BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan sampel

Populasi yang dipakai pada penelitian ini ialah daun kelor yang didapat di wilayah Gedog, kecamatan Sananwetan, kota Blitar Jawa Timur. Sampel yang dipakai ialah daun kelor berumur 6-12 bulan yang tumbuh di wilayah Gedog, Jawa Timur.

B. Variabel penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel pada penelitian ini menggunakan daun kelor (*Moringa oleifera* L.)

Variabel utama merupakan variabel yang mencakup seluruh variabel yang akan diteliti secara langsung. Variabel yang digunakan pada penelitian ini ialah menetapkan kadar fenolik total melalui ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terfermentasi dan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis untuk mengidentifikasi senyawa pada daun kelor.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah ditetapkan golongan selaku variabel bebas dan variabel terikat.

Variabel bebas adalah variabel yang dapat diubah-ubah melalui maksud guna mengetahui pengaruhnya pada variabel lainnya. Variabel bebas pada penelitian ini ialah fermentasi ekstrak daun kelor.

Variabel terikat ialah variabel yang dipengaruhi dari variabel terikat. Variabel terikat pada penelitian ini ialah kadar fenolik total daun kelor.

3. Definisi operasional variabel utama

Variabel utama berisikan operasional dari seluruh variabel yang diteliti langsung.

Pertama, daun kelor ialah tanaman yang didapatkan dari Gedog (Jawa Timur) dengan ciri daun berwarna hijau tua dan tidak terkena hama dengan umur 6-12 bulan.

Kedua, serbuk adalah sampel yang dibuat dari daun kelor yang dijadikan simplisia kemudian digiling dan diayak bersama ayakan mesh nomor 40.

Ketiga, ekstrak ialah temuan dari serbuk daun kelor memakai mekansime maserasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil maserasi diuapkan memakai alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental

Keempat, fermentasi adalah proses pengawetan secara alami dimana bakteri *Lactobacillus bulgaricus* ditanamkan pada ekstrak pekat daun kelor (*Moringa oleifera* L.) selama 24, 48, dan 72 jam.

Kelima, kadar fenolik total adalah kadar yang diukur dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini ialah timbangan, ayakan mesh nomor 40, bejana, corong, beaker glass, jar, tabung reaksi, gelas ukur, rak tabung reaksi, pipet tetes, pipet volume, batang pengaduk, sudip, korok, kaki tiga, bunsen, spektrofotometri UV-Vis, rotary evaporator, pH meter, oven, blender merk spice herb grinder IC 06B, krus, kertas saring, ose, botol 100 mL, dan silika KLT.

2. Bahan

Bahan yang dipakai pada penelitian ini ialah daun kelor tua yang berasal dari Gedog (Jawa Timur), etanol 96%, aquades, bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, asam galat, MRSA, MRSB, larutan *Folin ciocalteu* (FC), Natrium karbonat (Na2CO3), dan susu sapi murni.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kebenaran identitas melalui rinci dari tanaman daun kelor (*Moringa oleifera* L) yang berkaitan dengan mengamati karakteristik makroskopis dan mikroskopis serta karakteristik morfologis telah selaras melalui pustaka yang sudah ada agar terhindar dari kesalahan pada penghimpunan pedomana utama kajian. Determinasi tanaman kelor pada penelitian ini dilaksanakan di UPT Laboratorium Herba Materia Medica Batu, Malang Jawa Timur.

2. Persiapan bahan

Daun kelor yang dipakai pada penelitian ini diambil dari wilayah Gedog, Jawa Timur. Sampel yang diambil adalah daunnya, kemudian disortasi untuk dipilih daun yang segar, bagus tidak rusak, berwarna

hijau tidak pudar. Kemudian dibersihkan memakai air mengalir hingga terpisah dari kotoran-kotoran yang menempel. Kemudian daun kelor dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C (Marhaeni, 2021).

3. Pembuatan serbuk

Daun kelor yang sudah dikeringkan lalu dihaluskan memakai blender merk spice herb grinder IC 06B. Serbuk daun kelor yang didapat dilakukan pengayakan menggunakan ayakan mesh nomor 40. Hasil serbuk diletakkan di wadah tertutup rapat dan disimpan ditempat kering.

4. Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak daun kelor menggunakan metode maserasi 1:10. Serbuk daun kelor ditimbang sejumlah 1.000 gram dan dimasukan pada bejana maserasi. Pelarut etanol 96% ditambahkan sejumlah 10.000 mL, lalu dilakukan sesekali pengocokan selama 6 jam pertama selanjutnya didiamkan selama 18 jam dan disaring menggunakan kertas saring. Residu diekstraksi kembali dengan cara menambahkan 5.000 mL dan di gojok sekali kemudian didiamkan 24 jam lalu disaring dan filtrat dijadikan satu. Filtrat yang didapat dievaporasi memakai alat *rotary evaporator* pada suhu 55°C hingga terlihat sedikit mengental selama 60 menit. Ekstrak kental yang diperoleh, kemudian dihitung rendemennya dengan cara persentase bobot (b/b) pada rendemen melalui bobot serbuk simplisia yang dipakai bersama penimbangan (Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, 2017).

% rendemen=
$$\frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

5. Pemeriksaan organoleptik

Pemeriksaan organoleptis merupakan pengenalan awal yang sederhana seobjektif mungkin. Pada uji organoleptis meliputi warna, bau, rasa dan bentuk (Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, 2017).

6. Penetapan susut pengeringan serbuk daun kelor

Penetapan susut pengeringan memakai bantuan *moisture balance* melalui upaya perimbangan 2 mg serbuk daun kelor selanjutnya dimasukkan pada alat *moisture balance* pada suhu 105°C, kemudian tunggu sampai pemanasan selesai dan menunjukkan satuan hasil berupa persen, dilakukan minimal 3x pengulangan lalu menghitung rata-rata. Menurut Farmakope Herbal Indonesia (2017), susut pengeringan ekstrak daun kelor yaitu tidak melampaui 10%.

7. Penetapan kadar air ekstrak daun kelor

Pengujian kadar air ekstrak daun kelor dilaksanakan melalui

prosedur gravimetri. Menimbang 10 gram ekstrak daun kelor kemudian dimasukkan pada oven di suhu 105°C selama 5 jam kemudian dinginkan dan timbang. Selanjutnya pengeringan dan timbang melalui selang waktu 1 jam hingga memperoleh bobot konstan 0,05 gram. Menurut FHI Edisi II (2017), kadar air ekstrak daun kelor tidak melampaui 10%.

8. Uji bebas etanol

Uji bebas etanol bermaksud guna membuktikan ekstrak daun kelor bebas dari etanol. Memasukkan ekstrak daun kelor pada cawan porselin, selanjutnya menambahkan asam asetat (CH₃COOH) dan asam sulfat (H₂SO₄) pekat, lalu dipanaskan. Jika hasil negatif maka tidak tercium bau khas ester (Juleha, 2017).

9. Identifikasi kandungan aktif ekstrak daun kelor dengan uji fitokimia

Identifikasi kandungan kimia digunakan guna memastikan keabsahan muatan kimia yang ada pada daun kelor (*Moringa oleifera* L).

9.1 Uji Tabung.

- 9.1.1 Uji alkaloid. Menimbang serbuk daun kelor sebanyak 10 mg, kemudian diberi larutan asam klorida 2N sebanyak 1 mL dan 9 mL aquades, kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. 2 filtrat bagi eksperimen: Mengambil 3 tetes filtrat kemudian ditambahkan 2 tetes larutan pereaksi Mayer, positif alkaloid jika ada endapan putih atau putih kekuningan. Mengambil 3 tetes filtrat melalui penambahan 2 tetes larutan pereaksi Bouchardat, positif alkaloid jika ada endapan coklat (AR. et al., 2019).
- **9.1.2 Uji flavonoid.** Menimbang sebanyak 2 mL ekstrak daun kelor kemudian menambahkan 5 mL etanol dan dipanaskan selama 5 menit. Selanjutnya menambahkan HCl pekat sebanyak 5 tetes dan 0,1 gram logam Magnesium (Mg). Gojog secara kuat dan diamkan hingga larutan memisah. Positif terdapat flavonoid jika terdapat perubahan warna kuning, jingga, hingga merah (Munira *et al.*, 2021).
- **9.1.3 Uji tanin.** Mengambil 2 mL filtrat ekstrak daun kelor, memasukkan pada tabung reaksi, selanjutnya menambahkan 5 tetes FeCl 1% dan gojog secara kuat. Positif mengandung tanin jika terdapat warna hijau kehitaman (Munira *et al.*, 2021).
- **9.1.4 Uji saponin.** Mengambil sedikit ekstrak dan dilarutkan bersama aquades selanjutnya dipanaskan selama 15 menit lalu dikocok

