

LAPORAN PENELITIAN

Judul Penelitian :

OPTIMASI DAN KARAKTERISASI SEDIAAN MIKROENKAPSULASI MULTI STRAIN PROBIOTIK DAN KOMBINASINYA DENGAN EKSTRAK DAUN KELOR



umsurabaya
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

**Fakultas
Ilmu Kesehatan**

Oleh :

Dr. Apt Isnaeni, MS (8983050022)

Hilman Kasyfil Isyrafi (20211666037)

Yuliansyah Nurista (20201666026)

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA**

Jl. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113

Telp 031-3811966

<http://www.um-surabaya.ac.id>

Tahun 2020-2021

HALAMAN PENGESAHAN

- Judul Penelitian : Optimasi dan Karakterisasi Sediaan Mikroenkapsulasi Multi strain Probiotik dan Kombinasinya dengan Ekstrak Daun Kelor
- Skema :
- Jumlah Dana : Rp. 10.000.000,00
- Ketua Peneliti
- a. Nama Lengkap : Dr. Apt. Isnaeni, M.S
- b. NIDN : 8983050022
- c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
- d. Program Studi : S1 Farmasi
- e. No Hp : 085213225797
- f. Alamat Email : isnaeni@um-surabaya.ac.id
- Anggota Mahasiswa (1)
- a. Nama Lengkap : Hilman Kasyfil Isyrafy
- b. NIM : 20211666037
- c. Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Surabaya
- Anggota Mahasiswa (2)
- a. Nama Lengkap : Yuliansyah Nurista
- b. NIM : 20201666026
- c. Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Surabaya



Dr. Nur Mukarromah, SKM., M.Kes
NIDN. 0713067202

Surabaya, 20 April 2022
Ketua Peneliti

Dr. Apt. Isnaeni, M.S
NIDN. 8983050022



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
NIDN. 0730016501

HALAM PENGESAHAN

RINGKASAN

BAB I PENDAHULUAN.....	5
1.1 Latar Belakang	5
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Program.....	7
1.4 Luaran Program.....	7
1.5 Manfaat Program.....	7
1.6 Urgensi Riset.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Daun Kelor	8
2.2 Multi Galur Probiotik.....	8
BAB III METODE Riset.....	10
3.1 Waktu dan Tempat Riset.....	10
3.2 Desain Penelitian.....	10
3.3 Sampel, Teknik Pengambilan Sampel dan Variabel Penelitian	10
3.4 Alat dan Bahan	10
3.5 Prosedur Penelitian.....	11
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Karakterisasi ekstrak daun kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	14
4.2 Karakterisasi yoghurt fermentasi	14
4.3 Karakterisasi kombinasi yoghurt fermentasi dan ekstrak daun kelor	15
4.4 Penentuan MIC (<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>).....	15
4.5 Analisis Statistik.....	17

DAFTAR PUSTAKA

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Peningkatan polusi udara dapat menyebabkan kemunculan berbagai penyakit yang diakibatkan karena adanya radikal bebas. Radikal bebas sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Senyawa radikal bebas di dalam polusi udara diyakini dapat merusak senyawa makromolekul yang terdapat di dalam tubuh, seperti DNA, lipid, dan protein. Selain itu keberadaan senyawa radikal bebas di dalam tubuh dapat memicu timbulnya berbagai macam penyakit seperti penyakit jantung, gangguan inflamasi, kanker, bahkan penuaan dini. Selain dari polusi udara, jumlah radikal bebas di dalam tubuh dapat mengalami peningkatan karena asap rokok, asap kendaraan bermotor, paparan sinar matahari berlebih, dan lain-lain. Gangguan terhadap radikal bebas dapat diatasi dengan menjalani pola hidup sehat dan mengonsumsi makanan yang kaya akan antioksidan.

Antioksidan berdasarkan sumbernya dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik seperti BHA dan BHT memiliki aktivitas antioksidan yang kuat sehingga efektif dalam menekan oksidasi minyak lemak (Rahmi et al., 2021). Namun penggunaan BHA dan BHT memiliki efek samping yang merugikan bagi kesehatan manusia. Penelitian yang dilakukan oleh Jin et al (2023) menunjukkan bahwa hasil perbandingan placebo BHA dan BHT menyebabkan urtikaria kronis pada manusia. Selain itu, penggunaan BHA dan BHT dengan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan kanker (Lalani et al., 2023). Dengan efek samping yang ditimbulkan dari antioksidan sintetik, maka antioksidan alami lebih dipilih karena tidak memiliki efek samping.

Probiotik diketahui merupakan salah satu sumber antioksidan alami. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dapat membantu menjaga keseimbangan mikrobiota usus dan meningkatkan kesehatan (Kaur et al., 2018). Dalam beberapa tahun terakhir, minat terhadap penggunaan probiotik sebagai suplemen makanan telah meningkat, karena terbukti dari manfaatnya seperti menangkalkan radikal bebas, membantu mencegah dan mengatasi infeksi saluran cerna, menurunkan risiko alergi, dan memperbaiki kesehatan jantung dan tulang (Baumgart et al., 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Fidyasari et al (2019) menunjukkan bahwa bakteri asam laktat pada probiotik dapat memberikan aktivitas antioksidan dan meningkatkan senyawa flavonoid sehingga aktivitas antioksidannya lebih kuat. Dalam hal ini, formula probiotik yang optimal dan efektif menjadi perhatian utama bagi para peneliti.

Ekstrak daun kelor juga diakui sebagai sumber antioksidan alami yang kuat (Gong et al., 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Riskianto et al (2021) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki senyawa metabolit sekunder alkaloid, fenol, flavonoid, dan tanin dengan aktivitas antioksidan yang sedang jika dibandingkan dengan kuersetin. Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh ekstrak daun kelor memiliki efek sebagai antikanker. Hal tersebut dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Gaffar et al (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara. Selain sebagai antikanker, ekstrak daun kelor juga memiliki aktivitas antiinflamasi, penelitian Wulan et al (2021) menunjukkan bahwa aktivitas antiinflamasi dari ekstrak daun kelor tidak berbeda signifikan dengan natrium diklofenak.

