



## **LAPORAN AKADEMIK**

**Pengaruh Konsentrasi Protein Daun Kelor(*Moringa oleifera*) Terhadap Daya Hambat Bakteri Gram Positif**

**Disusun Oleh:**

<b>Nama</b>	<b>:Meirita Sari, M.Pd.Si</b>
<b>NIP</b>	<b>:199105242020122006</b>
<b>NIDN</b>	<b>:2024059101</b>
<b>ID Litapdimas</b>	<b>:20201619130450</b>
<b>Prodi</b>	<b>:Tadris IPA</b>

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT (LPPM)**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI**  
**FATMAWATI SUKARNO BENGKULU**  
**KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA**  
**2024**

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan kegiatan penelitian dengan judul "**Pengaruh Konsentrasi Protein Daun Kelor(*Moringa oleifera*) Terhadap Daya Hambat Bakteri Gram Positif**". Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan mengenai pemanfaatan daun *Moringa oleifera* sebagai antibakteri alami dalam menghambat pertumbuhan mikroba yang bersifat patogen terhadap manusia.

Penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam dalamnya kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini. Ucapan terima kasih penulis khususkan kepada UIN Fatmawati Sukarno Bengkulu dan Fakultas Kedokteran Universitas Bengkulu yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan penelitian di laboratorium biomedik, sehingga penulis mendapatkan data dari kegiatan tersebut. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan cendekiawan. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam tulisan ini, oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan guna kesempurnaan tulisan ini.

Bengkulu, Agustus2024  
Penulis

Meirita Sari, M.Pd.Si  
NIP.199105242020122006

## RINGKASAN EKSEKUTIF

Penelitian ini merupakan salah satu bentuk pemanfaatan tumbuhan pangan, yaitu Kelor (*Moringa oleifera*). *M. oleifera* dapat tumbuh dengan baik di Provinsi Bengkulu. Pada bagian daun *M. oleifera* mengandung senyawa protein yang berperilaku seperti lektin. Senyawa ini akan digunakan sebagai bahan antibakteri. Tahapan dalam penelitian ini meliputi ekstraksi protein daun *M. oleifera* dengan menggunakan metode *salting in* dan *salting out*, peremajaan bakteri, dan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran. Penelitian ini berguna bagi peneliti, masyarakat, bidang kesehatan, serta perkembangan ilmu pengetahuan maupun dunia pendidikan. Tujuan penelitian ini ialah untuk memperluas wawasan tentang pemanfaatan daun *Moringa oleifera* sebagai antibakteri berbahan alam yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Bakteri tersebut salah satu penyebab dari timbulnya penyakit kulit yang terjadi di negara-negara dengan iklim tropis, seperti Indonesia karena memiliki tingkat kelembaban tinggi. Penelitian yang telah dilakukan Morace Giulia, dkk (2014) menunjukkan bahwa kemampuan *bakteri* dapat mengalami peningkatan resistensi tingkat tinggi terhadap antibakteri komersil.. Hal ini dapat menimbulkan kegagalan selama masa pengobatan dan menimbulkan beberapa masalah lainnya. Mencari alternatif pengobatan selain dengan antibakteri dapat pula diperoleh dari bahan lain yang lebih aman, seperti: bahan alam. Pemilihan terapi dari bahan alam disamping lebih aman, dan memiliki efek samping yang relatif kecil juga lebih mudah diperoleh seperti daun *M. Oleifera*. protein total daun *M. oleifera* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* belum dilakukan. Dari penelitian ini diketahui informasi tentang manfaat lain daun *M. oleifera* yang dapat digunakan sebagai agen penghambat pertumbuhan bakteri, sehingga penelitian tentang antibiotik berbahan herbal (khususnya *M. oleifera*) dapat lebih dikembangkan dan timbul semangat yang lebih baik dari masyarakat dalam budidaya tanaman ini khususnya di laboratorium alam UIN Fatmawati Sukarno Bengkulu. Selanjutnya informasi tersebut akan dipublikasikan dalam bentuk jurnal nasional terakreditasi minimal sinta 4-6 dan sertifikat HAKI.

**Kata Kunci:** Antibakteri, *Moringa oleifera*, Protein Larut air

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1. Latar Belakang**

Dalam beberapa tahun terakhir, mikroorganisme patogen manusia telah mengembangkan resistensi dalam menanggapi penggunaan obat antimikroba komersial yang biasa digunakan dalam pengobatan. Situasi ini, merupakan efek samping yang tidak diinginkan dari penggunaan antibiotik. Munculnya infeksi yang sebelumnya tidak biasa, telah memaksa para ilmuwan untuk mencari pengganti antimikroba yang baru dari berbagai sumber, seperti tanaman obat (Dorobat *et al.*, 2007). Banyak penelitian yang telah dilakukan di seluruh dunia untuk mengidentifikasi dan mempelajari senyawa antimikroba yang ditemukan dalam tanaman obat (Peixoto *et al.*, 2011). Penapisan ekstrak tanaman dan produk tanaman obat untuk aktivitas antimikroba telah menunjukkan bahwa tanaman merupakan sumber potensial sebagai agen antimikroba yang baru.

Tanaman obat telah diterima sebagai obat alternatif, bahkan secara resmi diajurkan oleh praktisi di dunia kesehatan. Pada pertengahan bulan Juli 2000, Menteri Kesehatan RI mengeluarkan himbauan agar dokter menggunakan obat asli Indonesia berupa obat tradisional yang terbuat dari racikan tanaman obat (Sukmono, 2009). Tanaman obat merupakan warisan budaya bangsa yang didasarkan pada pengetahuan dan pengalaman yang diwariskan secara turun-temurun hingga ke generasi saat ini, sehingga menghasilkan berbagai ramuan tanaman obat yang merupakan ciri khas pengobatan tradisional Indonesia. Di sisi lain, keterlibatan ilmu kimia terhadap perkembangan ilmu-ilmu terapan seperti kesehatan telah turut berperan dalam mendukung perkembangan penggunaan obat bahan alam, yang meliputi peningkatan mutu, keamanan, penemuan indikasi baru dan formulasi. Sebagian praktisi kesehatan telah memanfaatkan obat tradisional sebagai penunjang pengobatan modern. Hal ini didukung dengan ketersediaan sumber tanaman obat yang lebih mudah diperoleh, sehingga penggunaan obat bahan alam menjadi lebih efektif. Oleh karena itu, potensi Indonesia dalam bidang obat tradisional sangatlah besar.

Di Provinsi Bengkulu, ada salah satu tanaman obat yang cukup populer digunakan oleh masyarakat yaitu tumbuhan kelor, dengan nama ilmiah *Moringa oleifera*. Tanaman ini dapat tumbuh di berbagai jenis tanah seperti tanah liat, berpasir maupun tanah cokelat kehitaman (humus). Tumbuhan ini sangat mudah dikembangbiakkan, cara yang paling lazim digunakan yaitu secara vegetatif, sehingga tanaman ini sering dimanfaatkan sebagai pagar kebun atau pekarangan rumah, yang juga dapat dikonsumsi seperti bagian buah dan daun mudanya (Anjorin *et al.*, 2010).

Saa *et al.* (2019) merilis *review* tentang perlakuan dan pemanfaatan biji *M. oleifera* sebagai sumber makanan. Dalam tulisan tersebut disimpulkan bahwa biji *M. oleifera* dapat menjadi alternatif yang baik dalam mengatasi krisis pangan, karena biji *M. oleifera* merupakan sumber protein, lipid, lemak, vitamin larut, dan antioksidan. Olagbemide dan Philip (2014) menemukan bahwa nutrisi yang terkandung pada biji *M. oleifera* yaitu protein sebesar 35,97 mg/100 g. *M. oleifera* memiliki daun yang berukuran sebesar ujung jari berbentuk bulat telur dan tersusun majemuk yang kaya akan berbagai kandungan nutrisi. Protein merupakan senyawa metabolit primer yang terkandung pada tumbuhan selain karbohidrat dan lemak yang memiliki aktivitas biologi.

Beberapa penelitian mengenai pemanfaatan protein sebagai antibakteri telah dilakukan. Mahayasih *et al.* (2014) menyatakan bahwa ekstrak protein larut air umbi porang (*Amorphalus muelleri*) telah menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak protein larut air umbi porang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* daripada *E. coli*.

Laporan lainnya didapat dari karakterisasi fraksi protein alga cokelat (*Turbinaria decurrens*) di Sulawesi Selatan. Hasil uji bioaktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi* dengan metode difusi agar pada medium *Muller Hinton Agar* (MHA) melaporkan bahwa zona hambatan masing-masing sebesar 18,33 mm dan 13,30 mm (Dali *et al.*, 2013). Protein diketahui mampu berinteraksi secara khas dengan karbohidrat.

Karbohidrat termasuk komponen utama pembentuk sel baik pada prokariot maupun eukariot.

Beberapa spesies bakteri menjadi penyebab timbulnya masalah kesehatan pada manusia. Dalam kehidupan sehari-hari, manusia tidak pernah luput dari interaksi dengan bakteri. Berbagai spesies bakteri baik disengaja ataupun tidak telah bersinggungan langsung dengan tubuh manusia. Sebagian bakteri bersimbiosis mutualisme dengan tubuh manusia dan sebagian yang lain dapat menyebabkan timbulnya penyakit dan gangguan kesehatan lainnya. Beberapa contoh jenis bakteri yang berpotensi menimbulkan penyakit bagi manusia diantaranya ialah *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Shigella dysenteriae*.

*B. subtilis* dan *S. aureus* merupakan jenis bakteri dari kelompok Gram positif. Meskipun *B. subtilis* bukanlah patogen manusia, tetapi pada beberapa laporan, bakteri ini telah diisolasi dari infeksi manusia. Infeksi yang termasuk disebabkan oleh *B. subtilis* antara lain ialah *bakteremia*, *endokarditis*, *pneumonia*, dan *septikemia* (US EPA, 1997). *S. aureus* merupakan patogen bagi manusia, dan merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi yang paling sering di dunia. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *S. aureus* selama hidupnya. Tingkat keparahan infeksi oleh bakteri ini sangat bervariasi, mulai dari infeksi kulit ringan hingga *necrotizing pneumonia* (NP) yang fatal. Hal ini tidak terlepas dari kemampuan resistensi bakteri ini terhadap antibiotik yang digunakan secara rutin (DeLeo *et al.*, 2010).

