunakan metode dilusi tabung karena ekstrak terlalu keruh pada konsentrasi tinggi maupun rendah sehingga mempersulit penilaian secara visual dalam penentuan KHM pada metode dilusi tabung. Penentuan KHM pada metode dilusi agar dilakukan secara visual dengan melihat langsung ada atau tidaknya pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* pada media agar dengan campuran berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) setelah diinkubasi di inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Penilaian visual pada metode dilusi agar dilakukan oleh tiga pengamat, yaitu oleh peneliti sendiri, analis yang membantu peneliti, dan pengamat non-peneliti dan non-analisis,untuk mengurangi terjadinya bias dalam penilaian. Penentuan KHM pada penelitian ini digunakan sebagai dasar untuk menentukan dosis efektif jika dilanjutkan ke tahap pembuatan antimikroba baru.

Isolat bakteri *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari koleksi sampel urin penderita infeksi saluran kemih di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pada awal penelitian, terlebih dahulu dilakukan identifikasi bakteri untuk membuktikan bahwa bakteri

Escherichia coli yang akan digunakan adalah bakteri yang sesuai. Identifikasi bakteri dilakukan dengan melakukan pengecatan Gram, kultur bakteri pada media *MacConkey Agar* dan *Eosine-Methylene Blue* (EMB), uji Microbact, serta uji resistensi obat untuk membuktikan bahwa bakteri yang digunakan bukan strain ESBL. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* terbukti valid karena koloni bakteri tumbuh dengan warna hijau kegelapan dengan kilap logam (*metallic green sheen*) yang merupakan ciri khas dari bakteri *Escherichia coli* dan tidak dimiliki oleh bakteri lainnya. Selain itu, pada pengecatan Gram didapatkan bakteri berbentuk batang berwarna merah (basil, Gram negatif). Sedangkan, pada uji resistensi bakteri ditemukan bahwa bakteri *Escherichia coli* efektif diberikan obat-obatan golongan cefalosporin generasi 2 dan 3 yang berarti bakteri yang digunakan bukan *Escherichia coli strain* ESBL (*Extended-Spectrum Beta-Lactamases*).

Senyawa-senyawa aktif pada ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) didapatkan melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi dari 300 gram serbuk daun kelor (Moringa oleifera Lam.) dan menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena cara ini mudah, relatif murah, tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai (Susanty dan Bachmid, 2016). Pelarut yang digunakan adalah pelarut etanol karena etanol adalah pelarut yang bersifat universal yang dapat menarik senyawa polar, non-polar dan semi-polar. Pemilihan pelarut etanol 96% sebagai pelarut ekstraksi karena memiliki kelarutan yang tinggi dan tidak memiliki efek menghambat pertumbuhan pada bakteri. Pelarut etanol 96% digunakan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang diperlukan, seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, serta senyawa-senyawa lain yang tidak memiliki efek antimikroba (Febrina, 2014). Hasil akhir ekstrak yang diperoleh berupa cairan pekat dan kental

sebanyak 35 ml berwarna coklat tua, mengandung banyak endapan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.). Hasil ini dianggap sebagai ekstrak dengan konsentrasi 100%. Konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang digunakan pada penelitian inti adalah 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, dan 0% sebagai bakteri kontrol, dimana konsentrasi ini didapatkan melalui penelitian pendahuluan terlebih dahulu.

Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang didapatkan bersifat keruh terhadap endapan, kemudian untuk dapat memisahkan cairan dan endapannya dilakukan proses sentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Setelah dilakukan proses sentrifugasi, ekstrak yang didapatkan tetap keruh dan masih terdapat endapan, sehingga penelitian tidak dapat dilakukan dengan menggunakan metode dilusi tabung. Karena tidak dapat menggunakan metode dilusi tabung, maka peneliti menggunakan metode dilusi agar untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Metode dilusi agar dilakukan dengan cara mencampurkan *Nutrient Agar* dengan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebagai satu kesatuan padat yang mengeras. Kemudian, untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada penelitian ini, peneliti mengamati ada atau tidaknya koloni bakteri yang tumbuh pada media agar yang telah ditetesi oleh bakteri uji 10^6CFU/10µL bakteri *Escherichia coli* dan telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Penentuan nilai KHM dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) pada penelitian ini didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dimana tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini dilakukan dengan empat kali pengulangan. Hasil dari penelitian ini diinterpretasikan dengan

