

**EFEKTIVITAS EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*)  
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI *Klebsiella*  
*pneumoniae* ISOLAT 6593 spt SECARA *In Vitro***

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh :

**PUTU AGUSTYA WIRATMAJA**

**NIM : 0910713025**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2012**

LEMBAR PERSETUJUAN  
TUGAS AKHIR

EFEKTIVITAS EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*)  
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI *Klebsiella*  
*pneumoniae* ISOLAT 6593 spt SECARA *In Vitro*

Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

Oleh :  
Putu Agustya Wiratmaja  
NIM : 0910713025

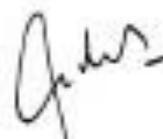
Menyetujui untuk diuji

Pembimbing I



dr. Aulia Abdul Hamid, M.Sc. Sp.M  
NIP. 19770601 200312 1 005

Pembimbing II



dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes  
NIP. 19760519 200501 2 001

HALAMAN PENGESAHAN  
TUGAS AKHIR

EFEKTIVITAS EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*)  
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI *Klebsiella*  
*pneumoniae* ISOLAT 6593 spt SECARA *In Vitro*

Oleh :

Putu Agustya Wiratmaja  
NIM : 0910713025

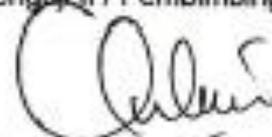
Telah diuji pada  
Hari : Rabu  
Tanggal : 12 Desember 2012  
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji II



Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. Msi  
NIP. 19540823 196103 2 001

Penguji II / Pembimbing I



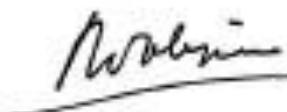
dr. Aulia Abdul Hamid, M.Sc., Sp.M  
NIP. 19770601 200312 1 005

Penguji III / Pembimbing II



dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes  
NIP. 19760519 200501 2 001

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kedokteran



Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, Sp.Park  
NIP. 19520410 198002 1 001

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur saya ucapkan kepada Ida Sang Hyang Widhi Wasa, Tuhan Yang Maha Esa. Karena hanya dengan berkah dan rahmat-Nya, penulisan tugas akhir ini dapat selesai. Tugas Akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada program pendidikan dokter umum Universitas Brawijaya Malang.

Dalam proses penulisan Tugas Akhir ini, penulis juga banyak didukung oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Dr. dr. Karyono M, Sp.PA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, Sp. ParK selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. dr. Aulia Abdul Hamid, M.Sc, Sp.M selaku Dosen Pembimbing pertama yang telah banyak meluangkan waktu ditengah kesibukan beliau untuk membimbing dan mengarahkan penulis dengan sabar dan selalu memberi semangat selama penulisan Tugas Akhir ini.
4. dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama penulisan Tugas Akhir ini.
5. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. Msi selaku Dosen Penguji atas kesediaannya memberikan masukan dan penilaiannya untuk menyempurnakan Tugas Akhir ini.
6. Mas Slamet, Mbak Uci, Mas Hendri, Bu Yati selaku staf Laboratorium Mikrobiologi FKUB untuk keahlian dan ketelatenannya dalam membantu

pelaksanaan penelitian.

7. Segenap Anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya khususnya Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. dan dr. Soemardini, M.Pd.
8. Terimakasih kepada Bapak, Ibu, dan Adikku tercinta serta seluruh keluargaku yang selalu memberikan dukungan terus-menerus agar karya tulis ini cepat selesai. Tugas Akhir ini aku persembahkan untuk kalian.
9. Sahabat-sahabatku : Ryan, Odie, Gung Pram, Tjok, Deby, Indah, Jojo dan Lita serta teman-teman lain yang telah memberi semangat yang luar biasa dalam pengerjaan Tugas Akhir ini.
10. Saudara-saudara seperantauanku yaitu : Bli Dek, Poyok, Sum, John, Bawa, Imung, Diva, Ranu dan Bima.
11. Terima kasih yang spesial untuk Bunga Krisna Dewi yang selalu memberi motivasi serta semangat dalam proses pengerjaan Tugas Akhir ini.
12. Teman-teman pendidikan dokter angkatan 2009.
13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu selama ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Akhir kata penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga Tugas Akhir ini dapat diterima dan akan bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca yang membutuhkannya.

Malang, 02 November 2012

Penulis

## ABSTRAK

Wiratmaja, Putu Agustya. 2012. Uji Efektivitas Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Sebagai Antimikroba Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *In Vitro*. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Aulia Abdul Hamid, M.Sc, Sp.M .(2) dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes.

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi nosokomial dan resisten terhadap antibiotika tertentu, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan antimikroba alternatif. Salah satunya kayu manis yang memiliki kandungan *tannin*, *flavonoid*, *saponin*, dan *eugenol*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak kayu manis sebagai antimikroba terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah dilusi tabung yang terdiri dari tahap penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Ekstrak kayu manis dibuat dengan ekstraksi maserasi menggunakan *etanol* 96%. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu 3%; 3,5%; 4%; 4,5%; 5% dan 5,5%, sedangkan konsentrasi *Klebsiella pneumoniae* adalah  $10^6$  CFU/ml. Hasil statistik *one-way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak *etanol* 96% kayu manis terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* ( $p=0,000$ ). Uji korelasi menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni (Korelasi,  $R = -0,660$ ;  $p=0,001$ ). Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak *etanol* kayu manis mempunyai efek antimikroba terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro* dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) 4,5% dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah 5,5% .

**Kata kunci:** antimikroba, *Klebsiella pneumoniae*, kayu manis.

## ABSTRACT

Wiratmaja, Putu Agustya. 2012. Test Effectivity of Cinnamon Extract (*Cinnamomum burmannii*) As Antimicrobial Againsts *Klebsiella pneumoniae* In Vitro. Final Assignment, Medical Education, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Aulia Abdul Hamid, M.Sc, Sp.M .(2) dr. Indriati Dwi Rahayu, M.Kes.

*Klebsiella pneumoniae* is bacteria that most often cause nosocomial infection and resistant to specific antibiotics. Therefore, it should be conducted a research to get an alternative antimicrobial. One of them is cinnamon which contains *tannin*, *flavonoid*, *saponin*, and *eugenol*. The objective of this research is to determine cinnamon extract as antimicrobial against *Klebsiella pneumoniae* in vitro. The research used tube dilution method that consist of determine Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). Cinnamon extract is made by maceration extraction using *etanol* 96%. The concentration used were 3%; 3,5%; 4%; 4,5%; 5% and 5,5%, and concentration of *Klebsiella pneumoniae* is  $10^6$  CFU/ml. The result of *one-way ANOVA* statistical test showed that there is significant differences in the concentration change of extract *etanol* 96% cinnamon on the amount of colony *Klebsiella pneumoniae* ( $p=0,000$ ). Correlation test showed that there is a correlation between concentration of extract with the amount of colony (Correlation,  $R = -0,660$ ;  $p=0,001$ ). Based on the result, it can be concluded that extract of cinnamon have antimicrobial effect on *Klebsiella pneumoniae* by in vitro with Minimum Inhibitory Concentration (MIC) is 4,5% and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) is 5,5% .

**Keywords:** antimicrobial, *Klebsiella pneumoniae*, cinnamon.

DAFTAR ISI

Judul .....	i
Lembar Persetujuan .....	ii
Halaman Pengesahan .....	iii
Kata Pengantar .....	iv
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
Daftar Isi .....	viii
Daftar Gambar .....	xiii
Daftar Tabel .....	xiv
Daftar Lampiran .....	xv
Daftar Singkatan .....	xvi
 <b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Masalah Penelitian .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.3.1 Tujuan Umum .....	3
1.3.2 Tujuan Khusus .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
1.4.1 Manfaat Akademik .....	3
1.4.2 Manfaat Praktis .....	3
 <b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	5



2.1.1	Epidemiologi .....	5
2.1.2	Morfologi dan Identifikasi .....	6
2.1.3	Taksonomi .....	7
2.1.4	Struktur Antigenik .....	8
2.1.5	Media Selektif Pertumbuhan <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	9
2.1.6	Patogenesis Infeksi <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	9
2.1.7	Manifestasi Klinis <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	11
2.2	Kayu Manis .....	11
2.2.1	Taksonomi Kayu Manis .....	14
2.2.2	Kandungan Kayu Manis .....	14
2.2.2.1	<i>Tanin</i> .....	15
2.2.2.2	<i>Flavonoid</i> .....	15
2.2.2.3	<i>Saponin</i> .....	16
2.2.2.4	<i>Eugenol</i> .....	17
2.2.2.5	Minyak Atsiri .....	17
2.2.3	Pemakaian Dalam Pengobatan .....	18
2.3	Cara Kerja Antimikroba .....	19
2.3.1	Menghambat Sintesis Dinding Sel .....	19
2.3.2	Merusak Fungsi Membran Sel .....	19
2.3.3	Menghambat Metabolisme Sel Bakteri .....	19
2.3.4	Menghambat Sintesis Protein .....	20
2.3.5	Menghambat Sintesis Asam Nukleat .....	20
2.4	Uji Kepekaan Antimikroba.....	20
2.4.1	Metode Dilusi Tabung .....	20
2.4.2	Metode Difusi Cakram .....	21



**BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	23
3.2 Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan Bakteri .....	24
3.3 Hipotesis Penelitian .....	24

**BAB 4 METODE PENELITIAN**

4.1 Desain Penelitian .....	25
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian .....	25
4.3 Sampel Penelitian .....	25
4.4 Variable Penelitian .....	26
4.4.1 Variable Bebas .....	26
4.4.2 Variable Tergantung .....	26
4.5 Definisi Operasional .....	27
4.5.1 Ekstrak Kayu Manis .....	27
4.5.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	27
4.5.3 Kontrol Bakteri (Kontrol Positif) .....	27
4.5.4 Kontrol Bahan (Kontrol Negatif) .....	28
4.5.5 <i>Original Inoculum</i> .....	28
4.6 Alat dan Bahan Penelitian .....	28
4.6.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Kayu Manis .....	28
4.6.2 Alat dan Bahan Untuk Pewarnaan Gram Bakteri .....	29
4.6.3 Alat dan Bahan Untuk Uji Dilusi Tabung .....	29
4.7 Rancangan Operasional Penelitian .....	30
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Kayu Manis .....	30



4.7.2 Pewarnaan Gram.....	31
4.7.3 Test Identifikasi Bakteri Dengan <i>Microbact</i> 12A .....	32
4.7.4 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan $10^6$ bakteri/mL.....	33
4.7.5 Uji Sensitivitas Antimikroba .....	34
4.7.6 Alur Kerja Penelitian .....	36
4.8 Analisis Data .....	37

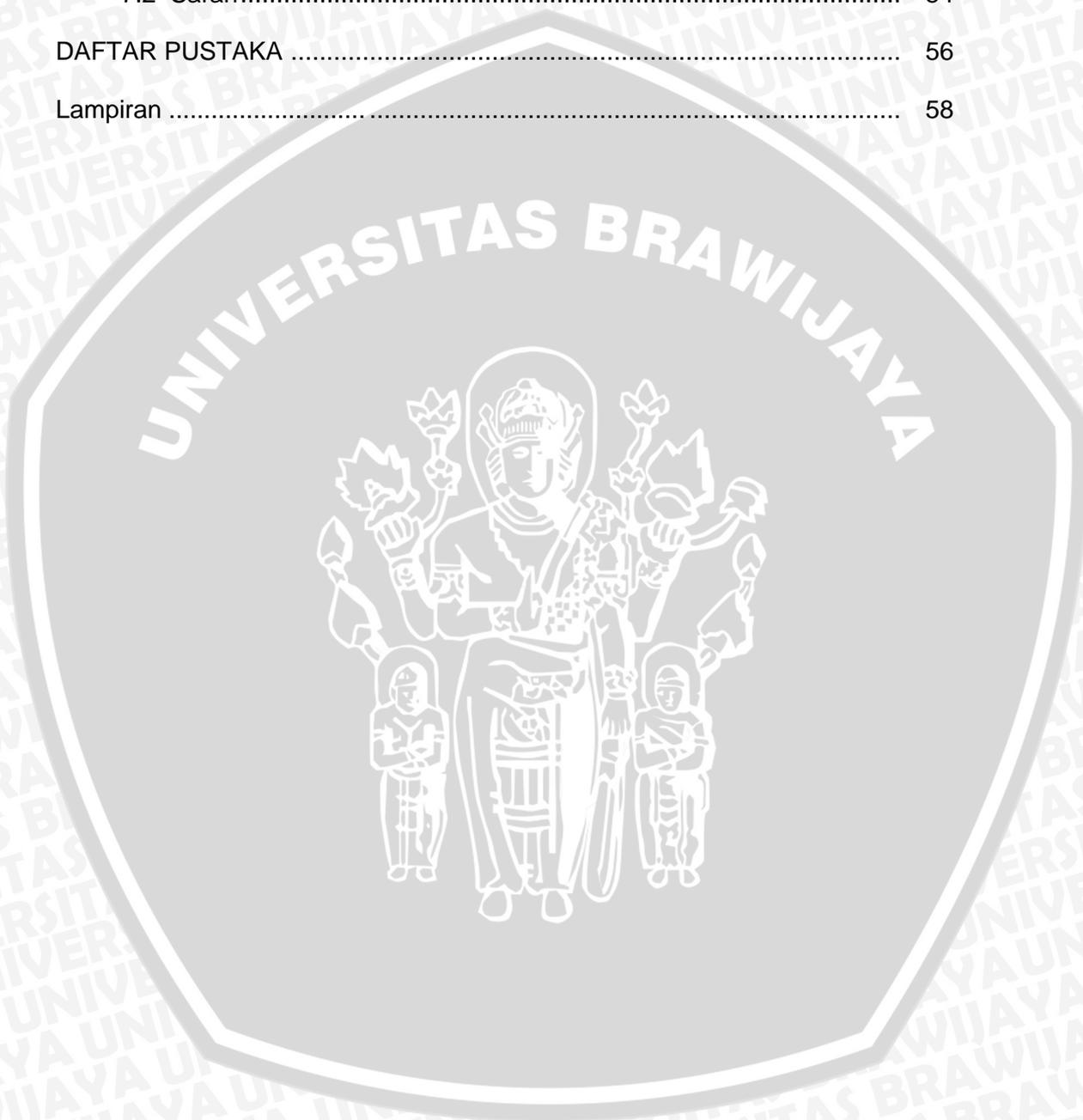
## BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian .....	38
5.1.1 Ekstraksi Kayu Manis .....	38
5.1.2 Identifikasi Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	38
5.2 Hasil Pengamatan dan Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	39
5.3 Analisis Data .....	44
5.3.1 Uji Asumsi Data .....	44
5.3.2 Uji Normalitas dan Homogenitas Data .....	45
5.3.3 Analisis <i>One-Way ANOVA</i> .....	45
5.3.4 Pengujian Berganda ( <i>Multiple Comparisons</i> ) .....	45
5.3.5 Pengujian Korelasi .....	46
5.3.6 Uji Regresi Linier .....	47

