

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*MORINGA OLEIFERA L*) DAN DAUN BELIMBING WULUH (*AVERRHOA BILIMBI L*) TERHADAP BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* SECARA IN VITRO

Baiq Nabila Zhalifunnafsi^{1*}, Sabariah², I Putu Bayu Agus Saputra³, I Putu Dedy Arjita⁴

¹⁻⁴Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Al-Azhar

Email Korespondensi: baiqnabilaz3@gmail.com

Disubmit: 01 Desember 2024

Diterima: 13 Mei 2025

Diterbitkan: 01 Juni 2025

Doi: <https://doi.org/10.33024/mahesa.v5i6.18597>

ABSTRACT

*Infectious diseases are still a health problem for the public, one of the infectious diseases that is still the biggest problem and occurs almost all over the world is diarrhea. Among bacterial pathogens, Escherichia coli is one of the most common causes of diarrhea. Antibiotics may be used in patients with symptoms and signs of infectious diarrhea. The use of antibiotics that are not prescribed by a doctor and not according to the dose recommended by the doctor will cause antibiotic resistance. Moringa leaves and star fruit leaves have the potential to be an alternative therapy because of the secondary metabolite compounds they contain. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of a combination of moringa and star fruit leaf extracts against Escherichia coli bacteria. This study used the Kirby Bauer wells method. The design used in this study is a complete randomized design. There are 3 treatment groups of a combination of moringa leaf extract and star fruit leaves with a ratio of 1:1, 1:2, and 2:1. There are 2 control groups, positive control with Ampicillin antibiotics and negative control with sterile aquadest. The results showed the average diameter of the inhibition zone formed by the combination of moringa and star fruit leaf extracts against Escherichia coli was group 1 (1:1) 0.7 mm, group 2 (1:2) 7.6 mm, and group 3 (2:1) 5 mm. The combination of ethanol extracts of moringa leaves (*Moringa oleifera L*) and star fruit leaves (*Averrhoa bilimbi L*) has antibacterial activity against Escherichia coli bacteria with the interpretation of the diameter of the inhibition zone according to CLSI, (2024) from each treatment group 1, 2, 3, and negative control included in the resistant category and positive control included in the intermediate category. The combination of ethanol extract of moringa leaves and starfruit leaves cannot produce an inhibition zone diameter that is sensitive to Escherichia coli bacteria.*

Keywords: Antibacterial, Extract, Moringa Leaf, Star Fruit Leaf, Escherichia Coli.

ABSTRAK

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan bagi masyarakat, salah satu penyakit infeksi yang masih menjadi masalah terbesar dan terjadi hampir di seluruh dunia adalah diare. Di antara patogen bakteri, *Escherichia coli* adalah salah satu penyebab diare yang paling umum. Antibiotik dapat digunakan pada

pasien dengan gejala dan tanda diare infeksi. Penggunaan antibiotik yang tidak dengan resep dokter dan tidak sesuai dosis yang disarankan oleh dokter akan menyebabkan resistensi antibiotik. Daun kelor dan daun belimbing wuluh berpotensi menjadi alternatif terapi karena kandungan senyawa metabolit sekunder yang dikandungnya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor dan daun belimbing wuluh terhadap bakteri *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan metode sumuran Kirby Bauer. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap. Terdapat 3 kelompok perlakuan kombinasi ekstrak daun kelor dan daun belimbing wuluh dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1. Serta terdapat 2 kelompok kontrol yaitu, kontrol positif dengan antibiotik *Ampicillin* dan kontrol negatif menggunakan aquadest steril. Hasil menunjukkan rata-rata diameter zona hambat yang dibentuk oleh kombinasi ekstrak daun kelor dan daun belimbing wuluh terhadap *Escherichia coli* adalah kelompok 1 (1:1) 0,7 mm, kelompok 2 (1:2) 7,6 mm, dan kelompok 3 (2:1) 5 mm. Kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan interpretasi diameter zona hambat menurut CLSI, (2024) dari setiap kelompok perlakuan 1, 2, 3, dan kontrol negatif termasuk dalam kategori resisten serta kontrol positif termasuk dalam kategori intermediet. Kombinasi ekstrak etanol daun kelor dan daun belimbing wuluh tidak dapat menghasilkan diameter zona hambat yang sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Kata Kunci: Antibakteri, Ekstrak, Daun Kelor, Daun Belimbing Wuluh, *Escherichia Coli*.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan bagi masyarakat, salah satu penyakit infeksi yang masih menjadi masalah terbesar dan terjadi hampir di seluruh dunia adalah penyakit diare. Setiap tahunnya ada sekitar 1.7 miliar kasus diare dengan angka kematian 760.000 pada anak usia dibawah 5 tahun (Apriani *et al.*, 2022). Penyakit diare di Indonesia masih menjadi salah satu masalah kesehatan masyarakat yang utama. Dalam skala nasional, insiden diare untuk semua umur adalah sekitar 270/1000 penduduk (Ibrahim & Sartika, 2021). Pada hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) diketahui bahwa prevalensi penyakit diare di Indonesia mengalami peningkatan, sebelumnya pada tahun 2013 hanya 4,5% kemudian ditahun 2018 naik menjadi 6,8% (Andriani & Pawenang, 2023).

