

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kelor

Kelor (*Moringa oleifera* L.) adalah sejenis tumbuhan dari suku *moringaceae*. Kelor berasal dari India bagian utara dan Pakistan kemudian menyebar ke Asia Tenggara. Tumbuhan kelor dapat tumbuh banyak diberbagai negara semi tropis dan tropis salah satunya negara indonesia dan dikenal dengan nama yang berbeda-beda. Walaupun diketahui tanaman kelor berasal dari india, tetapi pengembangan terluas sebenarnya di Afrika. Salah satu yang paling berjasa dalam pengembangan tanaman kelor adalah Lowell Fuglie.



Gambar 2.1 Daun Kelor

Tanaman kelor diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*
Subkingdom : *Tracheobionta*
Superdivisi : *Spermatophyta*
Divisi : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Subkelas : *Dilleniidae*
Ordo : *Capparales*
Famili : *Moringaceae*
Genus : *Moringa*
Spesies : *Moringa oleifera* L.

Kelor (*Moringa oleifera L.*) adalah tanaman yang kecil dengan tingginya dapat mencapai 7 – 12 m. Kelor merupakan tanaman berbatang dan termasuk jenis tanaman berkayu sehingga keras dan kuat, bentuknya bulat, permukaannya kasar dan tumbuh ke atas. Daunnya berwarna hijau sampai hijau kecoklatan. Bentuk daun bundar telur panjangnya 1 – 3 cm dan lebar 4 mm sampai 1 cm. Akarnya tunggang berwarna putih dan membulat seperti lobak. Jenis bunga majemuk, berbentuk malai; terletak di ketiak daun; panjang bunga 10-30 cm; benang sari dan putik kecil; serta mahkota bunga berwarna putih krem. Buah berbentuk kapsul berwarna cokelat kehitaman dengan panjang 20-45 cm, setiap buah berisi 15-25 biji. Biji berbentuk bulat, bersayap tiga dan berwarna hitam (BPOM, 2016). Tanaman kelor termasuk tanaman berumur panjang (perennial). Batangnya berkayu, tegak, berwarna putih kotor hingga abu, berkulit tipis dengan permukaan kasar dan mudah patah (Santoso B. B., dan Parwata I. G., 2018).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera L.*) merupakan tanaman multiguna. Pemanfaatan tanaman kelor sebagai sayuran dan juga obat tradisional merupakan bentuk manfaat yang selama ini tersebar luas di sebagian besar daerah di Indonesia. Bagian tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat adalah daun, kulit batang, biji, hingga akarnya, sedangkan yang dimanfaatkan sebagai sayuran adalah buah muda, daun, dan bunga. Hampir seluruh bagian tanaman kelor dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat herbal. Daun kelor banyak khasiatnya untuk bahan terapi berbagai penyakit. Daun kelor dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan terutama bagi masyarakat yang kekurangan gizi. Sebagai tanaman yang dikenal memiliki khasiat obat, maka banyak kandungan senyawa bersifat obat yang dijumpai di sebagian besar bagian tanaman. Senyawa aktif yang ditemukan hampir di seluruh seluruh bagian tanaman seperti akar, kulit kayu, daun, biji, minyak, buah, dan bunga. Sifat penyembuhan tanaman kelor meliputi antitumor, antipiretik, antiulcer, antispasmodic, diuretik, antihipertensi, menurunkan kolesterol, antioksidan, hepatoprotektif, antibakteri, dan kegiatan fungisidal, serta anti diare. Belakangan ini manfaat obat dari tanaman ini juga untuk pengobatan kardiovaskular, gastrointestinal, hematologic, dan juga pada gangguan hepatorenal (Santoso B. B., dan Parwata I. G., 2018).

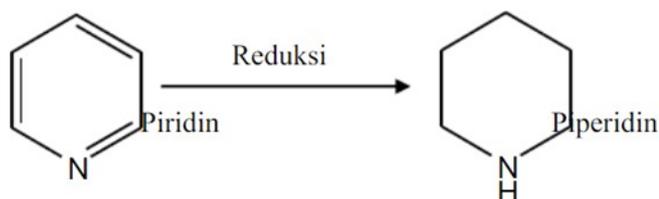
2.2 Senyawa Metabolit Sekunder

1. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Ciri khas alkaloid adalah bahwa semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom N yang bersifat basa dan pada umumnya merupakan bagian dari cincin heterosiklik (batasan ini tidak terlalu tepat karena banyak senyawa heterosiklik nitrogen lain yang ditemukan di alam yang bukan tergolong alkaloid).