Selain bakteri Gram positif, ada pula bakteri Gram negatif, seperti *E. coli* dan *S. dysenteriae*. Pada kondisi normal, *E. coli* termasuk mikrobioma usus, namun suatu waktu bakteri ini dapat bersifat patogen dengan cara menginfeksi saluran pencernaan dan menyebabkan diare. Tenaillon *et al.* (2010) melaporkan bahwa *E. coli* telah membunuh lebih dari 2 juta manusia per tahun melalui penyakit intraintestinal dan ekstraintestinal, sedangkan *S. dysenteriae* menyebabkan infeksi yang disebut disentri basiler atau shigellosis. Kebanyakan orang dengan infeksi *Shigella* mengalami diare (terkadang berdarah), demam, dan kram perut. Gejala biasanya mulai 1-2 hari setelah infeksi dan berlangsung selama 7 hari (CDC, 2020). Secara global,

bakteri ini adalah penyebab utama kematian kedua akibat diare setelah rotavirus, dan menyebabkan sekitar 164.300 kematian tahunan di seluruh dunia, 54.900 diantaranya terjadi pada anak-anak di bawah 5 tahun (Kotloff *et al.*, 2017).

Berdasarkan kajian yang telah diuraikan tersebut, perlu untuk dilakukan penelitian terkait dengan isolasi dan pengujian efektivitas antibakteri protein total dari daun *M. oleifera* yang diduga berpotensi sebagai bahan antibakteri yang menjanjikan untuk pengobatan alternatif terhadap infeksi bakteri di masa mendatang. Penelitian ini diharapkan mampu menghasilkan protein dari daun *M. oleifera* yang memiliki potensi sebagai antibakteri yang efektif, sehingga bisa digunakan sebagai dasar dalam pengembangan penelitian lanjutan, terutama dalam penggandaan jenis protein antibakteri melalui ilmu biokimia

## **2. Rumusan Masalah**

Sesuai dengan permasalahan yang muncul di atas peneliti merancang rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hasil isolasi protein total daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan metode *salting out*?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri protein total daun *M. oleifera* terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*?

## **3. Tujuan Penelitian**

Penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti memiliki tujuan sebagai berikut:

1. Mengisolasi protein total dari daun *M. oleifera*; dan
2. Mengukur aktivitas antibakteri protein total daun *M. oleifera* terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* dalam media agar.

#### **4. Sasaran**

Pengembangan antibakteri relatif lebih sedikit dibandingkan dengan antibakteri. Sehingga penelitian mengenai aktivitas protein total daun *M. oleifera* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* perlu dilakukan. Tujuan utama penelitian ini ialah untuk mengetahui kekuatan antibakteri dari protein total daun *M.oleifera*, sehingga akan memberikan banyak manfaat. Pertama, bagi peneliti, akan menambah wawasan tentang salah satu tumbuhan *M. oleifera* yang berpotensi sebagai antibakteri serta memperoleh pengalaman penelitian mengenai pengujian isolat lektin *M.oleifera* terhadap aktivitas antibakteri. Kedua, bagi masyarakat, akan mengetahui informasi penggunaan daun *M. Oleifera* dapat digunakan sebagai bahan alam yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Ketiga, bagi pengembangan ilmu pengetahuan, akan memberikan informasi bahwa daun *M. oleifera* mengandung senyawa lektin yang dapat berfungsi sebagai antibakteri. Sehingga penggunaan antibakteri berbahan alam dapat lebih dikembangkan. Keempat, bagi dunia pendidikan, informasi tentang lektin daun *M. oleifera* yang berfungsi sebagai antibakteri dapat dijadikan bahan sumber belajar berupa artikel dan buku referensi. Karya tulis tersebut dapat digunakan dalam pembelajaran dan meningkatkan efisiensi dan efektivitas pembelajaran mahasiswa baik waktu, fasilitas maupun tenaga guna mencapai tujuan secara operasional.

## **BAB II**

### **KAJIAN PUSTAKA**

#### **A. Kajian/penelitian terdahulu yang relevan**

Kajian literatur terdahulu yang sesuai serta mendukung kegiatan yang akan dilaksanakan oleh peneliti adalah sebagai berikut:

Dalam penelitian Zaffer *et al.* (2014) ditemukan bahwa *S. aureus* sebagai organisme uji yang paling sensitif terhadap berbagai ekstrak kulit batang *M. oleifera* (metanol, kloroform, etil asetat dan air). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa *M. oleifera* merupakan sumber potensial untuk pengobatan berbagai infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang telah mengalami resistensi. Selain itu, Peixoto *et al.* (2011) juga melaporkan bahwa ekstrak air dan etanol dari daun *M. oleifera* memiliki aktivitas antimikroba yang efektif terhadap *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Enterococcus faecalis* and *Aeromonas caviae*. *M. oleifera* memiliki potensi yang menjanjikan dalam pengendalian bakteripatogen menular dan dapat digunakan dalam penemuan agen antimikroba baru.

Protein antimikroba merupakan suatu senyawa yang dapat dihasilkan oleh sel dan jaringan-jaringan dalam tubuh organisme hidup. Senyawa ini memiliki peran dalam sistem pertahanan tubuh bagi semua organisme hidup (prokariot dan eukariot). Protein ini dapat mempunyai aktivitas dalam menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh mikroba patogen. Protein antimikroba dikenali sebagai senyawa terbesar terhadap perlindungan diri baik pada vertebrata maupun invertebrata. Kemudahan dan kecepatan untuk diproduksi, spesifikasi yang luas terhadap sel-sel prokariotik, dan kurangnya efek beracun bagi organisme eukariotik merupakan nilai lebih protein antimikroba (Boman *et al.*, 1993).

Protein bertindak sebagai pertahanan pertama terhadap serangan mikroorganisme, melengkapi sistem humoral dan kekebalan sel inang. Banyak jenis protein antimikroba yang telah diisolasi dari beranekaragam sumber, memiliki aktivitas sebagai antimikroba terhadap bakteri, fungi, dan virus, (Nicolas dan Mor, 1995). Mayoritas protein antimikroba telah diisolasi dari amphibi, serangga, mamalia, dan crustacea. Beberapa protein antimikroba juga ditemukan

pada nematoda, cacing tanah dan ikan (Cociancich *et al.*, 1994). Sifat protein antimikroba yang paling menakjubkan adalah bahwa jarang sekali memicu resistensi mikroba, yang pada umumnya akan memicu masalah serius jika berhubungan dengan antibiotik-antibiotik konvensional. Oleh karena itu, protein antimikroba merupakan salah satu kandidat yang paling menjanjikan bagi suatu kelas antibiotik yang baru (Kelley, 1996).

## B. Konsep atau Teori yang Relevan

Protein antimikroba merupakan senyawa yang diproduksi oleh sel-sel dan jaringan dalam tubuh organisme hidup. Senyawa ini berperan dalam sistem pertahanan tubuh, mulai dari prokariot, tumbuhan, hewan dan manusia. Protein jenis ini dapat memiliki aktivitas menghambat atau membunuh mikroba. Protein antimikroba dikenali sebagai senyawa terbesar terhadap perlindungan diri baik pada vertebrata maupun invertebrata. Kemudahan dan kecepatan untuk diproduksi, spesifikasi yang luas terhadap sel-sel prokariotik, dan kurangnya efek beracun bagi organisme eukariotik merupakan nilai lebih protein antimikroba (Boman *et al.*, 1993). Protein bertindak sebagai pertahanan pertama terhadap serangan mikroorganisme, melengkapi sistem humorai dan kekebalan sel inang. Banyak jenis protein antimikroba yang telah diisolasi dari beranekaragam sumber, memiliki aktivitas sebagai antimikroba terhadap bakteri, fungi, dan virus, (Nicolas dan Mor, 1995).

Mayoritas protein antimikroba telah diisolasi dari amphibi, serangga, mamalia, dan crustacea. Beberapa protein antimikroba juga ditemukan pada nematoda, cacing tanah dan ikan (Cociancich *et al.*, 1994). Sifat protein antimikroba yang paling menakjubkan adalah bahwa jarang sekali memicu resistensi bakteri, yang pada umumnya akan memicu masalah serius jika berhubungan dengan antibiotik-antibiotik konvensional. Oleh karena itu, protein antimikroba merupakan salah satu kandidat yang paling menjanjikan bagi suatu kelas antibiotik yang baru (Kelley, 1996).

Bakteri memiliki peptidoglikan (PG) atau murein, yaitu polimer yang terdiri dari dua gula turunan asam-N-asetil glukosamin serta asam N-asetilmuramat yang dihubungkan ikatan  $\beta$ -1,4, dan sebuah rantai peptida pendek

yang membentuk lapisan seperti jala di luar membran plasma, membentuk dinding sel. Murein memberikan kekuatan struktural dan perlindungan untuk protoplas yang sensitif secara osmotik. Bila bagian ini terganggu, maka akan mengganggu sistem bakteri secara keseluruhan, bahkan dapat menyebabkan kematian sel. Murein hidrolase (MH) adalah enzim yang mampu menghidrolisis murein bakteri. Ada lima kelompok MH yang tersebar di domain eukarya, bakteri, dan bakteriofag. MH adalah enzim dengan struktur beragam yang melakukan fungsi tergantung pada asalnya. MH organisme eukariotik adalah lisozim, yaitu sebuah protein kation, juga disebut muramidase, yang mengkatalisis hidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4 antara residu asam N-asetilmuramat (NAM) dan N-asetil glukosamin (NAG) dari peptidoglikan. Pada hewan dan tumbuhan, lisozim bertindak sebagai garis pertahanan pertama melawan bakteri patogen (Cervantes et al., 2019).

## G. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini ialah:

$H_0$ : Protein total daun *M. oleifera* yang diisolasi dengan metode *salting out* tidak berpengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri.

