

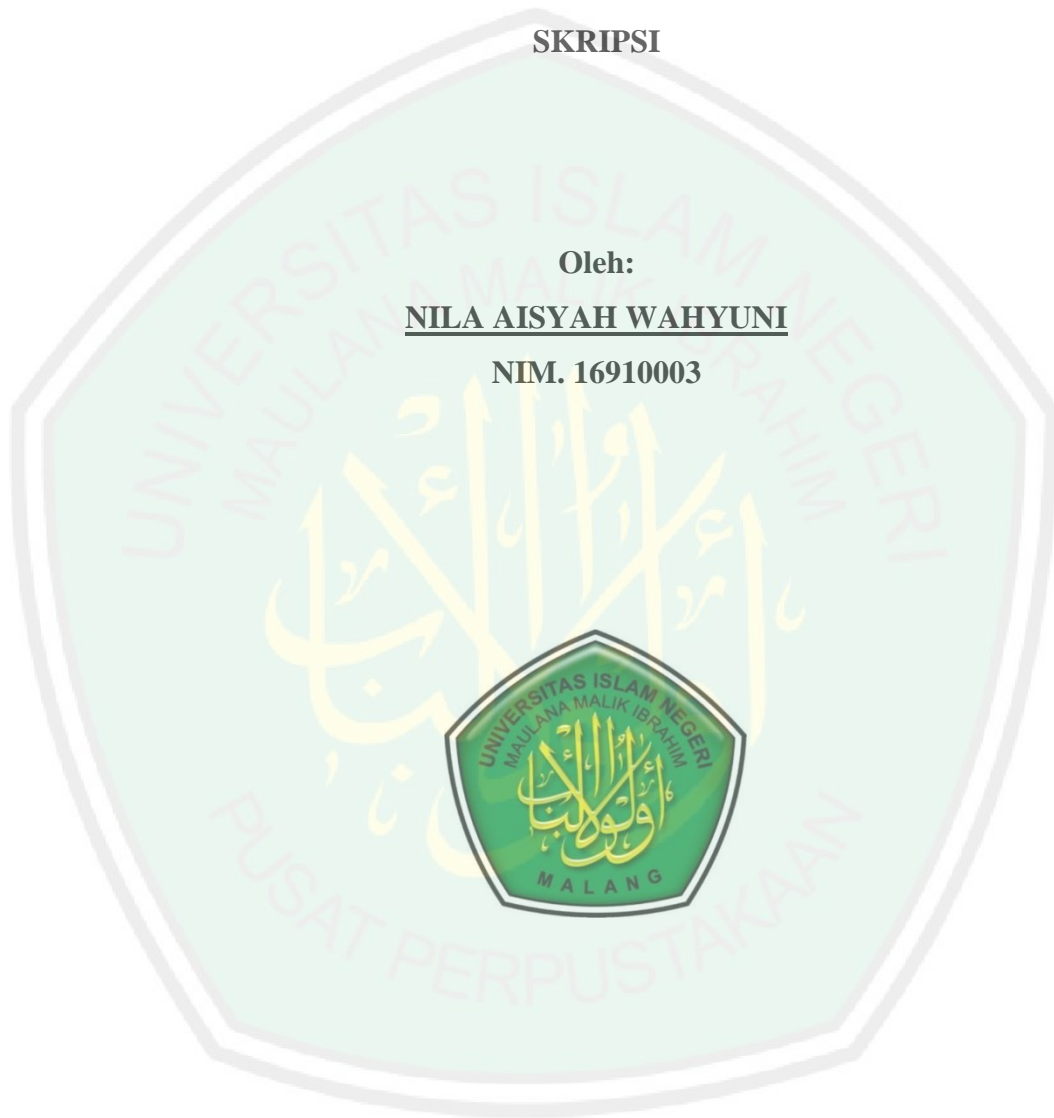
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUNGA CENGKEH
(*Syzygium aromaticum*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh:

NILA AISYAH WAHYUNI

NIM. 16910003



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG**

2020

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUNGA CENGKEH
(*Syzygium aromaticum*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA IN VITRO**

SKRIPSI



Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar
Sarjana Kedokteran (S. Ked)
oleh:
NILA AISYAH WAHYUNI
NIM. 16910003

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG

2020

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUNGA CENGKEH
(*Syzygium aromaticum*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

oleh:

NILA AISYAH WAHYUNI
NIM. 16910003

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 8 Mei 2020

Pembimbing 1

Pembimbing 2



dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed
NIP. 198310242011012007



dr. Alvi Milliana, M.Biomed
NIP. 198204042011012011

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed
NIP. 198310242011012007

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUNGA CENGKEH
(*Syzygium aromaticum*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA IN VITRO**

SKRIPSI





oleh:

NILA AISYAH WAHYUNI
NIM. 16910003

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima
sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar

Sarjana Kedokteran (S. Ked)

Tanggal: 8 Mei 2020

Penguji Utama	<u>dr. Abdul Malik Setiawan, M.Infect.Dis</u> NIP. 198501092011011011	
Ketua Penguji	<u>dr. Alvi Milliana, M.Biomed</u> NIP. 198204042011012011	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed</u> NIP. 198310242011012007	
Penguji Integrasi Islam	<u>Nur Toifah, M.Pd</u> NIP. 19810915201802012216	

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Nurlaili Susanti, M. Biomed
NIP. 19831024201101 2 007



HALAMAN PERSEMBAHAN

Untuk ayah, mama dan adik laki-lakiku,
keluarga kecil kocak yang selalu mewarnai hidupku.

Untuk ikan-ikanku yang selalu membuatku tersenyum saat bertemu dan
selalu mendinginkan kepalaku.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nila Aisyah Wahyuni

NIM : 16910003

Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 April 2020

Yang membuat pernyataan,



Nila Aisyah Wahyuni
NIM. 16910003

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara In Vitro** sebagai syarat untuk menyelesaikan studi di Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.

Dengan selesainya skripsi ini, penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih seiring doa dan harapan yang baik kepada:

1. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-RE (K) dan dilanjutkan oleh Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M.Kes, Sp.Rad (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. dr. Nurlaili Susanti, M. Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus dosen pembimbing skripsi, yang telah memberikan banyak pengarahan dan pengalaman yang berharga serta sabar dalam membimbing saya.
3. dr. Alvi Miliana, M. Biomed, selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah memberikan banyak pengarahan dan pengalaman yang berharga serta sabar dalam membimbing saya.
4. dr. Abdul Malik Setiawan, M. Infect.Dis, selaku penguji utama yang telah memberikan kritik dan saran untuk perbaikan tulisan ini.

5. Segenap sivitas akademika Program Studi Pendidikan Dokter, terutama seluruh dosen, yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya.
6. Keluarga terutama ayah dan mama serta adik laki-laki saya yang telah memberikan doa dan dukungan kepada saya baik secara materiil maupun moril, kesabaran, pengertian dan kasih sayang selama saya menempuh pendidikan hingga selesai.
7. Seluruh teman dan sahabat karib saya yang selalu mendengarkan keluh kesah saya dan menghibur saya selama menyelesaikan tulisan ini.
8. Seluruh teman dan keluarga Neonatus angkatan pertama Program Studi Pendidikan Dokter yang selalu memberikan energi dan semangatnya agar tulisan ini dapat selesai dengan baik dan segera.
9. Seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan dan dukungannya baik berupa materiil maupun moril demi terselesaikannya tulisan ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Malang, 15 April 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Aplikatif.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	5
2.1.1 Taksonomi dan Morfologi	5
2.1.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri	7
2.1.3 Faktor Virulensi	11
2.1.4 Mekanisme Antibiotik <i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
2.1.5 Resistensi Antibiotik <i>Klebsiella pneumoniae</i>	16
2.2 Pneumonia	19
2.2.1 Definisi dan Klasifikasi	19
2.2.2 Patogenesis dan Patofisiologis	21
2.2.3 Tatalaksana	23

2.3 Tanaman sebagai Obat	26
2.4 Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	28
2.4.1 Taksonomi	28
2.4.2 Asal dan Persebaran.....	29
2.4.3 Morfologi	29
2.5 Bunga Cengkeh	31
2.5.1 Morfologi	31
2.5.2 Kandungan Kimia.....	33
2.5 Ultrasonic-assisted Extraction (UAE)	36
2.5.1 Pembuatan Simplisia.....	36
2.5.2 Pelarut Ekstraksi	37
2.5.3 Proses Ekstraksi	38
2.5.4 Separasi dan Pemurnian.....	39
2.6 Uji Aktivitas Antibakteri	39
2.6.1 Metode Difusi Cakram.....	39
2.6.2 Metode Dilusi Tabung	40
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	42
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	42
3.2 Hipotesis Penelitian.....	45
BAB IV METODE PENELITIAN	46
4.1 Desain Penelitian	46
4.2 Variabel Penelitian	46
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	46
4.4 Sampel Penelitian dan Jumlah Pengulangan	46
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	48
4.6 Definisi Operasional.....	48
4.7 Prosedur Penelitian.....	50
4.7.1 Sterilisasi Alat.....	50
4.7.2 Persiapan Simplisia.....	50
4.7.3 Proses Ekstraksi Bunga Cengkeh	51
4.7.4 Isolasi dan Identifikasi Bakteri	51
4.7.5 Persiapan Suspensi Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	55
4.7.6 Penentuan Konsentrasi Ekstrak	55
4.7.7 Proses Pembuatan Konsentrasi Ekstrak.....	56

4.7.8 Uji aktivitas antibakteri.....	57
4.8 Alur Penelitian.....	61
4.9 Analisis Data	62
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	63
5.1 Hasil Penelitian.....	63
5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	63
5.1.2 Hasil Ekstraksi Bunga Cengkeh	65
5.1.3 Hasil Pengamatan Zona Hambat.....	66
5.1.4 Hasil Pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	67
5.1.5 Hasil Pengamatan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)	68
5.2 Analisis Data	71
5.2.1 Analisis Data Diameter Zona Hambat	72
5.2.2 Analisis Data Jumlah Koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada MHA	78
5.3 Pembahasan.....	84
5.4 Kajian Integrasi Islam.....	91
BAB VI PENUTUP	95
7.1 Kesimpulan.....	95
7.2 Saran.....	95
DAFTAR PUSTAKA	97
LAMPIRAN.....	104

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kepekaan antibiotik <i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
Tabel 2. 2 Faktor Modifikasi Penumonia (PDPI, 2003)	25
Tabel 2. 3 Terapi Antibiotik Pneumonia (PDPI, 2003)	25
Tabel 4. 1 Kelompok Perlakuan dan Kontrol.....	56
Tabel 5. 1 Uji Biokimia <i>Klebsiella pneumoniae</i>	65
Tabel 5. 2 Pengamatan Zona Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh (mm)	67
Tabel 5. 3 Pengamatan kekeruhan larutan secara visual.....	68
Tabel 5. 4 Pengamatan Jumlah Koloni secara visual.....	70
Tabel 5. 5 Pengamatan Jumlah Koloni dengan colony counter	70
Tabel 5. 6 Deskripsi Statistik Data Diameter Zona Hambat.....	73
Tabel 5. 7 Tabel Chi-square.....	73
Tabel 5. 8 Uji Homogenitas Diameter Zona Hambat	73
Tabel 5. 9 Uji Kruskal Wallis Diameter Zona Hambat.....	74
Tabel 5. 10 Uji Mann-Whitney Diameter Zona Hambat	75
Tabel 5. 11 Deskripsi Statistik Data Jumlah Koloni	79
Tabel 5. 12 Uji Homogenitas Jumlah Koloni	80
Tabel 5. 13 Uji Kruskal Wallis Jumlah Koloni.....	80
Tabel 5. 14 Uji Mann Whitney Jumlah Koloni.....	81

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur dinding dan membrane sel <i>Klebsiella pneumoniae</i>	6
Gambar 2. 2 Peran kapsul <i>Klebsiella pneumoniae</i>	11
Gambar 2. 3 LPS <i>Klebsiella pneumoniae</i>	12
Gambar 2. 4 A. Fimbriae Tipe 1 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ;	13
Gambar 2. 5 Siderofor <i>Klebsiella pneumoniae</i>	14
Gambar 2. 6 Peran TNF- α dan IL-1 dalam respon inflamasi akut	22
Gambar 2. 7 Morfologi Tumbuhan Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	30
Gambar 2. 8 Bagian-bagian Pohon Cengkeh	32
Gambar 2. 9 Bagian-bagian Kuncup Bunga Cengkeh	33
Gambar 2. 10 Eugenol.....	34
Gambar 2. 11 Cara mengukur diameter zona hambat.....	40
Gambar 5. 1 Identifikasi Bakteri.....	63
Gambar 5. 2 Ekstraksi Bunga Cengkeh	65
Gambar 5. 3 Pengamatan Zona Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh.....	66
Gambar 5. 4 Pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).....	68
Gambar 5. 5 Pengamatan jumlah koloni secara visual	69
Gambar 5. 6 Pengamatan jumlah koloni dengan colony counter.....	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Etik Penelitian.....	104
Lampiran 2. Uji Normalitas Diameter Zona Hambat.....	105
Lampiran 3. Uji Homogenitas Diameter Zona Hambat.....	110
Lampiran 4. Uji Kruskal Wallis Diameter Zona Hambat	112
Lampiran 5. Uji Post Hoc Diameter Zona Hambat.....	112
Lampiran 6. Uji Normalitas Jumlah Koloni.....	117
Lampiran 7. Uji Homogenitas Jumlah Koloni	120
Lampiran 8. Uji Kruskal Wallis Jumlah Koloni	121
Lampiran 9. Uji Post Hoc Jumlah Koloni.....	122

ABSTRAK

Wahyuni, Nila Aisyah. 2020. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae* SECARA IN VITRO. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing (I) dr. Nurlaili Susanti, M. Biomed, (II) dr. Alvi Milliana, M. Biomed

Kata Kunci: Ekstrak bunga cengkeh, *Klebsiella pneumoniae*, aktivitas antibakteri.

Peningkatan angka prevalensi dan mortalitas dari pneumonia terjadi di Indonesia, termasuk di Malang. Patogen tersering yang menyebabkan pneumonia di Indonesia adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Faktor virulensi yang dimiliki oleh *Klebsiella pneumoniae* menyebabkan resistensi antibiotik yang tinggi sehingga sulit untuk mengeradikasi bakteri tersebut. Cengkeh (*Syzygium aromaticum*), terutama kuncup bunga cengkeh, merupakan rempah asli dari Indonesia. Kandungan yang dimilikinya yaitu eugenol, tannin, saponin, flavonoid, dan humulene memiliki efek antibakteri. Penelitian eksperimental kuantitatif ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*), pada berbagai konsentrasi, terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Metode ekstraksi bunga cengkeh yang digunakan yaitu *ultrasonic-assisted extraction* (UAE) yang selanjutnya diseparasi menggunakan *rotary evaporator*. Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah 10 konsentrasi ekstrak bunga cengkeh (64%, 32%, 16%, 8%, 4%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%) dengan pelarut DMSO 5% dan kontrol pada sebanyak 2 pada setiap metode uji. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram (*Kirby Bauer*) dan dilusi tabung (makrodilusi) yaitu dengan menambahkan ekstrak pada media yang telah diinokulasikan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Pada metode difusi cakram digunakan kontrol positif tetrasiklin 30 μ g dan kontrol negatif DMSO 5%. Sedangkan pada metode dilusi tabung (makrodilusi) digunakan kontrol bahan dari sisa dilusi ekstrak dan kontrol bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Data yang diperoleh berupa diameter zona hambat dan jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* pada MHA yang diuji statistik, serta KHM pada konsentrasi ekstrak 1% dan KBM pada konsentrasi 2%. Hasil uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* yang masing-masing data menunjukkan hasil signifikan (P -value=0,019, P -value=0,024). Hasil uji *Mann Whitney* diameter zona hambat adalah ekstrak bunga cengkeh 64% memiliki aktivitas antibakteri yang paling efektif ($test\ statistic=2,000$), kontrol positif tetrasiklin, ekstrak 64%, 32%, dan 16% memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif DMSO 5%, ekstrak 0,125%, 0,25% (P -value<0,05). Sedangkan hasil uji *Mann Whitney* jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* pada MHA yaitu kontrol bahan, ekstrak 64%, 32%, 16%, 8%, 4%, dan 2% memiliki perbedaan signifikan terhadap ekstrak 0,5% dan 0,25% (P -value<0,05). Konsentrasi ekstrak 64% hingga 2% memiliki aktivitas antibakteri yang setara dengan kontrol bahan ($test\ statistic=0,000$). Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*, baik bakteristatik maupun bakterisidal.