- selama 10 detik. Apabila terwujud buih yang konstan pada durasi 10 menit dan melalui penambahan beberapa tetes asam klorida 2 N, sehingga sampel itu positif memuat saponin (Munira *et al.*, 2021).
- **9.1.5 Uji Fenolik.** Menimbang 10 mg ekstrak etanol daun kelor kemudian menambahkan 4 mL etanol 96% sampai ekstrak menjadi larut. 2 mL ekstrak etanol daun kelor diberi reagen FeCl3 sebanyak 3 tetes, didiamkan selama 2-5 menit hingga terdapat warna merah, biru, dan hitam-hijau mengartikan polifenol (Dwika *et al.*, 2016).
- 9.2 Uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Mengambil ekstrak daun kelor seujung spatula kemudian dilarutkan dengan etanol 96% secukupnya dan disaring. Plat silika yang akan digunakan terlebih dahulu diberi garis atas 0,5 cm dan bawah 1 cm, setelah itu melakukan penjenuhan dengan cara chamber dituang dengan eluen yang sudah di siapkan dan di ukur sesuai perhitungan lalu chamber diberi kertas saring dan ditutup rapat. Menunggu penjenuhan dengan ditandai naiknya eluen di kertas saring sampai tanda batas (Rusmawijayanto *et al.*, 2019)..
- **9.2.1 Uji alkaloid.** Pengenalan melalui mekanisme kromatografi lapis tapis, memakai eluen etil asetat : n-heksan (7 : 3). Sesudahnya eluen dijenuhkan pada chamber melalui pemakaian kertas saring, kemudian lempeng KLT yang sudah ditotol bersama ekstrak dan baku pembanding berupa piperin lalu dimasukkan pada chamber yang setelah itu dielusi. Pengamatan memakai sinar UV 254 nm dan 366 nm selanjutnya deteksi bercak melalui penyemprotkan pereaksi dragendorff, yang dinilai melalui Rf (AR. *et al.*, 2019).
- **9.2.2 Uji flavonoid.** Pengenalan melalui mekanisme kromatografi lapis tapis, memakai eluen asam asetat : n-butanol : air (1 : 4 : 5). Sesudahnya eluen dijenuhkan pada chamber melalui memakai kertas saring, kemudian lempeng KLT yang sudah ditotol bersama ekstrak dan baku pembanding berupa quercetin lalu dimasukkan pada chamber yang selanjutnya dielusi. Pengamatan memakai sinar UV 254 nm dan 366 nm selanjutnya deteksi bercak bersama uap amonia, yang diukur melalui Rf (Yuda *et al.*, 2017).
- **9.2.3 Uji tannin.** Pengenalan melalui mekanisme kromatografi lapis tapis, memakai eluen metanol: air (6 : 4). Sesudahnya eluen dijenuhkan pada chamber melalui pemakaian kertas saring, kemudian lempeng KLT yang sudah ditotol melalui ekstrak dan baku pembanding berupa asam galat lalu disertakan pada chamber yang selanjutnya dielusi. Pengamatan memakai sinar UV 254 nm dan 366 nm kemudian deteksi