Sampai saat ini lebih dari 5.000 alkaloid yang telah ditemukan dan hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan fisiologis tertentu. Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan tetapi sering kali kadar alkaloid dalam jaringan tumbuhan ini kurang dari 1%. Penetapan struktur alkaloid juga memakan banyak waktu karena kerumitannya, di samping mudahnya molekul mengalami reaksi penataan ulang.

Alkaloid dapat dipisahkan dari sebagian besar komponen tumbuhan yang lain berdasarkan sifat basanya. Oleh karena itu, senyawa golongan ini sering diisolasi dalam bentuk garamnya dengan asam klorida atau asam sulfat. Garam ini atau alkaloid bebasnya berbentuk padat membentuk kristal yang tidak berwarna. Banyak alkaloid yang bersifat optis aktif dan biasanya hanya satu isomer optik yang dijumpai di alam, meskipun dikenal juga campuran rasemat alkaloid (Kristanti, A. N. et al, 2008).



Gambar 1.2 Alkaloid

2. Flavonoid

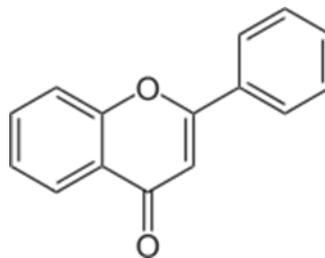
Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini bukan disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat

hidroksilasi, alkoksilasi atau glikosilasi pada struktur tersebut. Flavonoid di alam juga sering dijumpai dalam bentuk glikosidanya.

Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagian zat warna kuning yang terdapat dalam tanaman. Sebagai pigmen bunga, flavonoid jelas berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan. Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid yang lain bagi tumbuhan adalah sebagai zat pengatur tumbuh, pengatur proses fotosintesis, sebagai zat antimikroba, antivirus dan antiinsektisida. Beberapa flavonoid sengaja dihasilkan oleh jaringan tumbuhan sebagai respon terhadap infeksi atau luka yang kemudian berfungsi menghambat fungsi penyerangnya.

Telah banyak flavonoid yang diketahui memberikan efek fisiologis tertentu. Oleh karena itu, tumbuhan yang mengandung flavonoid banyak dipakai dalam pengobatan tradisional. Penelitian masih terus dilakukan untuk mengetahui berbagai manfaat yang bisa diperoleh dari senyawa flavonoid.

Berdasarkan strukturnya, terdapat beberapa jenis flavonoid yang bergantung pada tingkat oksidasi rantai propan (C3), yaitu kalkon, flavan, flavanol (katekin), flavanon, flavanonol, flavon, flavanon, antosianidin, auron (Kristanti, A. N. et al, 2008).



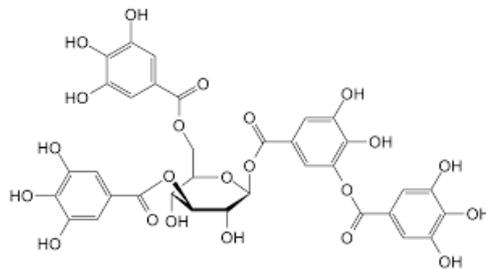
Gambar 2.3 Flavonoid

3. Tanin

Tanin terdapat secara luas pada tumbuhan berpembuluh, dalam Angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tanin memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan protein, membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air yang stabil. Dalam sel tumbuhan, tanin terletak terpisah dari protein dan enzim sitoplasma, tetapi ketika jaringan rusak, misal karena ada hewan yang memakan,

maka terjadi reaksi penyamakan yang menyebabkan protein lebih sukar dicapai oleh cairan pencernaan hewan.