ABSTRACT

Wahyuni, Nila Aisyah. 2020. **IN VITRO ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CLOVE BUD EXTRACT (*Syzygium aromaticum*) AGAINST *Klebsiella pneumoniae***. Thesis. Medical Departement, Medical and Health Sciences Faculty, The Islamic State University Maulana Malik Ibrahim of Malang. Advisor: (I) dr. Nurlaili Susanti, M. Biomed, (II) dr. Alvi Milliana, M. Biomed

Keywords: Clove bud extract, *Klebsiella pneumoniae*, antibacterial activity.

Increased prevalence and mortality rates from pneumonia occur in Indonesia, including in Malang. The most common pathogen that causes pneumonia in Indonesia is *Klebsiella pneumoniae*. The virulence factor possessed by *Klebsiella pneumoniae* causes high antibiotic resistance making it difficult to eradicate the bacteria. Cloves (*Syzygium aromaticum*), especially the clove buds, are native to Indonesia. The contents it has are eugenol, tannin, saponin, flavonoids, and humulene has antibacterial effects. This quantitative experimental study aims to determine the antibacterial activity of clove bud extract (*Syzygium aromaticum*), at various concentrations, against *Klebsiella pneumoniae*. The clove bud extraction method used is ultrasonic-assisted extraction (UAE) which is then disarated using a rotary evaporator. Extract concentrations used in this study were 10 concentrations of clove bud extract (64%, 32%, 16%, 8%, 4%, 2%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0.125%) with solvents DMSO 5% and two control in each test method. Antibacterial activity test was carried out by disk diffusion method (Kirby Bauer) and tube dilution (macrodilution) by adding extracts to the media which had been inoculated by *Klebsiella pneumoniae*. In the disc diffusion method used positive control of tetracycline 30µg and negative control of 5% DMSO. While the method of tube dilution (macrodilution) is used control of the material from the remaining dilution and control of the bacteria *Klebsiella pneumoniae*. Data obtained in the form of inhibition zone diameter and the number of *Klebsiella pneumoniae* colonies in MHA were tested statistically, as well as MIC at extract concentrations of 1% and MBC at concentrations of 2%. Kruskal Wallis non parametric statistical test results, each data showed significant results ($P\text{-value} = 0.019$, $P\text{-value}=0,024$). Mann Whitney test results of inhibition zone diameter are 64% clove bud extract has the most effective antibacterial activity ($\text{test statistic} = 2,000$), positive control of tetracycline, extracts 64%, 32%, and 16% have a significant difference to negative control of 5% DMSO extract 0.125%, 0.25% ($P\text{-value} < 0.05$). While the Mann Whitney test results on the number of *Klebsiella pneumoniae* colonies in the MHA namely material control, extract 64%, 32%, 16%, 8%, 4%, and 2% had a significant difference to the extract 0.5% and 0.25% ($P\text{-value} < 0.05$). Extract concentrations of 64% to 2% have antibacterial activity which is equivalent to material control ($\text{test statistic} = 0,000$). The conclusion that can be drawn from this study is that clove bud extract (*Syzygium aromaticum*) has antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae*, both bacteriostatic and bactericidal.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penunonia merupakan penyakit saluran nafas bawah dengan prevalensi dan mortalitas tinggi di dunia, termasuk Indonesia. Studi dari *Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) Global Burden of Disease (GBD)* menyatakan bahwa infeksi saluran nafas bawah, termasuk pneumonia, menyumbang 2,7 juta kematian di seluruh dunia dari tahun 1990 - 2013 (GBD Collaborators, 2015). Pneumonia menyumbang 878.829 kematian balita secara global pada tahun 2016 (UNICEF, 2018). Sedangkan angka mortalitas pneumonia balita di Indonesia mengalami peningkatan yaitu dari tahun 2016 sebesar 0,11% menjadi 0,30% di tahun 2017 (Kemenkes RI, 2017; Kemenkes RI, 2018).

Angka kejadian pneumonia balita di Indonesia pada tahun 2017 adalah 447.431 balita (46,34%) dengan Jawa Timur sebagai penyumbang terbanyak kedua (Kemenkes RI, 2018). Prevalensi pneumonia balita di Kota Malang mencapai 2.685 balita pada tahun 2017 (Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, 2018). Profil Kesehatan Kota Malang menyatakan adanya peningkatan temuan penderita yaitu dari 2,8% di tahun 2016 menjadi sebesar 4,9% di tahun 2017 (Pemerintah Kota Malang, 2017; Pemerintah Kota Malang, 2018).

Patogen tersering yang menyebabkan pneumonia di Indonesia adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* (45,18%) (PDPI, 2003). *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dari golongan *Enterobacteriaceae* yang berkapsul dan tidak motil yang secara normal ada di kulit, dan saluran pencernaan manusia (Brooks, Carroll, Butel, dan Morse, 2012).

Eradikasi *Klebsiella pneumoniae* sulit dilaksanakan karena faktor virulensi dan enzim β -lactamase yang dimilikinya (Brooks *et al.*, 2012). Enzim β -lactamase milik *Klebsiella pneumoniae*, *extended-spectrum β -lactamases* (ESBLs), memberi kemampuan tambahan untuk menghidrolisis cincin β -laktam yang ada pada antibiotik beta laktam mulai penicillin, monobactam, karbapenem dan cephalosporin, serta fluoroquinolon dan aminoglikosida, baik dengan inhibitor β -laktamase ataupun tidak (Molton, Tambyah, Ang, Ling, dan Fisher, 2013; Morrissey *et al.*, 2013; Paczosa dan Meccas, 2016; van Duijn, Dautzenberg, dan Oostdijk, 2011; CDC, 2015).

Studi epidemiologi di Indonesia menunjukkan bahwa *Klebsiella pneumoniae* resisten 100% terhadap beberapa antibiotik yaitu amoksisilin-klavulanat, ampisillin, ampisilin-sulbaktam, cefotaksim, ceftriaxon, cefepim, dan fosfomisin (Kusuma, 2013; Rizal, 2010; Putra. *et al.*, 2019). Perawatan dan terapi efektif yang kurang tersedia menyebabkan infeksi *Klebsiella pneumoniae* memiliki tingkat morbiditas dan mortalitas yang secara signifikan lebih tinggi daripada infeksi bakteri *non-resistant* (CDC, 2013).

Berpegang pada kalam Allah SWT pada surat Asy-Syu'ara ayat 80 yang berbunyi:

وَ إِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ○ (سورة الشعراء [٢٦]: ٨٠)

yang artinya “Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku.”

(QS. Asy-Syu'ara [26]: 80) (Masykur, *et al.*, 2014)

peneliti berusaha untuk mencari cara lain dalam mengeradikasi *Multidrug-resistant* (MDR) *Klebsiella pneumoniae* yaitu dengan alternatif tumbuh-tumbuhan.

Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT pada Surat Luqman ayat 10 yang berbunyi:

خَلَقَ السَّمٰوٰتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَّرَوْنَہَا ۗ وَالْقٰنِیَ فِی الْاَرْضِ رَوٰسِیَۃًۢ اَنْ تَمِیْدَ بِكُمْ ۗ وَبَثَّ فِیْہَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَاَنْزَلْنَا
 مِنْ السَّمَآءِ مَآءً فَاَنْبَتْنَا فِیْہَا مِنْ كُلِّ رَوْحٍ كَرِیْمٍ ۝ (سورة لقمان [۳۱]: ۱۰)

yang artinya “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.” (QS. Luqman [31]: 10)
 (Masykur, *et al.*, 2014)

Oleh karena banyak manfaat yang dimiliki tumbuhan, maka keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia dapat digunakan sebagai opsi baru dalam menghadapi *Multidrug-resistant (MDR) Klebsiella pneumoniae*.

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan salah satu keanekaragaman hayati Indonesia berupa rempah-rempah yang mudah dijumpai di nusantara. Studi terdahulu mengatakan bahwa bunga cengkeh memiliki efek antimikroba terhadap beberapa bakteri Gram positif dan Gram negatif (Gang-Joon, 2019; Pandey dan Singh, 2011). Komposisi kimia utama yang dimilikinya yaitu eugenol dan beberapa terpenoid lainnya (Pichersky, 2006). Bagian spesifik yang memiliki kandungan eugenol terbanyak yaitu bunga dan kuncup bunga cengkeh (Charan Raja, 2015). Efek antimikroba cengkeh dipercaya karena kandungan eugenolnya yang terdapat pada hampir 95% dari total kandungannya (Uddin, Rana, dan Yaakob, 2017). Eugenol memicu efek lisis pada sel bakteri sehingga terjadi kematian sel (Kumar, Jaiswal, Singh, dan Singh, 2011; Radulovi, Blagojevi, Stojanovi, dan Stojanovi, 2013).

Oleh karena itu, penulis ingin melakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak bunga cengkeh memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui diameter zona hambat, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh terhadap *Klebsiella pneumoniae*.
2. Sebagai dasar penelitian lanjutan untuk mencari alternatif antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

1. Pengembangan obat herbal dari bunga cengkeh yang terstandar yang dijual dengan harga terjangkau.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

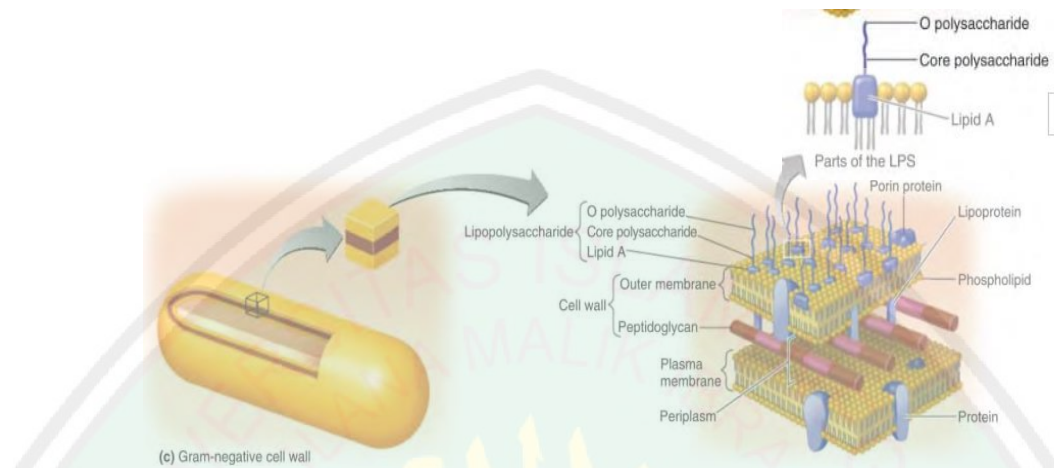
2.1 Klebsiella pneumoniae

2.1.1 Taksonomi dan Morfologi

Kingdom	: Bacteria
Subkingdom	: Negibacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Klebsiella
Species	: <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Taxonomy Browser, <i>n.d</i>)

Spesies *Klebsiella* menyebar secara normal di kulit, permukaan mukosa dan sistem gastrointestinal manusia. Selain itu, bakteri ini terdapat pada spesimen klinis, tanah, dan air (Ashurst dan Dawson, 2019). Morfologi tipikal milik spesies *Klebsiella pneumoniae* adalah sama dengan *Enterobacteriaceae* lainnya. Penampakan makroskopis bakteri ini yaitu adanya koloni *Klebsiella pneumoniae* terlihat seperti mukoid dengan konsistensi kental (Brooks *et al.*, 2012). Penampakan mikroskopisnya yaitu berbentuk batang pendek Gram negatif dengan ukuran 0.3-1.0 x 0.6-6.0 μm . Bakteri ini memiliki kapsul, namun tidak membentuk spora. *Klebsiella pneumoniae* tidak mempunyai flagella namun memiliki fimbriae (Paczosa dan Mecsas, 2016) sehingga mempunyai motilitas yang rendah (tidak motil) (Brooks *et al.*, 2012). Struktur dinding selnya memiliki membrane luar berupa lapisan fosfolipid bilayer tebal dan lapisan peptidoglikan yang tipis. Selain

itu, *Klebsiella pneumoniae* memiliki membran sel yaitu membran plasma yang memiliki struktur sama dengan membran luar. Dinding sel dan membran sel membentuk rongga periplasma (Tortora, Funke, dan Case, 2010).



Gambar 2. 1 Struktur dinding dan membrane sel *Klebsiella pneumoniae* (Tortora *et al.*, 2010)

Klebsiella pneumoniae memiliki struktur antigen yang rumit diantaranya yaitu (Paczosa dan Mecsas, 2016):

- a. Antigen O adalah antigen yang berada di dinding sel lipopolisakarida.
- b. Antigen K adalah antigen yang berada di kapsul.

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri fakultatif anaerob (Ashurst dan Dawson, 2019). Selain itu, bakteri ini bersifat kemoorganotropik yang memfermentasi semua karbohidrat kecuali dulsitol dan eritritol (Brooks *et al.*, 2012). Bakteri ini memiliki kemampuan untuk menghidrolisis urea sehingga menunjukkan hasil positif pada tes hidrolisis urea (Brooks *et al.*, 2012).

2.1.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat diidentifikasi dengan metode kultur selektif, mikroskopis, makroskopis, biokimia.

1) Makroskopis

Media kultur dibagi menjadi tiga tipe yaitu non selektif, selektif, dan spesialisasi. Media selektif adalah media yang digunakan untuk menumbuhkan suatu mikroorganisme yang diinginkan dengan bentukan khasnya (Murray, Rosenthal, dan Pfaller, 2016). *MacConkey Agar* merupakan media selektif bakteri Gram negatif untuk membedakan bakteri yang memfermentasi laktosa dan yang tidak (Murray *et al.*, 2016). *Klebsiella* akan terlihat sebagai koloni mukoid kental yang berpigmen merah muda dan non-motil pada media selektif *MacConkey Agar* (Brooks *et al.*, 2012). Hal ini disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* yang memfermentasi laktosa. Sedangkan media kultur spesialisasi untuk *Klebsiella pneumoniae* masih belum ada (Murray *et al.*, 2016).