$H_1$ : Protein total daun *M. oleifera* yang diisolasi dengan metode *salting out* berpengaruh terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri .

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **1.1 Ekstraksi dan Isolasi Protein Daun *Moringa oleifera***

Kegiatan ini dilaksanakan 20 Mei-12 Juni 2024 yang mana prosedur ini diadaptasi dari Duong-Ly *et al.* (2014). Daun *M. oleifera* segar yang telah dipilih sesuai kriteria dibilas menggunakan air, lalu sisa air bilasan dihilangkan dengan cara diangin-anginkan selama ± 10 menit. Selanjutnya daun ditimbang sebanyak 40 g dan digiling sampai menjadi bubur lalu dihomogenisasikan dalam buffer tris HCl 10 mL dengan pH 7,4 dengan kondisi yang dingin selama 24 jam. Homogenatnya lalu disaring, dan cairan yang diperoleh dari hasil saringannya disentrifugasi selama 15 menit, kecepatan diatur pada 3500 rpm dengan T = 4 °C. Supernatan yang terbentuk, diambil dan dipresipitasi menggunakan ammonium sulfat jenuh 70% (*salting out*) dengan perbandingan volume 1:1. Berikutnya disentrifugasi kembali tahap kedua selama 30 menit, dan kecepatan diatur pada 13.500 rpm pada T = 4 °C. Pellet yang diperoleh dari sentrifugasi tahap kedua diambil untuk pengujian lebih lanjut. Persen hasil isolasi protein yang diperoleh bisa ditentukan dengan persamaan:

$$\% \text{ Hasil} = \frac{W_{\text{akhir}}}{W_{\text{awal}}} \times 100\% \quad (1)$$

W<sub>akhir</sub>: bobot protein yang diperoleh; W<sub>awal</sub>: bobot simplisia sebelum ekstraksi

#### **1.2 Penentuan Kadar Protein Daun *M. oleifera***

Prosedur ini merujuk pada Janairo *et al.* (2011). Penentuan kadar protein yang telah diperoleh dilakukan dengan metode Biuret dan spektrofotometer *UV-Vis, bovine serum albumin* (BSA) murni digunakan sebagai protein standar. Larutan induk BSA dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 150 mg BSA murni, lalu dilarutkan dalam aquades hingga volumenya 10 mL dalam labu ukur sehingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 15 mg/mL. Selanjutnya dibuat seri larutan standar dengan cara memasukkan larutan induk, aquades, dan pereaksi biuret ke dalam tabung reaksi dengan komposisi yang sesuai seperti tabel 1.

Masing-masing tabung diberi perlakuan yang sama, yaitu diaduk dengan menggunakan *vortex mixer* hingga homogen, kemudian diinkubasi dalam *shaking*

*water bath* (penangas air) selama 10 menit pada suhu 30 °C. Selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang maksimum yang terlebih dahulu telah ditetapkan. Kemudian, data absorban yang diperoleh diinterpolasikan sebagai kurva standar, dengan persamaan regresi linear,  $y = ax + b$ . Panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) untuk larutan BSA, ditentukan sebelumnya dengan cara memindai salah satu dari campuran standar BSA dan reagen biuret yang telah diinkubasi sebelumnya, pada kisaran panjang gelombang 450 hingga 650 nm. Panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) yang dipilih ialah panjang gelombang yang menunjukkan nilai absorbansi maksimum.

**Tabel 1.** Komposisi pembuatan larutan untuk kurva standar BSA

No.Tabung	Larutan	Aquades	Biuret	Konsentrasi
	Induk (mL)	(mL)	(mL)	BSA (mg/mL)
1	0,05	2,95	4,5	0,1
2	0,125	2,875	4,5	0,25
3	0,25	2,75	4,5	0,5
4	0,375	2,625	4,5	0,75
5	0,5	2,5	4,5	1
6	0,625	2,375	4,5	1,25

Larutan protein sampel kemudian dapat diukur konsentrasi, dengan cara diberi *treatment* sebagai berikut: Sebanyak 100 mg sampel dilarutkan ke dalam aquades hingga dicapai volume 10 mL. Selanjutnya diambil 0,5 mL sampel ditambahkan aquades hingga volumenya mencapai 3 mL, lalu ditambahkan larutan biuret sebanyak 4,5 mL, diaduk menggunakan *vortex mixer* hingga homogen, kemudian diinkubasi pada *shaking water bath* (penangas air) selama 10 menit, pada suhu 30 °C. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansinya menggunakan spektofotometer *UV-Vis* dengan panjang gelombang maksimum yang telah dipilih. Data absorban yang diperoleh disubstitusikan ke persamaan regresi linear,  $y = ax + b$  untuk mengetahui konsentrasi protein yang terkandung dalam sampel. Apabila konsentrasi proteinnya telah diketahui, maka kadar protein (%) dalam sampel uji juga dapat ditentukan berdasarkan persamaan berikut:

$$Kadar\ Protein = \frac{C_{akhir}}{C_{awal}} \times fp \times 100\% \quad (2)$$

C<sub>akhir</sub>: konsentarsi protein sampel yang diperoleh dari substitusi kurva kalibrasi

C<sub>awal</sub>: konsentarsi protein sampel yang disiapkan sebelumnya

fp: faktor pengenceran

### 1.3 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua peralatan dan bahan-bahan disterilisasi lebih dulu untuk menghindari kontaminasi selama pengujian. Proses sterilisasi dimulai dengan cara membungkus alat-alat yang terbuat dari kaca dengan menggunakan kertas putih, dan untuk media nutrisi ditutup dengan aluminum foil, lalu dibungkus lagi dengan plastik tahan panas. Semua peralatan dan bahan selanjutnya dimasukkan ke dalam autoklaf. Autoklaf diatur selama 30 menit pada suhu 127 °C. Setelah itu, *laminary air flow* dibersihkan dengan alkohol. Alat dan bahan yang telah diautoklaf disinari lampu UV selama ± satu jam di dalam *laminary air flow*.

### 1.4 Pembuatan Media Agar

Media PDA (*potato dextrosa agar*) disiapkan dengan cara ditimbang sebanyak 7 gram media NA (oxoid), lalu dimasukkan ke dalam labu *erlenmeyer pyrex*, kemudian ditambahkan aquades hingga 250 mL. Media NB (*nutrient broth*) disiapkan dengan cara ditimbang sebanyak 1,3 gram bubuk NB (oxoid), lalu dimasukkan ke dalam labu *erlenmeyer pyrex*, selanjutnya dilarutkan hingga volume 100 mL dengan akuades. Larutan-larutan media tersebut selanjutnya dididihkan di atas *hot plate* sambil tetap diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai homogen, lalu disterilisasi. Prosedur ini menyesuaikan dengan *brand* produk yang digunakan. Prosedur pembuatan media agar tertera pada kemasan atau dapat diunduh dari laman penjualan produk.

### 1.5 Peremajaan Biakan Bakteri

Sebelum pengujian, masing-masing biakan bakteri terlebih dahulu diremajakan dalam media agar miring yang sesuai. Tahapan ini dilakukan dengan tujuan agar bakteri dapat memulai kembali metabolismenya setelah penyimpanan. Peremajaan bakteri dilakukan dengan menggoreskan masing-masing biakan ke

dinding agar miring yang sudah disiapkan dalam tabung. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Wijayati *et al.*, 2014).

### **1.6 Uji Aktivitas Antibakteri**

Prosedur ini diadaptasi dari Balouiri *et al.* (2016). Diambil masing-masing biakan bakteri yang telah diremajakan dalam media agar miring, sebanyak satu jarum ose bakteri, lalu dicampurkan ke dalam 15 mL media NB dan garam fisiologis sebagai suspensi bakteri kemudian diaduk dengan menggunakan *vortex mixer*. Bila suspensi bakteri telah berubah menjadi lebih keruh dibandingkan kondisi awal, maka segera dinilai turbiditasnya dengan mengukur absorbansi pada kisaran antara 0,08 hingga 0,1 (pada 600 nm) yang kira-kira setara dengan standar  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL atau 0,5 Mc Farland (Dalynn, 2014). Bila nilai yang diperoleh belum setara atau terlalu encer (absorbansi lebih kecil dari 0,08) maka perlu dilakukan penyesuaian dengan cara ditunggu beberapa saat sampai pertumbuhan bakteri telah mencapai jumlah yang diinginkan dan diukur kembali absorbansinya seperti sebelumnya. Bila turbiditas yang diinginkan telah tercapai, maka suspensi bakteri tersebut segera dicampurkan ke dalam media agar yang sesuai, dengan cara sebanyak 100 ml media agar ditambahkan 2 ml suspensi biakan bakteri yang telah disiapkan. Selanjutnya sebanyak 20 ml campuran dituangkan ke dalam masing-masing cawan petri steril. Lalu dibuat lubang (sumuran) menggunakan *cork borer* pada media agar dalam cawan petri yang sudah mengeras dengan diameter 6 mm.

Sampel uji yang digunakan ialah protein total daun *M. oleifera* yang diperoleh dari proses sebelumnya. Sampel uji disiapkan dengan cara diambil sebanyak 1 g protein terpresipitasi, lalu dilarutkan dalam buffer tris HCl hingga volumenya mencapai 1 L (larutan induk sampel), lalu diaduk hingga homogen. Berikutnya, dibuat larutan protein uji dengan cara diambil sebanyak 7,5 mL, 15 mL dan 22,5 mL larutan induk sampel lalu ditambahkan buffer tris HCl hingga volumenya menjadi 25 mL untuk mendapatkan konsentrasi masing-masing 200 ppm, 500 ppm dan 800 ppm. Larutan buffer tris HCl juga digunakan sebagai kontrol negatif. Selanjutnya disiapkan antibiotik kloramfenikol 500 ppm dengan

cara melarutkan 30 mg kloramfenikol ke dalam aquades hingga volumenya mencapai 100 mL sebagai kontrol positif.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara diteteskan masing-masing sampel uji, kontrol negatif dan positif sebanyak 20  $\mu$ L menggunakan mikropipet yang sesuai pada tiap sumuran yang telah dibuat. Kemudian masing-masing cawan petri dilapisi dengan plastik *wrap* pada bagian luarnya. Selanjutnya setiap cawan petri tersebut diinkubasi selama  $\pm$  24 jam dengan suhu yang diatur pada 37 °C. Semua proses penelitian ini dikerjakan secara aseptis untuk menghindari kontaminasi selama pengujian.