Kombinasi probiotik dengan antioksidan seperti ekstrak daun kelor diharapkan dapat meningkatkan efektivitas kedua bahan tersebut dalam menjaga kesehatan khususnya untuk menangkal radikal bebas. Studi terdahulu menunjukkan bahwa kombinasi probiotik dan antioksidan dapat memperkuat sistem kekebalan tubuh dan mengurangi risiko infeksi (Nurul et al., 2019). Penelitian lain yang dilakukan oleh Mirmiranpour et al (2020) juga menunjukkan bahwa kombinasi probiotik dan antioksidan yang berasal dari kayu manis dapat menurunkan kadar gula darah pada pasien diabetes mellitus tipe 2. Untuk mengombinasikan probiotik dengan antioksidan dari daun kelor dapat dibuat menjadi sediaan yoghurt. Sediaan yoghurt merupakan produk berbahan dasar dari susu yang telah di pasteurisasi kemudian difermentasi atau diberi tambahan bakteri sebagai starter (Ayuni et al., 2021). Bakteri yang biasanya dipakai untuk starter adalah genus *Lactobacillus* karena bersifat aman dan non-patogen.

Untuk mempertahankan dan melindungi bakteri *Lactobacillus* dalam produk yoghurt dari suhu tinggi diperlukan teknik mikroenkapsulasi. Mikroenkapsulasi dapat melindungi bakteri dan juga menjaga viabilitas bakteri asam laktat. Pada proses mikroenkapsulasi diperlukan pemilihan bahan enkapsulan (penyalut) yang secara efektif dapat melindungi *Lactobacillus*. Salah satu bahan enkapsulan yang sering digunakan adalah susu skim. Penelitian yang dilakukan oleh Juniawati et al (2019) menunjukkan bahwa susu skim merupakan enkapsulan yang paling baik daripada gom arab dan alginat.

Salah satu proses pengeringan dalam metode pembuatan yoghurt powder adalah freeze drying. Freeze drying dipilih karena tidak menggunakan suhu tinggi, sehingga tidak merusak bakteri asam laktat yang terkandung dalam yoghurt. Dengan pengeringan pada suhu tinggi, permukaan mikrokapsul akan cenderung kering dan kaku sehingga akan mudah mengalami keretakan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan formula multi galur probiotik yang optimal dan menguji efektivitas kombinasi formula tersebut dengan ekstrak daun kelor sebagai antioksidan. Studi ini juga bertujuan untuk mengevaluasi interaksi antar galur probiotik dalam formula multi galur dan efek sinergis antara probiotik dan ekstrak daun kelor.

Metodologi penelitian akan melibatkan uji kualitas probiotik, uji aktivitas antioksidan, dan uji interaksi antar galur probiotik. Data yang diperoleh akan dianalisis secara statistik untuk menentukan formula multi galur probiotik yang optimal dan efektivitas kombinasi dengan ekstrak daun kelor.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana mengembangkan formula multi galur probiotik yang optimal?
2. Bagaimana efektivitas formula multi galur probiotik dengan ekstrak daun kelor sebagai sumber antioksidan?

1.3 Tujuan Program

1. Mengetahui pengembangan formula multi galur probiotik yang optimal
2. Mengetahui efektivitas formula multi galur probiotik dengan ekstrak daun kelor sebagai sumber antioksidan

1.4 Luaran Program

1. Laporan Kemajuan
2. Laporan Akhir
3. Artikel Ilmiah

1.5 Manfaat Program

1. Memberikan sumber antioksidan alami yang optimal dengan adanya probiotik multi galur yang dikombinasikan dengan ekstrak daun kelor.
2. Meningkatkan penelitian dan inovasi dalam bidang probiotik dan antioksidan alami bagi penelitian selanjutnya.

1.6 Urgensi Riset

Peningkatan polusi udara dapat menyebabkan kemunculan berbagai penyakit yang diakibatkan adanya radikal bebas yang terdapat di dalam polusi tersebut. Senyawa radikal bebas di dalam tubuh dapat diikat dengan antioksidan. Antioksidan alami banyak ditemukan dalam produk probiotik multi galur terlebih apabila dikombinasi dengan ekstrak daun kelor yang kaya akan kandungan antioksidan seperti flavonoid. Selain itu, riset ini bertujuan untuk mengurangi adanya penggunaan antioksidan sintetis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Kelor

Tanaman kelor atau merunggae adalah sejenis tumbuhan dari suku Moringaceae. Tumbuhan ini dikenal dengan nama lain seperti: limaran, moringa, ben-oil, drumstick, horseradish tree, dan malunggay. Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tumbuhan tingkat tinggi yang mudah tumbuh pada daerah tropis. Karakteristik daun kelor adalah berwarna hijau, hijau kekuningan hingga kecoklatan dengan bentuk bulat telur, panjang sebesar 1-3 cm dan lebar 4mm sampai 1cm (Marhaeni, 2021). Daun kelor memiliki tepi daun rata dengan ujung tumpul atau membulat, dan memiliki tulang daun menyirip (Kementrian Kesehatan RI, 2017). Tanaman kelor khususnya pada daunnya banyak dimanfaatkan sebagai pelengkap bahan masakan hingga sebagai obat tradisional.