2) Mikroskopis

Metode mikroskopis dilakukan untuk mengetahui karakteristik mikroskopis suatu bakteri. Pewarnaan gram adalah pewarnaan diferensial yang sering digunakan untuk mengetahui golongan mayor suatu bakteri (Gram negatif atau Gram positif) sekaligus melihat karakteristik mikroskopisnya menggunakan mikroskop (Murray *et al.*, 2016). Bakteri Gram negatif yang tidak dapat mempertahankan warna kristal violet karena struktur dinding selnya yang kaya fosfolipid bilayer namun dapat mempertahankan warna safranin/fuchsin (Tortora *et al.*, 2010).

3) Biokimia

Uji biokimia menggunakan prinsip karakteristik pertumbuhan bakteri. Sebuah kelompok uji biokimia yang biasa digunakan untuk mengidentifikasi *Enterobacteriaceae* adalah IMViC, akronim dari *indole*, *methyl-red*, *Voges-Proskauer* dan *citrate* (McDevitt, 2016). Selain itu, uji urease dan uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi *Klebsiella pneumoniae* sebagai bagian dari anggota famili *Enterobacteriaceae*.

a) Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Mikroorganisme yang melakukan fermentasi gula akan terdeteksi dalam uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Uji ini dapat membedakan bakteri dalam famili *Enterobacteriaceae* berdasarkan fermentasi karbohidrat dan produksi gas serta endapan H_2S . Medium TSIA mengandung 3 macam gula, yaitu dekstrosa, laktosa, dan sukrosa. Indikator yang ada dalam media tersebut adalah fenol merah untuk mendeteksi adanya fermentasi karbohidrat, serta $Na_2S_2O_3$ dan $FeSO_4$ untuk memperlihatkan pembentukan H_2S yang ditunjukkan dengan adanya presipitat berwarna hitam.

Organisme yang hanya dapat memfermentasikan dekstrosa maka akan menghasilkan warna merah pada lereng media (*alkaline slant*) dan warna kuning pada dasar media (*acid butt*). Sedangkan organisme yang dapat memfermentasi dekstrosa dan laktosa dan/atau sukrosa akan menghasilkan warna kuning pada lereng media (*acid slantt*) dan warna kuning pada dasar media (*acid butt*). Untuk produksi gas dilihat dari adanya retakan atau gelembung udara pada media. Hal ini menandakan

bahwa organisme tersebut menghasilkan gas selama melakukan metabolisme karbohidrat (MacFaddin, 2000).

b) Uji Indol

Prinsip uji ini yaitu menguji kemampuan bakteri dalam memproduksi indol, senyawa *benzopyrrole*, dari triptopan. Triptopanase mengubah triptopan menjadi asam pirvat, indol, dan ammonia. Indol terdeteksi dengan terbentuknya warna merah setelah pemberian reagen *benzaldehyde*. Terbentuknya warna merah terang menandakan hasil tes positif yang berarti mikroorganisme pada kultur media menghasilkan indol (Murray *et al.*, 2016).

c) Uji Metil Merah

Enterobacteriaceae yang memfermentasi gula melalui jalur asam campuran yang menghasilkan rasio kecil dari karbondioksida dibanding gas hidrogen. Sedangkan bakteri yang memfermentasi gula melalui jalur butanediol akan menghasilkan rasio tinggi karbondioksida dibanding gas hidrogen (McDevitt, 2016).

Metil merah adalah pH indikator yang ditemukan sesuai untuk mengukur konsentrasi ion hidrogen antara pH 4,4 merah dan 6,0 kuning. Ketika medium kultur berubah merah setelah diberi metil merah hal ini berarti arti kultur tersebut positif pada uji tes metil merah yang menandakan pH 4,4 atau di bawahnya. sedangkan jika kultur berwarna kuning menandakan hasil negatif oleh karena produksi asam yang sedikit sehingga PH lebih tinggi (McDevitt, 2016).

d) Uji Voges-Proskauer

Bakteri yang memfermentasi gula melalui jalur butanediol memproduksi asetoin yang terdeteksi oleh reagen indikator Barrit's A atau Barrit's B berupa adanya warna merah muda, yang berarti hasil tes positif (McDevitt, 2016).

e) Uji Simmon Sitrat

Uji Simmon Sitrat adalah sebuah uji yang digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dalam metabolisme selnya (Brooks *et al.*, 2012). Enzim sitrat yang dihasilkan bakteri memecah sitrat yang berasal dari natrium sitrat dalam media menjadi karbonat, bikarbonat, dan amonia, yang akan menyebabkan adanya perubahan warna indikator *bromthymol blue* pada media dari hijau menjadi biru jika ada pertumbuhan bakteri (Morello, Mizer, dan Wilson, 2003).

f) Uji Aktivitas Urease

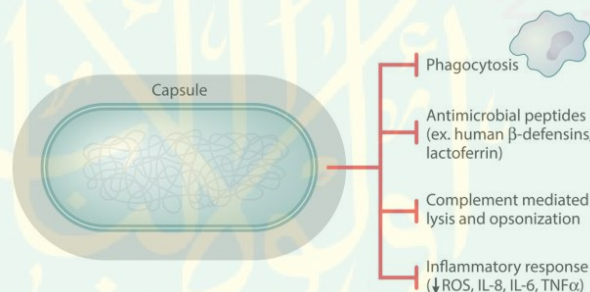
Urease menghidrolisis urea menjadi dua molekul yaitu ammonia dan karbon dioksida. Reaksi ini dapat terdeteksi dengan adanya perubahan pH media yang berisi urea dan pH indikator berupa fenol merah. Peningkatan pH menjadi alkalin dikarenakan oleh produksi ammonia yang merupakan senyawa basa. Perubahan pH ini dideteksi dengan melihat perubahan warna media dari jingga menjadi warna merah jambu tua (Morello *et al.*, 2003).

2.1.3 Faktor Virulensi

Pada banyak penelitian sebelumnya juga dijelaskan beberapa faktor virulensi *K. Pneumoniae* di berbagai *strain* yaitu kapsul, lipopolisakarida, fimbriae, siderofor, dan biofilm (Paczosa dan Meccas, 2016; Wu dan Li, 2015).

A. Kapsul

Kapsul *K. Pneumoniae* tersusun oleh polisakarida dan lipoprotein yang dibentuk diluar sel bakteri. Fungsi kapsul ekstraseluler yang dimiliki *K. Pneumoniae* yaitu: (1) mencegah fagositosis; (2) menghalangi efek bakterisidal dari *antimicrobial peptides* (misal: human β -defensins dan *lactoferrin*); (3) menghambat *complement-mediated lysis and opsonization*; (4) menurunkan respon inflamasi (Paczosa dan Meccas, 2016).

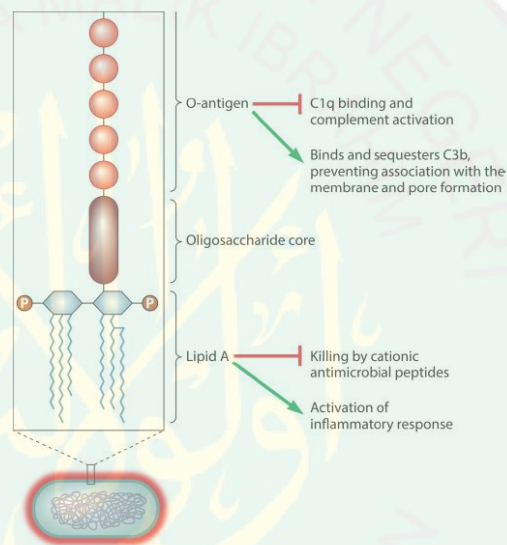


Gambar 2. 2 Peran kapsul *Klebsiella pneumoniae* (Paczosa dan Meccas, 2016)

B. Lipopolisakarida (LPS)

Lipopolisakarida (LPS), juga dikenal sebagai endotoksin, adalah komponen utama yang penting pada lapisan luar membran sel semua bakteri Gram negatif. LPS terdiri dari 3 subunit mayor, yaitu: lipid A, inti oligosakarida, dan antigen O (Paczosa dan Meccas, 2016). LPS dapat bermanfaat sekaligus penghalang bagi *K. Pneumoniae* selama infeksi.

Lipid A merupakan ligan kuat TLR4 (reseptor pengenalan pola). Sedangkan TLR4 akan menstimulasi produksi sitokin dan kemokin yang membantu merekrut dan mengaktifkan respons seluler, termasuk neutrofil dan makrofag. Sehingga terjadi proses pembersihan *Klebsiella pneumoniae* dan mengontrol penyebaran ke jaringan lain (Paczosa dan Meccas, 2016). Namun *Klebsiella pneumoniae* dapat memodifikasi lipid A-nya agar terjadi inflamasi yang lebih sedikit selama infeksi, dan lipid A juga dapat melindungi bakteri dari aksi bakterisida (Llobet *et al.*, 2015).

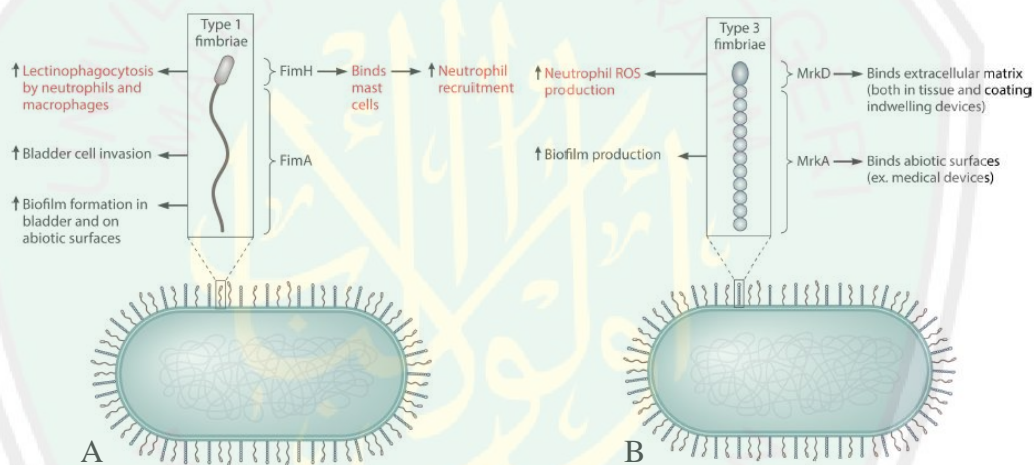


Gambar 2. 3 LPS *Klebsiella pneumoniae*
(Paczosa dan Meccas, 2016)

Sedangkan antigen O memiliki peran penting dalam melindungi bakteri dari aktivitas komplemen yaitu dengan cara menghambat aktivasi jalur komplemen sehingga mencegah lisis bakteri dari *complement membrane attack complex* (Roumenina, 2015; Shankar-Sinha *et al.*, 2004).

C. Fimbriae

Fimbriae merupakan mediator penting dari adhesi *Klebsiella pneumoniae*. Ia berkontribusi dalam invasi sel buli-buli dan pembentukan biofilm di dalam buli-buli pada infeksi saluran kemih (ISK). Selain itu, fimbriae juga dapat membantu adhesi pada saluran pencernaan dan paru-paru, namun tidak berpengaruh secara signifikan sebagai faktor virulensi yang dominan pada infeksi (Struve, Bojer, dan Krogfelt, 2008). Fimbriae juga dapat memediasi perlekatan pada sel trakea, sel-sel bukal, dan bagian-bagian paru dalam penelitian in vitro (Paczosa dan Mecsas, 2016).



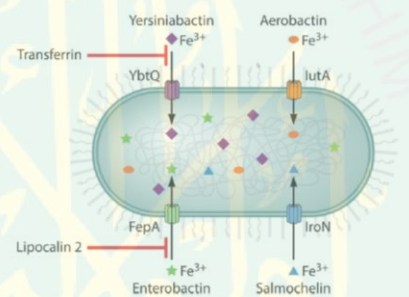
Gambar 2. 4 A. Fimbriae Tipe 1 *Klebsiella pneumoniae*;
B. Fimbriae Tipe 3 *Klebsiella pneumoniae*
(Paczosa dan Mecsas, 2016)

Terdapat 2 jenis fimbriae yang menjadi struktur adhesi mayor *Klebsiella pneumoniae* pada patogenesis yaitu fimbriae tipe 1 dan tipe 3. Fimbriae tipe 1 berbentuk nonflagel, protusi filamentous tipis pada membran sel bakteri dan diekspresikan oleh 90% *Klebsiella pneumoniae*. Salah satu struktur adhesifnya, FimH, akan menempel pada sel mast dan berperan dalam rekrutmen neutrophil. Sedangkan fimbriae tipe 3 berbentuk heliks yang menempel pada membran sel bakteri. Struktur adhesifnya berisi subunit MrkA

yang menempel pada permukaan abiotik seperti alat kesehatan, dan MrkD yang menempel pada matriks ekstraseluler seperti pada jaringan yang rusak. Fimbriar tipe 3 ini berperan meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) melalui netrofil (Paczosa dan Meccas, 2016).

D. Siderofor

Siderofor merupakan protein berafinitas tinggi yang memberi kemampuan *Klebsiella pneumoniae* untuk memperoleh zat besi di lingkungan yang miskin zat besi selama infeksi. Beberapa jenis siderofor yang dapat dihasilkan *Klebsiella pneumoniae* yaitu: (1) *enterobactin*, (2) *salmochelin*, (3) *yersiniabactin*, dan (4) *aerobactin* (Paczosa dan Meccas, 2016).



Gambar 2. 5 Siderofor *Klebsiella pneumoniae* (Paczosa dan Meccas, 2016)

Enterobactin dapat diinhibisi fungsinya oleh *lipocalin-2* milik sel *host*, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Namun untuk siderofor lainnya masih dapat membantu pertumbuhan bakteri, kecuali *yersiniabactin* yang fungsinya akan menurun dengan adanya molekul *transferin* sel *host* (Bachman, Lenio, Schmidt, Oyler, dan Weiser, 2012).

E. Biofilm

Biofilm adalah lapisan tipis mikroorganisme yang menempel pada permukaan suatu struktur, yang mungkin organik atau anorganik, bersama dengan polimer yang mereka keluarkan (Dorland, 2012). Zat polimer

ekstraseluler tersebut melindungi bakteri dari opsonisasi dan fagositosis, membuat eradikasi bakteri menjadi sangat sulit. Selain itu, percobaan in vitro telah menunjukkan bahwa bakteri dalam biofilm kurang rentan terhadap antibiotik daripada rekan planktonik mereka. Akibatnya, pengobatan infeksi setelah biofilm telah ditetapkan seringkali sia-sia dengan obat yang tersedia saat ini. Bagi *Klebsiella pneumoniae*, biofilm berperan penting dalam patogenesis, khususnya untuk strain yang membawa plasmid yang kebal antibiotik. Fimbriae tipe 3 telah diidentifikasi sebagai pelengkap untuk memediasi formasi biofilm pada permukaan biotik dan abiotik (Wu dan Li, 2015).

2.1.4 Mekanisme Antibiotik *Klebsiella pneumoniae*

Menurut data resistensi obat CDC, *Klebsiella pneumoniae* dinyatakan resisten terhadap lebih dari 15 antibiotik dari 28 antibiotik yang diujikan, diantaranya adalah β -lactam dan karbapenem. Sedangkan *Klebsiella pneumoniae* dinyatakan sensitif dan intermediet terhadap antibiotik berdasarkan metode difusi cakram yang dilakukan oleh *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) yaitu sebagai berikut (CDC, 2016).