- bercak bersama penyemprotkan pereaksi FeCl3, yang dinilai melalui Rf (Yuda *et al.*, 2017).
- **9.2.4 Uji fenolik.** Pengenalan melalui metode kromatografi lapis tapis, memakai metanol: air (6:4). Sesudahnya, eluen dijenuhkan pada chamber melalui pemakaian kertas saring, setelahnya lempeng KLT yang sudah ditotol bersama ekstrak dan baku pembanding berupa asam galat lalu dimasukkan pada chamber yang selanjutnya dielusi. Pengamatan memakai sinar UV 254 nm dan 366 nm selanjutnya deteksi bercak melalui pemenyemprotkan pereaksi FeCl3, yang selanjutnya dinilai melalui Rf (Suputri *et al.*, 2021).
- **9.2.5 Uji saponin.** Identifikasi dengan metode kromatografi lapis tapis, menggunakan eluen kloroform: methanol: air (5,9:3,2:0,9). Sesudahnya eluen dijenuhkan pada chamber melalui pemakaian kertas saring, kemudian lempeng KLT yang sudah ditotol bersama ekstrak dan baku pembanding berupa saponin lalu dimasukkan pada chamber yang selanjutnya dielusi. Pengamatan memakai sinar UV 254 nm dan 366 nm selanjutnya deteksi bercak melalui penyemprotkan pereaksi bouchardat, selanjutnya dinilai melalui Rf (Suharto, M. A. P., Edy, H. J., & Dumanauw, J. M., 2012).

10. Bakteri Lactobacillus Bulgaricus

- 10.1 Pembuatan media NA (*Nutrien Agar*). Media benih Nutrient Agar (NA) di timbang sebanyak 14 gram dan dilarutkan dengan aquades 200 mL kedalam wadah kemudian media NA di aduk dan didihkan hingga media larut sepenuhnya atau sudah menjadi bening, setiap tabung reaksi di beri media sebanyak 10 mL dan ditutup dengan kapas, selanjutnya media disterilkan menggunakan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C, kemudian media dimiringkan pada suhu ruang dengan posisi tabung dimiringkan 150° hingga media memadat (Juariah, 2021)
- 10.2 Pembuatan media Nutrient Broth (NB). Nutrient Broth cair agar (NB) ditimbang 5,22 gram dan dilarutkan dengan aquadest 100 mL kedalam wadah kemudian media NB diaduk dan didihkan hingga media larut sepenuhnya atau sudah menjadi bening, setiap tabung reaksi di beri media sebanyak 10 mL dan ditutup dengan kapas, lalu media disteril menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama kurang lebih 15 menit.
- **10.3 Peremajaan bakteri.** Peremajaan bakteri dilaksanakan pada *Laminar Air Flow* (LAF) melalui aseptis pada dekat api bunsen

melalui upaya sebelum menetapkan biakan, ose harus disterilkan terlebih dahulu diatas api bunsen. Hal ini bermaksud guna mematikan mikroorganisme lainnya yang tidak diperlukan (Waluyo, 2011). Selanjutnya, mengambil 1 ose biakan bakteri selanjutnya di goreskan pada tabung reaksi yang sudah terisi media agar miring, lalu tutup dengan kapas dan kertas kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu ruang.