BAB 6 PEMBAHASAN .....	49
------------------------	----

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan .....	54
7.2 Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA .....	56
Lampiran .....	58



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Pohon Kayu Manis .....	12
Gambar 2.2 Kulit Batang Kayu Manis .....	13
Gambar 2.3 Daun Kayu Manis .....	13
Gambar 2.3 Buah Kayu Manis .....	14
Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep Penelitian .....	23
Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian.....	36
Gambar 5.1 Uji Dilusi Tabung Perbandingan Tingkat Kejernihan Tiap Konsentrasi Ekstrak Setelah Diinkubasi.....	40
Gambar 5.2 Pertumbuhan Koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada Medium NAP .....	41
Gambar 5.3 Grafik rata-rata jumlah koloni bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> dengan kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak kayu manis .....	44
Gambar 5.4 Grafik linieritas ekstrak kayu manis ( <i>Cinnamomum Burmannii</i> ) terhadap jumlah koloni bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada setiap perlakuan .....	47
Gambar L2.1 Mikroskop.....	59
Gambar L2.2 Spektrofotometri.....	59
Gambar L2.3 Vortex .....	59
Gambar L2.4 Kulit Batang Kayu Manis .....	59
Gambar L3.1 Hasil Inkubasi Kontrol Kuman <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	60
Gambar L3.2 Koloni bakteri pada Medium NAP.....	60
Gambar L3.3 Kontrol Bahan Ekstrak Kayu Manis .....	61
Gambar L3.4 Ekstrak Kayu Manis .....	61



Gambar L3.5 Pewarnaan Gram ..... 62

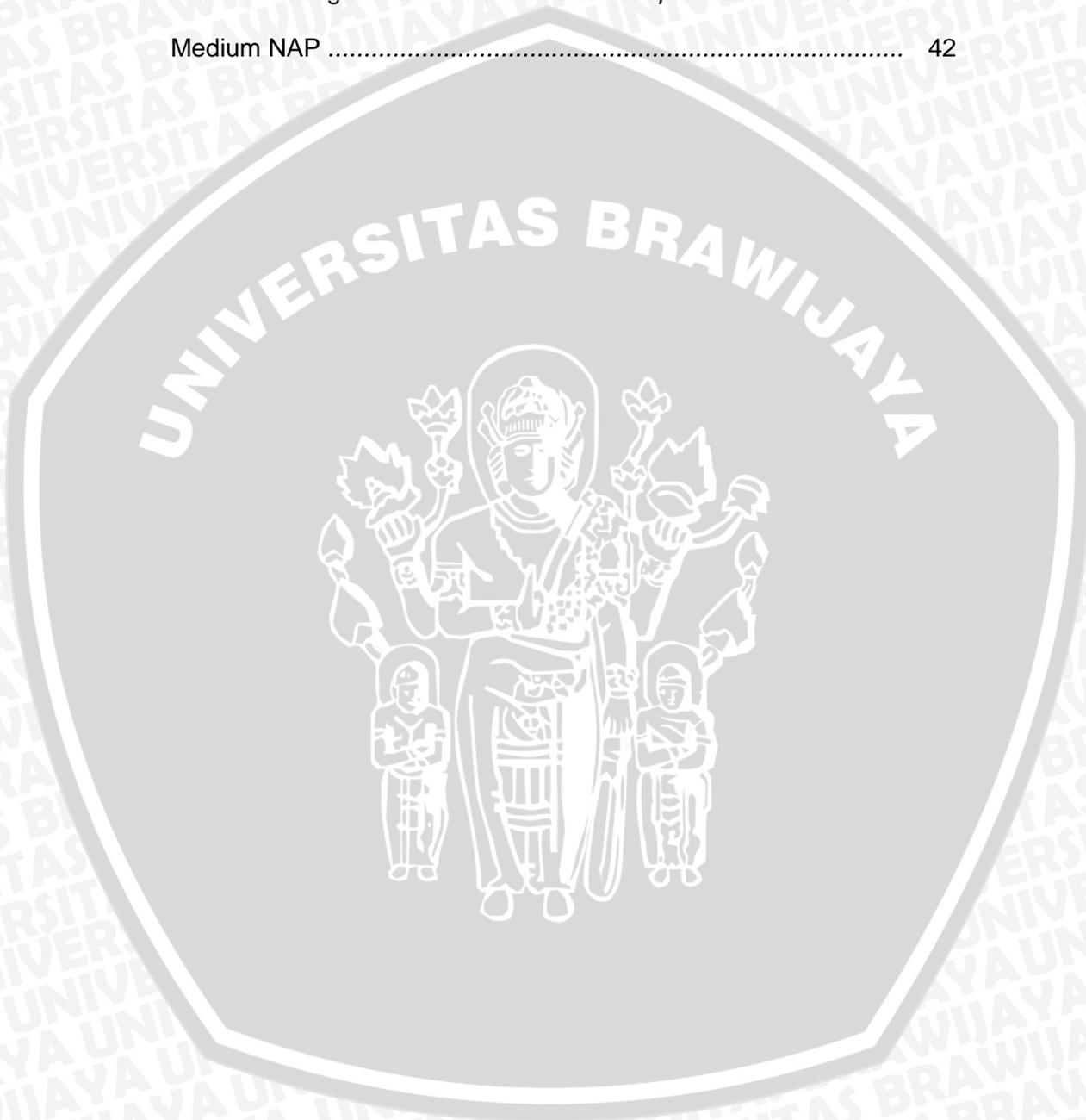
Gambar L3.6 Identifikasi *Microbact* 12A ..... 62



DAFTAR TABEL

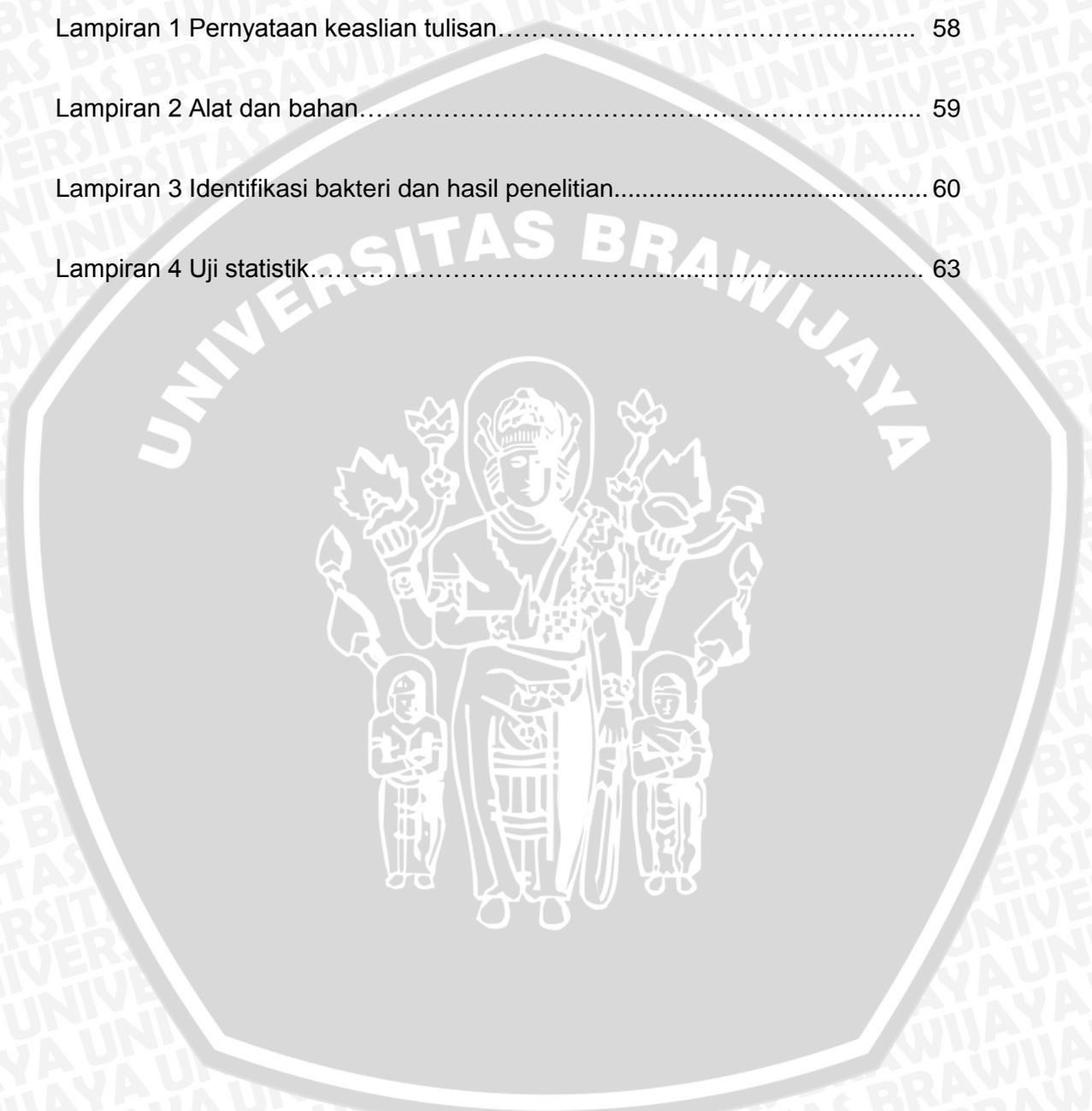
Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* Pada

Medium NAP ..... 42



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pernyataan keaslian tulisan.....	58
Lampiran 2 Alat dan bahan.....	59
Lampiran 3 Identifikasi bakteri dan hasil penelitian.....	60
Lampiran 4 Uji statistik.....	63



## DAFTAR SINGKATAN

CFU = *Colony Forming Unit*

OI = *Original Inoculum*

KBM = *Kadar Bunuh Minimum*

KHM = *Kadar Hambat Minimal*

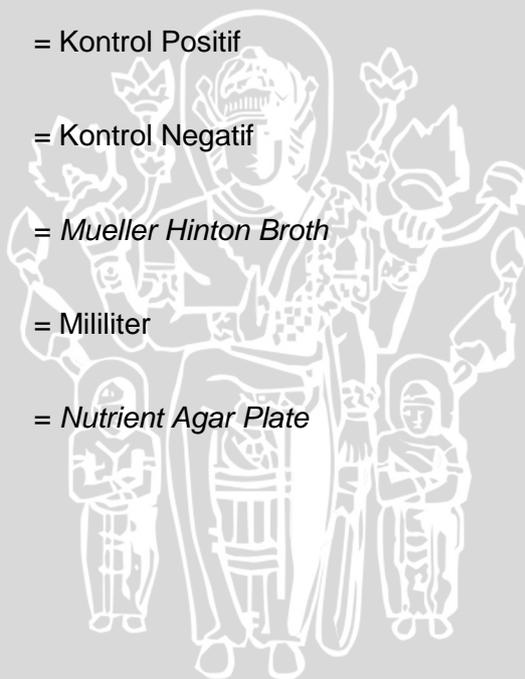
KP = *Kontrol Positif*

KN = *Kontrol Negatif*

MHB = *Mueller Hinton Broth*

mL = *Mililiter*

NAP = *Nutrient Agar Plate*



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Pada saat ini penyakit infeksi merupakan satu masalah dalam bidang kesehatan yang terus berkembang dari waktu ke waktu. Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia (Gibson, 1996). Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh empat kelompok besar hama penyakit, yaitu bakteri, jamur, virus, dan parasit (Jawetz *et al*, 2005).

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang (basil) dari famili Enterobacteriaceae Oportunistik dan dari genus *Klebsiella* yang umumnya menginfeksi saluran pernapasan. Namun, selain menginfeksi saluran pernapasan, juga dapat menginfeksi tempat lain (Dzen dkk, 2003). *Klebsiella pneumoniae* umumnya menyerang orang dengan kekebalan tubuh lemah, seperti orang dengan penyakit diabetes dan orang dengan penyakit paru obstruktif (Podschun & Ullmann, 1998). *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri fakultatif *anaerob*, bakteri ini banyak ditemukan di mulut, kulit, dan usus, namun habitat alami dari *Klebsiella pneumoniae* adalah di tanah (Ayuningtyas, 2008).

Untuk mengatasi masalah infeksi bakteri sering digunakan antibiotika. Namun, *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri yang memiliki resistensi terhadap antibiotika tertentu karena merupakan salah satu bakteri penghasil *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL), sehingga bakteri tetap dapat bertahan hidup dalam tubuh manusia (Podschun & Ullmann, 1998). Belakangan

ini banyak obat antibiotika yang dianggap tidak efektif karena bakteri *Klebsiella pneumoniae* telah resisten terhadap obat tersebut. Karena hal tersebut, banyak dilakukan penelitian untuk menemukan obat baru yang efektif terhadap bakteri. Penelitian yang dilakukan banyak mengambil bahan dari bahan alami karena aman dan terbukti efektif serta memiliki efek samping lebih kecil dibandingkan dengan obat sintetis yang dijual dipasaran.

Saat ini ada banyak pengobatan alami yang belum terbukti secara ilmiah contohnya adalah tumbuhan kayu manis. Namun, pada penelitian yang dilakukan Onggirawan (1980) yang meneliti penentuan koefisien fenol, minyak atsiri kulit kayu manis, ternyata memiliki daya antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhosa*. Begitupula Amelya (1992) telah melakukan penelitian pengaruh daya hambat Kayu Manis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Dari hasil penelitian tersebut, ternyata ekstrak kayu manis dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Tetapi, penelitian tentang ekstrak kayu manis sebagai antimikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* belum pernah dilakukan sebelumnya.

Sehubungan dengan uraian diatas maka sangat menarik untuk dilakukan penelitian lanjutan dan terfokus untuk mengetahui apakah ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

## 1.2 Masalah Penelitian

Apakah ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

- 1.3.1.1. Untuk membuktikan bahwa ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

- 1.3.2.1 Mengetahui *dose-effect relationship* untuk membuktikan bahwa ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*.
- 1.3.2.2 Mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Manfaat Akademik

- Meningkatkan pengetahuan tentang penggunaan bahan alami yang mudah didapat dan murah sebagai antimikroba.
- Dapat digunakan sebagai acuan untuk pengembangan penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba pada kayu manis.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

- Memberikan informasi kepada masyarakat tentang khasiat kayu manis sebagai anti mikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

- Diharapkan melalui penelitian ini diperoleh bahan alami yang bisa digunakan sebagai pengobatan alternatif disekitar kita yang murah dan memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat – obat sintetis yang dijual dipasaran.



## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

**2.1 Klebsiella pneumoniae**

Anggota genus *Klebsiella* yang paling sering terisolasi adalah *Klebsiella pneumoniae* (Friedlander's bacillus). Nama *Klebsiella pneumoniae* diberikan karena dapat menyebabkan pneumonia dan bahkan pada mulanya disangka penyebab utama *classic lobar pneumonia*. Seperti enterobacteriaceae oportunistik yang lain, *Klebsiella pneumoniae* dapat menginfeksi tempat lain di samping saluran pernafasan. Spesies lain dari *Klebsiella* dapat juga menyebabkan penyakit yang sama namun sangat jarang terisolasi (Dzen dkk, 2003).

**2.1.1 Epidemiologi**

*Klebsiella pneumoniae* pertama kali ditemukan oleh Carl Friedlander pada tahun 1882. Beliau adalah ahli patologi dan mikrobiologi yang berasal dari Jerman. Carl Friedlander adalah orang yang pertama kali mengidentifikasi bakteri *Klebsiella pneumonia* dari paru-paru orang yang meninggal karena pneumonia. Karena jasanya tersebut, *Klebsiella pneumoniae* sering pula disebut bakteri Friedlander (Ayuningtyas, 2008).

*Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan penyakit pneumonia. Pneumonia adalah proses infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (alveoli). Pneumonia yang disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* dapat berupa pneumonia komunitas atau *community acquired pneumonia*. Pneumonia komunitas atau *community acquired pneumonia* adalah pneumonia yang

ditemukan di masyarakat. Strain baru dari *Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan pneumonia nosokomial atau *hospitality acquired pneumonia*, yang berarti penyakit pneumonia tersebut di dapatkan saat pasien berada di rumah sakit atau tempat pelayanan kesehatan. *Klebsiella pneumoniae* umumnya menyerang orang dengan kekebalan tubuh lemah, seperti alkoholis, orang dengan penyakit diabetes dan orang dengan penyakit kronik paru-paru (Ayuningtyas, 2008).

### 2.1.2 Morfologi dan Identifikasi

Bakteri Enterobacteriaceae berbentuk batang (basil), berukuran kecil (0,5x3,0  $\mu\text{m}$ ), bersifat Gram negatif dan tidak membentuk spora. Ada yang bergerak (motil) dan ada pula yang tidak bergerak (non-motil). Jika bergerak, pergerakannya disebabkan karena memiliki *flagella* yang peritrikus. Suatu sifat yang dapat membedakan famili *Enterobacteriaceae* dengan famili *pseudomonadaceae* dan *Vibrionaceae* ialah adanya *flagella* polar pada famili *pseudomonadaceae* dan *Vibrionaceae*. Sedangkan dua genus lainnya, yaitu *Shigella* dan *Klebsiella* bersifat non-motil (Dzen dkk, 2003).

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang (basil), tidak dapat melakukan pergerakan (non motil), merupakan bakteri bersifat fakultatif anaerob, dan dapat memfermentasikan laktosa. Pada test dengan indol, *Klebsiella pneumoniae* akan menunjukkan hasil negatif. *Klebsiella pneumoniae* dapat mereduksi nitrat. *Klebsiella pneumoniae* banyak ditemukan di mulut, kulit, dan sel usus, namun habitat alami dari *Klebsiella pneumoniae* adalah di tanah (Ayuningtyas, 2008).

Basil enterik bisa memiliki kapsul yang jelas seperti yang terlihat pada genus *Klebsiella*, atau sebagai selaput yang tidak jelas disebut *slime layer*, atau sama sekali tidak memiliki kapsul. Fimbria atau fili terdapat pada kebanyakan spesies dan bertanggung jawab pada perlekatan antara bakteri, perlekatan pada sel hospes dan bakteriofaga, dinding selnya terdiri atas murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS) dan tersusun sebagai lapisan-lapisan. Lapisan *murein-lipoprotein* merupakan 20% dari dinding sel dan bertanggung jawab pada rigiditas seluler. Sisanya yang 80% berikatan dengan lipid dan lipoprotein untuk membentuk lipid bilayer. LPS mengandung rantai polisakarida khusus yang menentukan antigenitas dari berbagai spesies dan yang bertanggung jawab terhadap aktivitas endotoksik (Dzen dkk, 2003).

### 2.1.3 Taksonomi

Berdasarkan *National Center For Biotechnology Information*, bakteri *Klebsiella pneumoniae* digolongkan dalam taksonomi sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	:	<i>Bacteria</i>
<i>Phylum</i>	:	<i>Proteobacteria</i>
<i>Class</i>	:	<i>Gamma proteobacteria</i>
<i>Order</i>	:	<i>Enterobacteriales</i>
<i>Family</i>	:	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Genus</i>	:	<i>Klebsiella</i>
<i>Species</i>	:	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

(National Center For Biotechnology Information, 2011)

#### 2.1.4 Struktur Antigen

*Klebsiella* merupakan bakteri yang memiliki dua antigen, yaitu antigen O dan K. Antigen polisakarida K adalah antigen yang paling berguna untuk penggolongan secara serologis (*serologic typing*). Terdapat 77 antigen K yang diketahui dan tidak satupun dari serotip tampak lebih cenderung menyebabkan penyakit tertentu atau lebih virulen dari pada serotip yang lain. Antigen K dari *klebsiella* merupakan kapsul polisakarida yang tampak dengan jelas seperti pada pneumokokus (Dzen dkk, 2003).

Sedangkan antigen O tersusun dari senyawa lipopolisakarida (LPS). LPS terdiri dari dinding sel bakteri enterik terdiri dari 3 *regions* (Dzen dkk, 2003):

- *Regions I* adalah antigen O-spesifik atau antigen dinding sel, merupakan polimer dari unit-unit oligosakarida yang terdiri atas tiga atau empat monosakarida.
- *Regions II* adalah yang melekat pada antigen O, terdiri dari *core polysaccharide* yang konstan terdapat dalam genus tertentu tetapi berbeda antara spesies.
- *Regions III* merupakan lipid A, melekat pada *regions II* melalui 2-keto-3-deoksioktonat (KDO). Unit dasar dari lipid A adalah disakarida yang melekat pada lima atau enam asam lemak. Secara struktural, lipid A mengikatkan LPS ke lapisan murein-lipoprotein dari dinding sel.

Selain bisa digunakan sebagai pertanda serologic, LPS juga dapat berperan sebagai faktor virulensi penting karena toksik (endotoksik). Disamping itu antigen O dapat meningkatkan perlekatan organisme pada hospes. Karbohidrat pada *regions I* dari LPS pada spesies tertentu bakteri enterik berperan pada perlekatan bakteri tersebut ke jaringan hospes pada waktu proses

infeksi dan dapat melindungi bakteri terhadap proses eliminasi oleh komplemen dalam serum (Dzen dkk, 2003).

Penggolongan secara serologis ini juga berguna sebagai sarana epidemiologis untuk investigasi kejadian luar biasa yang disebabkan mikroorganisme ini (Dzen dkk, 2003).

### 2.1.5 Media Selektif Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae*

Semua spesies *Klebsiella* tampak sebagai *lactose-fermenting colonies* pada media diferensial kecuali *Klebsiella ozaenae* dan *Klebsiella rhinoscleromatis*. Semua spesies *Klebsiella* nonmotil. Adanya kapsul yang tebal menyebabkan koloni *Klebsiella* yang tumbuh pada media pembedaan tampak besar, basah, dan mukoid (Dzen dkk, 2003).

### 2.1.6 Patogenesis Infeksi *Klebsiella pneumoniae*

Pertahanan hospes terhadap invasi bakteri tergantung pada fagositosis oleh *polymorphonuclear granulocytes* dan efek bakterisida serum yang sebagian besar dimediasi oleh protein komplemen (Umeh, 2009).

Data terkini dari studi praklinis menunjukkan peran *neutrofil myeloperoxidase* dan *lipopolysaccharide* mengikat protein dalam pertahanan hospes terhadap infeksi *Klebsiella pneumoniae*. *Myeloperoxidase neutrofil* diduga memediasi inaktivasi *oksidatif elastase*, sebuah enzim yang terlibat dalam patogenesis berbagai penyakit yang menghancurkan jaringan. Pengikatan protein *Lipopolysaccharide* memfasilitasi transfer komponen dinding sel bakteri ke sel-sel inflamasi (Umeh, 2009).

Bakteri melawan kekebalan *hospes* melalui beberapa cara. Mereka memiliki kapsul polisakarida, yang merupakan penentu utama pathogenisitas. Kapsul kompleks terdiri dari polisakarida asam. Lapisan yang sangat tebal melindungi bakteri dari fagositosis oleh *polymorphonuclear granulocytes*. Di samping itu, kapsul bakteri mencegah kematian yang disebabkan oleh faktor-faktor serum bakterisida. Hal ini dicapai terutama dengan menghambat aktivasi atau pengambilan komplemen, terutama C3b. Komplemen C3b dapat berupa fimbrial atau nonfimbrial, masing-masing dengan spesifisitas reseptor berbeda. Ini membantu mikroorganisme untuk mematuhi sel inang, yang sangat penting untuk proses infeksi (Umeh, 2009).

*Lipopolysaccharides* (LPS) adalah faktor pathogenisitas bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri mampu mengaktifkan komplemen yang menyebabkan pengendapan selektif C3b ke molekul LPS di lokasi yang jauh dari membran sel bakteri. Hal ini menghambat pembentukan serangan membran kompleks (C5b-C9), yang mencegah kerusakan membran dan kematian sel bakteri (Umeh, 2009).

Selain itu enterotoksin juga memiliki peran tersendiri. Enterotoksin adalah toksin yang biasanya berpengaruh pada usus kecil, menyebabkan pengeluaran cairan ke dalam lumen usus dan terjadinya diare. Toksin ini mirip toksin kolera, sementara yang lain berbeda nyata dalam hal struktur dan cara kerjanya (Dzen dkk, 2003).

Kapsul dari *Klebsiella pneumoniae* seperti halnya pneumokokus berfungsi untuk menghindari fagositosis. Meskipun tipe lain dari antigen K yaitu antigen Vi tidak dapat mencegah fagositosis, namun dapat berfungsi protektif

dengan cara lain untuk mencegah destruksi intraselular terhadap sel bakteri (Dzen dkk, 2003).

### 2.1.7 Manifestasi Klinis *Klebsiella pneumoniae*

Manifestasi Klinis yang didapat jika bakteri *Klebsiella pneumoniae* menyerang manusia adalah (Umeh, 2009):

1. Dapat menyebabkan pembentukan *abses*, *empyema*, dan *pleural adhesions*.
2. Bila menyerang pada *urinary tract* maka dapat menyebabkan *frequency*, *urgency*, *dysuria*, *hesitancy*, *low back pain*, and *suprapubic discomfort*.
3. Pada paru-paru menyebabkan pneumonia.
4. Pada infeksi nosokomial dapat menyebabkan *bacteremia*, infeksi pada luka, *cholecystitis*, dan *catheter-associated bacteriuria*.

### 2.2 Tanaman Kayu Manis

Kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) merupakan tanaman yang berasal dari Indonesia dan Asia Tenggara. Tanaman ini dibudidayakan sebagai rempah-rempah, sebagai hiasan dan sebagai pohon perindang (Wagner dan Herbst, 1995). Kayu manis akan tumbuh baik pada ketinggian 600–1500 mdpl. Tanaman ini banyak dijumpai di Sumatera Barat, Sumatera Utara, Jambi dan Bengkulu dengan tinggi tanaman dapat mencapai 15 m (Rismunandar dan Paimin, 2001).



Gambar 2.1 Pohon Kayu Manis (National Tropical Botanical Garden, 2011)

Manfaat dari kayu manis sudah dikenal luas oleh masyarakat sejak lama. Secara umum, kayu manis memiliki manfaat untuk mengendalikan kadar gula dalam darah, meningkatkan aktivitas otak, menghilangkan jerawat, mengurangi tekanan darah tinggi, meningkatkan kesehatan usus sehingga dapat mengurangi resiko kanker usus, untuk penyegar mulut dan menghilangkan bau mulut, serta untuk gangguan pencernaan, mual muntah, sakit perut, diare dan perut kembung (Rismunandar dan Paimin, 2001).

Tanaman kayu manis mudah tumbuh di daerah pegunungan dari ketinggian 600-1.500 m. Tanaman ini banyak digunakan sebagai rempah-rempah ataupun sebagai tanaman hias. Kayu manis juga merupakan tanaman yang memiliki umur panjang serta dapat tumbuh mencapai 12 m (Haris, 2005).

Tanaman kayu manis dibudidayakan untuk diambil kulit kayunya. Batang dari kayu manis bercabang-cabang dan kulitnya berwarna kelabu, dijual dalam bentuk kering, setelah dibersihkan kulit bagian luar, kemudian dijemur dan digolongkan menurut panjang asal kulit (dari dahan atau ranting) (Haris, 2005).



Gambar 2.2 Kulit Batang Kayu Manis (National Tropical Botanical Garden, 2011)

Daun kayu manis berbentuk lonjong atau bulat telur, berwarna hijau, daun sedangkan daunnya yang muda berwarna merah. Daun kayu manis duduknya bersilang atau dalam rangkaian spiral. Panjangnya sekitar 9–12 cm dan lebar 3,4–5,4 cm, tergantung jenisnya (Rismunandar dan Paimin, 2001).



Gambar 2.3 Daun Kayu Manis (National Tropical Botanical Garden, 2011)

Kayu manis memiliki Bunga berkelamin dua atau bunga sempurna dengan warna kuning, ukurannya kecil. Buahnya adalah buah buni, berbiji satu dan berdaging. Bentuknya bulat memanjang, buah muda berwarna hijau tua dan buah tua berwarna ungu tua (Rismunandar dan Paimin, 2001).



Gambar 2.4 Buah Kayu Manis (National Tropical Botanical Garden, 2011)

### 2.2.1 Taksonomi Kayu Manis

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Superdivisio</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Sub class</i>	: <i>Magnoliidae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Lurales</i>
<i>Family</i>	: <i>Lauraceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Cinnamomum</i>
<i>Species</i>	: <i>Cinnamomum burmannii</i>

(Rismunandar dan Paimin, 2001).

### 2.2.2 Kandungan Tanaman Kayu Manis

Tanaman kayu manis mengandung *tanin* (polifenolat), *flavonoid*, *saponin* (steroid dan triterpnoid), *eugenol*, minyak atsiri (*trepenoid*), dan sebagainya (Hariana, 2007).

### 2.2.2.1 Tanin

*Tanin* merupakan turunan dari substansi fenolik. *Tanin* terbukti memiliki aktivitas menghambat enzim *reverse transkriptase* dan *DNA topoisomerase* (Robinson, 1999). *Tanin* berikatan dengan polisakarida dan larut dalam air (Cowan, 1999).