A. Amikasin

Amikasin adalah antibiotik golongan aminoglikosida, molekul positif yang menempel pada membrane luar (*outer membrane*, OM, molekul negatif), yang membentuk pori-pori besar yang memudahkan penetrasi antibiotik ke dalam sel bakteri. Target utama antibiotik jenis ini adalah ribosom sehingga menyebabkan kesalahan translasi dan terminasi prematur dari translasi mRNA (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2008).

B. Tetrasiklin dan tigesiklin

Tetrasiklin masuk ke dalam bakteri Gram negatif melalui OmpF dan OmpC *porin channels* sehingga dapat melewati membrane luar bakteri. Kemudian tetrasiklin membentuk kompleks ion metal-tetrasiklin yang bersifat lipofilik sehingga dapat berdifusi melalui membrane plasma *phospholipid bilayer*. Di dalam sitoplasma, molekul aktif tetrasiklin yaitu *magnesium-tetracycline* menempel pada ribosom bakteri sehingga mencegah *aminocyl-tRNA* ke ribosom bakteri. Ikatan ini bersifat reversible sehingga efek antibiotik ini adalah bakteristatik (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2008).

C. Trimetropim/sulfometoksazol

Trimetropim/sulfometoksazol biasa dikenal sebagai kotrimoksazol, merupakan antibiotik yang bersifat bakterisidal, terdiri dari *sulfamethoxazole* dan *trimethoprim*. *Sulfamethoxazole* merupakan golongan sulfonamida yang merupakan kompetitor *p-aminobenzoic acid* (PABA) selama sintesis dihidrofolat. Sedangkan *trimethoprim* merupakan kompetitor *dihydrofolate reductase* yang menyebabkan tidak terbentuknya *tetrahydrofolate* yang berguna untuk sintesis purin (Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI, 2008).

2.1.5 Resistensi Antibiotik *Klebsiella pneumoniae*

Sebelumnya, antibiotik β -lactam adalah pengobatan paling umum yang digunakan untuk infeksi *Klebsiella pneumoniae*. Namun kelebihan dan kesalahan penggunaan, mendukung evolusi strain *Klebsiella pneumoniae* yang resisten terhadap antibiotik β -lactam. Antibiotik β -lactam memiliki cincin β -lactam yang

merupakan mimik dari D-alanyl-D-alanine (D-Ala-D-Ala) yang akan berikatan dengan *Penicillin-binding Protein* (PBP). Cincin β -lactam akan berikatan dengan PBP dan mensintesis dinding sel yang tidak sempurna. Dinding sel tidak memiliki ikatan silang dan peptidoglikan yang terbentuk lebih lebah dan mudah terdegradasi. Sehingga sel bakteri akan terjadi kebocoran cairan intraseluler dan mudah lisis yang berujung pada kematian seluler (Giguère, 2007).

Namun mekanisme resistensi *Klebsiella pneumoniae* dapat mengimbangi mekanisme kerja antibiotik β -lactam, baik dengan anti- β -lactamase atau tidak, yaitu dengan membentuk biofilm, faktor virulensi yang tinggi, dan membentuk enzim β -lactamase dan carbapenemase (Wei et al., 2018). Kemampuan *Klebsiella pneumoniae* dalam menghindari fagositosis dari neutrophil juga ikut serta dalam mekanisme resistensi antibiotik (Bengoechea dan Sa Pessoa, 2019). *Klebsiella pneumoniae* dapat menghasilkan biofilm yang merupakan kesatuan dari permukaan sel bakteri yang dilingkupi oleh substansi matriks polimerik ekstraseluler yang membentengi dirinya dari kerusakan oleh karena antibiotik atau respon imun (Wu dan Li, 2015). Selain itu, faktor virulensi *Klebsiella pneumoniae* merupakan faktor yang memberikan kemampuan dalam menghindari sel imun. Kemampuan tersebut menyebabkan *Klebsiella pneumoniae* menetap dalam serum dan dapat menyerang target sewaktu-waktu (Bengoechea dan Sa Pessoa, 2019).

Enzim β -lactamase pada *Klebsiella pneumoniae* disebut *extended-spectrum β -lactamases* (ESBLs) adalah enzim yang memberi kemampuan tambahan pada bakteri untuk menghidrolisis cincin β -laktam pada antibiotik golongan penisilin hingga sefalosporin generasi ketiga (Brooks et al., 2012). Mekanisme lain dari resistensi, yang bahkan lebih meresahkan, adalah ekspresi

carbapenemase oleh *K. Pneumoniae*, yang membuat bakteri tahan untuk hampir semua antibiotic β -laktam yang tersedia, termasuk karbapenem. Munculnya *Klebsiella pneumoniae carbapenemases* (KPC), yang merupakan enzim tipe ESBL, memberikan resistensi terhadap sefalosporin generasi ketiga dan keempat dan karbapenem (CDC, 2015).

Berikut adalah hasil penelitian mengenai resistensi antibiotik *Klebsiella pneumoniae* pada suatu populasi anak di Shanghai Children Medical Center menggunakan tes sensitivitas antibiotik pada kultur sputum, urin dan darah. Semua strain resisten terhadap ertapenem, ceftazidime, imipenem, piperacillin / tazobactam, ceftriaxone, ampicillin, cefazolin, ampicillin / sulbactam, aztreonam dan cefotetan (Zhang, Chen, Xu, Huang, dan Wang, 2018).

Data epidemiologi di Pediatric Intensive Care Unit (PICU) RS dr Soetomo Surabaya, Indonesia menunjukkan bahwa sensitivitas antibiotic *Klebsiella pneumoniae* semakin menurun. Amikasin, cefo-sulbactam dan imipenem merupakan antibiotik paling sensitif terhadap *Klebsiella pneumoniae* (93,75%). Sedangkan *Klebsiella pneumoniae* resisten terhadap ampisilin (sensitivitas 0%). Ceftriakson adalah antibiotik dengan sensitivitas terendah kedua setelah ampisilin (12,5%). Sedangkan amoksisilin-klavulanat, tetrasilin, ciprofloksasin dan levofloksasin memiliki sensitivitas 43,75% - 56,25% (Putra et al., 2019).

Tabel 2. 1 Kepekaan antibiotik *Klebsiella pneumoniae*
(Putra et al., 2019)

Antibiotik	Presentasi Kepekaan
Amikasin	93,75%
Tobramisin	68,75%
Gentamisin	81,25%
Astreonam	50,00%
Amoksisilin-klavulanat	50,00%
Ampisilin	0%
Ampisilin-sulbactam	43,75%
Pipite-tazobactam	62,50%
Cefazolin	50,00%
Ceftazidime	56,25%
Cefotaksim	43,75%
Ceftriakson	12,50%
Cefo-sulbactam	93,75%
Cefepime	43,75%
Cotrimoazole	75,00%
Tetrasiklin	50,00%
Klorampenikol	43,75%
Ciprofloksasin	56,25%
Levofloksasin	56,25%
Fosfomisin	43,75%
Nitrofurantoin	75,00%
Imipenem	93,75%
Meropenem	87,50%

2.2 Pneumonia

2.2.1 Definisi dan Klasifikasi

Menurut PDPI (2003), pneumonia merupakan infeksi parenkim paru yang didapat melalui komunitas atau nosokomial. Patogen penyebab pneumonia nosokomial berbeda dengan pneumonia komuniti.

1) Pneumonia Nosokomial

Pneumonia nosokomial didapatkan saat perawatan pasien di rumah sakit. Patogen yang menyebabkan pneumonia nosokomial adalah kuman bukan *multi drug resistance (MDR)* misalnya *S.pneumoniae*, *H. Influenzae*, *Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus (MSSA)* dan kuman *MDR* misalnya *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter spp* dan gram positif seperti *Methicillin Resistance*

Staphylococcus aureus (MRSA). Pneumonia nosokomial yang disebabkan jamur, kuman anaerob dan virus jarang terjadi.

Menurut kriteria dari *The Centers for Disease Control (CDC-Atlanta)*, diagnosis pneumonia nosokomial adalah sebagai berikut :

1. Onset pneumonia yang terjadi 48 jam setelah dirawat di rumah sakit dan menyingkirkan semua infeksi yang inkubasinya terjadi pada waktu masuk rumah sakit
2. Diagnosis pneumonia nosokomial ditegakkan atas dasar :
 - a. Foto toraks : terdapat infiltrat baru atau progresif
 - b. Ditambah 2 diantara kriteria berikut:
 - 1) suhu tubuh > 38oC
 - 2) sekret purulen
 - 3) ronki atau suara nafas bronkial
 - 4) leukositosis
 - 5) saturasi oksigen memburuk sehingga memerlukan terapi oksigen atau ventilasi mekanik
- 2) Pneumonia Komuniti

Pneumonia komuniti adalah pneumonia yang didapat di masyarakat. Pneumonia komuniti ini merupakan masalah kesehatan yang menyebabkan angka kematian tinggi di dunia. Diagnosis pneumonia komuniti didapatkan dari anamnesis, gejala klinis pemeriksaan fisis, foto toraks dan labolatorium. Diagnosis pasti pneumonia komuniti ditegakkan jika pada foto toraks terdapat infiltrat baru atau infiltrat progresif ditambah dengan 2 atau lebih gejala di bawah ini :

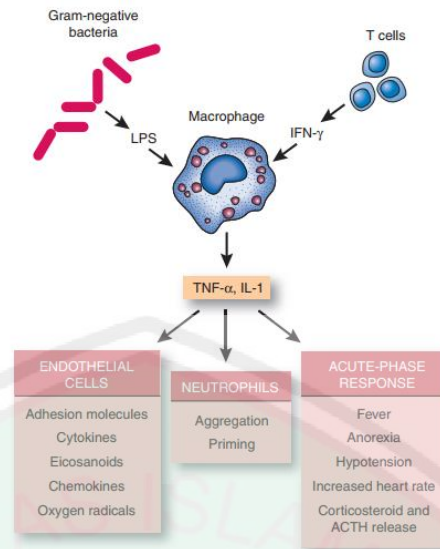
- a. Batuk-batuk bertambah
- b. Perubahan karakteristik dahak / purulen
- c. Suhu tubuh $> 38^{\circ}\text{C}$ (aksila) / riwayat demam
- d. Pemeriksaan fisis : ditemukan tanda-tanda konsolidasi, suara napas bronkial dan ronki
- e. Leukosit > 10.000 atau < 4500

2.2.2 Patogenesis dan Patofisiologis

Pada keadaan sehat, pertahanan tubuh – termasuk paru – dapat menghadang patogen yang masuk ke tubuh sehingga tidak terjadi pertumbuhan mikroorganisme. Apabila terjadi ketidakseimbangan daya tahan tubuh – pasien immunokompromais – patogen yang terdeteksi oleh tubuh (bakteri, virus, jamur, atau mikroorganisme lainnya) akan menarik perhatian sel-sel imun. *Port de entry Klebsiella pneumoniae* yaitu melalui inhalasi, inokulasi langsung, kolonisasi di permukaan mukosa, dan dapat melalui hematogen menargetkan sel epitel paru-paru (PDPI, 2003). Untuk melawan mikroorganisme yang masuk ke tubuh, maka tubuh akan melakukan pertahanan melalui pertahanan bawaan dan pertahanan spesifik.

A. Pertahanan bawaan (tidak spesifik)

Secara humoral, lisozim, interferon (IFN) dan faktor-faktor komplemen akan menyerang patogen tersebut. Lisozim akan menghancurkan patogen. Interferon γ mengaktifkan makrofag, NK sel, sel B dan sel T. Sedangkan aktivasi komplemen akan mengaktifkan sel mast untuk melepaskan mediator-mediator inflamasi (Silbernagl dan Lang, 2000).



Gambar 2. 6 Peran TNF- α dan IL-1 dalam respon inflamasi akut (Porth dan Matfin, 2009)

Makrofag akan mengeluarkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1 menyebabkan 3 hal yaitu (Porth dan Matfin, 2009):

- 1) Menstimulasi sel endotel mengeluarkan sitokin, kemokin, dan ROS (Reactive Oxygen Spesies) untuk menarik sel inflamasi lainnya (leukosit, neutrophil dan monosit)
- 2) Neutrophil beragregasi, menyerang dan menandai sel yang terinfeksi dan patogen target serta mengeluarkan sitokin proinflamasi.
- 3) Terjadi respon fase akut yang disebabkan oleh sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, and TNF α yang merubah set poin di thermostat hipotalamus sehingga timbullah gejala demam. Kemudian akan berlanjut menyebabkan gejala hipotensi, peningkatan denyut jantung, anoreksia, dan pelepasan ACTH dan kortikosteroid.

Selain sitokin proinflamasi, makrofag alveolus juga mengeluarkan IL-23 dan IFN tipe I yang keduanya akan menstimulasi NK sel untuk mengeluarkan IFN γ , IL-17 dan IL-22. Sitokin yang dikeluarkan NK sel menargetkan sel epitel paru untuk mengeluarkan CXCL5 dan Defensin Lipocalin 2. CXCL5 berpartisipasi dalam perekrutan neutrophil pada lokasi infeksi. Sedangkan lipocalin 2 menghambat pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dengan cara menghambat akumulasi besi (iron) dan berpartisipasi dalam perekrutan neutrophil juga (Bengoechea dan Sa Pessoa, 2019).

B. Pertahanan spesifik

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri yang handal untuk menghindari fagositosis sehingga makrofag, sel dendritik dan sel B (*APC*, *Antigen Presenting Cell*) mempresentasikan antigen sehingga sel T teraktivasi. Sel T (CD8/HLA I) sitolitik akan melisis sel yang terinfeksi dan sel T (CD4/HLA II) akan menambah mediator inflamasi dan aktivasi makrofag. Sedangkan sel B akan mengeluarkan antibodi untuk mengeradikasi *Klebsiella pneumoniae* (Silbernagl dan Lang, 2000). Namun faktor virulensi yang dimiliki *Klebsiella pneumoniae* menyebabkan proses eradikasinya susah untuk dilakukan sehingga membutuhkan bantuan dari luar berupa antibiotik.

2.2.3 Tatalaksana

Tatalaksana yang tepat untuk pneumonia adalah terapi antibiotik. Menurut PDPI (2003), terdapat hal-hal yang perlu diperhatikan sebelum mengobati pneumonia adalah keadaan klinis dan faktor modifikasi yang dimiliki pasien. Jika keadaan klinis pasien baik maka dapat dilakukan rawat jalan, jika tidak maka harus

rawat inap. Sedangkan faktor modifikasi adalah keadaan yang dapat meningkatkan risiko infeksi dengan mikroorganisme patogen yang spesifik (Tabel 2.2).