Daun kelor mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, dan steroid (Riskianto et al., 2021; Yulia et al., 2022). Senyawa metabolit sekunder dalam daun kelor yang berperan aktif adalah senyawa flavonoid. Flavonoid dalam daun kelor berfungsi sebagai antioksidan untuk membantu menetralkan dan menstabilkan radikal bebas. Kandungan aktivitas antioksidan yang tertinggi terdapat pada bagian daun. Berdasarkan penelitian Hardianthi (2015) yaitu aktifitas antioksidan dari ekstrak daun kelor dapat dimanfaatkan dalam sediaan hand and body cream dengan penambahan ekstrak daun kelor dimulai dari konsentrasi 0,1% hingga 0,3%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Gaffar et al (2018) menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara. Selain memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, daun kelor juga memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan oleh penelitian Yunita et al (2020) bahwa ekstrak daun kelor memiliki diameter zona hambat tertinggi pada konsentrasi 10%. Pada penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor memiliki antioksidan tinggi sekaligus sebagai hepatoprotektor pada tikus putih yang telah diinduksi oleh parasetamol pada dosis toksis (Kumala et al., 2016)

2.2 Multi Galur Probiotik

Menurut world health organisasi (WHO), 2001 probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang bila diberikan dalam jumlah yang memadai dapat memberikan manfaat kesehatan pada inangnya. Mikroba probiotik umumnya merupakan kelompok bakteri asam laktat (BAL) dari genus *Lactobacillus* dan *bifidobacterium* (Manin et al., 2012). Probiotik merupakan mikroorganisme yang sangat menguntungkan bagi

kesehatan manusia. Salah satunya keuntungan probiotik pada tubuh adalah mendukung fungsi mikrobiota yang ada pada gastrointestinal dalam berbagai mekanisme. Sediaan probiotik dapat terdiri dari bakteri kultur tunggal maupun kultur campuran. Kultur campuran probiotik atau yang dikenal dengan multi galur probiotik mengandung lebih dari satu galur dari spesies yang sama atau genus yang sama.

Multi galur probiotik banyak digunakan karena diyakini memiliki efikasi dan ketahanan yang lebih tinggi dibanding galur tunggal. Hal tersebut disebabkan oleh antar galur bakteri yang dapat bersifat aditif bahkan sinergis dalam memproduksi metabolit yang beragam (Timmerman et al., 2004). Multi galur probiotik lebih efektif daripada single strain pada berbagai penyakit seperti otitis media, regulasi gula darah pada saat dan setelah kehamilan, penyakit hati yang berhubungan dengan obesitas, dan lain-lain (Ouweland et al., 2018). Penelitian lain yang dilakukan oleh Prajawanti et al (2023) menunjukkan bahwa dengan pemberian multi galur probiotik terbukti dapat menurunkan kadar LDL-C, pada tikus yang telah diberikan high fat diet (HFD) dengan dosis terbaik.

BAB III

METODE RISET

3.1 Waktu dan Tempat Riset

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya selama 3 bulan.

3.2 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni atau true experimental design di laboratorium secara in vitro. Teknik pengambilan data dalam penelitian ini adalah sebagai berikut

- 1) Preparasi sampel daun kelor segar
- 2) Uji organoleptik sediaan probiotik multi galur kombinasi daun kelor
- 3) Analisis uji kualitatif adanya senyawa flavonoid di dalam daun kelor
- 4) Analisa uji aktivitas antioksidan dalam formula probiotik kombinasi

3.3 Sampel, Teknik Pengambilan Sampel dan Variabel Penelitian

1. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah probiotik multi galur dan daun kelor.
2. Teknik Pengambilan Sampel Sampel yang digunakan diambil dengan teknik purposive sampling, yaitu sampel diambil berdasarkan kebutuhan dan tujuan penelitian.
3. Variabel Penelitian
 - a. Variabel bebas : konsentrasi ekstrak daun kelor 20%, 30%, 40% terhadap berat susu
 - b. Variabel terikat : mutu organoleptik meliputi warna, aroma, kekentalan, rasa dan kesukaan
 - c. Variabel kontrol : uji flavonoid dan DPPH

3.4 Alat dan Bahan

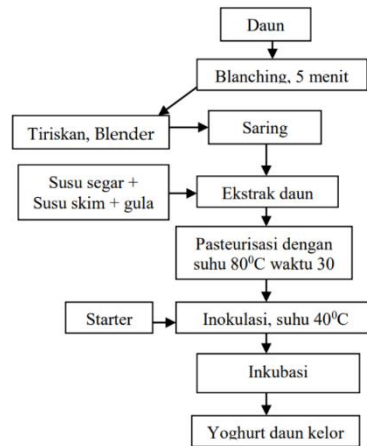
1. Alat

Beaker glass, erlenmeyer, botol vial, botol kaca, corong kaca, batang pengaduk, corong pisah, aluminium foil, neraca analitik, kaca arloji, oven, eksikator, labu ukur 50 mL, labu ukur 20 mL, gelas ukur 20 mL, gelas ukur 10 mL, gelas ukur 100 mL, Spektrofotometer UV-Vis, kertas saring, pipet tetes, pipet ukur, rotary evaporator, inkubator, kompor, panci, saringan teh, termometer, wrap
2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

Daun kelor (*Moringa oleifera*), susu segar, gula, susu skim, starter

3.5 Prosedur Penelitian



1. Ekstraksi Daun Kelor (Bambang dkk, 2010)

Ekstraksi sampel daun kelor dilakukan dengan memasukkan daun kelor yang sudah diangin anginkan selama 1 minggu ke dalam beaker glass sampai penuh, tambahkan etanol 96% (1:20 w/v) lalu maserasi dengan kurun waktu 4x24 jam pada suhu kamar. pisahkan filtrat dengan pelarutnya menggunakan kertas saring Whatman No. 1 Bagian lain dari pelarut ditambahkan dan ekstraksi diulang sampai ekstrak terakhir tidak berwarna. Ekstrak digabungkan dan terkonsentrasi diuapkan dibawah tekanan 75 mbar pada temperatur 40 derajat celcius menggunakan vakum evaporator. ekstrak kental kemudian diuapkan pada bak air mendidih sampai diperoleh berat konstan.