Penyebab utama diare umumnya adalah mikroba seperti *Escherichia coli*, *Shigella*, *Rotavirus*, *Entamoeba histolytica*, *Salmonella sp*, *Yersinia sp*, *Vibrio cholerae*, dan *Vibrio para hemolyticus* (Hutasoit, 2020). Di antara pathogen bakteri, *Escherichia coli* adalah salah satu penyebab diare yang paling umum. Bakteri. Antibiotik dapat digunakan pada pasien dengan gejala dan tanda diare infeksi, seperti demam, feses berdarah, dan adanya leukosit pada feses. Penggunaan antibiotik yang tidak dengan resep dokter dan tidak sesuai dosis yang disarankan oleh dokter akan menyebabkan resistensi antibiotik serta efek samping terapi. Berdasarkan hal tersebut, maka diperlukan alternatif lain sebagai pengganti antibiotik untuk mencegah terjadinya resistensi dan efek samping terapi. Salah satu alternatif terapi pengganti antibiotik

adalah dengan menggunakan bahan alami, berupa pemanfaatan tanaman yang mudah dijumpai pada lingkungan sekitar. Terdapat banyak tanaman yang mengandung kandungan antibakteri dalam akar, batang, daun, buah, maupun bijinya. Salah satu tanaman dengan kandungan antibakteri yang dapat dijumpai dengan mudah adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera L*) dan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) (Fadel *et al.*, 2021; Tunas *et al.*, 2019).

Penelitian yang dilakukan oleh Emelia *et al.*, (2020) menjelaskan bahwa ekstrak daun kelor memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* pada konsentrasi 10%, menghasilkan diameter zona hambat sebesar 18,33 mm yang termasuk dalam kategori kuat. Penelitian yang dilakukan oleh Agastia *et al.*, (2021) menjelaskan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) paling efektif sebagai antimikroba bakteri *Escherichia coli* yaitu pada konsentrasi 50% dengan diameter zona hambat sebesar 10 mm.

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil adanya kandungan antibakteri pada daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*). Namun, penelitian-penelitian tersebut hanya terbatas pada salah satu ekstrak dari kedua daun tersebut, penelitian kombinasi kedua ekstrak daun tersebut belum ada yang melakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*). Kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) diharapkan bekerja lebih baik untuk membunuh bakteri, terutama untuk

menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap bakteri *Escherichia coli*, mengukur diameter zona hambat kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap bakteri *Escherichia coli*, dan mengetahui perbandingan konsentrasi kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) yang paling sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli*.

TINJAUAN PUSTAKA

Buah dan ekstrak daun belimbing wuluh secara profil farmakologis memiliki khasiat sebagai antidiabetes, antimikroba, antiinflamasi, sitotoksik, antioksidan, dan efek antifertilitas (Kumar *et al.*, 2013). Pada hasil penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa ekstrak batang belimbing wuluh dengan metode perkolasi memiliki khasiat untuk menurunkan kadar glukosa darah. Telah dilakukan penelitian mengenai buah, batang, dan daun belimbing wuluh, namun sampai saat ini masih sedikit penelitian mengenai ekstrak daun belimbing wuluh dengan metode perkolasi sebagai antihiperqlikemia (Ashari, 2023)..