Jenis perawatan pasien pneumonia menurut PDPI (2003) adalah sebagai berikut:

1) Penderita rawat jalan

Pengobatan suportif / simptomatik

- a. Istirahat di tempat tidur
- b. Minum secukupnya untuk mengatasi dehidrasi
- c. Bila panas tinggi perlu dikompres atau minum obat penurun panas
- d. Bila perlu dapat diberikan mukolitik dan ekspektoran

Pemberian antibiotik harus diberikan kurang dari 8 jam (Tabel 2.3)

2) Penderita rawat inap di ruang rawat biasa

Pengobatan suportif / simptomatik

- a. Pemberian terapi oksigen
- b. Pemasangan infus untuk rehidrasi dan koreksi kalori dan elektrolit
- c. Pemberian obat simptomatik antara lain antipiretik, mukolitik

Pengobatan antibiotik harus diberikan kurang dari 8 jam (Tabel 2.3)

3) Penderita rawat inap di Ruang Rawat Intensif

Pengobatan suportif / simptomatik

- a. Pemberian terapi oksigen
- b. Pemasangan infus untuk rehidrasi dan koreksi kalori dan elektrolit
- c. Pemberian obat simptomatik antara lain antipiretik, mukolitik

Pengobatan antibiotik harus diberikan kurang dari 8 jam (Tabel 2.3)

Bila ada indikasi penderita dipasang ventilator mekanik

Tabel 2. 2 Faktor Modifikasi Penumonia (PDPI, 2003)

Risiko Infeksi Patogen	Faktor Modifikasi
Pneumokokus resisten terhadap penisilin	<ol style="list-style-type: none"> 1. Umur lebih dari 65 tahun 2. Memakai obat-obat golongan P 25ntibi selama tiga bulan terakhir 3. Pecandu alkohol 4. Penyakit gangguan kekebalan 5. Penyakit penyerta yang multiple
Bakteri enterik Gram negatif	<ol style="list-style-type: none"> 1. Penghuni rumah jompo 2. Mempunyai penyakit dasar kelainan jantung paru 3. Mempunyai kelainan penyakit yang multipel 4. Riwayat pengobatan antibiotic
Pseudomonas aeruginosa	<ol style="list-style-type: none"> 1. Bronkiektasis 2. Pengobatan kortikosteroid > 10 mg/hari 3. Pengobatan antibiotik spektrum luas > 7 hari pada bulan terakhir 4. Gizi kurang

Tabel 2. 3 Terapi Antibiotik Pneumonia (PDPI, 2003)

Perawatan	Terapi Antibiotik
Rawat Jalan	<p>Tanpa faktor modifikasi:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Golongan betalaktam atau 2. Golongan betalaktam + anti betalaktamase <p>Dengan faktor modifikasi:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Golongan betalaktam + anti betalaktamase atau 2. Golongan fluorokuinolon respirasi (levofloksasin, moksifloksasin, gatifloksasin) <p>Dicurigai pneumonia atipik maka diberikan makrolid baru (roksitromisin, klaritromisin, azitromisin).</p>
Rawat Inap	<p>Tanpa faktor modifikasi:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Golongan betalaktam + anti betalaktamase IV atau 2. Golongan sefalosporin G2, G3 IV atau 3. Golongan fluorokuinolon respirasi <p>Dengan faktor modifikasi:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Golongan sefalosporin G2, G3 IV atau 2. Golongan fluorokuinolon respirasi <p>Bila dicurigai disertai pneumonia atipik maka ditambah makrolid baru.</p>
Ruang Rawat Intensif	<p>Tidak ada faktor risiko pseudomonas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Golongan sefalosporin G3 IV non pseudomonas + makrolid baru atau 2. Golongan fluorokuinolon respirasi IV <ul style="list-style-type: none"> • Ciprofloxacin 400mg iv/ 8 jam • Levofloxacin 750mg/ iv/ 24 jam <p>Ada faktor risiko pseudomonas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Golongan sefalosporin anti pseudomonas IV atau 2. Golongan karbapenem IV + fluoroquinolone anti pseudomonas (siprofloksasin) IV atau 3. Aminoglikosida IV <ul style="list-style-type: none"> • Amikasin 15-20mg/kg iv /24 jam • Gentamisin 5-7mg/kg iv 24 jam • Tobramivin 5-7mg/kg iv 24 jam <p>Bila dicurigai disertai pneumonia atipik maka diberikan makrolid baru atau fluorokuinolon respirasi IV ditambah dengan:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Golongan sefalosporin anti pseudomonas IV atau <ul style="list-style-type: none"> • Ceftazidime 2g iv/ 8jam • Cefepime 2g iv/ 8jam 2. Golongan karbapenem IV + aminoglikosida IV atau <ul style="list-style-type: none"> • Imipenem 500mg iv/ 6 jam • Meropenem 1g iv/ 8jam • Aztreonam 2 g iv/ 8 jam • Piperacillin-tazobactam 4,5 g iv/ 6 jam

-
- Amikasin 15-20mg/kg iv /24 jam
 - Gentamisin 5-7mg/kg iv 24 jam
 - Tobramivin 5-7mg/kg iv 24 jam
3. Golongan fluoroquinolone
- Ciprofloxacin 400mg iv/ 8 jam
 - Levofloxacin 750mg/ iv/ 24 jam
4. Anti MRSA
- Vancomycin 15mg/kg/ 8-12 jam
 - Linezolid 600mg iv/12 jam
-

2.3 Tanaman sebagai Obat

Tanaman diciptakan oleh Allah SWT bukan tanpa tujuan, kecuali terdapat manfaat yang terkandung di dalamnya. Hal ini sesuai yang disebutkan dalam surat Luqman ayat 10 yang berbunyi:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۖ وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَن تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِن كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝ (سورة لقمان [٣١]: ١٠)

yang artinya: *“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.”* (QS. Luqman [31]: 10). (Masykur, *et al.*, 2014)

Ayat tersebut mendukung kewajiban manusia di bumi untuk mengkaji dan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan untuk kemaslahatan manusia termasuk dalam hal pengobatan (Syakir, 2014). Bahkan Rasulullah SAW telah memberikan contoh penggunaan tumbuhan dalam mengobati penyakit beliau, keluarga, dan sahabatnya, yaitu melalui salah satu pengobatan *Thibbun Nabawi* (pengobatan cara nabi). Sebuah hadis riwayat Ummu Salamah dari Abu Hurairah R.A menyatakan bahwa Rasulullah menggunakan tumbuhan jinten hitam sebagai obat suatu penyakit kecuali kematian. Berikut hadis tersebut disampaikan, Nabi Muhammad SAW bersabda:

حَدَّثَنَا يَحْيَى بْنُ بُكَيْرٍ، حَدَّثَنَا اللَّيْثُ، عَنْ عُقَيْلٍ، عَنِ ابْنِ شِهَابٍ، قَالَ أَخْبَرَنِي أَبُو سَلَمَةَ، وَسَعِيدُ بْنُ الْمُسَيَّبِ، أَنَّ أَبَا هُرَيْرَةَ، أَخْبَرَهُمَا أَنَّ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ " فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ ". قَالَ ابْنُ شِهَابٍ وَالسَّامُ الْمَوْتُ، وَالْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ الشُّونِيزُ.

Artinya: “Diriwayatkan dari Abu Hurairah yang mendengar Rasulullah SAW bersabda: “Tiada suatu penyakit kecuali di dalam al-Habbah as-Sauda’ ada kesembuhan (obat), kecuali kematian”.”
(Sahih al-Bukhari 5688, Buku 76 Nomor 11). (Al-Bukhari, 2011)

Manusia sejak dahulu sudah mengetahui fungsi tanaman sebagai bahan pengobatan. Pengetahuan tersebut bukan berdasarkan studi dan perilaku yang rasional tetapi karena perasaan instinktif yang secara turun-temurun diwariskan melalui lisan dan yang diyakini kebenarannya (Nurmalasari, *et al.*, 2012). Tanaman obat merupakan ramuan bahan alami yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan. Ketersediaannya di alam menunjang tanaman obat digunakan untuk bahan obat siap pakai (Jumiarni, 2017). Salah satunya adalah pemanfaatan 47 jenis tanaman obat yang secara turun temurun digunakan untuk menyembuhkan penyakit gangguan saluran kemih di 15 desa Kecamatan Kintamani Kabupaten Bangli Provinsi Bali (Darsini, N.N., 2013).

Dewasa ini kembali marak gerakan kembali ke alam (*back to nature*) yang bukan hanya mempengaruhi pola konsumsi masyarakat, namun juga merambah ke sektor-sektor lain termasuk pengobatan. Hal ini terlihat dari pergeseran pola pengobatan masyarakat untuk mengkonsumsi obat-obat tradisional yang memicu kecenderungan penggunaan bahan obat alam atau herbal didunia yang semakin meningkat. Di sisi lain, tingkat kebutuhan masyarakat terhadap pengobatan juga semakin meningkat (Khalid, 2009). Maka dari itu, dibutuhkan pengembangan tanaman sebagai bahan baku pembuatan obat yang diharapkan memiliki efek terapeutik yang lebih baik dan meminimalisir efek samping yang akan terjadi.

Salah satu tanaman tradisional yang diduga dapat digunakan sebagai antibakteri adalah tumbuhan cengkeh. Penelitian terdahulu membuktikan bahwa secara *in vitro* ekstrak cengkeh, termasuk daun dan kuncup bunganya, memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Gang-Joon, 2019). Efek antimikroba yang ditimbulkan oleh cengkeh diduga kuat karena adanya kandungan eugenol yang terdapat pada hampir 95% dari total kandungannya (Uddin, Rana, dan Yaakob, 2017). Eugenol menyebabkan lisis pada sel bakteri dan memicu terjadinya kematian sel (Kumar, Jaiswal, Singh, dan Singh, 2011; Radulovi, Blagojevi, Stojanovi, dan Stojanovi, 2013).

2.4 Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

2.4.1 Taksonomi

Kingdom	: Plantae – Plants
Subkingdom	: Tracheobionta – Vascular plants
Superdivision	: Spermatophyta – Seed plants
Division	: Magnoliophyta – Flowering plants
Class	: Magnoliopsida – Dicotyledons
Subclass	: Rosidae
Order	: Myrtales
Family	: Myrtaceae – Myrtle family
Genus	: <i>Syzygium</i> P. Br. ex Gaertn. – <i>syzygium</i> P
Species	: <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. dan L.M. Perry
Synonyms	:
	<i>a. Syzygium aromaticum</i> (L.) Merrill dan Perry
	<i>b. Caryophyllus aromaticus</i> L.

c. *Eugenia aromatica* (L.) Baill.

d. *Eugenia caryophyllata* Thunb. (Kaur dan Chandrul, 2017)

2.4.2 Asal dan Persebaran

Syzygium aromaticum merupakan tumbuhan asli Indonesia yang tumbuh tepatnya di Maluku Utara, Maluku Selatan dan Papua Barat. Tumbuhan ini telah diperkenalkan dan telah dibudidayakan secara luas di Brazil, Haiti, India, Kenya, Madagaskar, Malaysia, Mauritius, Mexico, Seychelles, Sri Lanka dan Tanzania (Lim, 2014).

2.4.3 Morfologi

Syzygium aromaticum adalah pohon cemara bertajuk kanopi piramida atau kerucut yang berukuran kecil hingga sedang dengan tinggi 6-15 meter (Lim, 2014). Pohon ini bercabang semi tegak yang banyak Hampir semua bagian tanaman cengkeh memiliki aroma yang khas yaitu daun, bunga, dan batangnya (Kaur dan Chandrul, 2017). Sedangkan yang sering digunakan adalah kuncup bunganya – yang dikeringkan sehingga berwarna coklat – yang dikenal dengan sebutan cengkeh (Indonesia) (Lim, 2014).

Batangnya berwarna keabu-abuan. Sedangkan daunnya berbentuk daun tunggal, menempel pada tangkai daun sepanjang 4 cm. Daunnya tersusun saling berlawanan dengan permukaan atas yang berkilau dan terdapat banyak kelenjar minyak di permukaan bawah daun. Daun muda berwarna merah muda dengan sedikit warna perunggu, lalu berubah menjadi warna hijau limau ketika sudah dewasa (Lim, 2014).

Bunga cengkeh tumbuh dari kuncup berwarna hijau kekuningan pucat menjadi hijau dan berubah menjadi warna merah terang ketika siap panen. Tangkai bunga berbentuk silinder berwarna hijau (Lim, 2014). Masing-masing pedunkel berisi 3-4 tangkai bunga (Kaur dan Chandrul, 2017). Sedangkan buah cengkeh berwarna keunguan dan berbentuk bulat panjang seperti buah zaitun yang merupakan dikotil dengan bubur tipis (Kaur dan Chandrul, 2017; Lim, 2014).



Gambar 2. 7 Morfologi Tumbuhan Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)
(Lim, 2014)

a.pohon cengkeh berbentuk tajuk piramida atau kerucut berukuran kecil-sedang dengan banyak cabang; b.daun muda yang berwarna merah muda dengan sedikit warna perunggu; c.daun dewasa berwarna hijau limau dengan sedikit daun muda diujungnya; d.kuncup bunga cengkeh muda yang akan berubah matang; e.kuncup bunga cengkeh matang siap panen; f.kuncup bunga cengkeh kering yang sering dimanfaatkan manusia; g.buah muda; h.buah matang.

2.5 Bunga Cengkeh

2.5.1 Morfologi

Bunga cengkeh terbentuk setelah tumbuhan cengkeh ditanam selama empat tahun atau lebih. Bagian tumbuhan ini adalah bagian yang dijual secara komersial (Cortés-Rojas, de Souza, dan Oliveira, 2014). Bunga cengkeh dipanen saat berwarna merah terang dan berukuran panjang 1,5 – 2 cm dengan empat kelopak bunga yang mekar dan empat kelopak bunga yang tidak mekar yang membentuk bola kecil di bagian tengah (Lim, 2014).

Bunga cengkeh merupakan jenis bunga biseksual. Bagian-bagian bunga cengkeh adalah sebagai berikut.

a) Pedunkel

Pedunkel adalah tangkai yang menempelkan bunga kepada aksis tumbuhan. Satu pedunkel berisi tiga hingga empat tangkai bunga.

b) Kaliks

Kaliks adalah gabungan dari sepal yang merupakan struktur seperti daun yang melindungi bunga saat menjadi kuncup. Bunga ini memiliki kaliks kelenjar berbentuk sub-silinder yang padat dengan empat buah sepal yang berbentuk triangular.

c) Korola

Korola adalah gabungan dari petal (kelopak bunga) yaitu struktur terluar dari bunga yang memiliki berbagai macam warna. Bunga cengkeh memiliki korola dengan 4 kelopak bundar yang cekung yang membentuk *dome-shaped* yang terletak berselingan dengan sepal menutupi banyak benang sari.

d) Stamen

Bunga cengkeh memiliki benang sari yang tidak terbatas yang melengkung ke arah dalam, kecil dan berwarna kuning. Filamen benang sari membentuk empat kelompok terpisah. Sedangkan kepala sari merupakan tipe dua sel kepala sari berbentuk bulat telur.

e) Pistil

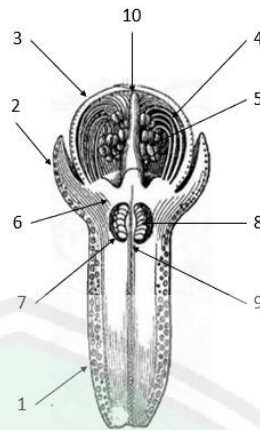
Pistil terdiri dari stigma, style dan ovarium. Bunga cengkeh memiliki dua buah ovarium yang terletak inferior berupa dua sel bilokular berisi banyak karpel (sel telur) yang menempel pada plasenta aksial.



Gambar 2. 8 Bagian-bagian Pohon Cengkeh

(Franz Eugen Köhler, Köhler's Medizinal-Pflanzen)

A. Cabang bunga; 1 kelopak bunga yang menutup, kuncup bunga; 2 kuncup bunga dengan kaliks memanjang; 3 benang sari; 4 serbuk sari; 5 ovarium pada potongan melintang. 6 buah cengkeh; 7 penampang melintang biji benih; 8 embrio; 9 penampang membujur embrio.



Gambar 2. 9 Bagian-bagian Kuncup Bunga Cengkeh
1 kaliks; 2 sepal; 3 petal; 4 filamen benang sari; 5 kepala benang sari; 6 ovarium; 7 lokus ovarium;
8 karpel; 9 placenta; 10 stigma.