sistem skoring melalui pengamatan secara visual dengan melibatkan 3 pengamat untuk menilai ketebalan dan kejelasan koloni dari bakteri *Escherichia coli* secara subyektif. Dari hasil pengamatan pada pengulangan 1, 2, 3, dan 4 di konsentrasi 20% tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Hasil rata-rata tingkat ketebalan dan kejelasan koloni dari konsentrasi 0%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% saling dibandingkan dan menunjukkan adanya perbedaan rata-rata tingkat ketebalan dan kejelasan dari koloni bakteri *Escherichia coli*. Tingkat ketebalan dan kejelasan koloni bakteri *Escherichia coli* semakin berkurang seiring dengan peningkatan konsentrasi dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.).

Efek hambat ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* diduga kuat diperankan oleh Flavonoid, Alkaloid, Saponin, dan Tanin (Patel *et al*., 2014). Mekanisme kerja dari flavonoid sebagai antimikroba adalah menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, dan metabolisme energi dari bakteri. Selain itu, flavonoid juga dapat menginaktivasi adhesi mikroba, enzim, dan protein transport pada membran sel bakteri (Cushnie dan Lamb, 2005; Kumar dan Pandey, 2013). Sedangkan alkaloid memiliki mekanisme kerja sebagai antimikroba dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan sel bakteri tidak terbentuk dengan utuh. Selain itu, alkaloid juga dapat menghambat sintesis DNA melalui penghambatan topoisomerase sehingga akan terjadi gangguan replikasi DNA yang kemudian menyebabkan gangguan metabolisme dan hambatan pembelahan sel. Mekanisme kerja saponin sebagai antimikroba adalah membentuk kompleks dengan steroid, protein, dan fosfolipid membran sel bakteri sehingga dapat mengubah permeabilitas atau bahkan menyebabkan kehancuran dari sel membran bakteri. Sedangkan tanin memiliki mekanisme kerja sebagai

antimikroba dengan kemampuan menghambat kerja enzim pada bakteri, mengubah metabolisme membran sel bakteri, dan mempengaruhi terjadinya kompleksasi makromolekul dengan ion logam pada bakteri sehingga dapat mengurangi ketersediaan ion penting untuk metabolisme bakteri (Karou *et al*., 2005; Chavasco *et al*., 2014).

Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat efek antimikroba pada setiap pemberian berbagai macam konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*. Hal ini sesuai dengan uji *Kruskal Walis* yang memiliki nilai probabilitas < 0,05. Selain itu, efek antimikroba dari ekstrak etanol daun kelor *(Moringa oleifera* Lam.) menunjukkan ada perbedaan ketebalan pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* yang signifikan antara dua konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang dibuktikan dengan uji *Mann Whitney* yang mempunyai nilai probabilitas < 0,05. Tetapi, jika perbedaan ketebalan pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* antara dua konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memiliki nilai probabilitas > 0,05 maka bisa dikatakan perbedaan tidak signifikan atau tidak jauh berbeda. Pada penelitian ini juga memiliki hubungan yang signifikan pada setiap pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* yang dapat dibuktikan dengan uji korelasi *Rank Spearmann* dengan nilai probabilitas < 0,05. Koefisien korelasi yang bernilai negatif mempunyai arti semakin tinggi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang digunakan maka semakin menurun pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli*.

6.1 Keterbatasan Peneliti

Penelitian ini masih memiliki keterbatasan. Komponen-komponen aktif yang terkandung pada ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang berperan lebih banyak dalam penelitian ini masih belum diketahui secara pasti. Penilaian pada penelitian ini menggunakan penilaian subyektif dari masing-masing pengamat, maka dapat terjadi perbedaan penilaian dari tingkat ketebalan pertumbuhan koloni bakteri *Escherchia coli* pada masing-masing konsentrasi antara pengamat satu dengan pengamat yang lain. Selain itu, cahaya serta warna ekstrak yang berwarna coklat tua juga dapat menyebabkan perbedaan interpretasi terhadap ketebalan pertumbuhan koloni bakteri ini. Lama penyimpanan ekstrak mungkin juga dapat menyebabkan penurunan atau peningkatan potensi antimikroba dari suatu ekstrak dengan bahan alam.