2. Uji kualitatif skrining fitokimia

a. Uji kandungan Flavonoid (Kurang et al., 2020)

Uji kualitatif kandungan flavonoid pada ekstrak daun kelor adalah dengan menimbang 1gram ekstrak kental daun kelor dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan etanol 96% sebanyak 5 ml aduk hingga larut. Kemudian tambahkan sedikit serbuk logam Mg dan 2-3 tetes HCl (p). Terbentuknya warna kekuningan atau jingga pada lapisan atas merupakan positif mengandung flavonoid (Yulia et al., 2022)

b. Uji kualitatif kandungan Tanin (Yulia et al., 2022)

Sebanyak 1 ml ekstrak daun kelor yang telah dipanaskan, ditambahkan FeCl_3 sebanyak 3 tetes. Jika terjadi perubahan warna menjadi biru atau hijau kehitaman, maka hasil menunjukkan positif tanin.

c. Uji kualitatif kandungan Saponin (Nur Oktavia et al., 2020)

Larutan uji sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu ditambahkan 10 ml air, setelah itu dikocok dengan kuat selama 10 menit lalu dibiarkan selama 10 menit. Buih atau busa yang terbentuk dan bertahan lebih dari 10 menit menunjukkan adanya saponin.

d. Uji kualitatif kandungan Alkaloid

Sebanyak 25 mL hasil ekstrak yang telah dicampurkan aquades ditambahkan dengan 3 pites HCl 2N, kemudian dipanaskan dengan hotplate selama 5 menit. Kemudian disaring dan diambil 3 tabung reaksi diberi label 3 pereaksi berbeda yaitu: Masing-masing 1 mL hasil ekstrak dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi, ditambah 3 tetes pereaksi dragendroff, pereaksi bouchardart dan pereaksi maeyer, hasil positif alkaloid jika terbentuk endapan

e. Uji kualitatif kandungan Glikosida (Artini et al., 2013)

Pemeriksaan glikosida dilakukan dengan reaksi Liebermann Burchard. Diuapkan 0,1 mL larutan uji di atas penangas air, dilarutkan sisanya dengan 5 mL asam asetat anhidrat P. Ditambahkan 10 tetes asam sulfat P, terjadi warna biru atau hijau menunjukkan adanya glikosida

f. Uji kualitatif kandungan Terpenoid (Dwisari & Hairil Alimuddin, 2016)

Uji terpenoid dengan cara sampel ditambahkan asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Uji positif menunjukkan golongan senyawa terpenoid dengan terbentuknya warna merah keunguan.

4. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH (0,1 mM)

Timbang serbuk DPPH sebanyak 1,9 larutkan dalam etanol 96%, masukkan ke dalam labu ukur 100 ml.

b. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun kelor

Ditimbang ekstrak daun kelor 40 mg, larutkan dengan etanol 96% masukkan ke dalam labu ukur 100 ml (400 ppm). Dibuat larutan uji 20, 40, 60, 80 ppm. Pipet 2ml masing-masing larutan uji masukkan dalam vial, tambahkan 2 ml larutan DPPH 0,1 Mm, kocok hingga homogen menggunakan vortex serta diinkubasi

selama 30 menit dalam ruangan gelap. Ukur absorbansi dengan panjang gelombang maksimum 516 nm.

c. Perhitungan Nilai IC_{50} (Inhibitory Concentration $_{50}$)

Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linier, dengan konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Didapatkan persamaan $y = bx + a$ dan dapat dihitung nilai dengan rumus

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

5. Uji Stabilitas Produk Akhir

a. Uji Organoleptik

Dilakukan uji organoleptic meliputi warna, bau, dan rasa dari yoghurt

b. Uji pH

Uji pH dilakukan menggunakan pH meter. Sampel sebanyak 25 ml ditempatkan dalam beaker glass 100 ml. Selanjutnya elektroda pH meter dimasukkan ke dalam sampel, dan nilai pH sampel dapat dibaca pada layar pH meter.

c. Uji Berat jenis (Pandiangan et al., 2022)

Uji berat jenis menggunakan piknometer. Piknometer kosong ditimbang, aquades dimasukkan ke dalam piknometer sebanyak 10 ml dan piknometer isi ditimbang. Sampel dimasukkan ke dalam piknometer sebanyak 10 ml dan piknometer isi ditimbang.

d. Uji Viskositas (Mustika et al., 2019)

Uji viskositas dilakukan menggunakan alat viskometer Brokfield. Sampel sebanyak 200 ml dimasukkan ke dalam beaker glass 250 ml. Celupkan spindle ke dalam sampel. Lakukan pengukuran dengan cara menekan tombol ON dan biarkan spindle berputar selama 20-30 detik, dan baca angka yang ditunjuk spindle dengan tepat.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakterisasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*)

Karakterisasi ekstrak daun kelor meliputi penampilan fisik, pH, aroma, dan berat jenis berguna untuk memastikan reproduktifitas hasil dan dilakukan pada kondisi yang sama. Hasil karakterisasi ekstrak daun kelor dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*).

Organoleptik	pH	Berat jenis
Warna : coklat Bau : aromatik Rasa : pahit	5.33 ± 0.01	1.01 ± 0.00

Berdasarkan hasil karakterisasi ekstrak daun kelor berwarna coklat, memiliki aroma yang khas, rasa pahit, pH 5,33 dan berat jenis 1,01 g/ml (Tabel 1). Hasil skrining fitokimia ekstrak daun kelor menunjukkan kandungan yang berbeda (tanin dan flavonoid) dibandingkan dengan referensi yang di dapat (Tabel 2). Dapat diketahui bahwa ekstrak daun kelor memiliki perbedaan kandungan dengan data referensi, namun terdapat kandungan tannin dan flavonoid yang berfungsi sebagai senyawa antimikroba. Perbedaan tersebut dapat terjadi karena beberapa factor seperti varietas, karakteristik simplisia, umur tanaman, lokasi atau habitat, hingga musim panen.

Tabel 2. Skrining fitokimia ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*).