2.5.2 Kandungan Kimia

Kuncup bunga cengkeh mengandung minyak atsiri dan beberapa senyawa kimia yang lain. Minyak atsiri kuncup bunga cengkeh terdiri dari eugenol (73,5%-79,7%), β -caryophyllene (7,3%-12,4%), α -humulene (1,0%-1,4%), dan eugenyl acetate (4,5%-10,7%) (Zachariah dan Leela, 2006). Sedangkan senyawa kimia lain yang ada pada kuncup bunga cengkeh adalah tannin, saponin, flavonoid, dan asam fenol (Cortes-Rojas *et al.*, 2014).

Berikut adalah senyawa kandungan kuncup bunga cengkeh yang berperan sebagai antibakteri.

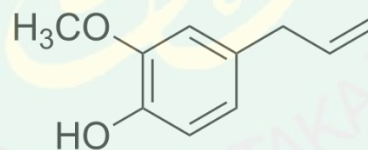
A. Eugenol

Eugenol merupakan senyawa monoterpen, komponen bioaktif utama pada cengkeh yang memberikan efek farmakologis salah satunya adalah antibakteri (Swamy, Akhtar, dan Sinniah, 2016; Kaur dan Chandrul, 2017). Aktivitas antibakteri eugenol memberikan pengaruh yang signifikan. Menurut Burt (2004), aktivitas antibakteri yang terjadi tidak hanya berdasar pada satu

mekanisme spesifik, namun terdapat beberapa target dalam sel bakteri, yaitu membrane sel, sintesis protein dan DNA, dan inhibisi endotoksin bakteri.

Eugenol memiliki aktivitas antibakteri yaitu dengan merusak dinding dan membrane sel bakteri sehingga menyebabkan kebocoran cairan intraseluler, seperti elektrolit (K^+ , Ca^{2+} , Na^+ , dll.), gula dan makromolekul lain termasuk protein seperti enzim dan asam nukleat, yang berujung pada kematian sel (Rhayour, Bouchikhi, Tantaoui-Elaraki, Sendide, dan Remmal, 2003; Xu, Liu, Hu, dan Cao, 2016; Swamy *et al.*, 2016).

Xu *et al.* (2016) menyatakan bahwa mekanisme kerja antibakteri eugenol bunga cengkeh lainnya yang memungkinkan adalah menghambat sintesis protein dan DNA bakteri sehingga berpengaruh terhadap struktur dan aktivitas sel bakteri. Selain itu, kandungan eugenol tinggi mampu mengurangi produksi endotoksin bakteri, seperti yang terjadi pada *Listeria monocytogenes* yang berdampak pada penurunan produksi *listeriolysin o (LLO)* merupakan jenis endotoksin yang dimilikinya (Radulovi *et al.*, 2013).



Gambar 2. 10 Eugenol

B. Tannin

Tannin merupakan polifenol larut air yang biasanya sering ditemukan pada tumbuhan *herbaceous* dan tumbuhan berkayu. Tanin memiliki target pada polipeptida dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna hingga berujung pada kematian sel bakteri. Mekanisme antimikroba lainnya yaitu dengan cara membentuk kompleks dengan enzim

bakteri sehingga menghambat kerjanya serta mengganggu jalannya sintesis protein pada lapisan dalam sel (Ngajow *et al.*, 2013; Akiyama *et al.*, 2001).

C. Saponin

Saponin merupakan golongan glikosida yang ditemukan dalam tanaman (Dorland, 2012). Zat aktif ini dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi lisis pada bakteri yang berujung pada kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri hingga kematian sel (Madduluri *dk*, 2011; Poeloengan dan Praptiwi, 2012).

D. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenol aromatik yang memberi pigment pada tanaman (Dorland, 2012). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri yaitu dengan menghambat fungsi membran sel dan metabolisme energi bakteri. Flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat merusak membran sel bakteri, lalu diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler bakteri tersebut (Nuria *et al.*, 2009). Selain itu, flavonoid dapat menghambat metabolisme energi dengan cara menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri (Cushnie & Lamb, 2005). Senyawa fenol ini dapat mengganggu pertumbuhan bakteri dengan cara melakukan denaturasi protein dan merusak membran sel bakteri (Dwyana, 2013).

E. Humulene

Humulene, yang biasa dikenal sebagai α -humulene atau α -caryophyllene, merupakan senyawa terpenoid golongan sesquiterpen yang isomer dengan β -caryophyllene, namun memiliki aktivitas reseptor *cannabinoids* CB₂ yang kurang (Hartsel *et al.*, 2016). Humulene menunjukkan

efek peningkatan sekresi IL-8 yang merupakan sitokin proinflamasi dan kemokin dengan berbagai fungsi sehingga bermanfaat dalam adanya infeksi untuk pemusnahan patogen (Satsu *et al.*, 2004).

2.5 Ultrasonic-assisted Extraction (UAE)

Ultrasonic-assisted extraction (UAE) – juga bisa disebut *Ultrasonic extraction* atau sonikasi – merupakan metode ekstraksi yang menggunakan energi gelombang mekanik frekuensi tinggi dengan kisaran 20-60 kHz (Li, Tian, dan Li, 2015). UAE dikenal menjadi salah satu metode ekstraksi yang ramah lingkungan yang meningkatkan efisiensi ekstraksi tanpa menggunakan panas sehingga proses ini cocok untuk bahan termolabil atau komponen tidak stabil lainnya (Zhang *et al.*, 2018). Efek kavitasi, mekanis, termal, dan beberapa efek sekunder, seperti pengemulsi dan proliferasi, menyebabkan UAE dapat meningkatkan kecepatan dan frekuensi pergerakan molekul material, mempercepat pencampuran bahan ke dalam pelarut ekstraksi dengan efektif dan kemudian memperoleh hasil produk yang lebih tinggi (Li *et al.*, 2015). Keuntungan lainnya yaitu penanganan yang mudah, eksekusi cepat, tidak ada residu, hasil maksimal dengan kualitas baik dan mencegah adanya degradasi ekstrak (Khalil *et al.*, 2017).

2.5.1 Pembuatan Simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk simplisia kering (penyerbukan). Serbuk simplisia dibuat dengan peralatan tertentu hingga derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak dengan dasar beberapa hal sebagai berikut (Departemen Kesehatan RI, 2000).

1. Makin halus serbuk simplisia, proses ekstraksi makin efektif dan efisien, namun makin halus serbuk, maka makin rumit secara teknologi peralatan untuk tahapan filtrasi.
2. Selama penggunaan peralatan penyerbukan dimana ada gerakan dan interaksi dengan benda keras (logam dll.) maka akan timbul panas (kalori) yang dapat berpengaruh pada senyawa kandungan. Namun hal ini dapat dikompensasi dengan penggunaan nitrogen cair.

2.5.2 Pelarut Ekstraksi

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang optimal untuk senyawa kandungan yang berkhasiat sehingga senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut dipilih yang melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung. Faktor utama untuk pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah sebagai berikut.

1. Selektivitas
2. Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
3. Ekonomis
4. Ramah lingkungan
5. Keamanan

Sedangkan menurut kebijakan dan peraturan pemerintah cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi "*pharmaceutical grade*". Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol, heksana (hidrokarbon aliphatik),

toluen (hidrokarbon aromatik), kloroform (dan segolongannya), dan aseton, umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi). Khusus metanol, dihindari penggunaannya karena sifatnya yang toksik akut dan kronik (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Studi mengenai ekstraksi sonikasi untuk mendapatkan minyak atsiri dari kayu manis menjelaskan bahwa enam jenis pelarut yang diujikan menghasilkan 12-17% hasil ekstraksi (*extraction yield*): pretroleum eter sebesar 17%; etil eter sebesar 15%; etanol 95% sebesar 15%, sikloheksana sebesar 12%, dan diklorometana sebesar 15% (Li *et al.*, 2015). Etanol yang merupakan pelarut yang diperbolehkan di Indonesia menunjukkan hasil yang baik walaupun tidak bisa menandingi golongan eter. Namun untuk mendapatkan ekstrak yang aman dan proses ekstraksi yang efektif dan efisien maka etanol 95% atau lebih dapat digunakan sebagai cairan pelarut untuk UAE.

2.5.3 Proses Ekstraksi

Ekstraksi menggunakan metode UAE dimulai dengan memasukkan serbuk simplisia ke dalam labu botol. Cairan pelarut dimasukkan kedalam labu botol tersebut dan diletakkan pada alat UAE dengan kondisi yang ditentukan. Studi terdahulu menyatakan bahwa waktu ekstraksi terbaik untuk mendapatkan minyak atsiri kayu manis menggunakan UAE adalah 30 menit. Serbuk simplisia disaring dengan penyaring berukuran 60-80 mesh rasio serbuk dan pelarut 6:60 (W/V). Daya UAE yang menunjukkan hasil ekstraksi maksimal yaitu 198 watt. Sedangkan suhu yang digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri maksimal yaitu 40°C. Setelah ekstraksi selesai, larutan yang didapatkan difiltrasi dan dikeringkan dengan

penambahan anhydroussodium sulfate. Kemudian dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator*. (Li *et al.*, 2015)

2.5.4 Separasi dan Pemurnian

Separasi atau pemurnian adalah proses pemisahan senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni (Departemen Kesehatan RI, 2000). Metode separasi berbeda berdasarkan perbedaan fisika dan kimia dari bahan (Q.-W. Zhang *et al.*, 2018). Proses separasi mencakup pengendapan, pemisahan dua cairan tak campur, sentrifugasi, dekantasi, filtrasi serta proses adsorpsi dan penukar ion (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

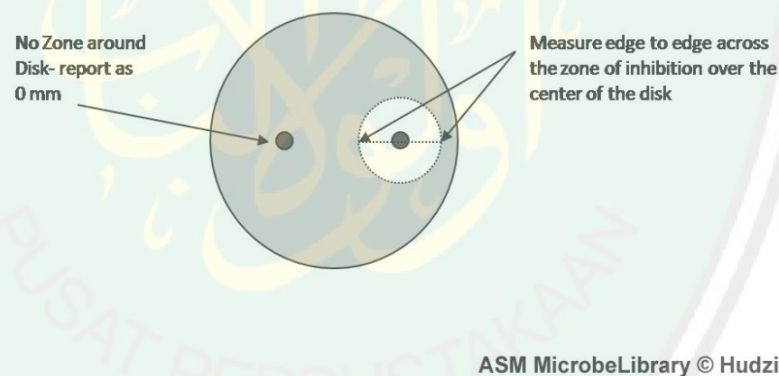
Uji aktivitas antibakteri adalah suatu uji untuk mengetahui aktivitas suatu senyawa atau sampel uji dalam menghambat dan/atau membunuh bakteri spesifik. Uji kepekaan agen mikroba dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri (Balouiri, Sadiki, dan Ibsouda, 2016). Metode uji aktivitas antibakteri untuk ekstrak sebagai agen mikroba potensial yang dapat digunakan adalah sebagai berikut.

2.6.1 Metode Difusi Cakram

Metode ini dikenal dengan nama *Kirby-Bauer Disk Diffusion Method* merupakan metode uji sensitivitas yang ditemukan oleh W. M. M. Kirby dan koleganya A. W. Bauer. Tujuan dari metode ini yaitu untuk menentukan sensitivitas atau resistensi bakteri patogen aerob dan anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa antimikroba untuk membantu dokter dalam memilih opsi perawatan bagi pasiennya. Ada atau tidak adanya pertumbuhan di sekitar cakram

adalah ukuran yang secara tidak langsung mencerminkan kemampuan senyawa tersebut untuk menghambat organisme yang diujikan. Terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri merupakan parameter yang diukur menggunakan alat ukur panjang. Pengukuran termasuk diameter cakramnya yang dilakukan pada latar belakang gelap untuk memudahkan pengamatan. Setiap mengukur diameter, bulatkan ke angka setelahnya. Jika bakteri tumbuh hingga tepi cakram maka zona hambat adalah 0 mm (Hudzicki, 2016).

Kelebihan dari metode ini adalah sederhana dan tidak membutuhkan biaya yang tinggi. Selain itu metode ini merupakan metode yang sering digunakan untuk menguji efek antimikroba dari ekstrak tanaman, minyak atsiri dan obat-obat lainnya (Balouiri *et al.*, 2016).



Gambar 2. 11 Cara mengukur diameter zona hambat

2.6.2 Metode Dilusi Tabung

Metode dilusi tabung adalah satu dari banyak metode uji kepekaan antimikroba. Prosedurnya mencakup persiapan dilusi (pengenceran) dari agen antimikroba menjadi kelipatan 2 (misal: 2, 4, 6, 8, dst.) dalam medium cair yang diletakkan pada tabung berisi minimal 2 mL (Balouiri *et al.*, 2016). Kemudian

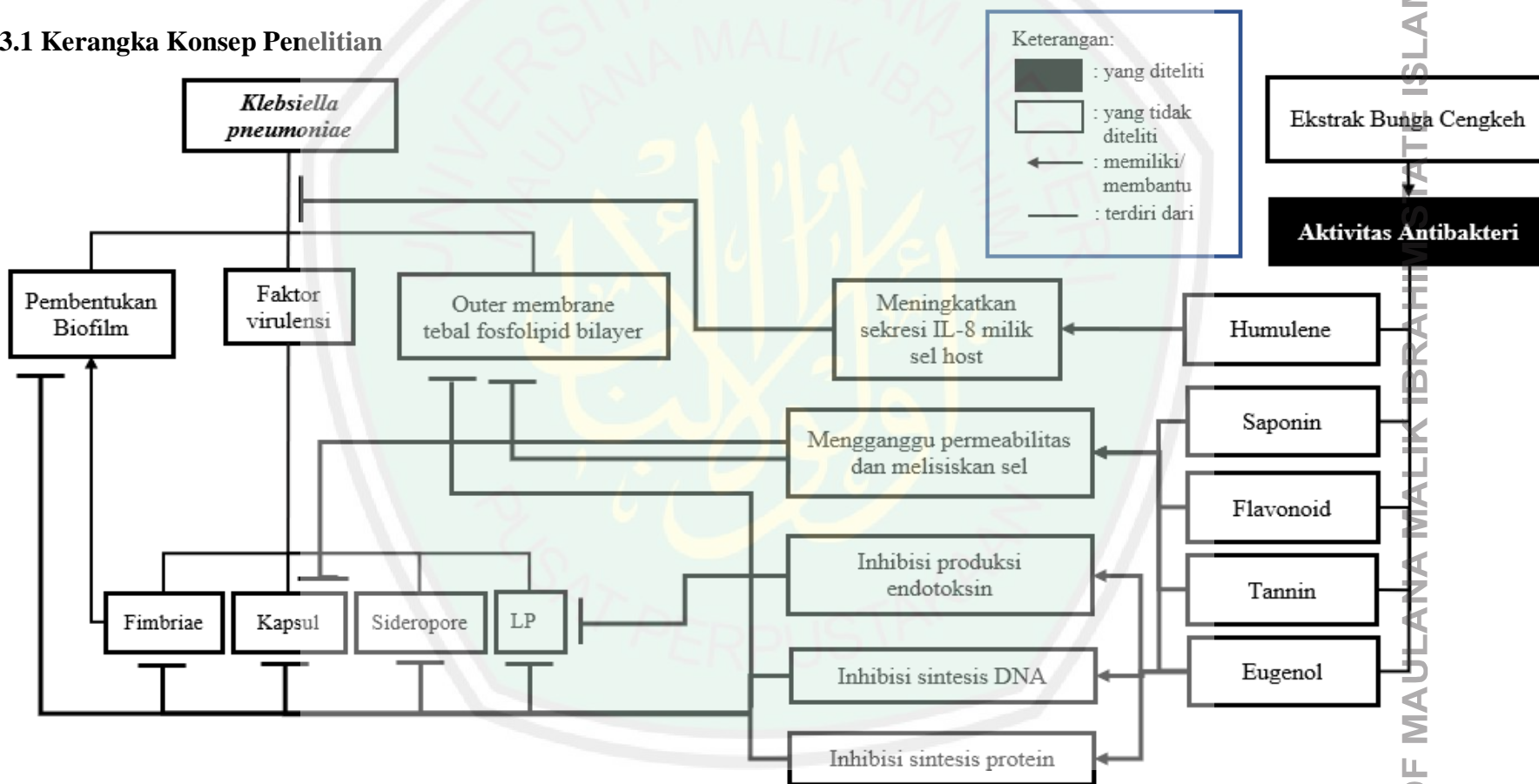
mikroba diinokulasikan ke tabung sesuai dengan standar McFarland 0.5 yang telah diencerkan hingga berisi kira-kira 1×10^6 CFU/mL sehingga kepadatan akhirnya yaitu 5×10^5 CFU/mL, lalu diinkubasi selama 20 jam dalam suhu $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ (CLSI, 2009).