Keterbatasan lainnya dari penelitian ini adalah penelitian ini hanya menggunakan satu metode yaitu metode diluisi agar yang hanya dapat melihat KHM saja. Penelitian ini tidak dapat menggunakan metode dilusi tabung karena ekstrak yang keruh sehingga mempersulit penilaian secara visual. Untuk penelitian-penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi antimikroba ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan metode lainnya selain metode dilusi agar. Selain itu, pada penelitian ini hanya digunakan satu *strain* bakteri *Escherichia coli*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan *strain* bakteri *Escherichia coli*, misalnya dengan menggunakan bakteri *Escherichia coli* dengan *strain Extended-Spectrum Beta-Lactamases* (ESBL), untuk membantu generalisasi hasil penelitian ini.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini didapatkan kesimpulan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memiliki efek antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar.
2. Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro* adalah 20%.
3. Pertumbuhan koloni bakteri tampak semakin tipis bersamaan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) yang artinya efek hambat antimikroba terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* semakin meningkat bersamaan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.).

7.2 Saran

Adanya berbagai kekurangan dalam penelitian ini maka perlu diadakan penelitian lebih lanjut antara lain:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli.*

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji efek dari daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) sebagai antimikroba pada bakteri *Escherichia coli* dalam bentuk lain selain ekstrak cair (contoh: dalam bentuk bubuk atau pasta) atau ekstrak dengan menggunakan pelarut selain etanol (contoh: pelarut metanol atau aquades).
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode lain selain metode dilusi agar (contoh: metode difusi cakram) untuk menguji efek antimikroba pada ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan *strain* bakteri *Escherichia coli* yang berbeda untuk mengetahui besar efek antimikroba pada ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) pada *strain* bakteri *Escherichia coli* lainnya (contoh: bakteri *Escherichia coli* dengan strain ESBL).

DAFTAR PUSTAKA

Ajayi, A. O., Fadeyi, T. E. 2015. *Antimicrobial Activities and Phytochemical Analysis of Moringa oleifera Leaves on Staphylococcus aureus and Streptococcus species*. American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics (3)(10), p. 643-653.

Akinlolu, A.A., Ghazali, O.K., Ameen, O.M., Oyebanji, S.C., Omotoso, G.O., Enaibe, B.U. 2014. *Moringa oleifera Impairs the Morphology and Functions of the Kidney in Adult Wistar Rats*. International Journal of Morphology, 32(2),p. 469-474.

Alam, M.K.U., Akther, S., Sarwar, N., Morshed, S. and Debnath, G.K., 2017. *Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Escherichia Coli O157 Isolated From Raw Milk Marketed in Chittagong, Bangladesh*. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 5(3), p.214-220.

Alekshun M. N., Levy, S. B. 2007. *Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance.* USA: Cell 128 p. 1037-1050.

Amin, L. Z. 2015. *Tatalaksana Diare Akut.* Jakarta: IDI <www.kalbemed.com/Portals/6/08_230CME-Tatalaksana%20Diare%20Akut.pdf>.

Aminah, S., Ramdhan, T., Yanis, M. 2015. *Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (Moringa oleifera)*. Buletin Pertanian Perkotaan vol.5, no.2, p.35-44.

Antony, A.C., Paul, M.K., Silvester, R., Aneesa, P.A., Suresh, K., Divya, P.S., Paul, S., Fathima, P.A. and Abdulla, M.H., 2016. *Comparative evaluation of EMB agar and Hicrome E. coli agar for differentiation of green metallic sheen producing non E. coli and typical E. coli colonies from food and environmental samples.* Journal of Pure and Applied Microbiology, 10(4), p.2863-2871.

Anwar, F., Sajid, L., Ashraf, M., Gilani, A. H. 2007. *Moringa oleifera: a Food Plant with Multiple Medicinal Uses*. Aga Khan University Medical College <https://miracletrees.org/moringa-doc/moringa_multiple_medicinal_uses.pdf>.

Arora, D. S., Onsare, J.G., Kaur, H. 2013. *Bioprospecting of Moringa (Moringaceae): Microbiological Perspective*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry vol. 1 issue 6, p. 193-215.