*Tanin* mempunyai berat molekul 500-5000 Da, mengandung grup hidroksifenol dan membutuhkan *orto-dihidrodisifenol*. *Tanin* terdapat dalam banyak buah dan sayur. Berdasarkan tipe struktur dasar, *tanin* dibagi menjadi 2 grup, yaitu:

1. *Tanin* terhidrolisasi mengandung inti glukosa yang dieterfisai oleh *gallic acid* (disebut sebagai galotannins) atau *hexahydrodyphenic acid* (*ellagitannins*) (Deshpande, 2002).
2. *Tanin* terkondensasi lebih banyak ditemukan daripada *tanin* terhidrolisa. *Tanin* terkondensasi disebut juga *procyanidins* atau *leucoanthocyanidins* karena banyak terdapat bentuk *cyaniding* didalamnya (Deshpande, 2002).

### 2.2.2.2 Flavonoid

*Flavonoid* merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman hijau kecuali alga. *Flavonoid* termasuk senyawa *fenolik* alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. *Flavonoid* dapat ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah. Senyawa-senyawa ini berwarna merah, ungu dan biru dan sebagian zat berwarna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan (Arifin, 1986)

Manfaat *Flavonoid* diantaranya sebagai anti tumor, anti HIV,

*immunostimulant*, antioksidan, analgesik, antiinflamasi, antivirus, antifungal, antidiare, antihepatotoksik, antihiperlikemik, dan sebagai vasodilator (de Padua *et al*, 1999).

*Flavonoid* memiliki efek anti mikroba karena kemampuannya berikatan dengan protein ekstraseluler dan membran sitoplasma dari bakteri. Semakin lipofilik suatu *flavonoid*, maka semakin kuat daya rusak *flavonoid* tersebut terhadap membran sitoplasma bakteri (Tsuchiya *et al*, 1996).

### 2.2.2.3 Saponin

*Saponin* adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan. *Saponin* memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika *saponin* direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. *Saponin* mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter. *Saponin* memiliki rasa pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. *Saponin* merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah. *Saponin* bersifat racun bagi hewan berdarah dingin dan banyak diantaranya digunakan sebagai racun ikan. *Saponin* yang bersifat keras atau racun biasa disebut sebagai *Sapotoksin* (Tsuchiya *et al*, 1996).

*Saponin* diklasifikasikan menjadi 2 yaitu : *saponin steroid* dan *saponin triterpenoid*. *Saponin steroid* tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat (Tsuchiya *et al*, 1996).

*Steroid saponin* dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai *saraponin*. Tipe *saponin* ini memiliki efek anti jamur. Pada binatang menunjukkan penghambatan aktifitas otot polos. *Saponin steroid* diekskresikan

setelah konjugasi dengan asam glukoronida dan digunakan sebagai bahan baku pada proses biosintesis dari obat kortikosteroid.

Senyawa *saponin* dapat bekerja sebagai antibakteri. Senyawa ini akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel bakteri (Arsyi, 2008).

#### 2.2.2.4 Eugenol

*Eugenol* merupakan cairan tidak berwarna atau berwarna kuning-pucat, dapat larut dalam alkohol, eter dan kloroform. Rumus molekul *eugenol* adalah  $C_{10}H_{12}O_2$ . *Eugenol* termasuk senyawa *fenol*, akan bereaksi dengan alkali hidroksida membentuk senyawa *fenolat* yang meningkat kelarutannya dalam air.

Data sifat fisika dari *eugenol* adalah sebagai berikut:

- Berat jenis : 1,0651
- Indeks bias : 1,5410 (20°C)
- Titik didih : 253°C
- Titik nyala : 110°C

Efek *eugenol* sebagai anti mikroba karena dapat merusak langsung membran sel bakteri sekaligus menghambat aktivitas enzim *glucosyltransferase* yang dihasilkan oleh bakteri (Aisyah, 2011).

#### 2.2.2.5 Minyak Atsiri

Minyak atsiri juga dikenal dengan nama minyak mudah menguap atau minyak terbang. Pengertian atau definisi minyak atsiri yang ditulis dalam *Encyclopedia of Chemical Technology* menyebutkan bahwa minyak atsiri merupakan senyawa, yang pada umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari

bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, biji maupun dari bunga dengan cara penyulingan dengan uap (Sastrohamidjojo, 2004).

Minyak atsiri merupakan zat yang berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap, minyak eteris, atau minyak essensial karena pada suhu biasa (suhu kamar) mudah menguap di udara terbuka. Istilah essensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya. Dalam keadaan segar dan murni tanpa pencemaran, minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Namun, pada penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin serta warnanya berubah menjadi lebih tua (gelap). Untuk mencegah supaya tidak berubah warna, minyak atsiri harus terlindung dari pengaruh cahaya, misalnya disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap. Bejana tersebut juga diisi sepenuh mungkin sehingga tidak memungkinkan berhubungan langsung dengan oksigen udara, ditutup rapat serta disimpan ditempat yang kering dan sejuk (Gunawan dan Mulyani, 2004).

### **2.2.3 Pemakaian Dalam Pengobatan**

Kayu manis diketahui memiliki antibakteri. Kayu manis dapat digunakan untuk berbagai macam pengobatan, diantaranya meningkatkan kesehatan usus sehingga dapat mengurangi resiko kanker usus, untuk penyegar mulut dan menghilangkan bau mulut, serta untuk gangguan pencernaan, mual muntah, sakit perut, diare dan perut kembung (Rismunandar dan Paimin, 2001).

## 2.3 Cara Kerja Antimikroba

### 2.3.1 Menghambat Sintesa Dinding Sel

Dinding sel bakteri berfungsi sebagai pelindung osmotik protoplasma di bawahnya dari trauma baik osmotik maupun mekanik. Tekanan osmotik yang tinggi di dalam sel akan mendorong cairan dari dalam sel bakteri sehingga terjadi kebocoran dan kematian sel kuman (Cowman, 1999).

### 2.3.2 Menghambat Fungsi Membran Sel

Membran sel merupakan batas membran dengan bebasnya difusi antara lingkungan dalam dan luar sel. Gangguan dalam keutuhan membran sel tersebut dapat menyebabkan terjadinya kebocoran dan kematian sel, mempengaruhi konsentrasi metabolit dan bahan gizi dalam sel, menghambat proses pernafasan dan aktivitas biosintetis tertentu yang secara keseluruhan mempengaruhi kehidupan sel bakteri itu sendiri (Cowman, 1999).

### 2.3.3 Menghambat Metabolisme Sel Bakteri

Enzim-enzim yang berperan dalam proses metabolisme sering dihambat oleh senyawa-senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa ini bergabung dengan enzim tersebut sehingga mencegah kombinasi substrat-enzim dan reaksi-reaksi katalitik. Sulfonamid berkompetisi dengan PABA (*Para-Amino Benzoic Acid*) untuk diikutsertakan dalam pembentukan asam folat sehingga terbentuk analog asam folat yang non fungsional. Akibatnya kelangsungan hidup bakteri terganggu (Cowman, 1999).

### 2.3.4 Menghambat Sintesa Protein

Sintesa protein merupakan hasil dari 2 proses utama yaitu transkripsi dan translasi. Sintesa protein terjadi pada ribosom. Streptomisin dapat berikatan dengan ribosom 30S sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA dan terbentuk protein abnormal dan non fungsional bagi sel bakteri (Cowman, 1999).

### 2.3.5 Menghambat Sintesa Asam Nukleat

Sintesa asam nukleat erat kaitannya dengan proses duplikasi dan transkripsi. Setiap zat yang mengganggu sintesa ini akan mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme sel bakteri. Rifampisin dapat berkaitan dengan enzim Polymerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut (Cowman, 1999).

## 2.4 Uji Kepekaan Antimikroba

### 2.4.1 Metode Dilusi Tabung

Metode dilusi tabung digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) dari obat antimikroba. Prinsip metode dilusi tabung adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya biakan dari semua

tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen dkk, 2003).

#### 2.4.2 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram adalah sebagai berikut. Obat dijenuhkan ke dalam kertas saring atau cakram kertas. Cakram kertas yang mengandung obat tertentu kemudian ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian dilakukan pengamatan adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen dkk, 2003).

Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolate mikroba sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dua cara sebagai berikut (Dzen dkk, 2003).

- Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji.
- Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambat) disekitar cakram dengan tabel standart yang dibuat oleh NCCLS (National *Comitte for Clinical Laboratory Standart*). Dengan table NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediate dan resisten.

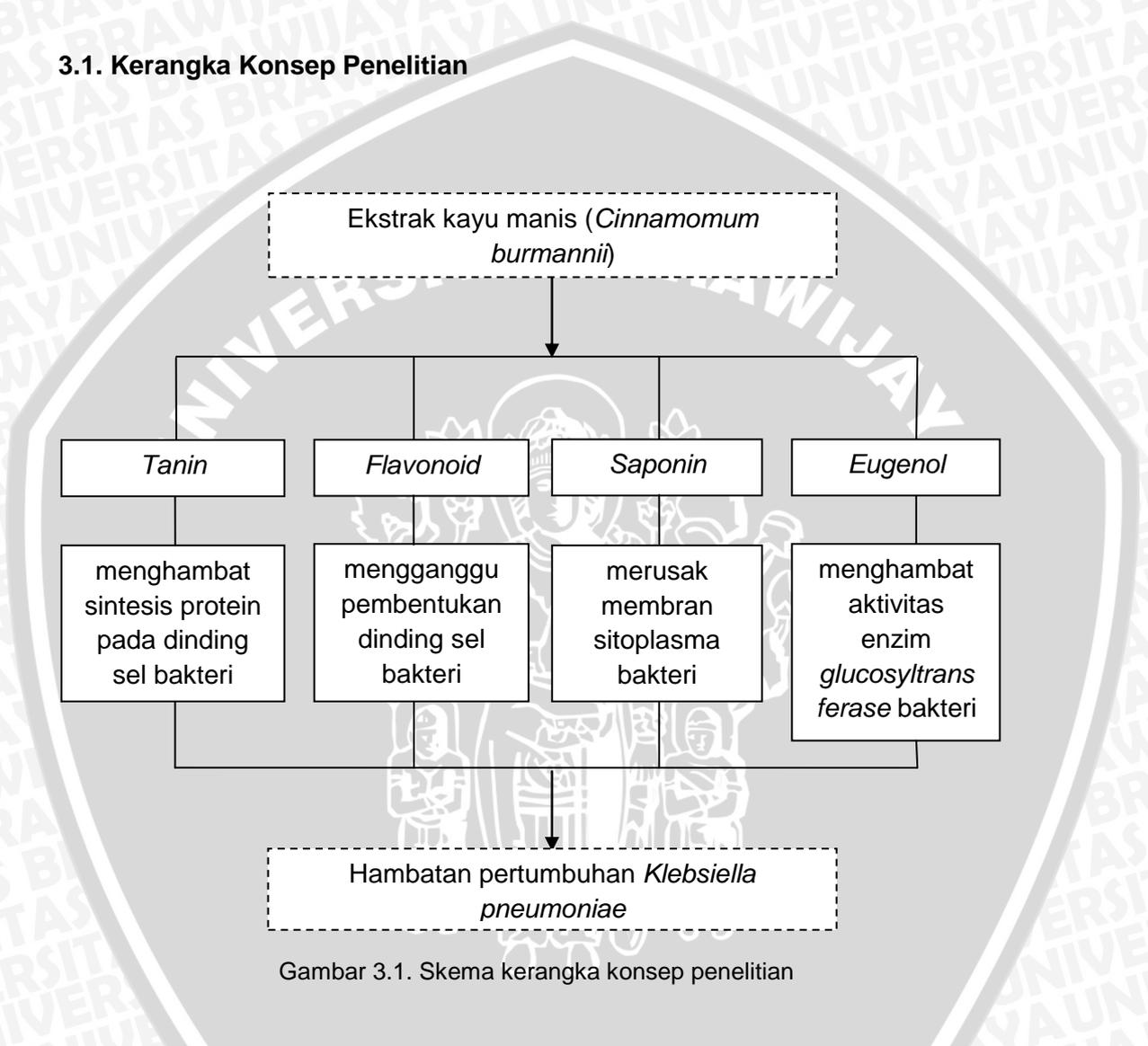
Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar.



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1. Skema kerangka konsep penelitian

Kandungan senyawa aktif biologi yang terdapat dalam kayu manis antara lain adalah *tanin*, *flavonoid*, *saponin*, *eugenol*, dan minyak atsiri. Sehingga kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

*Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit Pneumonia. Pada saat ini Penyakit Pneumonia mulai banyak terjadi di

masyarakat. Pneumonia juga dapat menjadi penyakit yang mematikan apabila tidak di tangani secara cepat dan tepat.

### 3.2. Mekanisme Penghambatan Pertumbuhan Bakteri

*Tanin* memiliki aktivitas antibakteri. Mekanisme tanin sebagai antimikroba adalah dengan mengganggu proses pembentukan dinding sel bakteri, serta dapat berikatan dan menginaktivasi protein adhesin yang terdapat pada reseptor permukaan bakteri.

*Saponin* bersifat merusak membran sel bakteri, dengan cara berikatan dengan kompleks polisakarida pada dinding sel.

*Flavonoid* memiliki efek antimikroba karena memiliki kemampuan membentuk senyawa kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri sehingga mengganggu integritas dan merusak dinding bakteri yang menyebabkan bakteri lisis.

*Eugenol* memiliki efek antimikroba karena dapat merusak langsung membran sel bakteri dan menghambat aktivitas enzim *glucosyltransferase* yang dihasilkan oleh bakteri.

### 3.3. Hipotesis Penelitian

Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki efek antimikroba dengan menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik. Uji antimikroba secara *in vitro* dengan menggunakan *tube dilution test* untuk mengetahui aktivitas ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) sebagai antimikroba terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Proses pengekstrakan kayu manis menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Sedangkan pengujian ekstrak kayu sebagai antimikroba menggunakan metode dilusi tabung. *Tube dilution test* meliputi dua tahap, yaitu tahap pengujian bahan pada media *broth* dan tahap penanaman pada medium NAP (*Nutrient Agar Plate*) dengan metode *streaking* (penggoresan) yang bertujuan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal). Besarnya konsentrasi yang digunakan ditetapkan melalui eksperimen pendahuluan.

#### 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada Tahun 2012.

#### 4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kayu manis dan menggunakan bakteri uji *Klebsiella pneumoniae* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Pada penelitian ini, digunakan 6 dosis konsentrasi perlakuan berbeda serta 1 kontrol positif dan 1 kontrol negatif, sehingga jumlah pengulangan yang digunakan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus estimasi pengulangan sebagai berikut (Loekito, 1998) :

$$7(n-1) \geq 15$$

$$7(n-1) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 22/7$$

$$n \geq 3$$

jadi besarnya pengulangan yang dilakukan adalah 3 kali

keterangan : n = jumlah pengulangan

p= jumlah perlakuan (konsentrasi ekstrak kayu manis)

#### 4.4 Variable Penelitian

##### 4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak kayu manis yang dibuat dengan konsentrasi kadar ekstrak antara lain : 0,3125%; 0,625%; 1,25%; 2,5%; 5%; 10% berdasarkan eksplorasi awal atau penelitian pendahuluan.