Metode ini dapat mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) atau *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Pengukuran KHM dilakukan dengan mengamati kekeruhan larutan masing-masing tabung uji yang dibandingkan dengan kontrol positif. Konsentrasi sampel terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri merupakan KHM. Setelah KHM ditetapkan, uji KBM dilakukan dengan menuang larutan masing-masing tabung uji yang tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri dengan metode *pour plate* ke dalam Muller-Hinton Agar (MHA). KBM ditentukan sebagai konsentrasi antibakteri terendah yang dibutuhkan untuk membunuh 99,9% dari hasil inokulum final setelah inkubasi selama 18-24 jam (Balouiri *et al.*, 2016).

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Klebsiella pneumoniae adalah bakteri gram negatif yang menyebabkan penyakit pneumonia. Bakteri ini masuk melalui inhalasi dan menginvasi sel-sel saluran pernafasan. Kelebihan-kelebihan yang dimiliki *Klebsiella pneumoniae*, seperti struktur dinding selnya, faktor-faktor virulensi yang dimilikinya, kemampuan membentuk biofilm, membantunya dalam melakukan invasi ke sel *host* dan menghindari respon imunitas *host*. Respon imun yang terjadi yaitu respon pertahanan tidak spesifik dan spesifik.

Klebsiella pneumoniae memiliki kapsul, dinding sel yang tebal yang menyulitkan proses fagositosis, menghambat komplemen untuk melakukan opsonisasi dan melisis sel bakteri serta menurunkan respon inflamasi akut. Biofilm memberikan kemampuan *Klebsiella pneumoniae* dalam melakukan evasi dan melindungi bakteri dari respon imun sel *host*. Sedangkan LPS endotoksin bakteri yang bekerja untuk menurunkan respon inflamasi pula. Fimbriae adalah mediator penting untuk melakukan invasi ke sel *host* dan ikut andil dalam pembentukan biofilm. Respon inflamasi yang dilakukan oleh makrofag, sel dendritik, NK sel, limfosit dan neutrophil menyebabkan menurunnya konsentrasi zat besi di lingkungan. Namun *Klebsiella pneumoniae* memiliki siderofor berguna untuk mengumpulkan zat besi yang ada disekitarnya sehingga reaksi dalam sel seperti redoks dan reaksi enzimatik tetap terjadi. Seluruh mekanisme pertahanan tubuh sel *host* dapat ditangani oleh *Klebsiella pneumoniae* sehingga ia dapat membentuk koloni di permukaan mukosa saluran nafas yang nantinya akan menginfeksi sel target yaitu sel epitel parenkim paru yang disebut pneumonia.

Ekstrak bunga cengkeh mengandung lebih dari 90% kandungan eugenol yang memiliki mekanisme antibakteri yaitu: (1) merusak dan melisiskan dinding sel bakteri; (2) menghambat sintesis protein dan DNA; (3) menurunkan produksi endotoksin. Ketiga mekanisme ini ditargetkan pada kelebihan yang dimiliki *Klebsiella Pneumoniae* sehingga dapat mengurangi invasi, penetrasi, proliferasi dan kolonisasi pada permukaan mukosa saluran pernapasan dan sel epitel parenkim paru.

Komponen aktif ekstrak bunga cengkeh lainnya yang memiliki mekanisme antibakteri adalah tanin yang memiliki mekanisme antimikroba dengan cara membentuk kompleks dengan enzim bakteri sehingga menghambat pembentukan dinding sel serta mengganggu jalannya sintesis protein pada lapisan dalam sel sehingga memicu rusaknya dinding sel dan kematian sel. Sama dengan tannin, saponin juga dapat menyebabkan kematian sel bakteri melalui mekanisme peningkatan permeabilitas membran sehingga terjadi lisis pada bakteri. Sedangkan flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat merusak membran sel bakteri. Sementara itu, humulene memiliki mekanisme antibakteri dengan meningkatkan sekresi sitokin proinflamasi IL-8 sehingga membantu membunuh bakteri.

Aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh dilihat dengan melakukan uji aktivitas antibakteri. Uji ini dilakukan dengan metode difusi cakram dan dilusi tabung menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak yang berbeda. Metode difusi cakram merupakan metode untuk mendapatkan hasil diameter zona hambat. Sedangkan metode dilusi tabung dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum KBM).

3.2 Hipotesis Penelitian

H0: Ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

H1: Ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental kuantitatif untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang didapatkan dari metode *ultrasonic-assisted extraction* (UAE) terhadap *Klebsiella pneumoniae* melalui metode difusi cakram untuk mengukur diameter zona hambat dan metode dilusi tabung untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

4.2 Variabel Penelitian

Adapun variabel pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

a) Variabel bebas

Konsentrasi ekstrak bunga cengkeh yang didapatkan melalui metode *ultrasonic-assisted extraction* (UAE).

b) Variabel terikat

Aktivitas antibakteri yang dilihat dari diameter zona hambat, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

c) Variabel terkontrol

Jenis, asal dan umur bunga cengkeh, temperatur dan kelembaban.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan dan Laboratorium Kimia

Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Januari – Februari 2020.

4.4 Sampel Penelitian dan Jumlah Pengulangan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang didapatkan CV. Wiyasa Mandiri. Sampel dibagi menjadi 10 kelompok perlakuan ditambah 2 kelompok kontrol. Kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah 10 konsentrasi ekstrak bunga cengkeh yang berbeda. Sedangkan kontrol pada penelitian ini adalah kontrol negatif (-) DMSO 5% dan kontrol positif (K+) tetrasiklin 30 μ g untuk metode difusi cakram, serta kontrol bakteri dan kontrol bahan untuk metode dilusi tabung. Untuk mengetahui jumlah pengulangan yang perlu dilakukan, maka dapat digunakan rumus sebagai berikut (Federer, 1967).

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

Keterangan

t = jumlah kelompok perlakuan

r = jumlah pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan
sehingga:

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(12 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$11(r - 1) \geq 15$$

$$11r - 11 \geq 15$$

$$r \geq \frac{26}{11}$$

$$r \geq 2,36$$

Untuk mengantisipasi terjadinya kesalahan, maka jumlah pengulangan ditentukan sebanyak 4 kali pada setiap konsentrasi yang diberikan.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu terdiri dari *handscoon*, masker, alat UAE, rotary evaporator, forcep, mikropipet, tabung reaksi, cawan petri, gelas beaker, batang pengaduk kaca, spatula, gelas ukur, tabung erlenmeyer, jarum ose, vortex, penggaris, inkubator, autoklaf, neraca analitik, spidol, dan bunsen.

4.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu terdiri dari serbuk bunga cengkeh kering, biakan bakteri, cotton swab, salin steril, cakram steril, aluminium foil, media *Muller Hinton Broth* (MHB), media *Muller Hinton Agar* (MHA), standart McFarland 0,5, etanol 96%, DMSO 5%, kertas saring Whatman No.1, plastic wrap, label, dan spirtus.

4.6 Definisi Operasional

Untuk memudahkan pembaca maka definisi operasional dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1) Uji Aktivitas Antibakteri

Suatu uji untuk mengetahui aktivitas ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dalam menghambat dan/atau membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* menggunakan metode difusi cakram untuk mengukur diameter zona hambat dan metode dilusi tabung untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

2) Bunga Cengkeh

Bunga dari tumbuhan cengkeh (*Syzygium aromaticum*) berupa serbuk bunga kering berwarna coklat yang dibeli dari Balai Materia Medica Kota Batu.

3) Esktrak Bunga Cengkeh

Hasil ekstraksi bunga cengkeh yang digunakan dalam beberapa persentase konsentrasi yang didapatkan melalui metode *ultrasonic-assisted extraction* (UAE).

4) Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan kultur murni bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek dengan karakteristik biokimia yaitu memfermentasi karbohidrat, tidak memproduksi indol, menghidrolisis asam sitrat, dan dapat mengurai urea.

5) Diameter Zona Hambat

Diameter zona bening yang terbentuk pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasikan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang didapatkan dengan metode difusi cakram *Kirby Bauer* dalam satuan milimeter.

6) Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi ekstrak bunga cengkeh terendah dari keseluruhan konsentrasi perlakuan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada media *Muller Hinton Broth* (MHB) yang telah diberi ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang didapatkan dengan metode dilusi tabung (makrodilusi).

7) Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi ekstrak bunga cengkeh terendah dari keseluruhan konsentrasi perlakuan yang dapat membunuh 99,9% bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada media *Muller Hinton Agar* (MHA) steril yang diberi larutan masing-masing perlakuan yang didapatkan dengan metode dilusi tabung (makrodilusi).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan menggunakan autoklaf. Alat-alat dibungkus menggunakan aluminium foil lalu dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

4.7.2 Persiapan Simplisia

Bunga cengkeh yang digunakan pada penelitian ini merupakan serbuk bunga cengkeh kering berwarna coklat yang dibeli dari Balai Materia Medica Kota Batu. Langkah-langkah untuk mendapatkan serbuk simplisia tersebut adalah sebagai berikut.

- 1) Bunga cengkeh didapatkan dari petani di Blitar lalu disortir.
- 2) Bunga cengkeh dicuci menggunakan air mengalir lalu ditiriskan
- 3) Bunga cengkeh dikeringkan dalam rumah kaca hingga kadar air maksimal 10%.
- 4) Bunga cengkeh kering disortir kembali untuk mendapatkan tingkat kekeringan yang sama.
- 5) Bunga cengkeh kering dihaluskan dengan mesin penggiling untuk mendapatkan serbuk 90 mesh.

4.7.3 Proses Ekstraksi Bunga Cengkeh

Proses ekstraksi bunga cengkeh dilakukan dengan metode *ultrasonic-assisted extraction* (UAE) menggunakan alat Ultrasonic Cleaners SONICA 4300i EP S3 milik SOLTEC dengan daya selama memanaskan sebesar 800 watt, frekuensi 40kHz, dan suhu tidak lebih dari 40°C. Langkah-langkah ekstraksi adalah sebagai berikut.

- 1) Serbuk bunga cengkeh ditimbang sebanyak 50gram dicampur dengan 500mL etanol 96% dalam gelas beaker 500mL.
- 2) Campuran diaduk selama kurang lebih 2 menit lalu diletakkan dalam mesin ultrasonik.
- 3) Waktu diatur selama 2 menit lalu diangkat dan diaduk lagi selama sekitar 2 menit. Proses ini dilakukan hingga mendapatkan 3 kali UAE 2 menit dan pengadukan 2 kali 2 menit.
- 4) Hasil ekstraksi difiltrasi menggunakan kertas saring Whatman No.1.
- 5) Pemisahan ekstrak dan pelarut dilakukan menggunakan IKA Rotary Evaporator RV 10 Digital V yang diatur dalam suhu 40°C dengan putaran 55rpm.
- 6) Ekstrak bunga cengkeh disimpan pada botol kedap udara di dalam kulkas dengan suhu 4°C.

4.7.4 Isolasi dan Identifikasi Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Bakteri ini diisolasi dan diidentifikasi dengan menggunakan menumbuhkan bakteri pada media selektif, melakukan uji pewarnaan gram dan melakukan beberapa uji biokimiawi.

A. Kultur pada *MacConkey Agar*

Berikut adalah prosedur menumbuhkan bakteri pada media isolasi selektif *MacConkey Agar*.

- 1) *MacConkey Agar* yang masih cair dituang ke dalam cawan petri yang steril dan ditunggu hingga memadat.
- 2) Bakteri diinoklasikan pada cawan petri dengan cara *streak plate*.
- 3) Petri diinkubasi pada suhu $(35 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ selama 18-24 jam dalam suasana aerobik dan jauhkan dari sinar matahari.
- 4) Hasil pertumbuhan bakteri diamati setelah inkubasi.

B. Uji Pewarnaan Gram

Prosedur uji pewarnaan gram adalah sebagai berikut.

- 1) Kaca obyek dipastikan bersih dan bening dengan cara diusap menggunakan tisu atau lap yang telah diberi alkohol.
- 2) Kaca obyek diberi tanda bagian belakang sebagai tempat menginokulasikan bakteri.
- 3) Air diambil menggunakan ose sebanyak satu kali di atas kaca obyek.
- 4) Bakteri diletakkan di atas kaca obyek dengan cara *smear* menggunakan ose secara aseptik dan dicampur dengan air yang ada.
- 5) Hasil *smear* bakteri dibiarkan mengering dengan cara diangin-anginkan.
- 6) Kaca obyek difiksasi diatas bunsen.
- 7) Larutan kristal violet diguyurkan di atas *smear* bakteri pada kaca obyek lalu tunggu hingga mengering. Lalu kaca obyek dibilas dengan air.
- 8) Dekolorisasi kristal violet dengan cara diguyur menggunakan alcohol (95%) (10-20 detik). Lalu kaca obyek dibilas dengan air.

- 9) Larutan safranin atau fuchsin diteteskan di atas *smear* bakteri pada kaca obyek selama sekitar 1 menit lalu tunggu hingga mengering. Lalu kaca obyek dibilas dengan air.
- 10) Hasil warna *smear* bakteri diamati.
- 11) Pemeriksaan lanjutan dapat dilakukan dengan mikroskop untuk melihat lebih jelas warna dan bentuk bakteri yaitu merah muda berbentuk batang.

C. Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Berikut adalah prosedur Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) yang dapat dilakukan pada *Klebsiella pneumoniae*.

- 1) Medium TSIA dibiarkan memadat dalam suhu ruang dalam tabung reaksi steril yang dimiringkan.
- 2) Bakteri dari kultur murni diinokulasikan pada medium menggunakan jarum dengan cara menusuk media pada bagian tengah hingga dasar media.
- 3) Bakteri diinokulasikan pada lereng media dengan cara streak menggunakan jarum dengan Gerakan seperti ekor ikan (*fishtail motion*).
- 4) Tabung diinkubasi dalam suhu $(35\pm 2)^{\circ}\text{C}$ dan amati setelah 24 jam inkubasi.