Skrining fitokimia	Hasil	Referensi
Saponin Glikosida	(-)	(+)
Glikosida	(-)	(+)
Tanin	(+)	(+)
Alkaloid	(-)	(-)
Flavonoid	(+)	(+)
Terpenoid	(-)	(+)

4.2 Karakterisasi yoghurt fermentasi

Yoghurt fermentasi *Lactobacillus plantarum* memiliki jumlah koloni probiotik $1,78 \times 10^{11} \pm 2,59 \times 10^{11}$ CFU/ml yang dihitung dengan metode *Total Plate Count (TPC)* menggunakan media MRS setelah inkubasi selama 24 jam (Tabel 3). Hasil ini sesuai dengan SNI (Standar Nasional Indonesia) untuk kebutuhan yoghurt atau susu fermentasi probiotik ($\geq 10^7$ CFU/ml).

Tabel 3. Karakterisasi yoghurt fermentasi probiotik.

Organoleptik	pH	Berat jenis (g/ml)	Viskositas (dPas)	ALT (cFu/ml)
Warna : putih	3.88 ±	1.03 ± 0.00	315.15 ± 0.13	1.78 × 10 ¹¹ ±
Bau : aromatik	0.00			2.59 × 10 ¹¹
Rasa : asam				
Bentuk : Cairan Kental				

4.3 Karakterisasi kombinasi yoghurt fermentasi dan ekstrak daun kelor

Karakterisasi meliputi sifat fisik, warna, rasa, pH, berat jenis, dan viskositas pada yoghurt fermentasi *Lactobacillus plantarum* dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan komposisi 2:8 dilakukan untukan menjamin hasil reproduibilitas jika dilakukan pada kondisi yang sama. Hasil karakterisasi dapat dilihat pada Tabel 4.

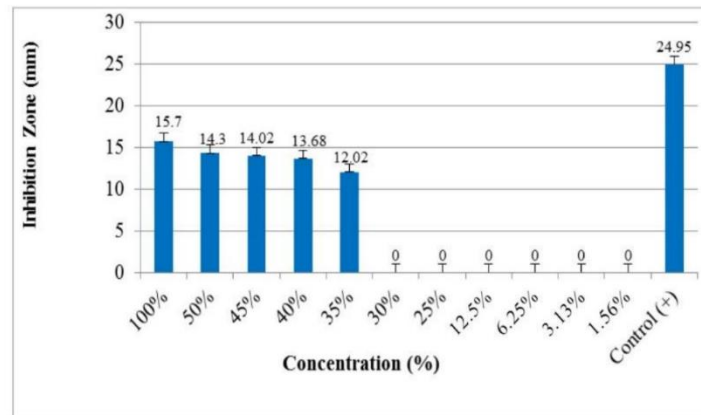
Tabel 4. Karakterisasi kombinasi yoghurt fermentasi probiotk dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*)

Organoleptik	pH	Berat jenis (g/ml)	Viskositas (dPas)
Warna : putih	4.00 ± 0.00	1.03 ± 0.00	140.04 ± 0.00
Bau : aromatik			
Rasa : asam			
Bentuk : Cairan Kental			

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa karakteristik kombinasi yoghurt fermentasi probiotik dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) adalah nilai pH 4.00 ± 0.00, berat jenis 1.03 ± 0.00 g/ml dan nilai viskositas 140.04 ± 0.00 dPas.

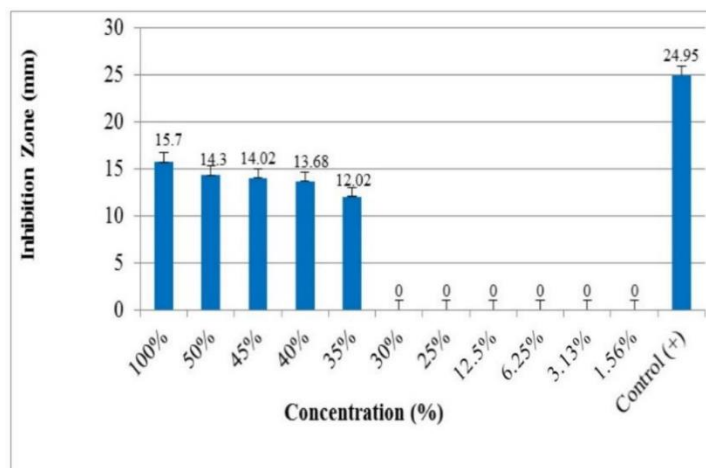
4.4 Penentuan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Penentuan aktivitas daya hambat ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dilakukan dengan berbagai konsentrasi. Profil daya hambat (MIC) ekstrak daun kelor pada konsentrasi 20% dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan diameter zona hambat 11.70 ± 0.28 mm (Gambar 1).



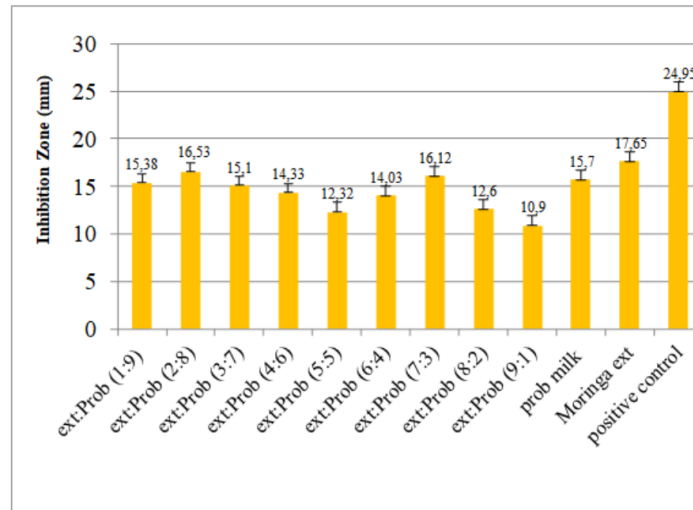
Gambar 1. Nilai daya hambat ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*).