##### 4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada medium NAP (*Nutrient Agar Plate*).

## 4.5 Definisi Operasional

### 4.5.1 Ekstrak Kayu Manis

Bagian dari kayu manis yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang kayu manis. Kulit batang kayu manis diperoleh dari kios Bapak Diva, pemilik salah satu kios di Pasar Belimbing Malang. Kulit batang kayu manis yang diperoleh sudah dalam keadaan kering. Kulit batang kayu manis kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk dan diekstrak melalui metode maserasi dengan pelarut *etanol*.

### 4.5.2 *Klebsiella pneumoniae*

Bakteri yang digunakan di dalam penelitian ini adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang berasal dari pasien di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Pada penelitian ini menggunakan 1 isolat bakteri yaitu bakteri *Klebsiella pneumoniae* isolat nomer 6593 spt.

### 4.5.3 Kontrol Bakteri (Kontrol Positif)

Kontrol bakteri (kontrol positif) adalah konsentrasi ekstrak 0 % yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah bakteri yang digunakan terkontaminasi dengan bakteri lain. Kontrol positif berasal dari larutan bakteri uji yang telah distandardisasi dengan standar *Mc Farland* 0,5 sebanyak 2 ml.

#### 4.5.4 Kontrol Bahan (Kontrol Negatif)

Kontrol bahan (kontrol negatif) adalah konsentrasi yang digunakan untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan steril. Kontrol negatif dibuat dengan cara mencampurkan antara ekstrak kayu manis sebanyak 1 ml dengan aquades sebanyak 1 ml.

#### 4.5.5 *Original inoculum*

*Original inoculum* adalah inokulum bakteri dengan konsentrasi  $10^6$  CFU/ml yang diinokulasikan pada media agar padat sebelum diinkubasi, dan digunakan untuk mencari kategori KBM.

### 4.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 4.6.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Kayu Manis:

- Oven
- Timbangan
- Gelas Erlenmeyer
- Kertas saring
- Pendingin spiral/*rotator evaporator*
- Corong gelas
- Labu penampang *etanol*
- Labu evaporator
- Selang water pump
- *Water pump*
- *Water bath*
- *Vacum pump*

- Kayu manis
- Etanol 96%
- Aquades

#### 4.6.2 Alat dan Bahan Untuk Pewarnaan Gram Bakteri :

- Gelas objek
- Kertas penghisap
- Mikroskop
- Bakteri *Klebsiella pneumonia*
- Lugol
- Kristal violet
- Alkohol 96%
- Saffarin
- Air

#### 4.6.3 Alat dan Bahan Untuk Uji Dilusi Tabung :

- Tabung reaksi
- Pipet steril ukuran 1 ml
- Inkubator
- Ekstrak kayu manis
- Karet penghisap
- NAP
- Korek api
- Alat penjepit (*scalpel*) steril
- Vortex
- Pembenihan cairan yang distandarisasikan (NaCl, *broth*)

- Bunsen (lampu spiritus)
- Gelas objek
- Plate kosong dan steril
- *Colony counter*
- Kapas

## 4.7 Rancangan Operasional Penelitian

### 4.7.1 Pembuatan Ekstrak Kayu Manis

- 1) Kayu manis dipotong kecil-kecil dan dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender dan timbang sebanyak 100 gram (sample kering). Ini bertujuan agar senyawa aktif yang terkandung dalam kayu manis dapat larut dalam *etanol 96%*.
- 2) Masukkan 100 gram hasil blenderan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter lalu rendam dengan hasil *etanol 96%* sampai volume 1000cc.
- 3) Kocok sampai benar-benar tercampur kurang lebih 30 menit dan diamkan 1 malam sampai mengendap.
- 4) Setelah itu, lapisan paling atas dari larutan campuran *etanol 96%* dan kayu manis diambil dan diletakkan dalam gelas ekstraksi kemudian di evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator*.
- 5) Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat tergantung dengan kemiringan 30-40° terhadap meja percobaan, dengan susunan dari bawah ke atas : Alat pemanas air, labu penampung hasil, *rotatory evaporator*, dan tabung pendingin.

- 6) Tabung pendingin dihubungkan engan alat pompa sirkulasi air dingin dengan bak penampung air dingin melalui pipa plastik, tabung pendingin juga terhubung dengan pompa vakum dan penampung hasil penguapan.
- 7) Labu penampung hasil evaporasi diisi dengan hasil ekstraksi, kemudian dirangkai kembali.
- 8) *Rotatory evaporator*, alat pompa sirkulasi air dingin dan alat pompa vakum dinyalakan.
- 9) Pemanas aquades dinyalakan juga sehingga hasil ekstraksi dalam tabung penampung evaporasi ikut mendidih dan pelarut *etanol* mulai menguap.
- 10) Hasil penguapan *etanol* akan dikondensasikan menuju labu penampung *etanol* sehingga tercampur dengan hasil evaporasi, sedangkan uap lain tersedot pompa vakum.
- 11) Setelah kental maka prose evaporasi dihentikan dan hasil evaporasi diambil.
- 12) Setelah evaporasi selesai, ekstrak dioven kembali dengan suhu 80°C selama 2 jam karena titik didih *etanol* adalah 78°C. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sisa-sisa *etanol* 96% yang mungkin masih tersisa dalam ekstrak.

#### 4.7.2 Pewarnaan Gram

Prosedur pengecatan gram :

- 1) Membuat sediaan hapusan bakteri pada gelas obyek.

- 2) Sediaan hapusan dituangi Kristal violet selama 1 menit, kemudian sisa Kristal violet dibuang dibilas air.
- 3) Sediaan hapusan dituangi lugol selama 1 menit, kemudian sisa lugol dibuang dan dibilas.
- 4) Sediaan hapusan dituangi alkohol 96% selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur kemudian sisa alkohol 96% dibuang dan bilas dengan air.
- 5) Sediaan hapusan dituangi safranin selama 1/2 menit kemudian sisa safranin dibuang dan dibilas air.
- 6) Sediaan hapusan dikeringkan menggunakan kertas penghisap
- 7) Setelah kering, diamati dibawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 1000x.
- 8) Bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang teramati di bawah mikroskop berupa bakteri basil (batang) Gram negatif.

#### 4.7.3 Tes Identifikasi Bakteri dengan *Microbact 12A*

- 1) Satu koloni bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam diambil dengan menggunakan ose kemudian dilarutkan kedalam 3-5 ml garam fisiologis dalam tabung reaksi steril hingga homogen.
- 2) Larutan bakteri yang telah homogen dimasukkan kedalam sumur *microbact* sebanyak 100  $\mu$  atau 4 tetes untuk sumur lysin, omitin dan H<sub>2</sub>S ditambahkan larutan *mineral oil* sebanyak 1-2 tetes. Setelah itu *microbact* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- 3) *Microbact* yang telah diinkubasi diambil kemudian ditetaskan *reagent* pada sumur nomor 8 dengan *indol kovact* sebanyak 2 tetes, sumur

nomor 10 dengan VIP I dan VIP III masing-masing 1 tetes, dan sumur nomor 12 dengan TDA sebanyak 1 tetes.

- 4) Evaluasi hasil dilihat melalui sumur-sumur *microbact* apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patent Record*.
- 5) Angka-angka oktaf didapatkan dari penjumlahan reaksi positif dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktaf).
- 6) Nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka oktaf yang keluar.

#### 4.7.4 Pembuatan Perbenihan Cair Bakteri Kepadatan $10^6$ bakteri/ml

- 1) Beberapa koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* dipindahkan ke *broth* menggunakan ose.
- 2) Kemudian dilakukan *spektrofotometri* pada tabung reaksi tersebut dengan panjang gelombang 625 nm untuk mengetahui *optical density* dari suspensi. Untuk mendapatkan konsentrasi bakteri sebesar  $10^8$  ml setara dengan  $OD=0,1$ , dilakukan perhitungan sebagai berikut :  $n_1 \times v_1 = n_2 \times v_2$ .

Keterangan :

$n_1$ = nilai absorbansi suspense (hasil *spektrofotometri*)

$n_2$ = OD (setara dengan  $10^8$ /ml)

$v_1$ = volume bakteri yang akan ditambah mengencer

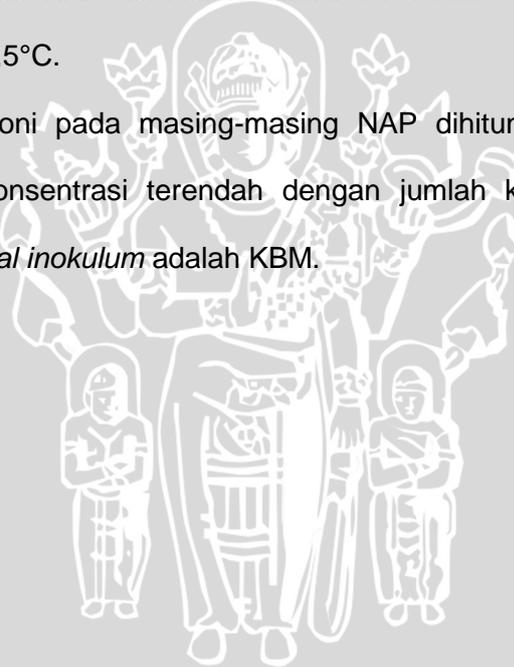
$v_2$ = volume suspense bakteri uji (10ml)

1. Sehingga diperoleh volume (ml) bakteri yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan bakteri dengan konsentrasi  $10^8$ /ml sebanyak 10ml.
2. Setelah diperoleh suspensi bakteri dengan konsentrasi  $10^8$ /ml sebanyak 10ml, selanjutnya dilakukan pengenceran sebanyak 100 kali lebih dengan menggunakan NaCl dan *nutrient broth* sehingga kuman menjadi  $10^6$ /ml.
3. Selanjutnya bakteri telah siap untuk digunakan dalam penelitian.

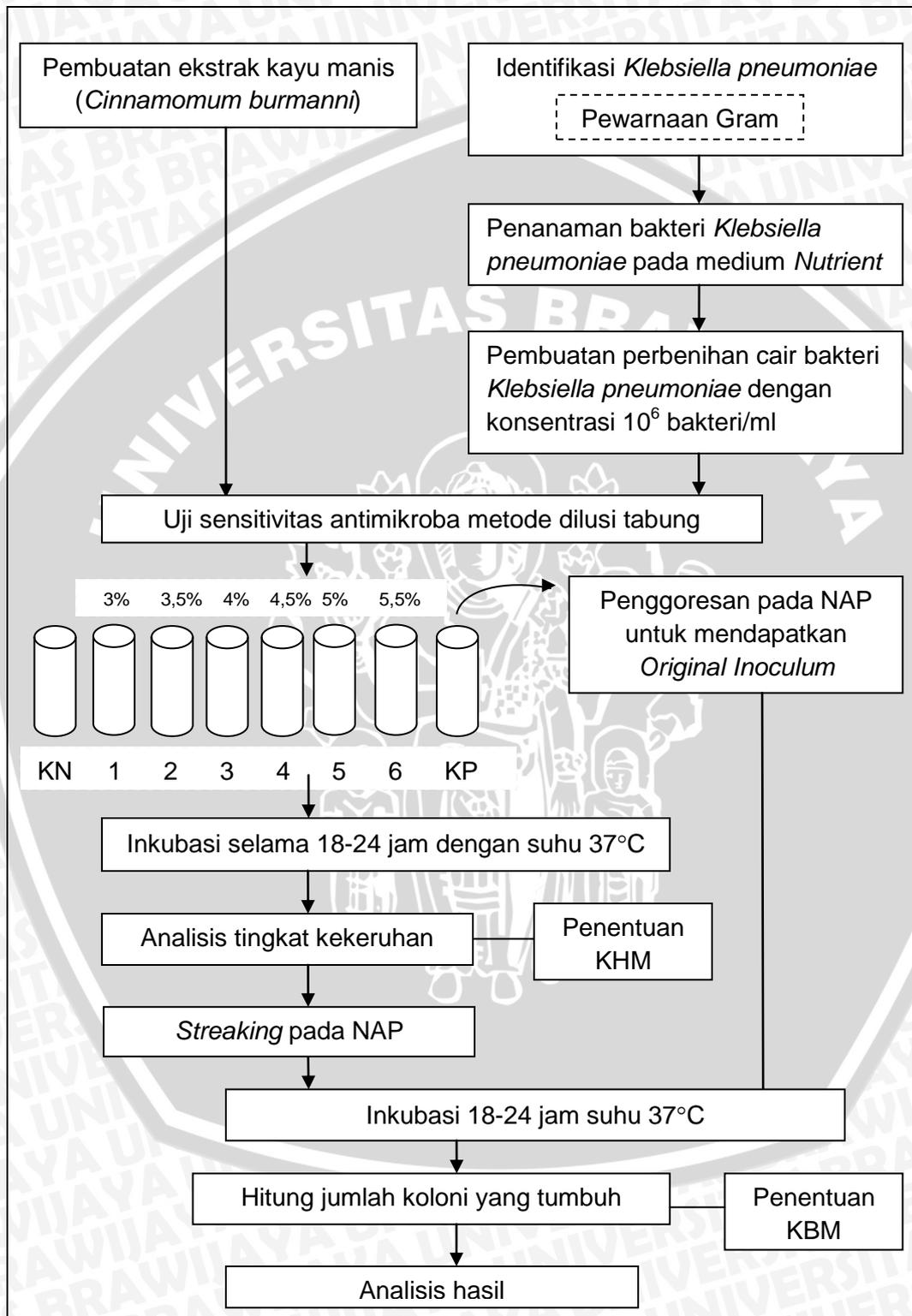
#### 4.7.5 Uji Sensitivitas Antimikroba

- 1) Ekstrak kayu manis disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit agar larutan ekstrak menjadi homogen dan tidak mengendap. Untuk perlakuan yang diambil adalah larutannya.
- 2) Sediakan 8 tabung reaksi steril kemudian diberi label 0% , 0,3125%; 0,625%; 1,25%; 2,5%; 5% dan 10% dan KB (kontrol bahan). Kontrol bahan adalah ekstrak. Konsentrasi ekstrak 0% adalah biakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan konsentrasi  $10^6$  CFU/ml.
- 3) Tabung reaksi 1 diisi dengan 2 ml suspense bakteri.
- 4) Tabung 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 diisi dengan aquades steril sebanyak 0,9968 ml; 0,9937 ml; 0,9875 ml; 0,975 ml; 0,95 ml; 0,9 ml kemudian diisikan dengan ekstrak kayu manis sebanyak 0,03125 ml; 0,00625 ml; 0,0125 ml; 0,025 ml; 0,05 ml; 0,1 ml.
- 5) Selanjutnya ditambahkan suspense bakteri sebanyak 1 ml pada tabung 2-7 sedangkan pada tabung 8 sebagai kontrol bahan ditambahkan 2 ml ekstrak kayu manis.