Bakri Z., Hatta, M., Massi, M.N. 2015. *Deteksi Keberadaan Bakteri Escherichia coli O157:H7 pada Feses Penderita Diare dengan Metode Kultur dan PCR*. Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makasar: JST Kesehatan vol. 5 no.2: 184-192.

Baño, J. R. *et al*. 2010. *Community-Onset Bacteremia due to Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing Eschericia coli: Risk Fators and Prognosis*. Infection Diseases Society of America <https://academic.oup.com/cid/article/50/1/40/311977>.

Basra, S.M.A., Nouman, W., Rehman, H., Usman, M., Nazli, Z.E. 2015. *Biomass Production and Nutritional Composition of Moringa oleifera under Different Cutting Frequencies and Planting Spacings.* International Journal of Agriculture & Biology vol.17 no.5, p. 1055-1060.

Black, J. 2013. *Microbiology 8th Edition International Student Version*. Singapura: John Wiley & Sons.

Bramantono, Purwati, Hamidah. 2013. *The Prevalence of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) in Third Generation Cephalosporin Usage Among Sepsis Patients in the Department of Internal Medicine RSUD Dr. Soetomo Surabaya*. Faculty of Medicine, Airlangga University: Folica Medica Indonesiana vol.49 no.4: 244-251.

Brooks, G. F., *et al*. 2010. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 25th Ed*. United States: The McGraw-Hill Companies, Inc.

Brooks, G. F., *et al*. 2013. *Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology, 26th edition*. United States: The McGraw-Hill Companies, Inc.

Bukar, A., Uba, A., Oyeyi, T. I. 2010. *Antimicrobial Profile of Moringa oleifera Lam. Extracts Against Some Food-Borne Microorganisms.* Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 3(1), p.43-48.

Bush, Karen dan Jacoby, George A. 2010. *Updated Functional Classification of β-Lactamases*. American Society for Microbiology: Antimicrobial Agents and Chemotherapy. p. 969-976.

CDC. 2015. *E. coli (Escherichia coli)*. USA: Department of Health & Human Services <https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html>.

CDC. 2017. *Meningitis*. USA: Department of Health & Human Services <https://www.cdc.gov/meningitis/>.

Chavasco, J. M., Feliphe, B. H. M. P. E., Cerdeira, C. D., Leandro, F. D., Coelho, L. F. L., da Silva, J. J., Chavasco, J. K., Dias, A. L. T. 2014. *Evaluation of Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Plant Extracts from Southern Minas Gerais Cerrado*. Rev. Ins. Med. Trop. Sao Paulo, 56(1), p. 13-20.

Cowan, M. M. 1999. *Plant Products as Antimicrobial Agents*. Miami University, Ohio: Clinical Microbiology Reviews p. 564-582.

Croxen, M. *et al*. 2013. *Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic Escherichia coli*. American Society for Microbiology 26(4) p. 822-880.

Cushnie, T. P. T., Lamb, A. J. 2005. *Antimicrobial Activity of Flavonoids*. International Journal of Antimicrobial Agents (26), p.343-356.

Davis, C.P. 2017. *E.coli O157:H7 Infection Early Symptoms, Treatment, and Prevention*. Digestion Health Center <https://www.medicinenet.com/e_coli_0157h7/article.htm>.

Dima, L. L. R. H., Fatimawali, Lolo, W. A. 2016. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor Moringa oleifera L. terhadap Bakteri Escherichia coli dan Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Farmasi, UNSRAT vol. 5 no. 2, p. 282-289.

Dodiya, B., Amin, B. 2015. *Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of Different Parts of Moringa oleifera Against Selected Gram Positive and Gram Negative Bacteria*. Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences 3 (3), p. 421-425.

Falgenhauer, L. *et al*. 2014. *Resistance Plasmids in ESBL-encoding Escherichia coli isolates from humans, dogs and cats*. Germany: Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 127, Heft 11/12 p. 458-463.

Febrina, N. W. 2014. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi dari Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Bacillus subtilis serta Profil KLTnya*. Naskah Publikasi: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Filho, H. *et al*. 2015. *Asian Pathogenic Escherichia coli-Methods for Improved Diagnosis*. World's Poultry Science Association 71(2): 249-258.