Penentuan nilai daya hambat yoghurt probiotik *L. plantarum* terhadap *Streptococcus mutans* dilakukan dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa yoghurt fermentasi *L. plantarum* pada konsentrasi 35% mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan diameter zona hambat 12.02 ± 0.83 mm (Gambar 2).



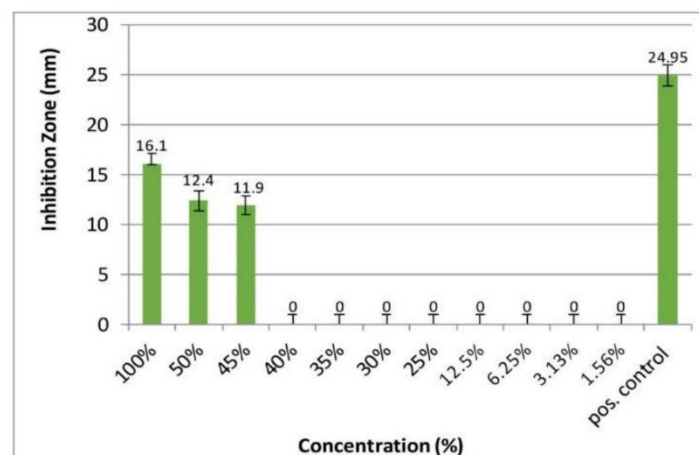
Gambar 2. Nilai daya hambat yoghurt fermentasi probiotik.

Penentuan aktivitas antibakteri dari yoghurt fermentasi yang dikombinasikan dengan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada berbagai perbandingan ditentukan dari diameter zona yang paling besar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi dari yoghurt fermentasi dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan diameter zona hambat yang paling besar adalah 2:8 dengan nilai diameter zona hambat 16.53 ± 0.32 mm (Gambar 3).



Gambar 3. Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan yoghurt fermentasi dengan berbagai perbandingan.

Nilai daya hambat dari yoghurt fermentasi *Lactobacillus plantarum* yang dikombinasikan dengan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) pada perbandingan 2:8 menunjukkan bahwa pada perbandingan rasio yang terpilih dapat menghambat *Streptococcus mutans* sebesar 45% dengan diameter zona hambat 11.90 ± 0.86 mm (Gambar 4).



Gambar 4. Aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dan yoghurt fermentasi probiotik sebesar 8:2.

4.5 Analisis Statistik

Analisis statistik menggunakan metode ANOVA dilakukan untuk penilaian perbedaan antar rata-rata kelompok (perbedaan antara kelompok) dibandingkan dengan perbedaan rata-rata dalam kelompok.

Tabel 5. Hasil uji Tukey' HSD diameter zona hambat (rata-rata tiga kali replikasi) terhadap *Streptococcus mutans* strain lokal.

Group	E:P 1:9	E:P 2:8	E:P 3:7	E:P 4:6	E:P 5:5	E:P 6:4	E:P 7:3	E:P 8:2	E:P 9:1	P	E
E:P 1:9		0.627	1.000	0.738	0.000	0.404	0.965	0.002	0.000	1.000	0.015
E:P 2:8	0.627		0.323	0.020	0.000	0.006	1.000	0.000	0.000	0.920	0.665
E:P 3:7	1.000	0.323		0.952	0.002	0.720	0.773	0.006	0.000	0.992	0.004
E:P 4:6	0.738	0.020	0.952		0.042	1.000	0.103	0.123	0.000	0.387	0.000
E:P 5:5	0.000	0.000	0.002	0.042		0.131	0.000	1.000	0.338	0.000	0.000
E:P 6:4	0.404	0.006	0.720	1.000	0.131		0.032	0.323	0.000	0.156	0.000
E:P 7:3	0.965	1.000	0.773	0.103	0.000	0.032		0.000	0.000	1.000	0.240
E:P 8:2	0.002	0.000	0.006	0.123	1.000	0.323	0.000		0.139	0.000	0.000
E:P 9:1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.338	0.000	0.000	0.139		0.000	0.000
P	1.000	0.920	0.992	0.387	0.000	0.156	1.000	0.000	0.000		0.055
E	0.015	0.665	0.004	0.000	0.000	0.000	0.240	0.000	0.000	0.055	

Mengenai aktivitas penghambatan terhadap *Streptococcus mutans*, sampel yang telah dibandingkan termasuk ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*), yoghurt fermentasi dan kombinasinya pada semua proporsi. Tingkat alfa (α) 0,05 ditetapkan untuk setiap perbandingan, peningkatan tingkat kesalahan total yang tidak dapat diterima sebesar p 95% mungkin diharapkan untuk prosedur perbandingan total dalam percobaan. Selanjutnya, Tukey' HSD digunakan untuk prosedur perbandingan berganda dengan diameter zona hambat sebagai variabel terikat.