- 6) Dari tabung reaksi 1 diambil larutan sebanyak 1 ose kemudian dilakukan penggoresan pada NAP untuk membuat *original inoculum*.
- 7) Tabung 1-8 diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37-37,5°C.
- 8) Hari ke-2 semua tabung dikeluarkan dari incubator. Tabung no. 2-7 dibandingkan kekeruhannya dengan tabung no. 1 untuk menentukan KHM lalu dari tabung no. 1-8 diambil larutan sebanyak 1 ose kemudian dilakukan penggoresan pada 8 NAP.
- 9) Untuk mengetahui KBM dilakukan penggoresan tabung hasil inkubasi hari k-2 pada NAP kemudian diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37-37,5°C.
- 10) Jumlah koloni pada masing-masing NAP dihitung dengan *colony counter*. Konsentrasi terendah dengan jumlah koloni kurang dari 0,1% *original inokulum* adalah KBM.



4.7.6 Alur kerja penelitian dapat dilihat pada skema dibawah ini.



Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian

#### 4.8 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan variable numerik dengan satu faktor yang ingin diketahui yaitu perbedaan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dihasilkan pada media NAP berdasarkan faktor perlakuan pemberian ekstrak kayu manis, sehingga uji statistik yang digunakan adalah *One-Way ANOVA* dengan program SPSS 15, dengan taraf signifikansi 0,05 (5%).

Langkah-langkah dalam *One-Way ANOVA* adalah sebagai berikut (Dahlan, 2008) :

a) Memeriksa syarat uji *ANOVA* untuk > 2 kelompok yaitu :

- Sebaran data harus normal
- Varian data harus sama

b) Melakukan analisi *One-Way ANOVA*, untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada setiap perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian ekstrak kayu manis.

Kemudian untuk mengetahui pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak kayu manis terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* maka digunakan uji statistik Kolerasi Pearson-Regresi Linier. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for Windows versi 15.0.

## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Hasil Penelitian

## 5.1.1 Ekstraksi Kayu Manis

Penelitian ini menggunakan kulit batang kayu manis yang diperoleh dari kios milik Bapak Diva, salah satu kios di Pasar Belimbing Malang. Bahan ekstraksi adalah 100 gram kulit batang kayu manis yang kemudian diekstrak melalui metode maserasi dengan pelarut *etanol*. Hasil ekstrak kayu manis sebanyak 20 ml dan ekstrak berwarna coklat tua.

5.1.2 Identifikasi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

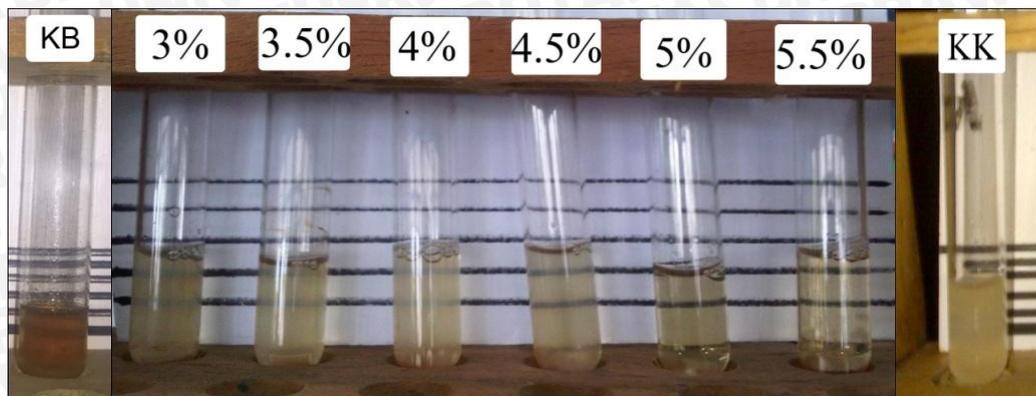
Bakteri yang digunakan di dalam penelitian ini adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang berasal dari pasien di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Pada penelitian ini menggunakan 1 isolat bakteri yaitu bakteri *Klebsiella pneumoniae* isolat nomer 6593 spt. Sampel bakteri diidentifikasi kembali untuk membuktikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Beberapa tes reidentifikasi yang dilakukan antara lain dengan pewarnaan gram dan *Microbact* 12A. Hasil identifikasi bakteri dengan pewarnaan gram yang dilihat secara mikroskopis dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x didapatkan koloni bakteri berbentuk batang (basil), berukuran kecil (0,5x3,0  $\mu\text{m}$ ), bersifat Gram negatif dan tidak membentuk spora. Identifikasi berikutnya adalah menggunakan *Microbact* 12A. Pada identifikasi menggunakan *Microbact* 12A didapatkan hasil ketepatan atau akurasi bakteri *Klebsiella*

*pneumoniae* sebesar 91,65%. Setelah dilakukan serangkaian identifikasi didapatkan hasil bahwa bakteri yang akan digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

### 5.3 Hasil Pengamatan dan Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan enam macam konsentrasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), dengan variasi konsentrasi 3%; 3,5%; 4%; 4,5%; 5%; 5,5%; konsentrasi 0% (kontrol kuman) sebagai kontrol positif dan konsentrasi 10% (kontrol bahan) sebagai kontrol negatif.

Ekstrak kayu manis berwarna coklat tua. Sebelum diencerkan dari 100% menjadi 10% ekstrak sangat kental dan sulit untuk dievaluasi. Namun setelah diencerkan menjadi 10% ekstrak dapat dievaluasi. Pada tabung dengan konsentrasi ekstrak paling tinggi merupakan tabung yang paling jernih. Hal ini disebabkan oleh sudah tidak adanya koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada tabung konsentrasi tertinggi. Sedangkan untuk konsentrasi dibawahnya terlihat semakin kurang jernih, demikian seterusnya. Perbandingan tingkat kejernihan pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Gambar 5.1.



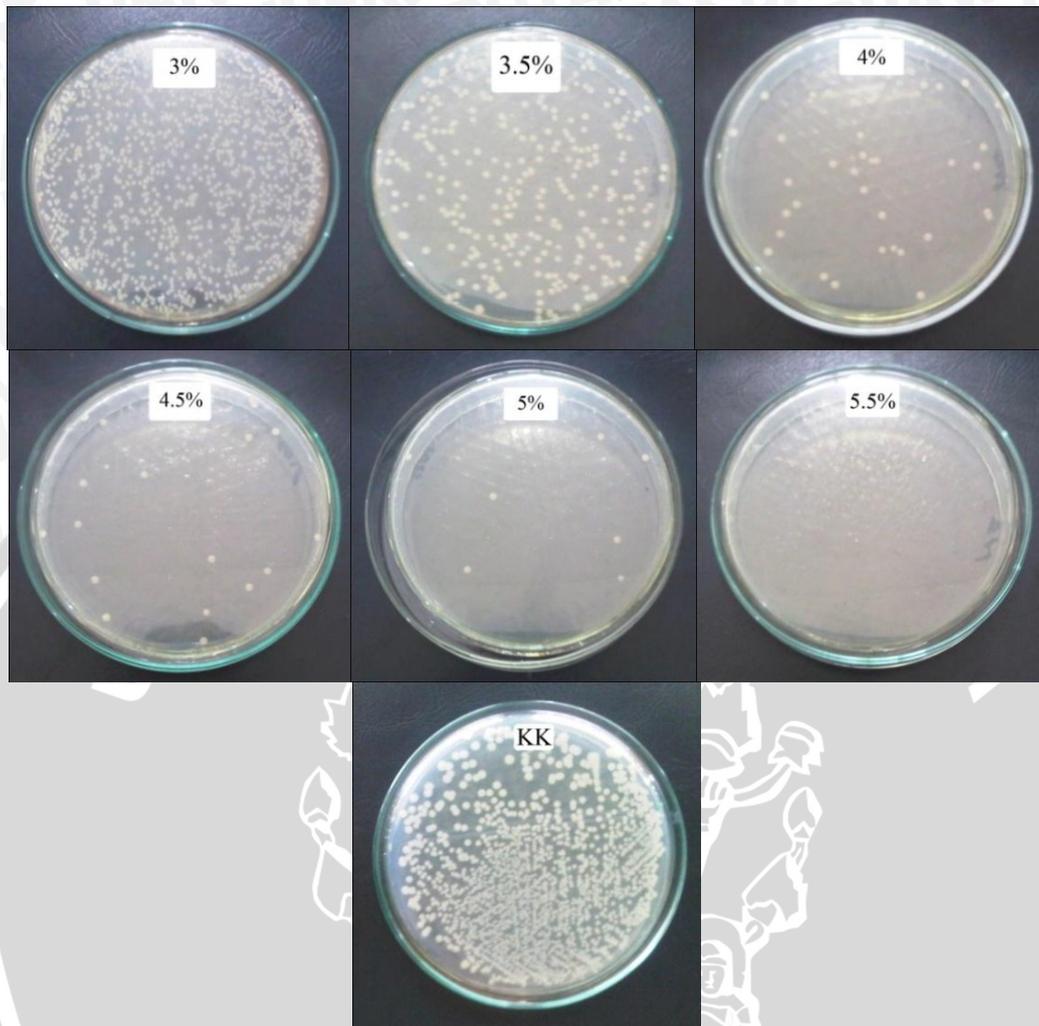
Gambar 5.1. Uji Dilusi Tabung Perbandingan Tingkat Kejernihan Tiap Konsentrasi Ekstrak Setelah Diinkubasi

Keterangan : KK : Kontrol Kuman

KB : Kontrol Bahan

Dari Gambar 5.1. dapat dilihat bahwa dari konsentrasi 3% sampai dengan 4% tidak tampak perbedaan warna yang signifikan dan cenderung sama. Sedangkan pada konsentrasi 4,5% warna tabung mulai jernih. Maka Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak kayu manis terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah konsentrasi 4,5%.

Masing-masing konsentrasi kemudian di streaking pada NAP (*Nutrient Agar Plate*) kemudian diinkubasikan pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan dan perhitungan jumlah pertumbuhan koloni bakteri pada masing-masing *plate*. Hasil pengamatan dapat dilihat pada sampel Gambar 5.2. berikut.



Gambar 5.2. Pertumbuhan koloni *Klebsiella pneumoniae* pada Medium NAP

Pada tabung dengan konsentrasi ekstrak 0% (kontrol positif) dilakukan pengenceran suspensi bakteri dengan larutan NaCl sebanyak 1000x, Sedangkan pada konsentrasi 3%; 3,5%; 4%; 4,5% suspensi bakteri di encerkan sebanyak 100x sebelum dilakukan streaking pada NAP. Hal tersebut dilakukan karena apabila tidak dilakukan pengenceran maka akan didapatkan pertumbuhan koloni bakteri yang sangat padat dan tidak dapat di hitung secara kuantitatif pada *colony counter*, oleh sebab itu pengenceran ini bertujuan untuk memudahkan dalam perhitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada NAP dengan

konsentrasi ekstrak sebenarnya. Selanjutnya masing-masing *plate* dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh dengan menggunakan *colony counter*. Cara perhitungan koloni bakteri tersebut adalah sebagai berikut: pertama dilakukan pengamatan pertumbuhan koloni pada *plate* secara subjektif apakah koloni sangat banyak atau tidak. Apabila sangat banyak maka dipilih 9 kotak yang mewakili masing masing *plate*, jumlah koloni yang didapatkan adalah hasil jumlah koloni dalam 9 kotak dibagi 9 kemudian dikalikan dengan luas *plate* dan dikalikan jumlah pengenceran yang dilakukan. Apabila dalam satu *plate* semua koloni dapat terhitung semua, maka tidak perlu dikalikan luas *plate*. Untuk mengetahui jumlah koloni bakteri pada berbagai kelompok perlakuan maka disajikan dalam Tabel 5.1.

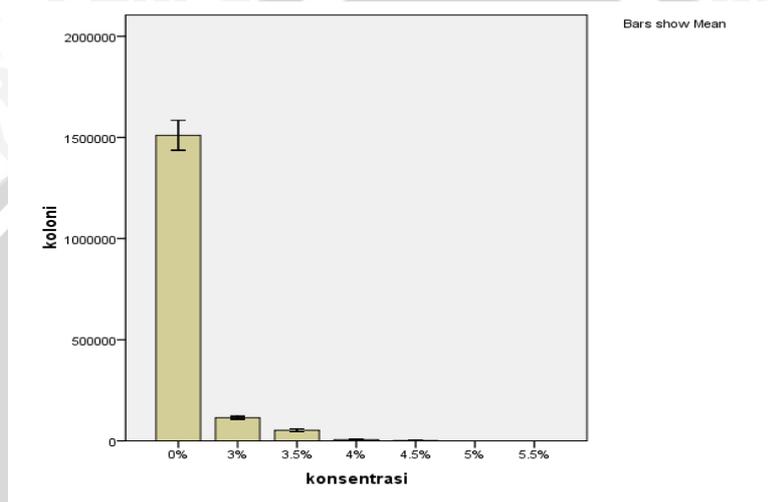
Tabel 5.1. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* pada Medium NAP per ml

Konsentrasi Ekstrak	Pengulangan			Jumlah Koloni	Rata-Rata Koloni
	1	2	3		
0% (KK)	$1.426 \times 10^4$	$1.526 \times 10^4$	$1.580 \times 10^4$	$4.532 \times 10^4$	$1.510,67 \times 10^4$
3%	$1.230 \times 10^3$	$1.086 \times 10^3$	$1.121 \times 10^3$	$3.437 \times 10^3$	$1.145,67 \times 10^3$
3,5%	$566 \times 10^3$	$572 \times 10^3$	$436 \times 10^3$	$1.574 \times 10^3$	$524,67 \times 10^3$
4%	$58 \times 10^3$	$87 \times 10^3$	$41 \times 10^3$	$186 \times 10^3$	$62 \times 10^3$
4.5%	$21 \times 10^3$	$17 \times 10^3$	$14 \times 10^3$	$52 \times 10^3$	$17,33 \times 10^3$
5%	80	60	40	180	60
5.5%	0	0	0	0	0
10% (KN)	0	0	0	0	0
OI	1.500	1.670	1.780	4.950	1.650

Dari pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* tersebut dapat ditentukan Kadar Bunuh Minimal dari ekstrak kayu manis ini yaitu pada jumlah koloni  $<0,1\%$  dari *original inoculum* pada pengulangan 1, pengulangan 2, dan pengulangan 3. Jumlah *original inoculum* bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah 4.950 CFU/plate. Sehingga KBM nya adalah pada konsentrasi 5,5% (0,1% dari jumlah *original inoculum* = 4,95 CFU/plate).