### **1.7 Penghitungan Zona Hambat**

Penghitungan zona hambat pertumbuhan bakteri yang dilakukan dengan cara uji difusi sumuran, diukur menggunakan jangka sorong. Adanya area yang bening/jernih di sekitar sumuran setelah diinkubasi selama selama  $\pm$  24 jam, mengindikasikan adanya aktivitas hambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen uji oleh protein daun *M. oleifera* yang berperan sebagai agen antibakteri. Penghitungan zona hambat pertumbuhan bakteri uji, dilakukan pada 3 sudut pandang yang berbeda dan sebanyak 3 kali ulangan untuk mendapatkan standar deviasi hasil pengukuran. Data hasil penghitungan zona hambat didapatkan dari rerata pengukuran diameter zona hambat (DZH) dikurangi dengan diameter lubang (sumuran). Penilaian sensitivitas bakteri uji terhadap berbagai konsentrasi protein daun *M. oleifera* diklasifikasikan berdasarkan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri, yang mengacu pada pernyataan Ponce *et al.* (2003) yaitu: tidak sensitif (-) bila diameternya kurang dari 8 mm; sensitif (+) bila diameternya pada kisaran 8-14 mm; sangat sensitif (++) bila diameternya pada kisaran 15-19 mm dan ultra sensitif (+++) bila diameternya lebih besar dari 20 mm. Selanjutnya, kategori kekuatan antibakteri dinilai dengan didasarkan pada Ouchari *et al.* (2019) yang mengklasifikasikan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri ke dalam empat intensitas yaitu: sangat kuat bila DZH >20 mm; kuat bila DZH pada kisaran 10-20 mm; sedang bila DZH pada kisaran 5-10 mm; dan lemah bila DZH <5 mm.

## **1.8     Analisa Data**

Data yang telah didapatkan dari pengukuran diameter zona hambat (DZH) hasil uji aktivitas antibakteri, selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan *one way Anova*. Jika *sig. (p-value)* < 0,05 atau F hitung lebih besar daripada F tabel, maka dilanjutkan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat signifikansi 5% ( $\alpha = 0,05$ ).

**Tabel 2. Jadwal Waktu Pelaksanaan Penelitian**



## **BAB IV**

### **HASIL dan PEMBAHASAN**

#### **4.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan sebanyak dua belas kali. Pada bulan Mei dilaksanakan sebanyak 6 kali yaitu pada tanggal 20, 21, 22, 27, 28, 29 dan bulan Mei sebanyak enam kali yaitu pada tanggal 03, 04, 05, 10, 11, 12 Juni 2024 di Laboratorium biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Bengkulu.

#### **4.2. Kronologis Kegiatan:**

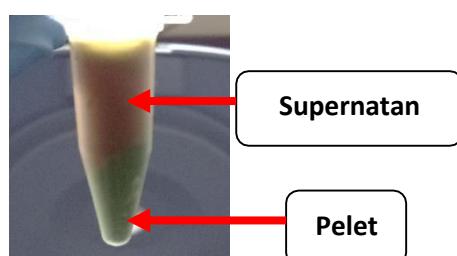
Penelitian aktivitas protein total daun kelor sebagai antibakteri merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan beberapa tahapan yaitu:1) ekstraksi dan isolasi protein total daun *M. oleifera*; 2) penentuan kadar protein daun *M. oleifera*; 3) sterilisasi alat dan bahan; 4) pembuatan media agar; 5) peremajaan biakan bakteri; 6) uji aktivitas antibakteri; dan 7) penghitungan zona hambat pertumbuhan bakteri.

##### **4.2.1 Ekstraksi Protein daun kelor (*Moringa oleifera*)**

Tanaman yang diekstraksi proteininya adalah daun tanaman *Moringa oleifera*. Sampel tersebut dihaluskan terlebih dahulu, guna memperluas permukaan bidang sentuh sampel sehingga peluang kontak antara sampel dengan pelarut semakin banyak dan mempermudah penetrasi pelarut ke dalam sampel sehingga hasil semakin sempurna. Selain itu juga dimaksudkan agar sel atau jaringan tanaman yang mengandung senyawa-senyawa organik dapat terlarut sebanyak mungkin dalam pelarut yang terbatas. Sampel yang telah halus, dihomogenkan dengan buffer dingin Tris-HCl pH 10. Fungsi larutan buffer adalah untuk menjaga struktur protein selama proses penghancuran dan purifikasi sehingga memudahkan dalam mencegah aktivitas enzim pendegradasi protein dan mencegah perubahan pada molekul protein.

Hasil homogenasi yang dinamakan homogenat umumnya masih berupa larutan keruh yang terdiri dari debris sel (bagian sel yang tidak hancur), organel-organel sel dan makromolekul penyusun sel diantaranya yaitu protein. Untuk

memisahkan molekul dalam larutan ini yaitu menggunakan metode sentrifugasi. Tujuan dari sentrifugasi yaitu pemisahan larutan berdasarkan perbedaan berat molekulnya. Dengan sentrifugasi, debris dan organel sel akan mengendap di dasar tabung sentrifus (dinamakan pellet), sedangkan makromolekul (termasuk di dalamnya protein) yang ukurannya jauh lebih kecil daripada debris dan organel sel tidak akan mengendap tetapi terlarut dalam buffer (dinamakan supernatan yang bening). Supernatan inilah yang dipakai sebagai sampel untuk analisis ekstraksi protein. Hasil sentrifugasi tahap pertama dapat dilihat pada gambar 1.

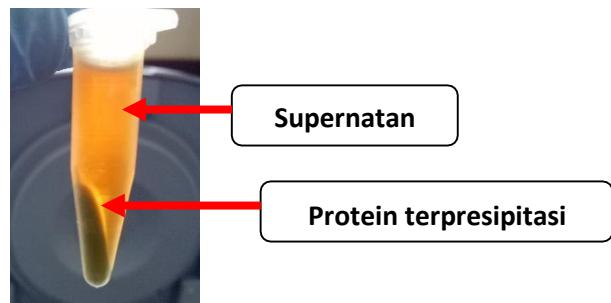


**Gambar 1.** Hasil Sentrifugasi tahap pertama

Supernatan hasil sentrifugasi pada tahap pertama perlu diendapkan kembali untuk mendapatkan ekstrak protein. Pengendapan dilakukan dengan menambahkan ammonium sulfat 70%. Presipitasi protein merupakan pengendapan yang terjadi karena penggumpalan yang parsial. Presipitasi disebabkan oleh berkurangnya kelarutan protein (perubahan fisik) yang terjadi karena perubahan kimia. Presipitasi disebabkan oleh pengembangan molekul protein akibat *unfolding* atau membukanya heliks-heliks protein. Presipitasi juga terjadi akibat terganggunya kesetabilan koloid yang disebabkan oleh menurunnya muatan elektrostatik protein sehingga gaya gravitasi akan lebih dominan dibandingkan gaya tolak-menolak antar molekul.

Supernatan yang dipresipitasi dengan ammonium sulfat 70% merupakan metode *salting out*. Mekanisme dasar *salting out* sangat kompleks yaitu pengendapan terjadi karena persaingan antara garam dan protein untuk mengikat air. Pada konsentrasi tinggi, kekuatan ionik garam semakin kuat sehingga garam lebih dapat mengikat molekul air. Dengan demikian, tidak cukup banyak air yang terikat pada protein sehingga gaya tarik menarik antar molekul protein

lebih menonjol dibandingkan dengan tarik menarik antara air dan protein. Dalam kondisi seperti itu maka protein akan mengendap.



**Gambar 2.** Hasil sentrifugasi tahap kedua

Pada ekstraksi lektin, untuk pemisahan protein dilakukan dua kali pengendapan melalui sentrifugasi. Sentrifugasi pertama pada 3500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan pengotor yang masih terdapat pada larutan sampel selanjutnya sentrifugasi kedua pada 13.500 rpm selama 30 menit untuk memisahkan protein terpresipitasi dengan larutannya. Pelletnya diambil karena merupakan protein presipitasi, kemudian pellet tersebut dilakukan penentuan konsentrasi protein. Protein hasil sentrifugasi homogenat masih terdiri dari berbagai jenis protein (atau dinamakan *crude protein*) ataupun protein hasil pengendapan amonium sulfat (jenis protein lebih spesifik) selanjutnya dapat dianalisis secara kuantitatif maupun kualitatif.

#### **4.2.1. Uji aktivitas Antibakteri**

Pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan adalah pengujian secara kuantitatif dimana sampel yang digunakan adalah protein daun *M. oleifera* dengan variasi konsentrasi 10%, 40%, 70%, 100% (b/v). Pengujian aktivitas antibakteri yang dilakukan adalah pengujian secara kuantitatif dimana sampel yang digunakan adalah lektin daun *M. oleifera* dengan variasi konsentrasi 200 ppm, 500 ppm, 800 ppm. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli* termasuk kelompok bakteri gram negatif, sedangkan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* termasuk kelompok bakteri gram positif. Pengujian aktivitas anti bakteri ini dilakukan secara *Invitro* dengan

menggunakan bakteri yang dikembangkan (inokulasi) dengan menggunakan media agar. Adapun media yang digunakan adalah *Nutrient agar* (NA) sebagai media padat yang berfungsi dalam subkultur bakteri dan media *inokulasi* bakteri serta *Nutrient Broth* (NB) sebagai media cair yang berfungsi dalam *suspensi* peremajaan bakteri.

Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan dengan metode sumuran/lubang. Metode sumuran merupakan salah satu dari metode difusi dalam uji aktivitas antibakteri. Metode ini dilakukan dengan pembuatan lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri yang selanjutnya diisi dengan lektin sebagai sampel yang akan diuji. Setelah diinkubasi pada  $T = 37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang ditandai dengan zona bening.