DAFTAR PUSTAKA

- Artini, P. E. U. D., Warditiani, K. W., Astuti, K. W., & Warditiani, N. K. (2013). Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) (UJI FITOKIMIA EKSTRAK ETIL ASETAT RIMPANG BANGLE (*Zingiber purpureum* Roxb.)). *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(4).
- Ayuni, M., Rahmadani Fitri, S., Hilda Putri, D., Fevria, R., & Advinda, L. (2021). Pembuatan Yoghurt Menggunakan Yakult Sebagai Starter. *Prosiding SEMNAS BIO*, 01(2021), 756–763. <https://doi.org/10.24036/prosemnasbio/vol1/11>
- Dwisari, F., & Hairil Alimuddin, A. (2016). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Terpenoid Ekstrak Metanol Akar Pohon Kayu Buta-Buta (*Excoecaria agallocha* L.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(3), 25–30.
- Fidyasari, A., Hafiz, M., Fitria, N., & Rohmah, U. (2019). Khasiat Sari Buah Sirsak Gunung dan Minuman Probiotik Buah Sirsak Gunung (*Annona montana*) Untuk Menurunkan Kadar Asam Urat. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 7(3), 49–55.
- Gaffar, S., Apriani, R., & Herlina, T. (2018). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat dan n-heksana Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(2), 302. <https://doi.org/10.20961/alchemy.14.2.17298.303-313>
- Jin, Y., Guzmán, K. E., Boss, A. P., Gangur, V., & Rockwell, C. E. (2023). The protective effect of butylated hydroxytoluene and 3-hydroxytyrosol on food allergy in mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 45(4), 426–432. <https://doi.org/10.1080/08923973.2022.2160732>
- Juniawati, Miskiyah, & Kusuma, A. (2019). Penambahan Enkapsulan Dalam Proses Pembuatan Yoghurt Powder Probiotik Dengan Metode Spray Drying. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 16(2), 56–63.
- Kementrian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia* (Edisi 2).
- Kumala, N. I., Masfufatun, & Devi, E. D. (2016). Potensi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Sebagai Hepatoprotektor Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksis. *Jurnal Ilmiah Kedokteran*, 5(1), 58–66.
- Kurang, R. Y., Lamma Koly, F. V., & Kafolapada, D. I. (2020). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L). *J-PhAM Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 13(1), 13–21.
- Lalani, A. R., Rastegar-Pouyani, N., Askari, A., Tavajohi, S., Akbari, S., & Jafarzadeh, E. (2023). Food Additives, Benefits, and Side Effects: A Review Article. *Journal of Chemical Health Risks*, 13(0), 0–0. <https://doi.org/10.22034/jchr.2023.1967340.1619>
- Marhaeni, L. S. (2021). Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Sebagai Sumber Pangan Fungsional dan Antioksidan. *Jurnal Agrisa*, 13(2), 40–53.
- Mirmiranpour, H., Huseini, H. F., Derakhshanian, H., Khodaii, Z., & Tavakoli-Far, B. (2020). Effects of probiotic, cinnamon, and synbiotic supplementation on glycemic control and

- antioxidant status in people with type 2 diabetes; a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 19(1), 53–60. <https://doi.org/10.1007/s40200-019-00474-3>
- Mustika, S., Yasni, S., & Suliantari. (2019). Pembuatan Yoghurt Susu Sapi Segar dengan Penambahan Puree Ubi Jalar Ungu. *Jurnal Pendidikan Teknologi Kejuruan* , 2(3), 97–101.
- Nur Oktavia, S., Wahyuningsih, E., & Deti Andasari, S. (2020). Skrining Fitokimia Dari Infusa Dan Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau(*Cyclea barbata* Miers). In *Jurnal Ilmu Farmasi* (Vol. 11, Issue 1).
- Ouwehand, A. C., Invernici, M. M., Furlaneto, F. A. C., & Messori, M. R. (2018). Effectiveness of Multistrain Versus Single-strain Probiotics Current Status and Recommendations for the Future. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 52, S35–S40. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000001052>
- Pandiangan, C. S. B., Sumual, M. F., & Mandey, L. C. (2022). Fortification of Cocogurt Made From Coconut (*Cocos nucifera* L.) Milk With Yellow Yam (*Ipomea batatas* L.) Puree. *JURNAL ILMIAH SAINS*, 22(2), 151–160. <https://doi.org/10.35799/jis.v22i2.43912>
- Prajawanti, K. N., Nugraha, J., Notopuro, H., Octifani, A., & Negara, Y. A. K. (2023). Efek Multi Strain Probiotik Terhadap Kadar LDL-C Rattus norvegicus Hiperlipidemia. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 14(1), 16–24. <https://doi.org/10.32382/mak.v14i1.3256>
- Rahmi, A., Hardi, N., & Hevira, L. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Pisang Kepok, Pisang Mas, dan Pisang Nangka Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik (JIFFK)*, 18(2), 77–84. www.unwahas.ac.id/publikasiilmiah/index.php/ilmufarmasidanfarmasiklinik
- Riskianto, Kamal, S. E., & Aris, Muh. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Terhadap DPPH. *Jurnal Pro-Life*, 8(2), 168–177.
- Wulan, H., Pirnama Widagdo, D., & Aulia, C. (2021). Potensi Ekstrak Etanol Daun Kelor sebagai Antiinflamasi, Penetapan Kadar Flavonoid Total. *Media Farmasi Indonesia*, 16(2), 1693–1697. <https://doi.org/10.53359/mfi.v16i2.186>
- Yulia, Idris, & Rahmadina. (2022). Skrining Fitokimia dan Penentuan Kadar Flavonoid Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Desa Dolok. *KLOROFIL* , 6(1), 49–56.
- Yunita, E., Galuh Permatasari, D., & Lestari, D. (2020). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 189–195. www.journal.uniga.ac.id

LAMPIRAN

NO	URAIAN	JAM KERJA/MINGGU	HONOR/JAM	JUMLAH
1	Ketua	10 Jam x 2	Rp 60.000,00	Rp 120.000,00
2	Anggota	10 Jam x 2	Rp 50.000,00	Rp 100.000,00
3	Pembantu Teknis Lapangan	6 jam x 2	Rp 40.000,00	Rp 80.000,00
Jumlah Biaya				Rp 300.000,00

2 Bahan Habis Pakai dan Peralatan

No	Bahan	Volume	Biaya Satuan	Biaya
1	Kertas HVS 80 gram A4	1 rim	Rp 100.000,00	Rp 100.000,00
2	Tinta Refill Printer HP 360	2 buah	Rp 180.000,00	Rp 360.000,00
3	Alat Tulis	4 Pack	Rp 50.000,00	Rp 200.000,00
4	Materai	19 buah	Rp 10.000,00	Rp 190.000,00
5	Buku Pedoman	20 bh	Rp 35.000,00	Rp 700.000,00
6	Biaya Paket Pulsa	52	Rp 50.000,00	Rp 2.600.000,00
Jumlah Biaya				Rp 4.150.000,00