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dihasilkan pada media NAP dalam beberapa konsentrasi ekstrak kayu manis dan kontrol positif (konsentrasi 0%) pada Tabel 5.1. menunjukkan hasil yang cukup bervariasi. Adanya pengaruh pemberian ekstrak kayu manis mulai terlihat dimana jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dihasilkan pada medium NAP menjadi lebih sedikit setelah diberikan perlakuan ekstrak kayu manis mulai pada konsentrasi 3% dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada media NAP kelompok kontrol positif (konsentrasi 0%). Kemudian jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dihasilkan pada media NAP cenderung semakin menurun ketika diberikan konsentrasi yang lebih tinggi. Bahkan pada konsentrasi 5,5% sudah tidak didapatkan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada NAP tersebut. Dengan demikian, berdasarkan penilaian secara deskriptif menurut rata-rata jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dihasilkan pada media NAP tersebut, maka dapat dikatakan bahwa pemberian perlakuan berupa ekstrak kayu manis menunjukkan pengaruh sebagai antimikroba apabila dibandingkan dengan jumlah koloni kontrol kuman.

Adapun perbedaan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dihasilkan pada media NAP secara keseluruhan pada setiap perlakuan diatas juga dapat digambarkan dalam bentuk grafik sebagai tampak pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3. Grafik rata-rata jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak kayu manis

Selanjutnya dari hasil penelitian akan di analisis dengan *One-Way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan sensitivitas tiap variasi konsentrasi ekstrak kayu manis terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*, serta pengujian dengan korelasi dan regresi untuk mengetahui lebih jauh mengenai pengaruh pemberian ekstrak kayu manis tersebut terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

### 5.3 Analisis Data

#### 5.3.1 Uji Asumsi Data

Sebelum dilakukan analisi data terhadap efek pemberian ekstrak kayu manis terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*, diperlukan

pemeriksaan terhadap jumlah koloni bakteri terlebih dahulu diuji untuk normalitas dan homogenitasnya sebagai uji prasyarat agar dapat dilakukan uji *One-Way ANOVA*.

### 5.3.2 Uji Normalitas dan Homogenitas Data

Jika dari hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan distribusi data yang normal ( $p > 0,05$ ) dan uji homogenitas menyatakan bahwa data penelitian homogen ( $p > 0,05$ ), maka dapat dilakukan uji *One-Way ANOVA*. Berdasarkan hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*, distribusi data jumlah koloni bakteri adalah normal ( $p = 0,342$ ) dan berdasarkan hasil uji homogenitas, data homogen ( $p = 0,202$ ). Sehingga data jumlah koloni bakteri dapat dianalisa dengan uji *One-Way ANOVA*.

### 5.3.3 Analisis *One-Way ANOVA*

Uji *One-Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri setelah terpapar oleh ekstrak dengan berbagai konsentrasi. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna jika  $p < 0,05$ . Dari uji *One-Way ANOVA*, terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan jumlah koloni bakteri setelah terpapar oleh ekstrak pada berbagai konsentrasi ( $p = 0,000$ ) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri.

### 5.3.4 Pengujian Berganda (*Multiple Comparisons*)

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi *Post Hoc* untuk melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda.

Dikatakan ada perbedaan jumlah koloni yang bermakna apabila nilai  $p < 0,05$ .

Terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri yang bermakna antara semua kelompok jika dibandingkan satu per satu terhadap konsentrasi 0% ( $p < 0,05$ ; lihat tabel Post Hoc). Namun tidak terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antar konsentrasi 3% dengan konsentrasi 3,5% ( $p = 0,214$ ) dan tidak terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antara konsentrasi 3,5% jika dibandingkan dengan 4%, 4,5%, 5%, dan 5,5% yang berarti bahwa mulai dari dosis 3,5% tidak terdapat penurunan dosis yang bermakna pada peningkatan konsentrasi berikutnya ( $p > 0,05$ ).

### 5.3.5 Pengujian Korelasi

Uji korelasi *Pearson* dilakukan untuk menganalisa hubungan antara variabel dependen (jumlah koloni bakteri) dan variabel independen (konsentrasi ekstrak). Dikatakan terdapat hubungan atau korelasi yang bermakna jika nilai  $p < 0,05$ . Hasil uji korelasi *Pearson* menunjukkan nilai signifikansi (*P-value*) = 0,001 ( $p < 0,05$ ) dan *correlation coefficient* -0,660 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). *Pearson correlation coefficient* ( $r$ ) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi dosis / konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri, serta menunjukkan korelasi yang kuat ( $r = 0,600-0,799$ ).

Note:  $r$  = correlation coefficient, shows the strength of correlation.  
Weak correlation ( $r < 0,500$ ), moderate correlation ( $r = 0,500-0,599$ ), strong correlation ( $r = 0,600-0,799$ ), very strong correlation ( $r > 0,799$ )

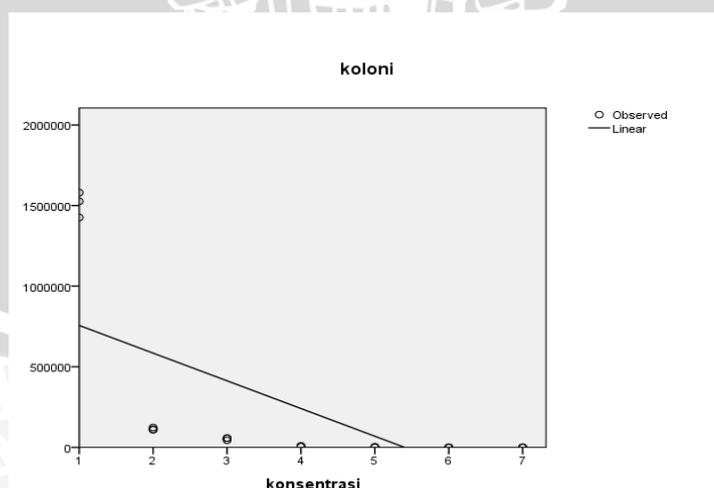
### 5.3.6 Uji Regresi Linier

Uji regresi linier merupakan uji statistik yang dilakukan untuk mengetahui besar pengaruh variable independen (ekstrak dengan berbagai konsentrasi) terhadap variable dependen (jumlah koloni bakteri). Nilai  $R^2$  (*R square*) dari tabel *Model summary* menunjukkan bahwa 43,6% ( $0,436 \times 100\%$ ) dari variabel jumlah koloni bakteri dipengaruhi oleh variable independen yakni paparan ekstrak. Dengan kata lain sebanyak 43,6% bakteri mati dikarenakan oleh paparan ekstrak. Sedangkan 56,4% sisanya kemungkinan mati karena pengaruh paparan ekstrak dan lingkungan. Persamaan garis regresi menggunakan metode kuadrat terkecil (*least square method*) yang di dapat adalah:

$$y = 928.213,429 - 171.851,952x$$

Keterangan:  $y$  = jumlah koloni bakteri;  
 $x$  = konsentrasi ekstrak

Adapun bentuk kurva dari persamaan regresi di atas adalah sebagai berikut:



Gambar 5.4 Grafik linieritas ekstrak kayu manis (*Cinnamomum Burmannii*) terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada setiap perlakuan

Dari gambar 5.4. terlihat bahwa garis regresi antara pemberian ekstrak kayu manis dengan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada medium NAP mengarah ke kanan bawah. Hal tersebut menunjukkan adanya linieritas dari pemberian ekstrak kayu manis terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada medium NAP. Artinya, peningkatan perlakuan berupa pemberian konsentrasi kayu manis cenderung akan menurunkan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada medium NAP, dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi yang lebih rendah maupun pada kelompok kontrol.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kayu manis terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung (*tube dilution test*). Dengan metode ini dapat ditentukan Kadar Hambar Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Penelitian ini menggunakan sampel bakteri dari stok kultur yang tersimpan di laboratorium Mikrobiologi FKUB. Sampel bakteri diidentifikasi terlebih dahulu untuk membuktikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Tes identifikasi yang dilakukan adalah dengan pewarnaan gram dan identifikasi menggunakan *Microbact 12A*.

Kayu manis yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang kayu manis yang diekstraksi *maserasi* dengan pelarut *etanol* 96%. *Etanol* 96% dipilih karena efek antimikroba yang didapat bukan berasal dari *etanol*, hal ini disebabkan ekstrak telah mengalami proses evaporasi dan oven pada suhu 80<sup>0</sup> celcius selama 2 jam sedangkan titik didih *etanol* 78<sup>0</sup> celcius, sehingga *etanol* 96% yang mungkin tersisa didalam ekstrak telah hilang (Siswandono, 1995).

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap penelitian untuk mendapatkan konsentrasi perlakuan. Dari ketiga tahap tersebut didapatkan konsentrasi 3%; 3,5%; 4%; 4,5%; 5%; dan 5,5% sebagai konsentrasi perlakuan. Dari konsentrasi

perlakuan didapatkan konsentrasi 5,5% sebagai Kadar Bunuh Minimum (KBM). Sedangkan Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak kayu manis terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah konsentrasi 4,5%.

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri ini kemudian dianalisis dengan software SPSS 15, menggunakan uji statistik *One-way ANOVA*, Uji korelasi, dan Uji regresi. Dari uji *One-way ANOVA*, didapatkan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan efek antimikroba pada pemberian ekstrak kayu manis pada berbagai perlakuan terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada medium NAP. Dari Uji Korelasi didapatkan nilai signifikan  $p = 0,001$  dan koefisien korelasi  $-0,660$  yang berarti pemberian ekstrak kayu manis mempunyai hubungan (korelasi) yang kuat dengan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Pearson correlation coefficient* ( $r$ ) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri. Kemudian dari Uji Regresi dapat diketahui seberapa besar pengaruh pemberian ekstrak kayu manis terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Hasil persamaan regresi liniernya adalah  $Y = 928.213,429 - 171.851,952x$ , dimana  $Y$  adalah jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang dihasilkan pada medium NAP, sedangkan  $x$  adalah perlakuan pemberian ekstrak kayu manis.

Efek antimikroba kayu manis terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* disebabkan oleh zat-zat aktif yang terdapat didalam ekstrak kayu manis, diantaranya adalah *tanin*, *flavonoid*, *saponin* dan *eugenol*. Mekanisme tanin sebagai antimikroba adalah dengan mengganggu proses pembentukan dinding sel. *Saponin* bersifat merusak membran sel bakteri, dengan cara berikatan dengan kompleks polisakarida pada dinding sel. Kemudian *flavonoid* memiliki

kemampuan mengganggu integritas dan merusak dinding bakteri yang menyebabkan bakteri lisis. Dan *eugenol* dapat merusak langsung membran sel bakteri dan menghambat aktivitas enzim *glucosyltransferase* yang dihasilkan oleh bakteri.

Ada beberapa penelitian yang dilakukan terkait dengan ekstrak kayu manis, diantaranya penelitian oleh Barito (2011) yang meneliti tentang uji ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* diperoleh Kadar Bunuh Minimal (KBM) pada konsentrasi ekstrak 11% sedangkan Kadar Hambat Minimum (KHM) tidak diperoleh. Serta penelitian oleh Kurniati (2012) yang meneliti tentang uji ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) kode isolat M2036T secara *in vitro* diperoleh Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 0,25% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) pada konsentrasi 0,5%.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis, didapatkan bahwa ekstrak kayu manis mempunyai efek antimikroba terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Hal ini diperkuat dengan adanya hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Barito dan Kurniati. Hasil validitas internal penelitian yang tinggi menunjukkan hubungan yang kuat antar variabel saat dilakukan uji statistik.

Dengan melihat fakta dari hasil penelitian yakni adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diperkuat dengan adanya data bahwa kayu manis mengandung bahan aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*, maka dapat dikatakan bahwa kayu manis terbukti efektif sebagai

antimikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesa yang disusun sebelumnya benar.

Keterbatasan pada penelitian ini antara lain pada metode pembuatan ekstrak kayu manis ini bersifat sederhana, sehingga proporsi jumlah bahan aktif yang terkandung didalamnya juga tidak diketahui secara pasti. Bahan aktif pada ekstrak kayu manis yang menjadi penghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* tidak diketahui secara pasti, bahan aktif manakah yang berperan memiliki peran paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Selain itu, tidak adanya standarisasi pembuatan ekstrak bahan alam mengakibatkan ada kemungkinan apabila dilakukan di laboratorium yang berbeda, maka ekstrak yang dihasilkan kemungkinan memiliki efek yang berbeda. Kemungkinan yang lain adalah adanya variasi biologis dari masing-masing kayu manis yang ditanam di suatu daerah mungkin efeknya tidak sama dengan yang ditanam di daerah lainnya. Faktor lain yang mempengaruhi adalah lamanya penyimpanan. Semakin lama disimpan, sensitivitas ekstrak kemungkinan efek antimikrobanya dapat menurun ataupun meningkat. Oleh karena itu, untuk penelitian-penelitian selanjutnya perlu adanya standarisasi, baik dari pemilihan bahan yang digunakan (kayu manis), alat ekstraksi serta lamanya masa simpan (jangka waktu ekstrak masih dapat digunakan sebagai antimikroba) sehingga apabila dilakukan penelitian yang sama di tempat yang berbeda akan didapatkan hasil yang sama.

Aplikasi klinis yang memungkinkan dari penelitian ini adalah penggunaan ekstrak kayu manis secara sistemik untuk pengobatan *pneumonia* akibat infeksi bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Namun untuk penggunaan secara sistemik tersebut, masih memerlukan penelitian lebih lanjut dengan pengujian pada

hewan coba maupun pengujian pada manusia (uji klinik). Sebelum calon obat baru dicobakan pada manusia, dibutuhkan waktu untuk meneliti sifat farmakodinamik, farmakokinetik dan efek toksiknya pada hewan coba. Dalam studi farmakodinamik ini tercakup pengembangan teknik analisis untuk mengukur kadar senyawa tersebut dan metabolitnya dalam cairan biologis. Semuanya diperlukan untuk memperkirakan dosis efektif dan memperkecil resiko penelitian pada manusia. Studi toksikologi pada hewan umumnya dilakukan 3 tahap yaitu penelitian toksisitas akut bertujuan mencari dosis tunggal yang membunuh 50% sekelompok hewan coba (*Lethal Dose 50*), penelitian toksisitas jangka panjang bertujuan meneliti efek toksisitas khusus meliputi penelitian terhadap system reproduksi termasuk teratogenitas, uji karsinogen, dan uji mutagenesis, serta uji fase I sampai IV. Pada dasarnya uji klinik tersebut bertujuan untuk memastikan keamanan, dan gambaran efek samping yang sering timbul pada manusia akibat pemberian suatu obat (Setiawati, 2007), dalam hal ini adalah obat yang berasal dari kandungan zat pada kayu manis.



## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terbukti memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro*, yang ditunjukkan dengan :

7.1.1 Didapatkan *dose-effect relationship* yang signifikan dari Uji Korelasi *Pearson*, hal ini dibuktikan dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak kayu manis mengakibatkan semakin rendah jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

7.1.2 Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah masing-masing pada konsentrasi 4,5% dan 5,5%.

#### 7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini adalah :

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui prosentase masing-masing bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*).
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bahan aktif apa yang paling berperan sebagai antimikroba pada ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*).

- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antimikroba kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) pada bakteri lain.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat efektivitas ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) secara *in vivo* (pada hewan coba dan uji klinik) sebelum digunakan sebagai alternatif pengobatan di masyarakat.
- Perlu ada standarisasi dalam pembuatan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), maupun dalam pemilihan bahan serta lama masa simpan ekstrak yang masih dapat digunakan sebagai antimikroba.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, S. 2011. Perbedaan Daya Hambat Pasta Gigi yang Mengandung Propolis dan Bunga Cengkeh Terhadap *Streptococcus mutans* (in vitro)
- Arifin, A. S. 1986. Materi Pokok Kimia Organik Bahan Alam. Jakarta : Karunia.
- Arsyi, IA. 2008. Uji aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Dan Arbenan (*Duchesnea Indica Andr.Focke*) terhadap *Staphylococcus Aureus* dan *Pseudomonas Aeruginosa* Multiresisten Antibiotik beserta Profil Kromatografi Lapisan Tipisnya
- Ayuningtyas, F. 2008. *Klebsiella pneumonia*. <http://mikrobia2.files.wordpress.com/2008/05/klebsiella-pneumoniae.pdf>. Diakses tanggal 3 Desember 2011.
- Barito, A.T. 2011. Uji Ekstrak Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*.
- Cowman, M.M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10515903>. Diakses tanggal 11 Desember 2011.
- De Padua, L.S., Lugod G.C., Pancho J.V. 1990. *Handbook on Philippine Medical Plants*. Philippine : Laguna
- Deshpande, S.S. 2002. *Handbook of Food Toxicology*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Dzen, S.M., Roekistinginsih., Santoso, S., Winarsih, S. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Gunawan, D., Mulyani, S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jakarta : Swadaya.
- Hariana, A. 2007. *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya*. Jakarta : Swadaya.
- Jawetz, M., Adeelberg's. 2005. *Medical Microbiology 22nd edition*. Jakarta : Salemba Medika.

Kurniati, N.T. 2012. Uji Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Sebagai Antimikroba Terhadap Pertumbuhan *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Kode Isolat M2036T secara *In Vitro*.

Loekito, H. 1998. *Rancangan Penelitian Suatu Pengantar*. FKIP. Malang.

National Center For Biotechnology Information. 2011. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=573&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>. Diakses tanggal 11 Desember 2011.

National Tropical Botanical Garden. 2011. [http://www.ntbg.org/plants/plant\\_details.php?plantid=2799](http://www.ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=2799). Diakses tanggal 15 Desember 2011.

Podschun, R., Ullmann, U. 1998. *Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9767057>. Diakses tanggal 4 Desember 2011.

Rismunandar., Paimin, F.B. 2001. Kayu Manis Budi Daya dan Pengolahan, Edisi Revisi. Jakarta : Swadaya.

Satrohamidjojo, H. 2004. Kimia Minyak Atsiri. Yogyakarta : Gama Press.

Setiawati, A. Suyatna F.D., Muchtar A., Darmansjah I., Estuningtyas A., Syarif A. 2007. Farmakologi dan Terapi Edisi 5. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta : Penerbit Gaya Baru Hal 24-25.

Siswandono, S.B. 1995. Kimia medisinal. Surabaya: Airlangga University .

Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T., Iinuma, M. 1996. *Comparative Study on the Antibacterial Activity of Phytochemical Flavones against MRSA*. *J. Ethnopharmacol.* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8778504>. Diakses tanggal 23 Desember 2011.

Umeh, Obiamiwe. 2009. *Klebsiella Infections*. <http://emedicine.medscape.com/article/219907-overview>. Diakses tanggal 12 Desember 2011.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Pernyataan Keaslian Tulisan

#### PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Putu Agustya Wiratmaja

NIM : 0910713025

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya,

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 02 November 2012

Yang membuat pernyataan,



Putu Agustya Wiratmaja  
NIM : 0910713025

### Lampiran 2 (L2) Alat Dan Bahan



Gambar L2.1 Mikroskop



Gambar L2.2 Spektrofotometri



Gambar L2.3 Vortex



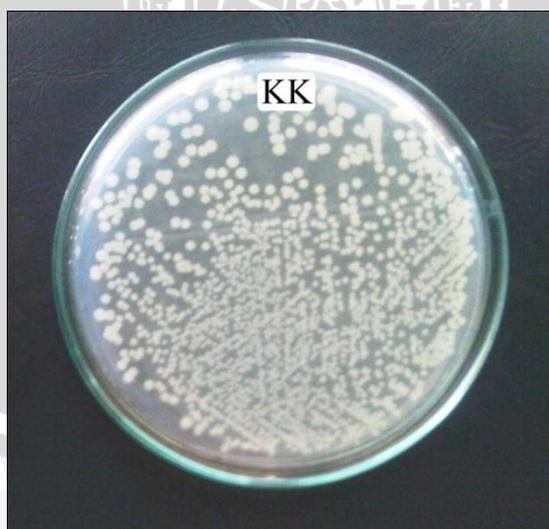
Gambar L2.4 Kulit batang kayu manis

Lampiran 3 (L3) Identifikasi Bakteri dan Hasil Penelitian



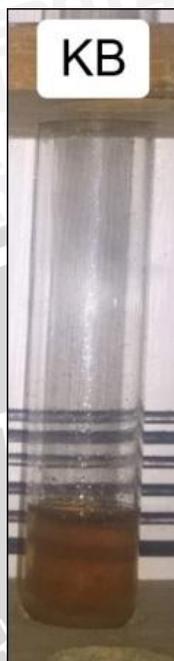
Gambar L3.1 Hasil Inkubasi Kontrol Kuman Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Kontrol kuman setelah diinkubasi nampak keruh



Gambar L3.2 Koloni bakteri pada Medium NAP

Koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh berwarna kuning



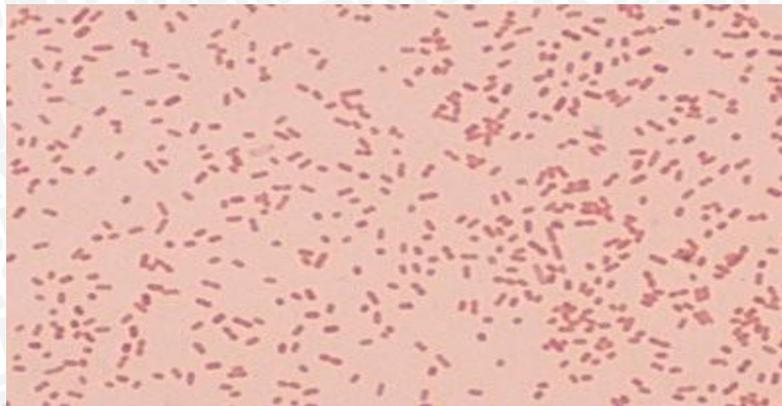
**Gambar L3.3 Kontrol Bahan Ekstrak Kayu Manis**

Kontrol bahan berwarna coklat tua



**Gambar L3.4 Ekstrak Kayu Manis**

Ekstrak kayu manis berwarna coklat tua



Gambar L3.5 Pewarnaan Gram

Pada pengamatan di bawah mikroskop bakteri *Klebsiella pneumoniae* gram negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora dan berwarna merah

OXOID MICROBACT™ IDENTIFICATION KITS

MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E

5006.

GNB 24E																											
GNB 12A / 12E										GNB 12B																	
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine	
		+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-													
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	
			4		7		5		4																		
Identification / Identificación / Identifikation / Identificazione / Identifikation / Identifizierung / Identificação / Тармақтыру K. pneumoniae 91,65%.																											

Gambar L3.6 Identifikasi *Microbact* 12A

Pada identifikasi menggunakan *Microbact* 12A didapatkan hasil ketepatan atau akurasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebesar 91,65%

Lampiran 4 Uji Statistik

Descriptives

koloni

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0%	3	1.51E6	78136.632	4.511E4	1316564.51	1704768.82	1426000	1580000
3%	3	1.15E5	7510.215	4336.025	95910.26	133223.08	108600	123000
3.5%	3	5.25E4	7684.617	4436.716	33377.02	71556.31	43600	57200
4%	3	6200.00	2325.941	1342.882	422.04	11977.96	4100	8700
4.5%	3	1733.33	351.188	202.759	860.93	2605.73	1400	2100
5%	3	6.00	2.000	1.155	1.03	10.97	4	8
5.5%	3	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
Total	21	2.41E5	533330.051	1.164E5	-1963.31	483574.55	0	1580000

UJI NORMALITAS KOLMOGOROV SMIRNOC

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		koloni
N		21
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.41E5
	Std. Deviation	5.333E5
Most Extreme Differences	Absolute	.445
	Positive	.445
	Negative	-.326
Kolmogorov-Smirnov Z		2.037
Asymp. Sig. (2-tailed)		.342
a. Test distribution is Normal.		



UJI HOMOGENITAS DATA

Test of Homogeneity of Variances

koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.664	6	14	.202

UJI BEDA ONE WAY ANOVA

ANOVA

koloni

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.676E12	6	9.461E11	1.064E3	.000
Within Groups	1.245E10	14	8.895E8		
Total	5.689E12	20			

UJI MULTIKOMPARASI POST.HOC TUKEY

Multiple Comparisons

koloni

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0%	3%	1396100.000 <sup>*</sup>	2.435E4	.000	1312950.57	1479249.43
	3.5%	1458200.000 <sup>*</sup>	2.435E4	.000	1375050.57	1541349.43
	4%	1504466.667 <sup>*</sup>	2.435E4	.000	1421317.23	1587616.10
	4.5%	1508933.333 <sup>*</sup>	2.435E4	.000	1425783.90	1592082.77
	5%	1510660.667 <sup>*</sup>	2.435E4	.000	1427511.23	1593810.10
	5.5%	1510666.667 <sup>*</sup>	2.435E4	.000	1427517.23	1593816.10
3%	0%	-1.396E6 <sup>*</sup>	2.435E4	.000	-1479249.43	-1312950.57



	3.5%	62100.000	2.435E4	.214	-21049.43	145249.43
	4%	108366.667	2.435E4	.008	25217.23	191516.10
	4.5%	112833.333	2.435E4	.005	29683.90	195982.77
	5%	114560.667	2.435E4	.005	31411.23	197710.10
	5.5%	114566.667	2.435E4	.005	31417.23	197716.10
3.5%	0%	-1.458E6	2.435E4	.000	-1541349.43	-1375050.57
	3%	-62100.000	2.435E4	.214	-145249.43	21049.43
	4%	46266.667	2.435E4	.511	-36882.77	129416.10
	4.5%	50733.333	2.435E4	.411	-32416.10	133882.77
	5%	52460.667	2.435E4	.375	-30688.77	135610.10
	5.5%	52466.667	2.435E4	.375	-30682.77	135616.10
4%	0%	-1.504E6	2.435E4	.000	-1587616.10	-1421317.23
	3%	-108366.667	2.435E4	.008	-191516.10	-25217.23
	3.5%	-46266.667	2.435E4	.511	-129416.10	36882.77
	4.5%	4466.667	2.435E4	1.000	-78682.77	87616.10
	5%	6194.000	2.435E4	1.000	-76955.43	89343.43
	5.5%	6200.000	2.435E4	1.000	-76949.43	89349.43
4.5%	0%	-1.509E6	2.435E4	.000	-1592082.77	-1425783.90
	3%	-112833.333	2.435E4	.005	-195982.77	-29683.90
	3.5%	-50733.333	2.435E4	.411	-133882.77	32416.10
	4%	-4466.667	2.435E4	1.000	-87616.10	78682.77
	5%	1727.333	2.435E4	1.000	-81422.10	84876.77
	5.5%	1733.333	2.435E4	1.000	-81416.10	84882.77
5%	0%	-1.511E6	2.435E4	.000	-1593810.10	-1427511.23
	3%	-114560.667	2.435E4	.005	-197710.10	-31411.23
	3.5%	-52460.667	2.435E4	.375	-135610.10	30688.77
	4%	-6194.000	2.435E4	1.000	-89343.43	76955.43
	4.5%	-1727.333	2.435E4	1.000	-84876.77	81422.10
	5.5%	6.000	2.435E4	1.000	-83143.43	83155.43
5.5%	0%	-1.511E6	2.435E4	.000	-1593816.10	-1427517.23
	3%	-114566.667	2.435E4	.005	-197716.10	-31417.23
	3.5%	-52466.667	2.435E4	.375	-135616.10	30682.77



4%	-6200.000	2.435E4	1.000	-89349.43	76949.43
4.5%	-1733.333	2.435E4	1.000	-84882.77	81416.10
5%	-6.000	2.435E4	1.000	-83155.43	83143.43

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**koloni**

Tukey HSD

konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5.5%	3	.00		
5%	3	6.00		
4.5%	3	1733.33		
4%	3	6200.00		
3.5%	3	5.25E4	5.25E4	
3%	3		1.15E5	
0%	3			1.51E6
Sig.		.375	.214	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

**UJI KORELASI PEARSON**

**Correlations**

		konsentrasi	koloni
konsentrasi	Pearson Correlation	1	-.660**
	Sig. (2-tailed)		.001
	N	21	21



koloni	Pearson Correlation	-.660**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	
	N	21	21

\*\* . Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

### UJI REGRESI LINIER

#### Variables Entered/Removed<sup>p</sup>

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	konsentrasi <sup>a</sup>		. Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: koloni

#### Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.660 <sup>a</sup>	.436	.406	410906.508

a. Predictors: (Constant), konsentrasi

#### ANOVA<sup>p</sup>

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	2.481E12	1	2.481E12	14.693	.001 <sup>a</sup>
	Residual	3.208E12	19	1.688E11		
	Total	5.689E12	20			

a. Predictors: (Constant), konsentrasi

b. Dependent Variable: koloni

Coefficients<sup>a</sup>

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	928213.429	200501.845		4.629	.000
	konstraksi	-171851.952	44833.576	-.660	-3.833	.001

a. Dependent Variable: koloni

Grafik Linearitas