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun, biji serta tangkai daun belimbing wuluh menunjukkan aktivitas antimikroba. Aktivitas antimikroba disebabkan adanya kandungan senyawa flavonoid dan tannin yang terkandung dalam daun belimbing wuluh. Flavonoids telah diidentifikasi sebagai senyawa polifenol yang mampu memberikan

aktivitas antibakteri melalui berbagai mekanisme. Menurut berbagai penelitian, flavonoid dapat menekan sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, dan metabolisme energi (Majidah, 2014). Flavonoids juga ditemukan dapat mengurangi adhesi dan pembentukan biofilm, porin pada membran sel, permeabilitas membran, dan patogenitas, yang semuanya penting untuk pertumbuhan bakteri (Almasudah, 2024).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *True Experiment* dengan rancangan *post test* dengan kelompok kontrol (*post test only control group design*) menggunakan metode sumuran *Kirby Bauer*. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 kelompok perlakuan yang terdiri atas kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dengan perbandingan konsentrasi 1:1, 1:2, dan 2:1. Serta terdapat 2 kelompok kontrol yang terdiri dari kelompok kontrol positif dengan antibiotik *Ampicillin* dan kelompok negatif menggunakan aquadest steril. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Al - Azhar Mataram untuk membuat ekstrak kedua daun, Laboratorium Fakultas MIPA Universitas Mataram untuk melakukan tes GC-MS pada kedua ekstrak daun, dan Balai Laboratorium Kesehatan Pengujian dan Kalibrasi Provinsi NTB untuk melakukan uji aktivitas antibakteri. Melalui Komisi Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Islam Al-Azhar Mataram, penelitian ini telah lulus uji kelayakan etik dengan nomor surat 093/EC-01/FK-06/UNIZAR/VIII/2024.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, ayakan, *beaker glass*, neraca analitik, batang pengaduk, kertas saring, pipet, aluminium foil, labu erlenmeyer, gelas ukur, corong kaca, ose, lampu spiritus, penggaris, petridish, *tissue*, laminari *flow*, swab kapas steril, evaporator, dan turbidimeter. Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor yang terdiri dari daun muda yang masih hijau dipetik dari dahan pohon mulai dari tangkai daun pertama hingga tangkai daun ketujuh serta daun tua kecuali daun yang sudah menguning (Mubarak *et al.*, 2017). Daun belimbing wuluh yang digunakan adalah daun belimbing wuluh hijau yang belum terdapat bercak kuning (Hasim *et al.*, 2019). Bahan kimia yang digunakan adalah ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera L*), ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*), etanol 96%, standar kekeruhan unit *McFarland*, medium *Mueller Hinton Agar* (MHA), antibiotik *Ampicillin*, aquadest steril, bakteri *Escherichia coli* (Niswah *et al.*, 2023).

Daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) yang didapat dibersihkan menggunakan air mengalir. Setelah itu dilakukan pengeringan daun dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari. Selanjutnya daun kelor dan daun belimbing wuluh kering dihaluskan dengan blender dan diayak hingga diperoleh bubuk simplisia. Serbuk halus masing-masing daun ditimbang 600 gram lalu dimasukkan kedalam wadah tertutup, ditambahkan larutan etanol 96% sebanyak 6.000 mL (perbandingan 1:10).

Setelah 3 hari, dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring hingga diperoleh hasil maserat kedua daun. Maserat yang diperoleh kemudian diuapkan

dengan alat penguap yaitu *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan tujuan menghilangkan pelarut etanol pada ekstrak dan mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak daun kelor dan daun belimbing wuluh yang telah dijadikan konsentrasi 1:1, 1:2, dan 2:1 ditambahkan larutan aquadest steril sebanyak 1 mL.

Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan dengan metode difusi agar cara sumuran terhadap *Escherichia coli*. Bakteri *Escherichia coli* yang sudah sesuai dengan standar 0,5 Mc Farland di oleskan ke dalam *Muller Hinton Agar (MHA)* menggunakan *cotton swab*. Media MHA yang telah diinokulasi bakteri kemudian dilubangi dengan diameter lubang 6 mm. Ekstrak daun kelor dan daun belimbing wuluh dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1, kontrol positif (+), serta kontrol negatif (-), dimasukkan ke dalam setiap lubang sumuran di media MHA

menggunakan mikropipet sebanyak 30 µL. Prosedur tersebut dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan. Kemudian diinkubasi ke dalam *incubator* pada suhu 37°C selama 3 hari atau 3 x 24 jam. Amati dan ukur diameter zona terang (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar lubang dengan menggunakan penggaris.

Analisis data yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* adalah menggunakan uji statistic *Kruskal-Wallis* SPSS versi 22 dengan sig <0.05. Sebelum analisis data menggunakan metode *Kruskal-Wallis* harus dilakukan uji normalitas terlebih dahulu. Uji normalitas yang digunakan adalah *Shapiro-wilk*.

HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil Analisis Komponen Utama Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) dengan GC-MS.

No.	Senyawa	Peak Area (%)	Rumus Molekul
1.	Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid	32.05	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
2.	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl	28.43	C ₂₀ H ₄₀ O
3.	(Z)6-Pentadecen-1-ol	10.51	C ₁₅ H ₃₀ O
4.	TRICYCLO[4.3.1.0 2,5]DECANE	17.61	C ₁₀ H ₁₆
5.	9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) Oleic acid	11.40	C ₁₈ H ₃₄ O ₂

Tabel 2. Hasil Analisis Komponen Utama Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dengan GC-MS.

No.	Senyawa	Peak Area (%)	Rumus Molekul
1.	D-Galactose 6-deoxy	13.41	C ₆ H ₁₂ O ₅
2.	Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid	20.66	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
3.	2-Hexadecen-1-ol,3,7,11,15-tetramethyl	23.04	C ₂₀ H ₄₀ O
4.	(Z)6(Z)9-Pentadecadien-1-o	31.86	C ₁₅ H ₂₈ O

Uji analisis dengan GC-MS dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung didalam daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*). Analisis komponen senyawa daun kelor dan daun belimbing wuluh dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Hasil analisis masing-masing

komponen senyawa utama daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan 4.2. Berdasarkan hasil analisis GC-MS ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera L*) mengandung 5 senyawa, sedangkan pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) mengandung 4 senyawa.

Tabel 3. Hasil Uji Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap *Escherichia coli*.

Kelompok Perlakuan	Luas Zona Hambatan (mm)					Rata-rata (mm)	Interpretasi CLSI (2024)	Makna <i>P-value</i>
	1	2	3	4	5			
Kelompok 1 (1:1)	0	0	1,5	1	1	0,7	R	0,001
Kelompok 2 (1:2)	7,5	7,5	8,5	5,5	9	7,6	R	0,133
Kelompok 3 (2:1)	6,5	5	4	4	5,5	5	R	0,025
Kontrol (+)	15	15	15	15	15	15	I	-
Kontrol (-)	0	0	0	0	0	0	R	-

Rata-rata diameter zona hambat yang dapat dibentuk oleh kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dalam melawan bakteri *Escherichia coli* adalah pada kelompok 1 (1:1) 0,7 mm, kelompok 2 (1:2) 7,6 mm, dan kelompok 3 (2:1) 5 mm. Berdasarkan data tersebut, diameter rata-rata hasil zona hambat dari setiap kelompok 1, 2, dan 3 termasuk dalam kategori resisten karena rata-rata zona hambat yang dihasilkan ≤ 13 mm. Kontrol positif menunjukkan

rata-rata zona hambat yang dihasilkan 15 mm termasuk dalam kategori intermediet.

Analisis data pada penelitian ini menggunakan SPSS versi 22. Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai signifikan dua dari tiga data yaitu *P-value* $< 0,05$ artinya rata-rata data yang didapatkan tidak terdistribusi normal karena perbedaan variasi data yang jauh, sehingga digunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*.

PEMBAHASAN

Karakterisasi Komponen Senyawa Penyusun Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan salah satu instrumen yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit pada suatu bahan. Prinsip kerja dari GC-MS adalah pemisahan dengan kromatografi yang tinggi dan mampu mengidentifikasi metabolit suatu bahan, seperti minyak esensial, asam lemak, hidrokarbon, lipid, dan lain-lain (Surahmaida *et al.*, 2019). Menurut Diva Candraningrat *et al.*, (2021) kelebihan dari GC-MS yaitu memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi, sehingga dapat digunakan untuk menganalisis senyawa dengan konsentrasi kecil.

Pada penelitian ini didapatkan 5 senyawa pada ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) yang dihasilkan melalui analisis Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Persentase senyawa tertinggi adalah Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid (32,05%). Senyawa Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid termasuk asam lemak yang memiliki sifat antibakteri dengan merusak struktur dinding dan membran sel. Asam lemak ini dapat bekerja sama dengan berbagai senyawa aktif untuk meningkatkan efek aktivitas antibakteri (Karunia *et al.*, 2017). Selain itu terdapat senyawa 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl yang mendapatkan presentase tertinggi setelah Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid yang memiliki presentase sebesar 28,43%.