Firizki, Febriy. 2014. *Pola Kepekaan Eschericia coli dan Klebsiella sp. terhadap Antibiotik Sefalosporin perode Tahun 2008-2012 di Bandar Lampung*. Medical Faculty Lampung University <juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/download/290/288>.

Gee, R. E. 2016. *Escherichia coli (E. coli) Infections*. Louisiana Department of Health <www.infectiousdisease.dhh.louisiana.gov>.

Gong, X., Li, Y., Qu, H. 2014. *Removing Tannins from Medicinal Plant Extracts Using an Alkaline Ethanol Precipitation Process: A Case Study of Danshen Injection*. Molecules, 19, p.18705-18720.

Havsteen, B. 1983. *Flavonoids, A Class of Natural Products of High Pharmacological Potency*. Biochemical Pharmacology, Vol. 32, No.7, p.1141-1148.

Hostettmann, K., Marston, A. 1995. *Chemistry & Pharmacology of Natural Products: Saponins*. New York: Cambridge University Press.

Hussain, T. 2015. *Review Article: An Introduction to the Serotypes, Pathotypes and Phylotypes of Escherichia coli*. International Journal of Microbiology and Allied Sciences (IJOMAS) page: 9-16.

Hutapea, R. G. 2017. *Uji Efek Ekstrak Kayu Manis (Cinnamomum burmanii) sebagai Antibakteri terhadap Escherichia Coli ESBL (Extended-Spectrum Beta Laktamase) secara In Vitro*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.

Levinson, W. 2008. *Review of Medical Microbiology and Immunology, 10th edition*. Mc Graw-Hill, New York.

Karou, D., *et al*. 2005. *Antibacterial Activity of Alkaloids from Sida acuta*. African Journal of Biotechnology vol. 4 (12), p. 1452-1457

Karsinah, Lucky, H. M., Suharto, Mardiastuti, H. W. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Tangerang: BINARUPA AKSARA Publisher.

Kumar, S., Pandey, A. K. 2013. *Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview*. The Scientific World Journal vol. 2013, p.1-16.

Kuntaman *et al.* 2011. *The Sensitivity Pattern of Extended Spectrum Beta Lactamase-Producing Bacteria Against Six Antibiotics that Routinely Used in Clinical Setting*. Journal Indonesian Medical Association vol.61, no.12, p. 482-486.

Madappa, T. 2017. *Escherichia coli (E. coli) Infections Clinical Presentation*. Medscape. <https://emedicine.medscape.com/article/217485-clinical?src=refgatesrc1>.

Mahmood, K.T., Mugal, T., Haq, I.Ul. 2011. *Moringa oleifera: a natural gift-A review*. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 2 (11): 775-78.

Markham, K.R. 1982. *Techniques of Flavonoid Identification*. London: Academic Press Inc. p.1-10.

Mulyati, E. S. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Ceremai (Phyllanthus acidus (L.) Skeels) terhadap Staphylococcus aureus dan Eschericia coli dan Bioautografinya*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

NIH. 2017. *Sepsis*. U.S Department of Health & Human Services <https://www.nigms.nih.gov/education/pages/factsheet_sepsis.aspx>.

Nizet, V., Klein, J. O. 2011. *Chapter 6: Bacterial Sepsis and Meningitis*. Section II Bacterial Infection p. 225-278.

Oda. 2018. *Ini Manfaat Daun Kelor, Mulai dari Obat Traditional, Mengandung Gizi, Hingga Menangkal Guna-guna.* TribunJogja.com. diakses pada tanggal 9 Juli 2018. <http://jogja.tribunnews.com/2017/09/09/ini-manfaat-daun-kelor-mulai-dari-obat-traditional-mengadung-gizi-hinggal-mennagkal-guna-guna>

Patel, P., Patel, N., Patel, D., Desai, S., Meshram, D. 2014. *Phytochemical Analysis and Antifungal Activity of Moringa oleifera.* International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, vol.6, Issue 5, p.144-147.

Paterson, D. L., Bonomo, R. A. 2005. *Extended-Spectrum β-Lactamases: a Clinical Update*. Ohio: Clinical Microbiology Reviews Vol. 18, No.4 p. 657-686

Permenkes. 2015. *PERATURAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA NOMOR 8 TAHUN 2015 TENTANG PROGRAM PENGENDALIAN RESISTENSI ANTIMIKROBA DI RUMAH SAKIT:LAMPIRAN PEDOMAN PROGRAM PENGENDALIAN RESISTENSI ANTIMIKROBA DI RUMAH SAKIT*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.