Hasil penelitian menunjukkan adanya daerah hambat disekitar lubang pada tiap konsentrasi lektin. Sedangkan pada kontrol negatif yaitu aquades tidak memberikan daerah hambat. Hal tersebut membuktikan bahwa pelarut tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri, sehingga aktivitas hanya berasal dari larutan uji dan bukan dari pelarut yang dipakai. aquades digunakan sebagai kontrol negatif dengan tujuan untuk mengencerkan konsentrasi protein *M. oleifera*. Pada kontrol positif menggunakan antibiotik amoxcilin 500 ppm yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif dengan cara menghambat sintesis protein bakteri.

Pengukuran diameter daya hambat (DDH) dilakukan dengan 3 macam sudut pandang yang berbeda pada tiap sumur. Grafik tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi lektin daun *M. oleifera* yang digunakan akan semakin besar pula DDH yang dihasilkan, yang berarti semakin besar pula daerah yang bebas dari pertumbuhan bakteri. Hasil DDH yang diperoleh, dianalisis menggunakan *One Way Anova*. Berikut hasil analisis statistik tiap jenis bakteri yang digunakan dalam penelitian ini.

**a) *S. aureus***

Hasil perhitungan standar deviasi yang tersajikan pada tabel 3 menunjukkan bahwa rata-rata hasil DDH pada perlakuan tiap konsentrasi lektin terhadap

bakteri *S. aureus* menyebar secara merata (homogenitas). Hasil uji *One Way Anova* memperlihatkan nilai signifikansi yang 0,00 ( $p = 0,00$ ), yang berarti perlakuan konsentrasi lektin daun *M. oleifera* mempunyai pengaruh yang signifikan atau bermakna terhadap pertumbuhan *S. aureus*. Diketahui nilai F hitung yaitu 147,267 sedangkan F tabel yaitu 4,07 pada taraf 0,05%. Didapatkan bahwa F hitung lebih besar dari F tabel ( $147,267 > 4,07$ ), maka dapat disimpulkan bahwa hipotesis nol ( $H_0$ ) ditolak pada taraf 95% yang artinya kesalahan tidak lebih dari 5%. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa tiga konsentrasi 200 ppm, 500 ppm, 800 ppm daun *M. oleifera* memberikan kemampuan aktivitas yang menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan perbedaan yang sangat nyata. Setelah itu dilakukan uji lanjut yaitu *post hoc test* untuk mengetahui perlakuan atau konsentrasi manakah terdapat perbedaan daya hambat yang bermakna secara statistik.

**Tabel 3.** Pengamatan DDH bakteri *S. aureus*

No	Konsentrasi protein	Ulangan	Zona Hambat (X±SD)	Uji duncan	Kekuatan antibakteri
1	Lektin 200 ppm	3	10,33 10,67 10,67	a*	Kuat
2	Lektin 500 ppm	3	11,33 11,67 12,00	b*	Kuat
3	Lektin 800 ppm	3	15,00 14,67 15,33	c*	Kuat
4	Amoxcilin 500ppm	3	12,00 12,00 11,62	b*	Kuat

Keterangan : \* = angka-angka yang diikuti oleh notasi yang sama berarti berbeda tidak nyata, dan apabila tidak disertai huruf yang sama maka berbeda nyata.

Uji lanjutan yang dilakukan adalah uji duncan. Berdasarkan hasil uji duncan bahwa pengaruh Lektin 500 ppm sama dengan Amoxcilin 500 ppm. Sehingga konsentrasi lektin yang efektif dalam menghambat *S. aureus* yaitu konsentrasi minimum dengan daya hambat besar, yaitu pada Lektin 800 ppm dengan kategori kekuatan antibakteri yang tergolong kuat.

**b) *B. subtilis***

Berdasarkan hasil perhitungan standar deviasi yang tersajikan pada tabel 4 menunjukkan bahwa rata-rata hasil DDH pada perlakuan tiap konsentrasi lektin

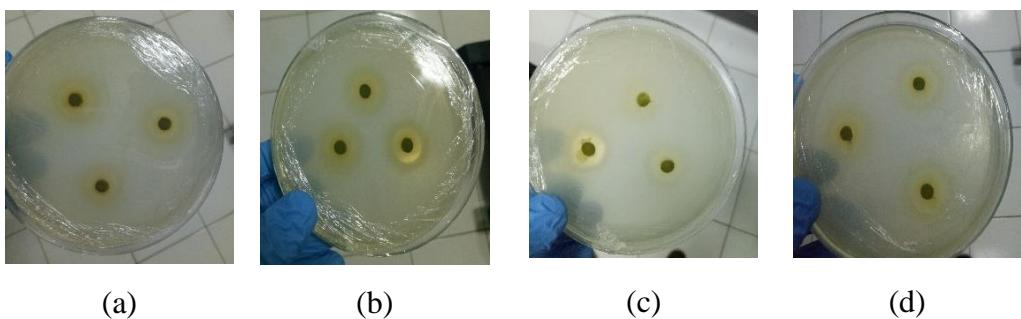
terhadap bakteri *B. subtilis* menyebar secara merata (homogenitas). Hasil uji *One Way Anova* memperlihatkan nilai signifikansi yang 0,044 yang berarti perlakuan konsentrasi lektin daun *M. oleifera* mempunyai pengaruh yang signifikan atau bermakna terhadap pertumbuhan *B. subtilis*.

**Tabel 4.** Pengamatan DDH bakteri *B. subtilis*

No	Konsentrasi protein	Ulangan	Zona Hambat (X±SD)	Uji duncan	Kekuatan antibakteri
1	Lektin 200 ppm	3	8.33 ± 0.00	a*	Sedang
2	Lektin 500 ppm	3	8.67 ± 0.33	a/b*	Sedang
3	Lektin 800 ppm	3	9.33 ± 0.33	b*	Sedang
4	Amoxcilin 500ppm	3	8.78 ± 0.51	a/b*	Sedang

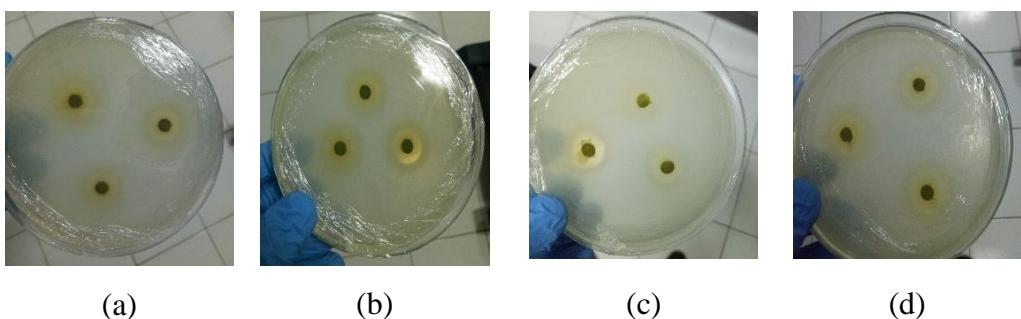
Keterangan : \* = angka-angka yang diikuti oleh notasi yang sama berarti berbeda tidak nyata, dan apabila tidak disertai huruf yang sama maka berbeda nyata.

Diketahui nilai F hitung yaitu 4,319 sedangkan F tabel yaitu 4,07 pada taraf 0,05%. Didapatkan bahwa F hitung lebih besar dari F tabel ( $4,319 > 4,07$ ), maka dapat disimpulkan bahwa hipotesis nol ( $H_0$ ) ditolak pada taraf 95% yang artinya kesalahan tidak lebih dari 5%. Hal ini menunjukkan bahwa tiga konsentrasi 200 ppm, 500 ppm, 800 ppm lektin daun *M. oleifera* memberikan kemampuan aktivitas yang menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dengan perbedaan yang sangat nyata. Sehingga perlu adanya uji lanjut yaitu *post hoc test* untuk mengetahui perlakuan atau konsentrasi manakah terdapat perbedaan daya hambat yang bermakna secara statistik. Uji lanjutan yang dilakukan adalah uji duncan. Berdasarkan hasil uji duncan terlihat pengaruh konsentrasi Lektin 200 ppm, 500 ppm sama dengan Amoxcilin 500 ppm, dan pengaruh konsentrasi Lektin 500 ppm sama dengan Amoxcilin 500 ppm. Sehingga konsentrasi lektin yang efektif dalam menghambat *B. subtilis* yaitu konsentrasi minimum dengan daya hambat besar, yaitu pada konsentrasi 500 ppm dengan kategori kekuatan antibakteri yang tergolong sedang.



**Gambar 3.** Pembentukan Daya Hambat *B. subtilis*

Peneliti menduga adanya ikatan yang terbentuk antara lektin *M. oleifera* dengan gugus karbohidrat spesifik pada membran sel bakteri. Adanya reseptor pada membran sel bakteri yang sesuai dengan lektin *M. oleifera* membentuk ikatan glikoprotein. Ikatan yang terbentuk ini mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel bakteri. Membran sel berperan dalam menjaga komposisi ion-ion yang ada dalam sitoplasma untuk berfungsinya sel bakteri. Perubahan permeabilitas membran sel menyebabkan terganggunya proses transport nutrisi dan terhambatnya aktivitas serta biosintesis enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme. Hal ini mengakibatkan sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang dibutuhkan dalam proses pertumbuhan yang lama-kelamaan menimbulkan lisis pada sel bakteri (Mahayashih, 2013). Sifat lektin daun *M.oleifera* dapat menjadi nilai tambah tumbuhan sebagai bahan alami dapat dijadikan sebagai alternatif antibakteri khususnya bakteri *B. subtilis*, *S. aureus*. Sehingga pemanfaatan bahan alam sebagai antibakteri dapat menambah nilai ekonomis tumbuhan *M. oleifera*.