Penelitian yang dilakukan oleh Candra *et al.*, (2023) hasil analisis GC-MS menunjukkan terdapat 10 komponen senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol daun kelor

(*Moringa oleifera* L). Senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun kelor adalah neophytadiene; hexadecanoic acid, ethyl ester; phytol; 9,12,15-octadecatrienoic acid, ethyl ester; octadecanoic acid, ethyl ester; linolenic acid; methyl 8,11,14-heptadecatrienoate; squalene; gamma-tocopherol; vitamin E.

Hasil analisis Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) terhadap ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) didapatkan 4 senyawa yang terkandung pada ekstrak. Senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) yaitu D-Galactose 6-deoxy, Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid, 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl, dan (Z)6(Z)9-Pentadecadien-1-ol. Senyawa kimia paling dominan yang terdapat pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) adalah Z)6(Z)9-Pentadecadien-1-ol (C₁₅H₂₈O) (31.86%) dan 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl (C₂₀H₄₀O) (23.04%).

Hasil penelitian terdahulu oleh Mariani *et al.*, (2021) didapatkan hasil GC-MS terhadap ekstrak daun belimbing wuluh mengandung alkaloid dari hasil analisis dengan berat molekul ganjil, puncak dengan nilai SI >90 yaitu puncak 44 adalah (E)-2-(tridek-6-ena-1-il) piperidina dan puncak 56 adalah (E)-2-(2,6-dimetilhepta-1,5-diena-1-il)piperidina, puncak dengan % area besar yaitu puncak 2 adalah O-asetil-N-hidroksihidroksilamina atau N,N-dihidroksiasetamida dan puncak 53 adalah 3-aminopropil butil ftalat.

Perbedaan kandungan senyawa yang terkandung pada daun kelor (*Moringa oleifera* L) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) pada hasil penelitian-penelitian

diatas dapat dipengaruhi oleh lingkungan tempat tumbuhnya daun, suhu, kelembapan, dan cahaya dapat mempengaruhi jumlah senyawa kimia yang ada dalam daun. Kondisi pertumbuhan tanaman yang berbeda dapat menyebabkan profil senyawa yang terdeteksi berbeda (Wang *et al.*, 2018). Hal lain yang juga dapat mempengaruhi hasil analisa GC-MS adalah perbedaan suhu, termasuk suhu injeksi, kolom, dan sumber ion. Suhu injeksi biasanya diatur 50°C. Jika suhu terlalu rendah akan menyebabkan kehilangan keefisienan karena penginjeksian, sedangkan terlalu tingginya akan menyebabkan sampel terurai karena panas (Margareta & Wonorahardjo, 2023).

Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera L*) dan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) menggunakan perbandingan konsentrasi 1:1, 1:2, dan 2:1 untuk mengetahui aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli*. Hasil menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* ditandai dengan adanya zona bening di daerah sumuran. Zona bening adalah area di sekitar sumuran pada agar yang menunjukkan bahwa suatu agen antimikroba menghentikan perkembangan mikroba di sekitarnya. Ketika agen antimikroba ditambahkan ke dalam sumuran, ia berdifusi ke dalam agar dan menghentikan perkembangan mikroba di sekitarnya. Seberapa efektif agen tersebut dalam

menghalangi mikroorganisme tertentu ditunjukkan oleh zona bening ini (Ansari *et al.*, 2021).

Kepekaan suatu senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dievaluasi berdasarkan kriteria *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), dibagi menjadi 3 kategori yaitu sensitif (S), intermediet (I), dan resisten (R). Berdasarkan standar interpretasi zona hambat antibiotik *Clinical and Laboratory Standards Institute* CLSI, (2024) *Ampicillin* dikategorikan sensitif jika memiliki diameter zona hambat ≥ 17 mm (S), intermediet 14-16 mm (I), dan resisten ≤ 13 mm (R). Hal tersebut menjadi acuan untuk menentukan interpretasi zona hambat kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*).

Rata-rata diameter zona hambat yang dapat dibentuk oleh kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dalam melawan bakteri *Escherichia coli* adalah pada kelompok 1 (1:1) 0,7 mm, kelompok 2 (1:2) 7,6 mm, dan kelompok 3 (2:1) 5 mm. Berdasarkan data tersebut, rata-rata hasil dari setiap kelompok 1, 2, dan 3 termasuk dalam kategori resisten karena rata-rata zona hambat yang dihasilkan ≤ 13 mm. Kontrol positif menunjukkan diameter zona hambat yang dihasilkan 15 mm masuk dalam kategori intermediet, dan kontrol negatif dengan diameter zona hambat 0 mm masuk dalam kategori resisten. Berdasarkan data tersebut, rata-rata hasil dari setiap kelompok kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dalam melawan bakteri *Escherichia coli* termasuk dalam kategori resisten. Hal ini

menunjukkan bahwa konsentrasi senyawa aktif pada ekstrak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tetapi belum dapat memenuhi standar sensitif menurut CLSI (CLSI, 2024).