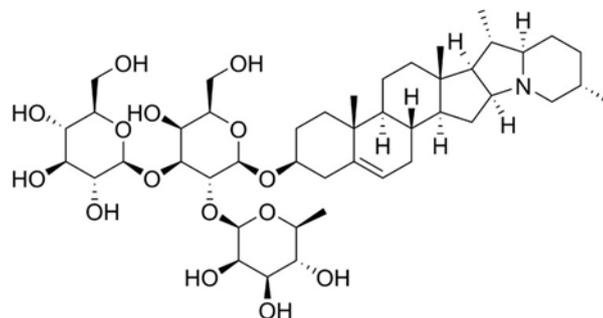
Secara kimia, ada dua jenis utama tanin dimana tanin tidak tersebar rata diseluruh *kingdom* tumbuhan. Tanin terkondensasi terjadi hampir secara universal pada pakis dan gymnospermae dan tersebar luas diantara angiospermae, terutama pada spesies kayu. Sebaliknya, tanin terhidrolisis terbatas pada tanaman dikotil dan disini hanya ditemukan pada *family* yang relatif sedikit (Harborne, 1987).



Gambar 2.4 Tanin

4. Saponin

Saponin adalah glikosida triterpena dan sterol yang ditandai adanya seperti sabun serta dideteksi berdasarkan kemampuan membentuk busa jika dikocok dalam air dan dalam konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Saponin merupakan kandungan zat kimia yang bermanfaat dalam mempengaruhi kolagen (tahap awal perbaikan jaringan) yaitu dengan menghambat produksi jaringan luka yang berlebihan. Pengujian ini sederhana dengan pengocokan, jika busa stabil setinggi satu sampai sepuluh cm dalam 10 menit menandakan hasil positif dari senyawa saponin (Harborne, 1987).



Gambar 2.5 Saponin

5. Terpenoid

Terpenoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang terbesar, dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka dasar strukturnya. Terpenoid ditemukan berlimpah dalam tanaman tingkat tinggi, meskipun demikian, dari penelitian diketahui bahwa jamur, organisme laut dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebasnya, terpenoid di alam juga dijumpai dalam bentuk glikosida, glikosil ester dan iridoid. Terpenoid juga merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri. Senyawa-senyawa yang termasuk dalam kelompok terpenoid diklasifikasikan berdasarkan jumlah atom karbon penyusunnya (Endarini L. H., 2016).

Tabel 2.1 Klasifikasi Terpenoid

Kelompok Terpenoid	Jumlah Atom C
Monoterpen	10
Seskuiterpen	15
Diterpen	20
Triterpen	30
Tetraterpen	40
Politerpen	>40

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Tujuan dari suatu proses ekstraksi adalah untuk memperoleh suatu bahan aktif yang tidak diketahui, memperoleh suatu bahan aktif yang sudah diketahui, memperoleh sekelompok senyawa yang struktur sejenis, memperoleh semua metabolit sekunder dari suatu bagian tanaman dengan spesies tertentu, mengidentifikasi semua metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu makhluk hidup sebagai penanda kimia atau kajian metabolisme (Endarini L. H., 2016).

Parameter dasar yang memengaruhi kualitas dari ekstrak adalah bagian tanaman yang digunakan, pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan prosedur ekstraksi. Ada 2 jenis ekstraksi yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas.

a. Ekstraksi Cara Dingin

1) Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia yang dilakukan dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Metode maserasi ini bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Depkes RI, 2000). Metode maserasi memiliki keunggulan dalam isolasi senyawa yang terdapat pada bahan. Selama proses ekstraksi maserasi terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat dari perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel bahan sehingga menyebabkan metabolitsekunder yang ada di dalam sitoplasma bahan akan terlarut ke dalam pelarut (Hernani *et al.*, 2007).

2) Perkolasi

Perkolasi merupakan suatu metode ekstraksi yang dilakukan dengan menggunakan pelarut yang selalu baru. Umumnya perkolasi dilakukan pada temperatur ruangan. Prinsip dari metode perkolasi yaitu menempatkan serbuk simplisia dalam suatu wadah bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses perkolasi terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetasan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI, 2000).

b. Ekstraksi Cara Panas

1) Refluks

Refluks merupakan suatu metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Metode refluks umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 2000).

2) Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan pada umumnya dilakukan dengan menggunakan alat khusus sehingga proses ekstraksi terjadi secara kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biomasa ditempatkan dalam suatu wadah soklet yang terbuat dari kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus direfluks. Alat soklet akan mengkosongkan isinya ke dalam labu alas bulat setelah pelarutnya mencapai kadar tertentu. Setelah pelarut segar melewati alat ini dan melalui pendingin refluks, ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa dari biomasa secara efektif ditarik ke dalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah dalam pelarut (Depkes RI, 2000).