**Gambar 4.** Pembentukan Daya Hambat bakteri *Staphylococcus aureus*

Senyawa antibakteri mempunyai berbagai mekanisme penghambatan terhadap sel bakteri. Djunaedy (2008) menyatakan bahwa senyawa antibakteri memiliki mekanisme kerja dengan cara menetralisasi enzim yang terkait dalam invasi bakteri, merusak membran sel bakteri, menghambat sistem enzim bakteri sehingga mengganggu terbentuknya ujung hifa dan mempengaruhi sintesis asam nukleat dan protein. Peneliti menduga adanya ikatan yang terbentuk antara lektin *M. oleifera* dengan gugus karbohidrat spesifik pada membran sel bakteri. Adanya reseptor pada membran sel bakteri yang sesuai dengan lektin *M. oleifera* membentuk ikatan glikoprotein. Ikatan yang terbentuk ini mengakibatkan perubahan permeabilitasnya dan menimbulkan gangguan pada struktur dan fungsi membran sel. Membran sel berperan melindungi isi sel dan mengatur keluar masuknya molekul-molekul yang berguna untuk mempertahankan kehidupan sel (Alfiah, 2015). Perubahan permeabilitas membran sel menyebabkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat. Hal ini mengakibatkan sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi untuk proses pertumbuhan, sehingga lama-kelamaan membran sel akan mengalami lisis.

Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif, merupakan obat paten komersial, menunjukkan efek antibakteri yang kuat terhadap jenis bakteri yang diuji. Kloramfenikol merupakan antibiotik turunan polien, yang dapat dikelompokkan pada gangguan di membran sel. Gangguan ini terjadi karena adanya ergosterol dalam sel bakteri. Ergosterol merupakan komponen sterol yang sangat penting dan sangat mudah diserang oleh antibiotik turunan polien. Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori dan melalui pori tersebut konstituen essensial sel bakteri seperti ion K, fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino dan ester fosfat bocor keluar hingga menyebabkan kematian sel bakteri. Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel bakteri ini merupakan mekanisme yang disebabkan oleh senyawa turunan imidazol karena mampu menimbulkan ketidakteraturan membran sitoplasma bakteri dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membran dalam proses pengangkutan senyawa – senyawa essensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolismik sehingga menghambat pertumbuhan atau menimbulkan kematian sel bakteri (Siswandono, 2000). Meskipun zona hambat

yang dihasilkan oleh protein daun kelor tidak sebesar yang dihasilkan oleh antibiotik sintetik seperti amoksisilin atau tetrasiklin, hasil ini tetap signifikan. Keefektifan protein daun kelor dibandingkan dengan antibiotik sintetis menunjukkan bahwa meskipun tidak sekuat beberapa antibiotik, protein daun kelor menawarkan keuntungan sebagai agen antibakteri alami dengan risiko resistensi yang lebih rendah dan efek samping yang minimal. Penggunaan protein daun kelor juga menawarkan pendekatan yang lebih aman dan berkelanjutan dalam melawan patogen, mengurangi ketergantungan pada antibiotik sintetik dan menekan risiko resistensi antibiotik. Temuan ini membuka peluang aplikasi praktis dalam berbagai bidang Produk Kesehatan yaitu dikembangkan menjadi bahan aktif dalam produk sanitasi dan antiseptik. Serta bidang Industri Makanan: Penggunaan ekstrak protein daun kelor sebagai pengawet alami untuk mencegah kontaminasi bakteri. Dan juga bidang Kedokteran: Potensi pengembangan sebagai suplemen dalam pengobatan infeksi bakteri, terutama di daerah dengan akses terbatas ke antibiotik.

### **4.3 Keluaran**

Penelitian mengenai pengujian aktivitas protein total daun *M. oleifera* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* belum dilakukan. Dari penelitian ini diketahui informasi tentang manfaat lain daun *M. oleifera* yang dapat digunakan sebagai agen penghambat pertumbuhan bakteri, sehingga penelitian tentang antibiotik berbahan herbal (khususnya *M. oleifera*) dapat lebih dikembangkan dan timbul semangat yang lebih baik dari masyarakat dalam budidaya tanaman ini khususnya di laboratorium alam UIN Fatmawati Sukarno Bengkulu. Selanjutnya informasi tersebut akan dipublikasikan dalam bentuk jurnal nasional terakreditasi minimal sinta 4-6 dan sertifikat HAKI, serta dumy book.

### **4.5 Evaluasi Kegiatan**

Kesimpulan:

Aktivitas lektin daun *Moringa oleifera* sebagai antibakteri melalui metode difusi rata-rata memberikan perbedaan daya hambat yang signifikan

pada tiap perlakuan variasi konsentrasi. konsentrasi lektin daun *M. oleifera* yang paling efektif untuk bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu 800 ppm dengan kategori kekuatan antibakteri yang tergolong kuat. dan *Bacillus subtilis* 500 ppm dengan kategori kekuatan antibakteri yang tergolong sedang.

Saran:

Perlu dilakukan pengujian antibakteri terhadap bakteri gram negatif

## **BAB V**

### **PENUTUP**

Penelitian mengenai pengujian aktivitas protein total daun *M. oleifera* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* diperoleh informasi tentang manfaat lain daun *M. oleifera* yang dapat digunakan sebagai agen penghambat pertumbuhan bakteri, sehingga penelitian tentang antibiotik berbahan herbal (khususnya *M. oleifera*) dapat lebih dikembangkan dan timbul semangat yang lebih baik dari masyarakat dalam budidaya tanaman ini khususnya di laboratorium alam UIN Fatmawati Sukarno Bengkulu. Aktivitas lektin daun *Moringa oleifera* sebagai antibakteri melalui metode difusi rata-rata memberikan perbedaan daya hambat yang signifikan pada tiap perlakuan variasi konsentrasi. konsentrasi lektin daun *M. oleifera* yang paling efektif untuk bakteri *Staphylococcus aureus* 800 ppm dan *Bacillus subtilis* 500 ppm (b/v) dengan kategori kekuatan antibakteri yang tergolong kuat dan sedang. Penelitian ini hanya sebatas ekstraksi protein, untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan pemurnian protein agar protein yang dihasilkan adalah protein yang bebas dari pengotor. Perlu dilakukan pengujian antibakteri terhadap bakteri jenis lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anjorin T.S., Ikokoh P., Okolo S. 2010. *Mineral composition of Moringa oleifera leaves, pods and seeds from two regions in Abuja, Nigeria*. International Journal of Agriculture and Biology, 12, 431-434
- Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S.K. 2016. *Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review*. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6(2), 71-79
- Baynes J.W., Dominiczak M.H. 2014. *Medical biochemistry (4th ed.)*. Columbia: Saunders Elsevier
- Boman H.G., Agerberth B., Boman A. 1993. *Mechanisms of action on Escherichia coli of cecropin P1 and PR-39, two antibacterial peptides from pig intestine*. Infection and Immunity, 61(7), 2978-2984
- Cervantes L.A.Z., Acosta B.G., Díaz, S.F.M., Félix, C.S.C. 2019. Antibacterial proteins and peptides as potential treatment in aquaculture: current status and perspectives on delivery. *Reviews in Aquaculture*, 1-22
- Charungchitrak, S., A. Petsom, P. Sangvanich, and A. Karnchanat. 2010. *Antifungal and Antibacterial Activities of Lectin From The Seeds of Archidendron jiringa Nielsen*. Food Chemistry 126 (2011) 1025–1032
- Cociancich S., Bulet P., Hetru C., Hoffmann J.A. 1994. *The inducible antibacterial peptides of insects*. Parasitology Today, 10(4), 132-139
- Dorobat O.M, Moisoiu A., Talapan D. 2007. *Incidence and resistance patterns of pathogens from lower respiratory tract infections (LRTI)*. Pneumologia 56(1), 7-15
- Duong-Ly K.C., Gabelli S.B. 2014. *Salting out of proteins using ammonium sulfate precipitation*. Methods in Enzymology, 541, 85-94
- Fatchiyah A.E.L., Widyarti S., Rahayu S. 2011. *Biologi molekular: prinsip dasar analisis*. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Harborne J.B. 1996. *Metode Fitokimia. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung: Penerbit ITB

- Janairo G., Linley M., Yap L., Lazaro N.L., Robles J. 2011. *Determination of the Sensitivity range of biuret test for undergraduate biochemistry experiments.* e -Journal of Science & Technology (e-JST), 5(6), 76-83
- Kelley K. J. 1996. *Host-defense peptides: using host defenses to fight infectious diseases.* Nature Biotechnology, 14(5), 587-590
- Lam, S.K., and Ng, T.B. 2011. *Lectins: Production and practical applications.* Appl Microbiol Biotechnol. 89:45–55
- Leone A., Spada A., Battezzati A., Schiraldi A., Aristil J., Bertoli S. 2015. *Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of Moringa oleifera leaves: an overview.* International Journal of Molecular Sciences, 16(12), 12791-12835
- Leone A., Spada A., Battezzati A., Schiraldi A., Aristil J., Bertoli S. 2016. *Moringa oleifera seeds and oil: characteristics and uses for human health.* International Journal of Molecular Sciences, 17(12), 1-14
- Lin, P., X. Ye, and TB Ng. 2008. *Purification of melibiose-binding lectins from two cultivars of Chinese black soybeans.* Acta Biochim Biophys Sin : 1029-1038
- Mahayasih P.G.M.W., Handoyo T., Hidayat M. A. 2014. *Antibacterial activity of water soluble protein from Porang tubers (Amorphophallus muelleri Blume) Against Escherichia coli and Staphylococcus aureus.* Jurnal Pustaka Kesehatan, 2(2), 185-191
- Morace, Giulia dkk. 2014. *Antifungal drug resistance in Candida species, Journal of Global Antimicrobial Resistance.* www.elsevier.com/locate/jgar. Department of Health Sciences, Universita`degli Studi di Milano, Blocco C, via A.di Rudini`8, 20142 Milan, Italy.