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah antibiotik *Ampicillin* dengan konsentrasi 0,1%. Hal ini mengacu pada penelitian oleh Sumampouw, (2018) dimana antibiotik *Ampicillin* dapat menghambat pertumbuhan gram positif dan gram negatif pada konsentrasi 0,1%. Antibiotik *Ampicillin* bekerja menghambat bakteri dengan menjadi inhibitor kompetitif dari enzim transpeptidase. Enzim ini diperlukan bakteri untuk membuat dinding sel. Penghambatan enzim transpeptidase dilakukan pada tahap ketiga dan akhir dari sintesis dinding sel sehingga menyebabkan sel menjadi lisis (pecah).

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah aquadest steril dikarenakan kontrol negatif harus sama dengan pelarut yang digunakan sebagai bahan pengencer dari bahan yang diuji (Hasanah *et al.*, 2023). Pada penelitian ini hasil zona hambat kontrol positif menggunakan aquadest steril terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan diameter zona hambat 0 mm atau tidak membentuk zona hambat. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aquadest steril tidak mempengaruhi hasil uji. Tujuan penggunaan kontrol negatif adalah untuk pembandingan bahwa larutan yang digunakan untuk mengencerkan bahan uji tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri. Hal ini untuk menunjukkan bahwa larutan pengencer bahan uji tidak memiliki aktivitas antibakteri (Torja Sangadji *et al.*, 2022).

Pada penelitian ini kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh

(*Averrhoa bilimbi L*) menghasilkan rata-rata zona hambat pada perbandingan 1:1 sebesar 0,7 mm, 1:2 sebesar 7,6 mm, dan 2:1 sebesar 5 mm. Pada tabel 4.5 kombinasi ekstrak 1:2 menunjukkan hasil tidak adanya perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan konsentrasi kombinasi ekstrak 2:1 (0,058) serta kontrol positif (0,094). Pada kombinasi ekstrak 2:1 juga menunjukkan hasil tidak ada perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif (0,576). Hasil *p-value* >0,05 menunjukkan bahwa perlakuan memiliki kekuatan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi salah satu daun yang digunakan baik pada perbandingan konsentrasi 1:2 atau 2:1 akan menghasilkan zona hambat yang semakin besar dan tidak memiliki perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol positif yang digunakan.

Ketika konsentrasi kedua daun sama yaitu pada perbandingan konsentrasi 1:1 hasil menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi 1:2 (0,015), 2:1 (0,045), serta kontrol positif (0,018), sedangkan jika dibandingkan dengan kontrol negatif menunjukkan hasil tidak ada perbedaan yang signifikan (0,053). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kekuatan konsentrasi ekstrak 1:1 dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* sama dengan kontrol negatif yang digunakan. Kombinasi ekstrak pada perbandingan 1:1 menunjukkan zona hambat yang dihasilkan tidak meningkat dan cenderung tidak menghasilkan zona hambat. Hasil ini sesuai dengan penelitian oleh Asfi *et al.*, (2023) yang menyatakan bahwa semakin besar suatu konsentrasi, semakin besar komponen zat aktif yang

terkandung di dalamnya sehingga zona hambat yang terbentuk juga akan meningkat.

Dari hasil uji dapat diketahui bahwa perbandingan konsentrasi ekstrak yang memiliki rata-rata zona hambat terbesar dan mendekati kontrol positif adalah perbandingan 1:2, hal ini dikarenakan pada konsentrasi tunggal daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) memiliki aktivitas antibakteri yang baik, jika semakin tinggi perbandingan yang digunakan, maka hasil zona hambat yang terbentuk semakin besar (Alouw *et al.*, 2022). Hasil zona hambat pada perbandingan ekstrak 1:2 menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar daripada ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*). Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Mahmood *et al.*, (2019) yang menggunakan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) sebagai antibakteri, dimana didapatkan hasil bahwa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) memiliki aktivitas antibakteri sebesar 20%, ketika daun belimbing wuluh dikombinasikan dengan daun lain aktivitas antibakterinya meningkat hingga mencapai hasil 80%. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri daun belimbing wuluh akan meningkat jika dikombinasikan dengan daun lain.

Kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) memiliki aktivitas antibakteri karena memiliki senyawa metabolit sekunder yang bersifat antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, steroid, dan terpenoid. Senyawa alkaloid bersifat antibakteri dengan mengganggu peptidoglikan pada sel bakteri,

menyebabkan dinding sel tidak utuh dan sel bakteri mati.

Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma bakteri, menginaktifkan enzim, dan pada konsentrasi tinggi mengendapkan protein sel. Senyawa tannin dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan berikatan pada dinding sel bakteri, menyebabkan denaturasi protein dan gangguan metabolisme. Senyawa saponin bersifat antibakteri dengan mekanisme meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri, menyebabkan membran tidak stabil dan rusak. Senyawa steroid dapat menurunkan integritas membran, mengubah morfologi sel, dan menyebabkan sel bakteri lisis. Senyawa terpenoid membentuk ikatan polimer kuat yang merusak protein transmembran dan mengurangi permeabilitas dinding sel, menghambat pertumbuhan bakteri (Hasim *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan interpretasi diameter zona hambat menurut CLSI, (2024) dari setiap kelompok perlakuan 1, 2, 3, dan kontrol negatif termasuk dalam kategori resisten serta kontrol positif termasuk dalam kategori intermediet.
2. Kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera L*) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) terhadap bakteri *Escherichia coli* menghasilkan diameter zona hambat rata-rata pada kelompok 1 (1:1) 0,7 mm,

kelompok 2 (1:2) 7,6 mm, dan kelompok 3 (2:1) 5 mm. Kontrol positif 15 mm, dan kontrol negatif 0 mm.

3. Kombinasi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L) dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) tidak dapat menghasilkan diameter zona hambat yang sensitif terhadap bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agastia, A., Arifin, M. Z., & Setyorini, E. (2021). Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi* L) Terhadap Bakteri *Eschericia coli*. *Jurnal Insan Cendekia*, 8(1), 29-38. <https://doi.org/10.35874/jic.v8i1.639>
- Al-Mas'Udah, A., Darjati, D., Winarko, W., & Thohari, I. (2024). Pemanfaatan Sampah Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dalam Sabun Padat Terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan*, 17(1), 13-19.
- Alouw, G., Fatimawali, F., & Lebang, J. S. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 5(1), 36. <https://doi.org/10.35799/pmj.v5i1.41430>
- Andriani, D., & Pawenang, E. T. (2023). Kejadian Diare pada Balita di Desa Sedo (Desa yang Mendapat Bantuan Pamsimas). *Higeia Journal of Public Health Research and Development*, 7(1), 154-163. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/higeia>
- Ansari, J., Prakash Kushwaha, S., Ahmad Ansari, V., Singh, K., & Misbahul Hasan, S. (2021). *Agar Well Diffusion: A Prominent Method for In vitro Screening of Antimicrobials*. 6(5), 8-9. www.botanyjournals.com
- Apriani, D. G. Y., Putri, D. M. F. S., & Widiyanti, N. S. (2022). Gambaran Tingkat Pengetahuan Ibu Tentang Diare Pada Balita Di Kelurahan Baler Bale Agung Kabupaten Jembrana Tahun 2021. *Journal of Health and Medical Science*, 1(3), 15-26. <https://pusdikrapublishing.com/index.php/jkes/home>
- Asfi, D., Yuliastuti Farmasi, R. K., & Farmasi Yamasi Makassar, A. (2023). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Miana Merah (*Coleus benth*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*, 7(1), 10-16. <http://>
- Candra, A., Santi, T. D., Maidayani, Andriaty, S. N., Mardiaty, Saida, S. A., Waraztuty, I., & Bastian, F. (2023). Profil Senyawa Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dari GC-MS Sebagai Kandidat Ergogenik Antifatigue. *SEMDI UNAYA*, 135-142. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2534-8_61
- CLSI. (2024). CLSI M100™ Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. In *Clinical and Laboratory Standards Institute*.
- Diva Candraningrat, I. D. A. A., Santika, A. A. G. J., Dharmayanti, I. A. M. S., & Prayascita, P. W. (2021). Review Kemampuan Metode