- 10.4 Pembuatan suspensi bakteri. Mengambil dosis bakteri yang telah diremajakan kemudian disuspensikan dalam media NB sampai kekeruhan memenuhi standar atau sama dengan larutan mcfarland 0,5. Kekeruhan terlihat pada latar belakang putih kertas yang digambar dengan spidol. Menambahkan koloni jika hasilnya tidak keruh, tetapi jika hasilnya keruh tambahkan media NB. Satu ose kultur murni, dikultur dalam 10 mL media cair NB dan dihomogenkan. Cara ini dilakukan secara aseptik di dekat api bunsen, lalu tabung reaksi ditutup dengan kapas, di bungkus kertas tertutup rapi, rapat, dan diinkubasi pada inkubator selama 1x24 jam di suhu 37°C. Suspensi ini digunakan sebagai kultur aktif.
- **10.5 Identifikasi bakteri asam laktat (BAL).** Hasil isolat bakteri mampu diverifikasi memakai metode uji makroskopik, dan uji mikroskopik.
- **10.5.1 Uji makroskopik.** Metode ini dilakukan dengan cara melihat langsung morfologi isolate bakteri, meliputi bentuk dan warna.
- **10.5.2 Uji mikroskopik.** Metode ini dilakukan menggunakan metode pewarnaan pada bakteri. Pewarnaan dilaksanakan melalui cara mengoleskan isolate bakteri diatas *objek glass*, kemudian difiksasi dan ditetesi larutan cat gram A, didiamkan selama 1 menit, lalu ditetesi larutan cat gram B, didiamkan selama 1 menit, ditetesi cat gram C, didiamkan selama 1, lalu ditetesi larutan cat gram D, didiamkan selama 45 detik. Kemudian *objek glass* ditutup lalu diamati dan diamati bentuk serta warna sel bakteri yang diperoleh (Delvia *et al.*, 2015).
- **10.6 Perhitungan jumlah bakteri.** Perhitungan jumlah koloni dengan cara suspensi bakteri yang sudah dibuat dilakukan pengenceran dari 10⁻¹ sampai 10⁻⁷ supaya mempermudah perhitungan bakteri dalam cairan. Suspensi bakteri diambil 1 mL selanjutnya dimasukkan pada tabung reaksi pertama (10⁻¹) yang berisis 9 mL larutan NaCl fisiologi lalu di vortex hingga homogen. Selanjutnya ditetapkan 1 mL dari tabung 1 lalu dimasukkan pada tabung kedua (10⁻²) di vortex hingga homogen,

begitupun selanjutnya hingga tabung ke tujuh (10^{-7}) , selanjutnya ditempatkan 100 µl dan dimasukkan pada cawan petri steril, lalu dituangkan media NA (Nutrient Agar) melalui suhu ± 40 °C. Selanjutnya homogenkan cawan dengan cara memutar searah angka delapan secara perlahan. Biarkan ± 15 menit lalu bungkus cawan dengan kertas dan inkubasi selama 1 minggu dengan suhu 37°C (Ulinnuha *et al.*, 2020)

11. Fermentasi ekstrak

Perancangan fermentasi ekstrak daun kelor, menyiapkan 3 replikasi untuk tiap-tiap interval waktu yang tidak sama melalui 24 jam, 48 jam, dan 72 jam, menimbang 10 gram ekstrak daun kelor, kemudian pasteurisasi susu sapi murni sebanyak 500 mL dengan suhu 80°C lalu didinginkan pada suhu ruang. Ambil susu sapi 20 mL kemudian masukkan bakteri asam laktat *Lactobacillus bulgaricus* sebanyak 3,3 x 10⁷ CFU/mL dan aduk hingga tercampur. Setelah itu, menambahkan ekstrak kelor kedalam susu untuk setiap replikasi sebanyak 2 mL. Selanjutnya, sampel diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24, 48, dan 72 jam (Murelina & Wijayanti, 2018)

12. Penentuan kadar fenolik total

12.1 Pembuatan larutan induk asam galat. Membuat larutan induk asam galat 1000 ppm. Menimbang sebanyak 50 mg asam galat kemudian dilarutkan menggunakan etanol p.a sampai volume 50 mL hingga mendapatkan konsentrasi 1000 ppm (Hapsari *et al.*, 2018).

Rumus larutan stok:

$$ppm = \frac{massa\ zat\ terlarut\ (mg)}{volume\ larutan\ (L)}$$

Rumus pengenceran:

Keterangan:

V1 = Volume sampel yang diambil

C1 = Konsentrasi sampel yang diambil

V2 = Volume sampel yang diambil

C2 = Konsentrasi larutan yang akan dibuat

- **12.2 Pembuatan Na₂CO₃20%.** Menimbang natrium karbonat sebanyak 20 gram lalu masukkan pada labu takar 100 mL dan menambahkan aquades p.a hingga tanda batas.
- **12.3 Penentuan panjang gelombang (λmaks).** Larutan asam galat konsentrasi 500 ppm dipipet 0,1 mL kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 mL selanjutnya menambahkan aquadest 7,9 mL