- Nicolas P., Mor A. 1995.* Peptides as weapons against microorganisms in the chemical defense system of vertebrates. *Annual Review of Microbiology*, 49(1), 277-304
- Nicolas P., Mor A. 1995.* *Peptides as weapons against microorganisms in the chemical defense system of vertebrates.* Annual Review of Microbiology, 49(1), 277-304
- Olagbemide P.T., Philip, C.N.A. 2014.* Proximate analysis and chemical composition of raw and defatted *Moringa oleifera* kernel. *Advances in Life Science and Technology*, 24, 92-99
- Ouchari L., Boukeskasse A., Bouizgarne B., Ouhdouch Y. 2019.* Antimicrobial potential of Actinomycetes isolated from unexplored hot Merzouga desert and their taxonomic diversity. *Biology Open*, 1-7
- Peixoto J.R.O., Silva G.C., Costa R.A., de Sousa Fontenelle, J.res L., Vieira G.H. F., Filho A.A.F., Vieira R.H.S. dos F. 2011.* *In vitro antibacterial effect of aqueous and ethanolic Moringa leaf extracts.* Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 4(3), 201-204
- Ponce A.G., Fritz R., del Valle C., Roura S.I. 2003.* *Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard.* LWT - Food Science and Technology, 36(7), 679-684
- Price, Martin L. 2007.* *The Moringa Tree.* Artikel. <http://echonet.org/repositories>
- Juliantina, R., et al. 2009 . Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.* Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia Vol.1
- Saa R.W., Fombang E.N., Ndjantou E.B., Njintang N.Y. 2019.* *Treatments and uses of Moringa oleifera seeds in human nutrition: a review.* Food Science & Nutrition, 7(6), 1911-1919
- Sari M. 2019.* *Analisa Protein* (ISBN 978-602-6784-92-6). Bengkulu: Vanda
- Wijayati N., Astutiningsih C., Mulyati S. 2014.* *Transformasi α-pinena dengan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923.* Biosaintifika, 6(1), 24-28
- Yaméogo C.W., Bengaly M.D., Savadogo A., Nikiema P.A., Traore S.A. 2011.* *Determination of chemical composition and nutritional values of Moringa oleifera leaves.* Pakistan Journal of Nutrition, 10(3), 264-268

Zaffer M., Ahmad S., Sharma R., Mahajan S., Gupta A., Agnihotri R.K. 2014.  
*Antibacterial activity of bark extracts of Moringa oleifera Lam. against some selected bacteria.* Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 27(6), 1857-1862

## Lampiran

- Pengumuman penerimaan proposal penelitian
- Jadwal seminar proposal penelitian
- Proposal penelitian
- Kontrak penelitian
- RAB penelitian
- SK penelitian
- Daftar/biodata peneliti/narasumber dan judul materi yang disampaikan
- Jadwal kegiatan/ Log Book Penelitian
- Surat izin penelitian
- Surat-surat terkait dengan kegiatan
- Laporan rekapitulasi realisasi keuangan
- Dokumentasi (foto) terkait kegiatan

## IDENTITAS PENELITI



### Profil

Nama	:	Meirita Sari, M.Pd.Si
TTL	:	Bengkulu, 24 Mei 1991
Alamat	:	Jl. KS Tubun No 60 RT 16 RW 4 Kecamatan Gading Cempaka Kelurahan Jalan Gedang Kota Bengkulu 38225
Alamat email	:	meiritasari@mail.uinfasbengkulu.ac.id/meiritasarimpdsi@gmail.com
NIP	:	2024059101
NIDN	:	2024059101
ID Sinta	:	6792304
ORCID iD	:	<a href="https://orcid.org/0000-0002-2160-5530">https://orcid.org/0000-0002-2160-5530</a>
Pekerjaan	:	Dosen Universitas Islam Negeri Fatmawati Sukarno Bengkulu
Status pernikahan	:	Menikah
Agama	:	Islam
Alamat Kantor	:	Jl. Raden fatah Pagar dewa Kecamatan Selebar Kota Bengkulu

### Riwayat Pendidikan

Nama Pendidikan	Tahun lulus	Tempat	Spesialisasi
SD Negeri 20	2003	Kota Bengkulu	-
SMP Negeri 4	2006	Kota Bengkulu	-
SMA Negeri 5	2009	Kota Bengkulu	IPA
Universitas Bengkulu	2013	Kota Bengkulu	Pendidikan Kimia S-1
Universitas Bengkulu	2015	Kota Bengkulu	Pendidikan IPA S-2

### Pengalaman kerja

<b>Instansi</b>	<b>Jabatan</b>	<b>Periode</b>
Future Private Education	Pengajar	2011
Poltekkes Kemenkes	Dosen (D-III dan D-IV Gizi)	2014
SMK Analis Qawiy Shabab	Guru Mata Pelajaran Kimia	2015
Universitas Dehasen Bengkulu	Dosen Fakultas Pertanian	2015
Universitas Terbuka	Tutor	2016
Universitas Islam Negeri Fatmawati Sukarno Bengkulu	Dosen Tadris IPA	2021

## Foto-foto Kegiatan

20 Mei 2024

Persiapan sampel penelitian  
mengumpulkan, mensortir, membersihkan, menghaluskan daun Moringa oleifera



22 Mei 2024 mengekstraksi menggunakan larutan buffer tris HCl



27 Mei 2024 melakukan sentrifugasi tahap pertama dan mengumpulkan supernatan



29 Mei 2024 melarutkan supernatan kedalam larutan ammonium sulfat



03 juni 2024 melakukan sentrifugasi ke dua dan mengumpulkan pelet



05 juni 2024 menghitung rendemen sentrifugasi kedua



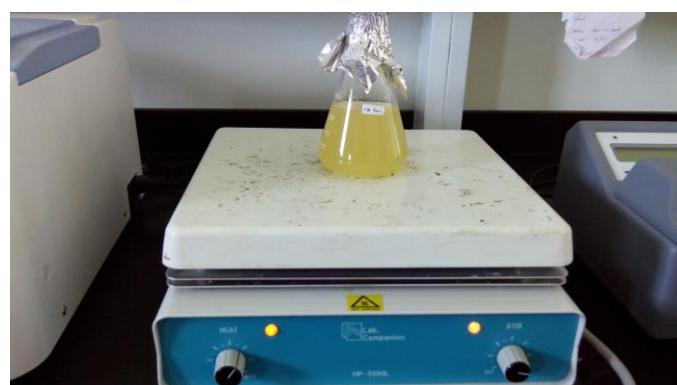
10 Juni 2024 menghitung konsentrasi lektin dan membuat varian konsentrasi lektin dan kontrol positif antibakteri



12 Juni 2024 membuat media padat dan cair untuk Staphylococcus aureus dan Bacillus subtilis dan mensterilisasi alat dan bahan



01 juli 2024 meremajakan biakan bakteri



02 juli 2024 membuat suspensi bakteri dan mensterilisasi alat



03 juli 2024 uji aktivitas antibakteri



08 juli 2024 mengamati hasil uji aktivitas antibakteri, menghitung diameter daya hambat dan sterilisasi alat



### Rencana Penggunaan Anggaran

Judul : Pengaruh Konsentrasi Protein Daun Kelor Terhadap Daya Hambat Bakteri Gram Positif

No	Jenis Kegiatan	Vol	Satuan	Frek	Harga	Jumlah (Rp.)
1	2	3	4	5	5	7
	<b>Kluster Pembinaan Kapasitas</b>					<b>12.000.000</b>
A	<b>PRA PELAKSANAAN PENELITIAN</b>					<b>1.893.000</b>
	<b>1. Pembelian bahan habis pakai</b>					<b>1.893.000</b>
	Catrdige warna	1	buah	1	335.000	335.000
	Catridge hitam	1	buah	1	335.000	335.000
	Refil Tinta hitam	1	botol	1	65.000	65.000
	Refil Tinta warna	4	botol	1	65.000	260.000
	Materai	15	buah	1	10.000	150.000
	Styrofoam	1	buah	1	49.000	49.000
	cuter	1	buah	1	25.000	25.000
	Kertas A4	5	Rim	1	60.000	300.000
	Kertas F4	2	Rim	1	67.000	134.000
	Pena	1	Kotak	1	36000	36.000
	Spidol Permanen	8	buah	1	10000	80.000
	isolasi	2	buah	1	10.000	20.000
	stapler	1	buah	1	20.000	20.000
	Map Kertas	10	Lembar	1	3.000	30.000
	Buku Catatan (Notebook)	1	buah	1	25.000	25.000
	gunting	1	buah	1	29.000	29.000
B.	<b>Pelaksanaan Penelitian</b>					<b>8.227.000</b>
	<b>1. Pembelian bahan habis pakai</b>					<b>7.207.000</b>

ice pack	3	buah	1	96.000	288.000
antibiotik	1	buah	1	30.000	30.000
Alkohol	1	liter	1	30.000	30.000
<i>Spuit (Needle+ syringe) 1 cc</i>	1	kotak	1	148.000	148.000
<i>Tip pipet 10 mikro ml</i>	1	pak	1	195.000	195.000
masker	1	kotak	1	50.000	50.000
handscoon	1	kotak	1	120.000	120.000
kasa steril	12	kotak	1	11.000	132.000
<i>Wrap</i>	1	buah	1	45.000	45.000
<i>Aluminum foil</i>	1	buah	1	65.000	65.000
Plastik ukuran 1 kg	1	pak	1	45.000	45.000
bayclin	1	botol	1	25.000	25.000
tisu	2	kotak	1	15.000	30.000
spons	1	buah	1	10.000	10.000
sabun cair	1	buah	1	25.000	25.000
Ammonium sulfat	1	botol	1	445.000	445.000
pipet tetes	10	buah	1	10000	100.000
Buffer tris HCl pH 10	1	liter	1	450.000	450.000
cawan petri	16	buah	1	26.000	416.000
<i>Nutrient Broth</i>	23	gram	1	25.000	575.000
<i>Microtube</i>	1	pak	1	591.000	591.000
reagen BSA	1	botol	1	407.000	407.000
<i>Nutrient agar</i>	23	gram	1	25.000	575.000
destilated water	1	botol	1	420.000	420.000
Bakteri s. aureus	1	buah	1	995000	995000
Bakteri b.subtilis	1	buah	1	995000	995000
<b>2. Kunjungan ke laboratorium biomedik</b>	1	OH	12	85.000	<b>1.020.000</b>

C.