3) Digesti

Digesti merupakan suatu metode ekstraksi dengan maserasi kinetik (dengan pengadukan terus-menerus), dan dilakukan pada temperatur ruangan (kamar). Ekstraksi dengan metode digesti secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Depkes RI, 2000).

4) Infundasi

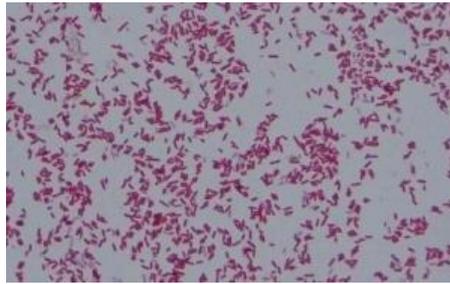
Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90°C selama 15 menit (Depkes RI, 2000).

5) Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100°C (Depkes RI, 2000).

2.4 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 µm, diameter 0,7 µm, lebar 0,4-0,7 µm dan bersifat anaerob fakultatif. Bentuk bulat cenderung ke batang panjang. Tidak membentuk spora. Selnya bisa terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. *Escherichia coli* bergerak dengan menggunakan flagella peritrik (Melliawati, 2009).



Gambar 2.6 Bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi nomenklatur *Escherichia coli* sebagai berikut:

Superdomain : *Phylogenetica*
 Filum : *Proterobacteria*
 Kelas : *Gamma Proteobacteria*
 Ordo : *Enterobacteriales*
 Family : *Enterobacteriaceae*
 Genus : *Escherichia*
 Species : *Escherichia coli*

Pertumbuhan yang baik pada suhu optimal 37°C pada media yang mengandung 1% pepton sebagai sumber karbon dan nitrogen. *Escherichia coli* memfermentasikan laktosa dan memproduksi indol yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri pada makanan dan air. *Escherichia coli* berbentuk sirkular, konveks dan koloni tidak berpigmen pada nutrient dan media darah. *Escherichia coli* dapat bertahan hingga suhu 60°C selama 15 menit atau pada suhu 55°C selama 60 menit. *Escherichia coli* tumbuh baik pada temperatur antara 8°-46°C dan temperatur optimum 37°C. Bakteri yang dipelihara di bawah temperatur minimum atau sedikit di atas temperatur maksimum, tidak akan segera mati melainkan berada di dalam keadaan tidur atau dormansi (Melliawati, 2009).

Pada umumnya bakteri *Escherichia coli* hanya mengenal satu macam pembiakan yaitu dengan cara seksual atau vegetatif. pembiakan ini berlangsung cepat, apabila faktor-faktor luar menguntungkan bagi dirinya. Apabila faktor-faktor luar menguntungkan, maka setelah terjadi pembelahan, sel-sel baru tersebut akan membesar sampai masing-masing menjadi sebesar sel induknya (Melliawati, 2009).

Kehidupan bakteri tidak hanya dipengaruhi oleh faktor-faktor luar tetapi sebaliknya bakteri mampu mempengaruhi keadaan lingkungannya, misalnya dapat menyebabkan demam (panas) akibat terinfeksi oleh bakteri *Escherichia coli* yang ada dalam saluran pencernaan dan menyebabkan diare yang berkepanjangan. Jika *Escherichia coli* berada dalam medium yang mengandung sumber karbon (glukosa, laktosa, dsb) maka akan mengubah derajat asam (pH) dalam medium menjadi asam dan akan membentuk gas sebagai hasil proses terurainya glukosa menjadi senyawa lain (Melliawati, 2009).

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan. Berdasarkan mekanisme kerja antibakteri mampu menghambat sintesis metabolit esensial, sintesis dinding sel mikroba, sintesis protein, sintesis asam nukleat sel mikroba, dan mampu merusak membran plasma (Pratiwi, 2008).

Senyawa antibakteri diklasifikasikan ke dalam 3 jenis yaitu bakteriostatik, bakteriosida dan bakteriolitik berdasarkan efek senyawa terhadap kultur (Madigan, et. al., 2018).