3 Rincian Pengumpulan dan Pengolahan Data, Laporan, Publikasi Seminar dan Lain-lain

No	Komponen	Volume	Biaya Satuan	Jumlah
1	Pengumpulan dan Pengolahan Data	1	Rp 500.000,00	Rp 500.000,00
2	Penyusunan Laporan	3	Rp 150.000,00	Rp 450.000,00
3	Desiminasi/ Seminar	1	Rp 300.000,00	Rp 300.000,00
4	Publikasi / jurnal	1	Rp 800.000,00	Rp 800.000,00
Jumlah Biaya				Rp 2.050.000,00

4 Perjalanan

Material	Tujuan	Kuantitas	Jumlah
Ketua	a. Pengorganisasian Persiapan Kegiatan	100 kali	Rp 2.000.000,00
	b. Pendampingan Pendidikan dari UMSurabaya		
	c. Evaluasi Kegiatan, dll		
Anggota	a. Pengorganisasian Persiapan Kegiatan	50 kali	Rp 1.500.000,00
	b. Pendampingan Pendidikan dari UMSurabaya		
	c. Evaluasi Kegiatan, dll		
SUB TOTAL			Rp 3.500.000,00

TOTAL KESELURUHAN

**Rp
10.000.000,00**

SURAT TUGAS

Nomor: 87/TGS/II.3.AU/LPPM/F/2021

Assalaamu'alaikum Wr. Wb.

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
Jabatan : Kepala LPPM
Unit Kerja : LPPM Universitas Muhammadiyah Surabaya

Dengan ini menugaskan:

No	Nama	NIDN/NIM	Jabatan
1.	Dr. Apt. Isnaeni, MS	8983050022	Dosen UMSurabaya
2.	Hilman Kasyfil Isyrafı	20211666037	Mahasiswa UMSurabaya
3.	Yuliansyah Nurista	20201666026	Mahasiswa UMSurabaya

Untuk melaksanakan penelitian kepada masyarakat dengan judul “Optimasi dan Karakterisasi Sediaan Mikroenkapsulasi Multi strain Probiotik dan Kombinasinya dengan Ekstrak Daun Kelor”. Penelitian ini dilaksanakan di Program Studi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UMSurabaya pada tahun akademik 2021-2022.

Demikian surat tugas ini, harap menjadikan periksa dan dapat dilaksanakan dengan penuh tanggung jawab.

Wassalaamu'alaikum Wr. Wb

Surabaya, 20 Agustus 2021

LPPM UMSurabaya



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep

NIP. 012.05.1.1987.14.113

**Surat Kontrak Penelitian Internal
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENELITIAN KEPADA MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA
Nomor: 87 /SP/II.3.AU/LPPM/F/2021**

Pada hari ini **Jumat** tanggal **Dua Puluh** bulan **Agustus** tahun **Dua Ribu Dua Puluh Satu**, kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep. : Kepala LPPM UMSurabaya yang bertindak atas nama Rektor UMSurabaya dalam surat perjanjian ini disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**;
2. Dr. Apt. Isnaeni, MS : Dosen UM Surabaya, yang selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

untuk bersepakat dalam pendanaan dan pelaksanaan program penelitian:

- Judul : Optimasi dan Karakterisasi Sediaan Mikroenkapsulasi Multi strain Probiotik dan Kombinasinya dengan Ekstrak Daun Kelor
- Anggota : Hilman Kasyfil Isyrafi, Yuliansyah Nurista

dengan ketentuan-ketentuan sebagai berikut:

1. **PIHAK PERTAMA** menyetujui pendanaan dan memberikan tugas kepada **PIHAK KEDUA** untuk melaksanakan program penelitian perguruan tinggi tahun 2021.
2. **PIHAK KEDUA** menjamin keaslian penelitian yang diajukan dan tidak pernah mendapatkan pendanaan dari pihak lain sebelumnya.
3. **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab secara penuh pada seluruh tahapan pelaksanaan penelitian dan penggunaan dana hibah serta melaporkannya secara berkala kepada **PIHAK PERTAMA**.
4. **PIHAK KEDUA** berkewajiban memberikan laporan kegiatan penelitian dari awal sampai akhir pelaksanaan penelitian kepada LPPM selaku **PIHAK PERTAMA**.
5. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyelesaikan urusan pajak sesuai kebijakan yang berlaku.
6. **PIHAK PERTAMA** akan mengirimkan dana hibah penelitian internal sebesar Rp. 10.000.000,- (Sepuluh Juta Rupiah) ke rekening ketua pelaksana penelitian.
7. Adapun dokumen yang wajib diberikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagai laporan pertanggungjawaban adalah:
 - a. menyerahkan Laporan Hasil penelitian selambat-lambatnya satu minggu setelah kegiatan usai dilaksanakan
 - b. Memberikan naskah publikasi dan/atau luaran sesuai dengan ketentuan.



8. Jika dikemudian hari terjadi perselisihan yang bersumber dari perjanjian ini, maka **PIHAK PERTAMA** berhak mengambil sikap secara musyawarah.

Surat Kontrak Penelitian ini dibuat rangkap 2 (dua) bermaterai cukup, dan ditandatangani dengan nilai dan kekuatan yang sama.

Pihak Pertama



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
NIP. 012.05.1.1987.14.113

Pihak Kedua

Dr. Apt. Isnaeni, MS
NIDN. 8983050022



KUITANSI

Sudah terima dari : Bendahara LPPM
Uang sebesar : Sepuluh Juta Rupiah (dengan huruf)
Untuk pembayaran : Pelaksanaan penelitian dengan pendanaan Internal

Rp. 10.000.000,00

Surabaya, 20 Agustus 2021

Bendahara LPPM,
Universitas Muhammadiyah Surabaya

Holy Ichda Wahyuni

Ketua Penelitian

Dr. Apt. Isnaeni, MS