Philippon, A., Labia R., Jacoby G. 1989. *Extended-Spectrum β-Lactamases*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy p. 1131-1136.

Pius A., O., Busayo D., B., Iyadunni A., O., Sola, A., dan Olufunke, A. 2015. *Antibacterial Activity of Methanolic Extract of Moringa oleifera Lam. Leaf on ESBL Producing Bacterial Isolates from Urine of Patients with Urinary Tract Infections*. Afe Babalola University: Department of Biological Sciences <http://www.iiste.org/Journals/index.php/JBAH/article/view/26493/27128>.

Pommerville, J. C. 2011. *Alcamo's Laboratory Fundamentals of Microbiology*. United States of America: Jones & Bartlett Learning, LLC.

Purwono A. 2012. *Skripsi: Kejadian Infeksi Enterobacteriaceae Penghasil Extended Spectrum Beta-Lactamase dan Hubungannya dengan Penggunaan Antibiotika pada Pasien ICU Pusat Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Tahun 2011*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Rachma, L. N. 2012. *Daya Antifungal Dekok Kayu Manis (Cinnamomum burmanni) terhadap Candida albicans secara In Vitro*. El-Hayah vol. 3, no.1, p.29-34

Ramachandran, C., Peter, K. V., Gopalakrishnan, P. K. 1980. *Drumstick (Moringa oleifera) a multipurpose Indian vegetable*. Economic Botany vol 34, no. 3, p. 276–283.

Rangel, J.M., Sparling, P.H., Crowe, C., Griffin, P.M, Swerdlow, D.L. 2005. *Epdemiology of Escherichia coli O157:H7 Outbreaks, United States, 1982-2002*. Emerging Infectious Diseases CDC <www.cdc.gov/eid>.

Roloff, A., Weisgerber H., Lang, U., Stimm, B. 2009. *Moringa oleifera LAM., 1785*. Enzyklopädie der Holzgewächse – 40. Erg.Lfg. 6/05, p. 1-8.

Sabir, A. 2005. *Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis Trigona sp. Terhadap Bakteri Streptococcus mutans (in vitro).* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin, Makassar: Majelis Kedokteran Gigi (Dental Journal), vol. 38 no.3, p. 135-141.

Shaikh, S., *et al*. 2015. *Antibiotic Resistance and Extended Spectrum Beta-Lactamases: Types, Epidemiology and Treatment*. Saudi Journal of Biological Sciences 22 p. 90-101.

Staff pengajar FK UI. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Tangerang: BINAPURA AKSARA publisher.

Susanty, Bachmid, F. 2016. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (Zea mays L.)*. KONVERSI Vol. 5 No. 2, p. 87-93.

Vinoth, B., Manivasagaperumal, R., Balamurugan, S. 2012. *Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of Moringa oleifera Lam*. International Journal of Research in Biological Sciences, 2(3), p.98-102.

Welch, R. A. 2006. *Chapter 3.3.3: The Genus Escherichia*. Prokaryotes 6: 60-71 <https://pdfs.semanticscholar.org/cd7f/b388a58b3833f797746c9d9f4f8a62612df4.pdf>.

WHO. 2017. *Factsheet on E. coli.* Food Safety, Zoonoses and Foodborne Diseases WHO <www.who.int/foodsafety/consumer/5keys/en>.

Widowati, I., Efiyati, S., Wahyuningtyas, S. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera) terhadap Bakteri Pembusuk Ikan Segar (Pseudomonas Aeruginosa)*. Universitas Negeri Yogyakarta: PELITA, vol IX, no. 1, p. 146-157.

Winarto. 2009. *Prevalensi Kuman ESBL (ExtendedSpectrum Beta Lactamase) dari Material Darah di RSUP Dr. Kariadi Tahun 2004-2005*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegor dan IDI wilayah Jawa Tengah: Media Medika Indonesiana vol.43, no.5 p. 260-268.

Yadav, N., Yadav, R., Goyal, A. 2014. *Chemistry of Terpenoids*. International Journal Pharmaceutical Science Review and Research, 27(2), article no. 45, p. 272-278.