1. Bakteriostatik

Bakteriostatik memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa bakteriostatik sering kali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antibakteri pada kultur yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antibakteri pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total maupun jumlah sel hidup adalah tetap.

2. Bakteriosida

Bakteriosida memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antibakteri pada kultur bakteri yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antibakteri pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total tetap sedangkan jumlah sel hidup menurun.

3. Bakteriolitik

Bakteriolitik adalah menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antibakteri. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antibakteri pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik, jumlah sel total maupun jumlah sel hidup menurun.

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

1) Metode Difusi

Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer) untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008).

Ada beberapa faktor yang memengaruhi dalam pengukuran metode difusi (Vandepitte et. al., 1991). Faktor-faktor tersebut antara lain:

1. Kepadatan inokulum

Jika inokulum terlalu encer, zona hambat akan lebih besar meskipun sensitivitas organisme tidak berubah. Strain yang relatif resisten kemudian dapat dilaporkan sebagai rentan. Sebaliknya, jika inokulum terlalu pekat, ukuran zona akan berkurang dan galur yang rentan dapat dilaporkan resisten. Biasanya hasil yang optimal diperoleh dengan ukuran inokulum yang menghasilkan pertumbuhan mendekati konfluen.

2. Waktu aplikasi disk

Jika setelah inokulasi cawan dibiarkan pada suhu kamar untuk waktu yang lebih lama, perbanyakan inokulum dapat terjadi sebelum penanaman cakram. Hal ini menyebabkan pengurangan diameter zona dan dapat mengakibatkan strain rentan dilaporkan sebagai resisten.

3. Suhu inkubasi

Uji kepekaan biasanya diinkubasi pada suhu 35 °C untuk pertumbuhan yang optimal. Jika suhu diturunkan, waktu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan yang efektif semakin panjang dan hasil zona yang dihasilkan lebih besar.

4. Waktu inkubasi

Kebanyakan Teknik pengujian menerapkan waktu inkubasi antara 16 sampai 18 jam. Namun, dalam keadaan darurat, laporan sementara dapat dibuat setelah 6 jam. Ini tidak direkomendasikan sebagai rutinitas dan hasilnya harus selalu dikonfirmasi setelah waktu inkubasi pada umumnya.

5. Ukuran cawan, kedalaman media agar dan jarak cakram antibiotik

Pengujian biasanya dilakukan dengan cawan berukuran 9 - 10 cm dan tidak lebih dari 6 atau 7 cakram antibiotik pada setiap cawan. Jika jumlah antibiotik yang diuji banyak, maka digunakan dua cawan, atau satu cawan berdiameter 14 cm. Zona hambat yang terlalu besar dapat terbentuk pada media yang sangat tipis; sebaliknya berlaku untuk media tebal. Perubahan kecil pada kedalaman lapisan agar memiliki efek yang dapat diabaikan. Jarak yang tepat dari cakram sangat penting untuk menghindari tumpang tindih zona inhibisi atau deformasi di dekat tepi cawan.

6. Potensi cakram antibiotik

Diameter zona hambat berhubungan dengan jumlah obat dalam cakram. Jika potensi obat berkurang karena kerusakan selama penyimpanan, zona hambat akan menunjukkan pengurangan ukuran.

7. Komposisi medium

Media mempengaruhi ukuran zona dengan efeknya pada laju pertumbuhan organisme, laju difusi antibiotik dan aktivitas agen. Penting untuk menggunakan media yang sesuai dengan metode tertentu.

Berikut merupakan kekuatan bakteri yang dikelompokkan seperti pada tabel berikut: (Fachriyah E. et al., 2020)

Tabel 2.2 Kategori Kekuatan Daya Hambat Bakteri

Daya hambat bakteri	Kategori
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

2) Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar bertingkat dicampurkan ke dalam medium bakteriologi solid atau cair. Biasanya digunakan substansi antimikroba dengan pengenceran dua kali lipat (\log_2). Medium kemudian diinokulasi dengan bakteri penguji dan diinkubasi. Tahap akhir yang diambil adalah jumlah substansi antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penguji. Uji sensitivitas dilusi agar memakan banyak waktu dan penggunaan uji ini dibatasi hanya pada kondisi khusus (Jawetz et al, 2017).

2.7 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kelor hasil maserasi memiliki daya hambat paling baik dibandingkan hasil infusa daun kelor terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.