- dan 0,5 mL larutan *Folin-Ciocalteu*, lalu digojok selama 1 menit dan dicukupkan dengan larutan Natrium karbonat 20% digojog hingga homogen, kemudian ukur panjang gelombang maksimal memakai spektrofotometer visibel kisaran 400-800 nm (Hapsari *et al.*, 2018)
- **12.4 Penentuan OT** (*Operating Time*). Larutan asam galat konsentrasi 500 ppm dipipet 0,1 mL kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 mL selanjutnya menambahkan aquadest 7,9 mL dan 0,5 mL larutan Folin-*Ciocalteu*, lalu digojok selama 1 menit dan dicukupkan dengan larutan Natrium karbonat 20% digojog hingga homogen, diukur absorbansinya pada waktu 0-90 menit hingga diperoleh waktu yang konstan dan maksimal melalui panjang gelombang yang sudah didapatkan (Hapsari *et al.*, 2018).
- 12.5 Pembuatan kurva kalibrasi asam galat. Membuat larutan asam galat dengan konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; dan 500 ppm. Selanjutnya pipet sejumlah 0,1 mL disetiap konsentrasi kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL lalu ditambahkan 7,9 mL aquadest dan 0,5 mL larutan *Folin Ciocalteu* lalu digojok selama 1 menit dan dicukupkan dengan larutan Natrium karbonat 20% digojog hingga homogen. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 1 jam 51 menit. Dinilai absorbansinya melalui panjang gelombang maksimal dan diperoleh kurva kalibrasi asam galat melalui persamaan garis linear y = ax + b (Hapsari *et al.*, 2018).
- **12.6 Pembuatan larutan induk ekstrak daun kelor.** Membuat larutan standar ekstrak daun kelor 1000 ppm. Menimbang 50 mg ekstrak daun kelor selanjutnya dilarutkan bersama etanol p.a sampai volume 50 mL hingga mendapatkan konsentrasi 1000 ppm (Hapsari *et al.*, 2018).
- **12.7 Pembuatan larutan induk ekstrak daun kelor terfermentasi kelor.** Membuat larutan standar ekstrak daun kelor terfermentasi 1000 ppm. Menimbang 50 mg ekstrak daun kelor terfermentasi selanjutnya dilarutkan bersama etanol p.a sampai volume 50 mL hingga mendapatkan konsentrasi 1000 ppm (Hapsari *et al.*, 2018).
- **12.8 Penetapan kandungan Total Fenol.** Mengambil larutan ekstrak daun kelor dengan konsentrasi 1000 ppm sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan kedalam labu takar 10 mL, selanjutnya penambahan aquadest 7,9 mL dan 0,5 mL larutan *Folin-Ciocalteu*, lalu digojok selama 1 menit dan dicukupkan melalui larutan Natrium karbonat 20% digojog hingga homogen. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 1 jam. Dinilai absorbansinya memakai spektrofotometer visibel pada panjang

gelombang maksimum 785 nm. Penilaian dilaksanakan melalui pengulangan sejumlah 3 kali. Kadar total fenol ekstrak daun kelor dinilai melalui memakai pengganti nilai-nilai absorbansi rerata sampel pada persamaan regresi linear yang diperoleh dari kurva kalibrasi guna mendapati konsentrasinya. Nilai konsentrasi sampel yang dipakai selanjutnya disubstitusikan kembali pada rumus penilaian kadar total fenol, yakni:

Kadar total fenol = $\frac{x.V.FP}{BS}$

Keterangan: x = Konsentrasi (ppm)

V = Volume larutan sampel (ekstrak) (mL)

FP = Faktor pengenceran larutan sampel

BS = Berat sampel (g)

Kadar total fenol ditampilkan melalui satuan mg ekuivalen asam galat / gram sampel (mg GAE/g).

E. Analisis Hasil

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya pengaruh fermentasi terhadap kadar total fenol ekstrak etanol daun kelor dengan bakteri asam laktat *Lactobacillus bulgaricus* yang diidentifikasi menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 785 nm.