<b>Pasca Pelaksanaan</b>					<b>1.880.000</b>
Pendaftaran HKI	1	eksp	1	300.000	300.000
Penerbitan artikel	1	Keg	1	600.000	600.000
cetak dumy book	4	eksp	1	145.000	580.000
Cetak laporan akhir	4	eksp	1	100.000	400.000

26 april 2024



29 april 2024



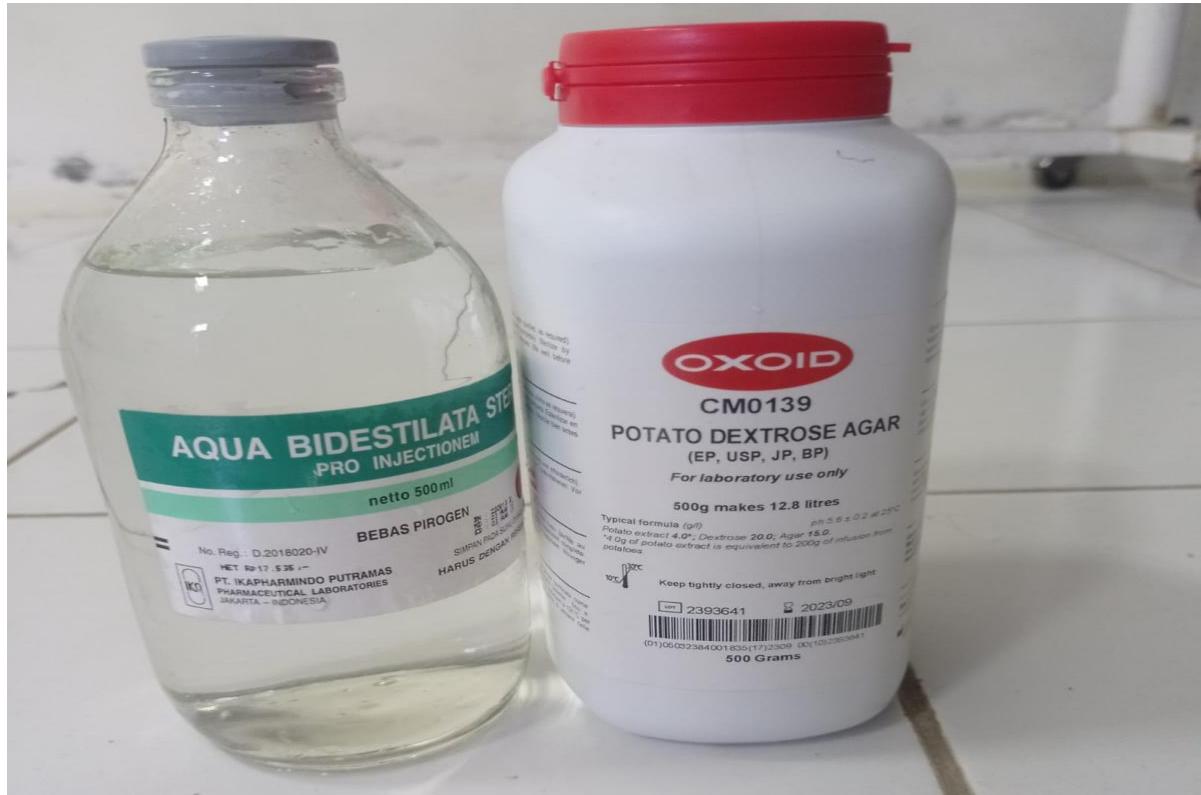
30 april 2024



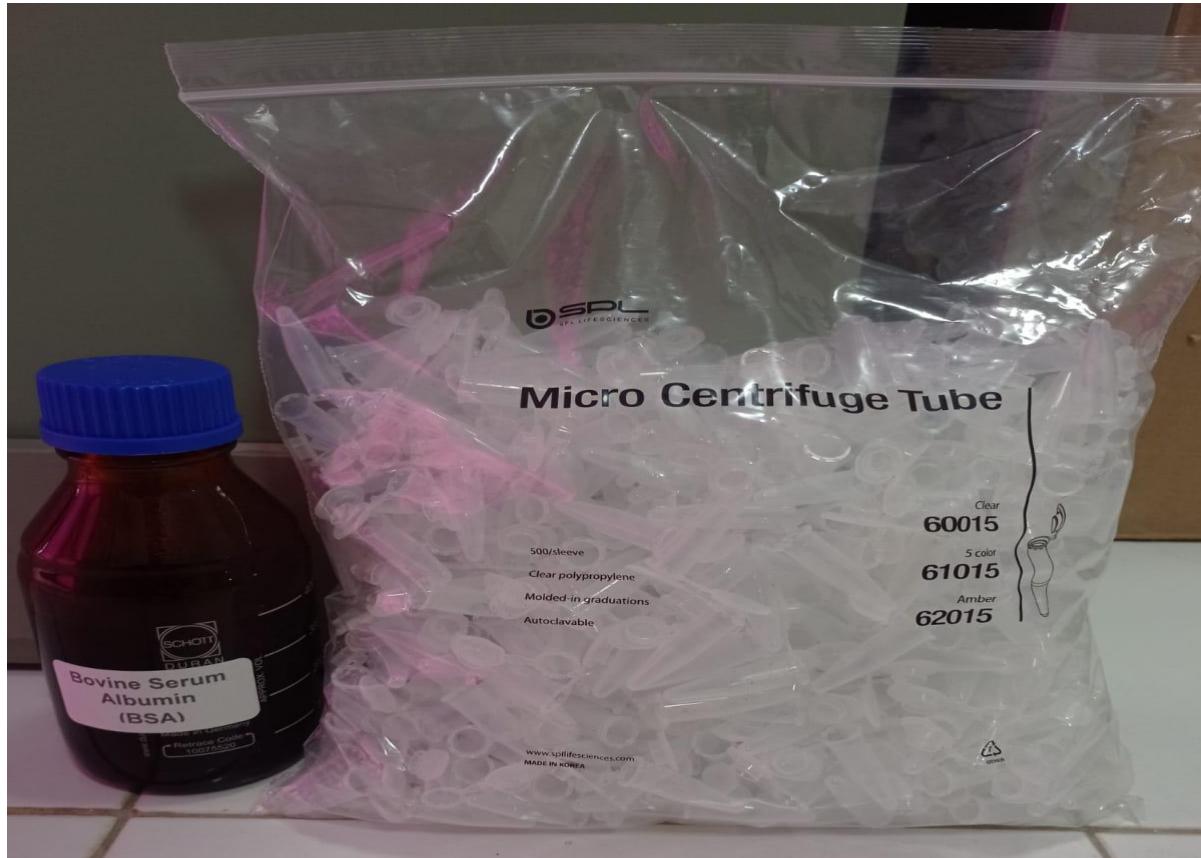
02 mei 2024



03 mei 2024



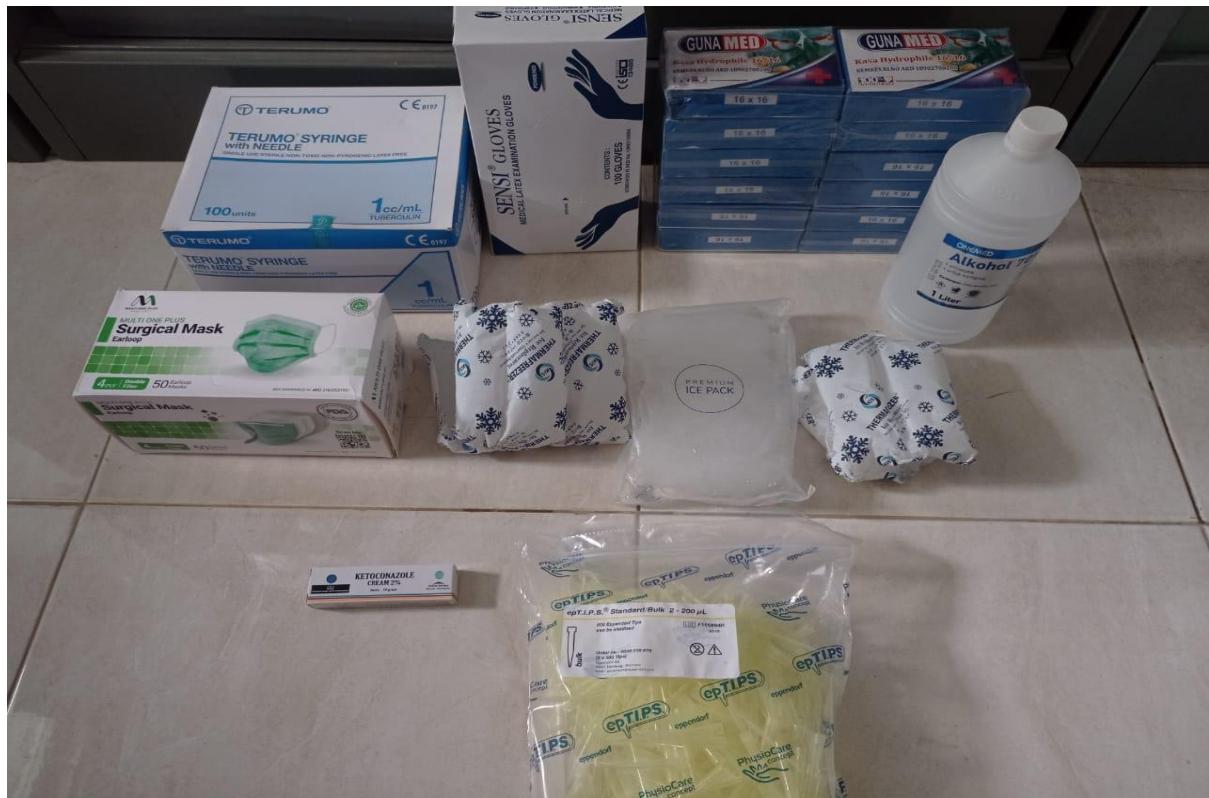
06 mei 2024



08 mei 2024



13 mei 2024



15 mei 2024



17 mei 2024



09 juli 2024