- Gc-Ms Dalam Identifikasi Flunitrazepam Terkait Dengan Aspek Forensik Dan Klinik. *Jurnal Kimia*, 15(1), 12. <https://doi.org/10.24843/jchem.2021.v15.i01.p03>
- Emelia, R., Safitri, Dwiyantri, D., & Andriyani, H. (2020). Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Sebagai Antibakteri Terhadap Infeksi *Escherichia coli*. *Journal of Petrology*, 369(1), 44-50.
- Fadel, M. N., Setyowati, E., Trinovitawati, Y., & Sabaan, W. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Obat Kumur Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 12(1), 10-19. <https://doi.org/10.61902/cerata.v12i1.189>
- Hasanah, R. uswatun, Yuziani, & Sri Rahayu, M. (2023). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus Altilis*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ilmiah Manusia Dan Kesehatan*, 6(1), 11-18. <https://doi.org/10.31850/makes.v6i1.1659>
- Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. (2019). Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3), 86. <https://doi.org/10.17728/jatp.4201>
- Hutasoit, D. P. (2020). Pengaruh Sanitasi Makanan dan Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli* Terhadap Penyakit Diare. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 12(2), 779-786. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i2.399>
- Ibrahim, I., & Sartika, R. A. D. (2021). Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Diare pada Siswa Sekolah Dasar di Kabupaten Lebak, Provinsi Banten, Indonesia. *Indonesian Journal of Public Health Nutrition*, 2(1), 34-43. <https://doi.org/10.7454/ijphn.v2i1.5338>
- Karunia, S. D., Supartono, & Sumarni, W. (2017). Analisis Sifat Antibakteri Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa L*) dengan Pelarut Organik. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(1), 56-60.
- Mahmood, M. H., Osama, A. K., Makky, E. A., Rahim, M. H., Ali, N. H. M., & Hazrudin, N. D. (2019). Phytochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Efficacy of Some Plant Extracts and Their Mixtures. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 346(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/346/1/012003>
- Majidah, D. (2014). Daya antibakteri ekstrak daun seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap pertumbuhan streptococcus mutans sebagai alternatif obat kumur.
- Margareta, M. A. H., & Wonorahardjo, S. (2023). Optimasi Metode Penetapan Senyawa Eugenol dalam Minyak Cengkeh Menggunakan Gas Chromatography - Mass Spectrum dengan Variasi Suhu Injeksi. *Jurnal Sains Dan Edukasi Sains*, 6(2), 95-103. <https://doi.org/10.24246/juses.v6i2p95-103>
- Mariani, M., Rosyidah, K., & Mustikasari, K. (2021). Uji Sitotoksik Ekstrak Alkaloid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) terhadap

- Larva Udang (*Artemia salina*). *Jurnal Natural Scientiae*, 1(1), 7-13.
<https://doi.org/10.20527/jns.v1i1.4421>
- Mubarak, K., Natsir, H., Wahab, A. W., & Satrimafitrah, P. (2017). Analisis Kadar α -Tokoferol (Vitamin E) dalam Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) dari Daerah Pesisir dan Pegunungan Serta Potensinya Sebagai Antioksidan. *Kovalen*, 3(1), 78.
<https://doi.org/10.22487/j24775398.2017.v3.i1.8236>
- Niswah, S. U., Indrayati, A., & Sari, G. N. F. (2023). Efek Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D . C .) dan Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L .) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan Metode Pita Kertas. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 27(3), 110-118.
<https://doi.org/10.20956/mff.v27i3.27092>
- Sumampouw, O. (2018). Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Penyebab Diare Balita di Kota Manado. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 104-110.
<https://www.researchgate.net/publication/328601359>
- Surahmaida, S., Sudarwati, T. P. L., & Junairiah, J. (2019). Analisis GCMS terhadap Senyawa Fitokimia Ekstrak Metanol *Ganoderma lucidum*. *Jurnal Kimia Riset*, 3(2), 147.
<https://doi.org/10.20473/jkr.v3i2.12060>
- Toria Sangadji, Amelia Niwele, & Dwi Intan Safira Wally. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70 % Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acne* Dengan Menggunakan Metode Difusi Sumuran. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 2(1), 145-152.
<https://doi.org/10.55606/jikki.v2i1.1154>
- Tunas, T. H., Edy, H. J., & Siampa, J. P. (2019). Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dan Sediaan Masker Gel -Peel-Off Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.). *Jurnal MIPA*, 8(3), 112.
<https://doi.org/10.35799/jmuo.8.3.2019.25778>
- Wang, Y., Li, X., Jiang, Q., Sun, H., Jiang, J., Chen, S., Guan, Z., Fang, W., & Chen, F. (2018). GC-MS analysis of the volatile constituents in the leaves of 14 compositae plants. *Molecules*, 23(1).
<https://doi.org/10.3390/molecules23010166>