D. Uji Indol

Berikut adalah prosedur uji indol yang dapat dilakukan pada *Klebsiella pneumoniae*.

- 1) Bakteri diinokulasikan pada tabung reaksi berisi medium SIM (*sulfide, indole, and motility*) dengan cara menusuk media dengan arah kebawah dan keatas.
- 2) Larutan xylene sebanyak 0,5 ml dimasukkan kedalam tabung medium.
- 3) Reagen Kovac sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung medium.

- 4) Tabung diinkubasi dalam suhu $(35\pm 2)^{\circ}\text{C}$ dan amati setelah 24 jam inkubasi.
- 5) Warna tabung diobservasi.

E. Uji Metil Merah dan Uji Voges-Proskauer

Berikut adalah prosedur Uji Metil Merah dan Uji Voges-Proskauer yang dapat dilakukan pada *Klebsiella pneumoniae*.

- 1) Bakteri diinokulasikan pada media cair *Metyl-Red Voges-Proskauer* (MRVP).
- 2) Tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- 3) Sebanyak 1ml hasil inkubasi diambil ke tabung steril dan ditambahkan 12 tetes Barrit's A dan 4 tetes Barrit's B. lalu vortex 1 menit dan diamkan terbuka selama 20-30 menit. Amati warna yang terbentuk.
- 4) Sisa media pada tabung inkubasi ditambahkan 8 tetes meial merah. Lalu vortex 15-25 detik dan amati warna yang terbentuk.

F. Uji Simmons Sitrato

Prosedur pada uji ini adalah sebagai berikut.

- 1) Media didiamkan dalam suhu ruang dalam tabung reaksi steril yang dimiringkan.
- 2) Bakteri diinokulasikan pada lereng media dengan metode streak.
- 3) Hasil inokulasi diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- 4) Lalu perubahan warna diamati.

G. Uji Aktivitas Urease

Prosedur uji aktivitas urease adalah sebagai berikut.

- 1) Bakteri diinokulasikan pada media cair urea dalam tabung reaksi. Lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam.
- 2) Perubahan pH larutan dalam tabung reaksi diamati dengan pH indikator.

4.7.5 Persiapan Suspensi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan kultur murni yang dibeli dari CV. Wiyasa Mandiri.

- 1) Diambil sebanyak 3 ose bakteri secara aseptik, lalu dilarutkan dalam media selektif cair *Mueller Hinton broth* 30mL.
- 2) Dilakukan pencampuran dengan aspirasi mikropipet sebanyak 6-10 kali dan vortex selama 15-20 detik.
- 3) Konsentrasi biakan inokulum diukur dengan standart McFarland 0,5 hingga didapatkan kekeruhan yang sama secara visual. Suspensi bakteri ini memiliki konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL dan siap diinokulasikan pada agar petri pada metode difusi cakram.
- 4) Untuk membuat suspensi bakteri yang siap untuk metode dilusi tabung pada uji aktivitas antibakteri maka 0,1 ml larutan suspense bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL dilarutkan dalam 14,9 ml *Muller Hinton Broth* (MHB) steril lalu homogenkan dengan vortex sehingga didapatkan kira-kira 1×10^6 CFU/mL.

4.7.6 Penentuan Konsentrasi Ekstrak

Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada penelitian ini ditentukan berdasarkan penelitian terdahulu dan penelitian pendahuluan. Penelitian Gang-Joon (2019) menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak bunga cengkeh terhadap beberapa bakteri Gram negatif (8% hingga 0,125%) dan didapatkan nilai KHM 0.125 hingga 0.5% (v/v). Sedangkan penelitian pendahuluan yang dilakukan

peneliti yaitu mengulang penelitian Gang Joon namun dilakukan pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Hasil yang didapatkan dari penelitian pendahuluan menunjukkan zona hambat pada konsentrasi terbesar (8%) hanya 8-11mm. Oleh karena itu, ditambahkan 3 konsentrasi pembanding diatas 8% sesuai deret ukur serta 2 kontrol pada masing-masing metode uji antibakteri seperti yang tertera pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Kelompok Perlakuan dan Kontrol

Tabung/Cakram	Perlakuan
1	Ekstrak 64%
2	Ekstrak 32%
3	Ekstrak 16%
4	Ekstrak 8%
5	Ekstrak 4%
6	Ekstrak 2%
7	Ekstrak 1%
8	Ekstrak 0,5%
9	Ekstrak 0,25%
10	Ekstrak 0,125%
11	Kontrol positif/Kontrol bahan
12	Kontrol negatif/Kontrol bakteri

4.7.7 Proses Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

Untuk membuat konsentrasi ekstrak bunga cengkeh yang sesuai dengan perlakuan pada penelitian ini, maka perlu dilakukan beberapa langkah berikut.

1. Larutan stok ekstrak dibuat dengan mencampurkan 12,8gram ekstrak cengkeh 100% ke dalam 2ml pelarut DMSO 5% sehingga didapatkan konsentrasi stok 640% sebanyak 2ml.
2. Pengenceran dilakukan dengan rumus pengenceran larutan $V_1M_1 = V_2M_2$, dengan M (molar) digantikan oleh persentase konsentrasi ekstrak.

Keterangan

V1 : volume konsentrasi awal

M1 : persentase konsentrasi awal

V2 : volume konsentrasi yang diinginkan

- M2 : persentase konsentrasi yang diinginkan
3. Dilakukan filtrasi menggunakan kertas saring Whatman No. 1 pada setiap konsentrasi pengenceran.

4.7.8 Uji aktivitas antibakteri

4.7.8.1 Metode Difusi Cakram

A. Perendaman Cakram

1. Disiapkan 11 gelas beaker 30ml dan diberi label konsentrasi ekstrak 64% hingga 0,125% dan kontrol negatif DMSO 5%.
2. Gelas beaker 2-11 diisi DMSO 5% sebanyak 2ml.
3. Gelas beaker diisi DMSO 5% sebanyak 3,6ml.
4. Konsentrasi stok ekstrak (640%) diisikan ke gelas beaker 1 sebanyak 0,4ml. Lalu vortex 15-25 detik.
5. Larutan ekstrak pada gelas beaker 1 diambil sebanyak 2ml dan diisikan pada gelas beaker 2. Lalu vortex 15-25 detik.
6. Ulangi langkah 5 untuk gelas beaker 3-10.
7. Buang sisa pengenceran sebanyak 2ml dari gelas beaker 10.
8. Setiap beaker diisi dengan cakram kosong steril (*blank disc*) lalu didiamkan selama 5-10 menit.

B. Inokulasi Bakteri

1. Bakteri diambil dengan mencelupkan *cotton swab* ke dalam suspensi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Sedikit penekanan pada dinding tabung diperlukan untuk menghilangkan inokulum berlebih.

2. Bakteri diinokulasikan pada petri agar steril menggunakan metode *steak plate* menggunakan *cotton swab* sebanyak tiga kali pengulangan dengan jarak 60°.
3. Petri agar yang telah diinokulasi didiamkan selama 3-15 menit dalam suhu ruang sebelum peletakan cakram.

C. Peletakan Cakram

1. Petri agar disiapkan sebanyak 3 petri dan digaris di bagian belakang petri dengan penggaris dan spidol untuk mendapatkan 4 ruang. Label ditulis masing-masing perlakuan dan kontrol pada masing-masing ruang petri agar.
2. Cakram masing-masing konsentrasi dan kontrol negatif diambil satu persatu dari rendaman dengan menggunakan forcep steril. Sedikit benturan pada dinding beaker diperlukan untuk menghilangkan ekstrak berlebih.
3. Kontrol positif tetrasiklin diambil dari cakram antibiotik tetrasiklin yang telah berisi 30 μ g tetrasiklin menggunakan forcep steril.
4. Sebanyak 4-5 cakram diletakkan pada satu petri agar menggunakan forcep steril dengan jarak cakram dengan tepi petri agar tidak kurang dari 15mm dan jarak cakram dengan cakram tidak kurang dari 24mm. Cakram sedikit ditekan agar terfiksasi.
5. Sebelum 15menit berlalu, petri agar diinkubasi dalam keadaan terbalik (tutup cawan petri berada dibawah) selama 18-24 jam dalam suhu (35 \pm 2) $^{\circ}$ C.

D. Pengukuran Zona Hambat

1. Pengukuran dilakukan dengan latar belakang gelap (kertas hitam) dan penerangan yang cukup.

2. Zona hambat diukur dengan keadaan petri terbalik dan mengukur seluruh area bening termasuk diameter cakram menggunakan penggaris. Angka desimal dibulatkan ke angka setelahnya. Jika bakteri tumbuh hingga tepi cakram diukur sebagai 0mm.

4.7.8.2 Metode Dilusi Tabung

A. Dilusi Antibakteri

1. Disiapkan 12 tabung reaksi pada rak tabung lalu beri label sesuai nama perlakuan dan kontrol. Tabung 1-10 adalah perlakuan mulai dari konsentrasi terbesar. Tabung 11 dan 12 adalah kontrol bahan dan kontrol bakteri.
2. Tabung 1 diisi MHB sebanyak 3,6ml.
3. Tabung 2-10 dan tabung 12 diisi MHB sebanyak 2ml.
4. Konsentrasi stok ekstrak (640%) diisikan ke tabung 1 sebanyak 0,4ml. Lalu vortex 15-25detik.
5. Larutan ekstrak pada tabung 1 diambil sebanyak 2ml dan diisikan pada tabung 2. Lalu vortex 15-25detik.
6. Ulangi langkah 5 untuk tabung 3-10.
7. Sisa pengenceran (2ml larutan ekstrak pada tabung 10) dimasukkan pada tabung 11 sebagai kontrol bahan.
8. Suspensi bakteri $5 \cdot 10^{-6}$ CFU/ml dimasukkan pada tabung 1-10 dan tabung 12 sebanyak 0,2ml.
9. Setelah semua perlakuan dan kontrol siap, maka semua tabung reaksi ditutup dengan penutup dan diinkubasi selama 20jam dalam suhu $(35 \pm 2)^{\circ}\text{C}$.

10. Setelah 20jam, semua tabung dikeluarkan dari inkubator dan digoyangkan dengan tangan selama 6-10 detik. Lalu dimasukkan ke inkubator lagi selama 4jam dalam suhu $(35\pm 2)^{\circ}\text{C}$.

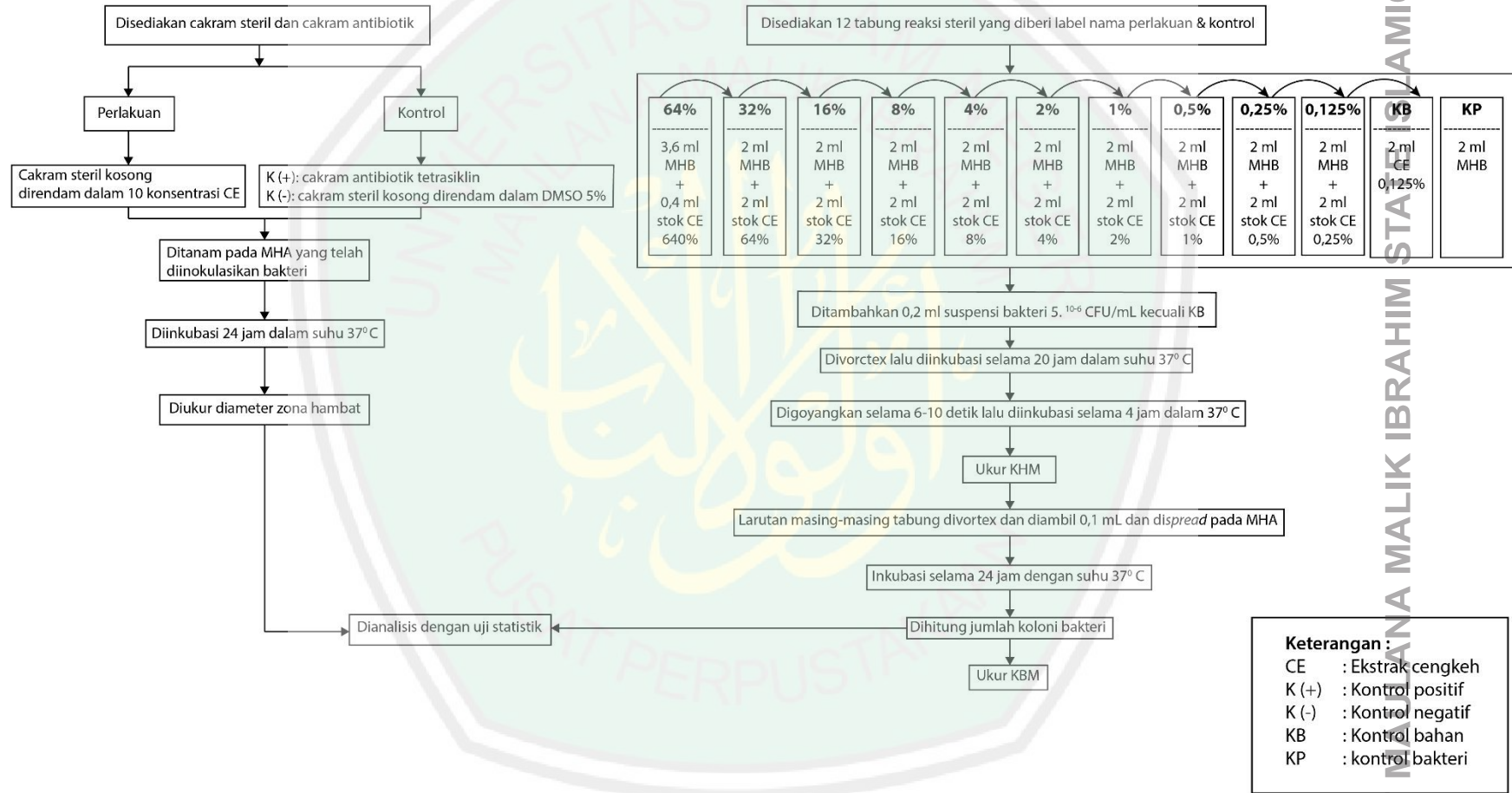
B. Mengukur KHM

1. Semua tabung reaksi hasil inkubasi dikeluarkan dari inkubator.
2. Semua tabung reaksi dikocok perlahan untuk mencampur isinya.
3. Dibutuhkan cahaya terang untuk mengamati kekeruhannya
4. Bukti pertumbuhan yang dapat dilihat yaitu endapan yang ada di dasar tabung dan/atau kekeruhan.
5. Konsentrasi ekstrak paling rendah dari keseluruhan perlakuan yang menyamai kontrol positif adalah KHM. Jika belumbisa ditentukan, maka dapat dibandingkan dengan kontrol bahan dan kontrol bakteri.

C. Mengukur KBM

1. Seluruh tabung perlakuan diaspirasi menggunakan mikropipet.
2. Sebanyak 0,1ml pada setiap tabung perlakuan diambil menggunakan mikropipet keatas petri agar steril.
3. Bakteri disebarkan keseluruh permukaan petri agar menggunakan kaca penabur (*L-shaped spread glass*) dengan cara *spread plate*.
4. Petri agar diletakkan dalam keadaan terbalik pada incubator untuk diinkubasi selama 18-24jam dalam suhu $(35\pm 2)^{\circ}\text{C}$.
5. Pertumbuhan bakteri diukur menggunakan *colonycounter*.
6. Konsentrasi paling rendah dari keseluruhan perlakuan yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada MHA (membunuh 99,9% bakteri) adalah KBM.

4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

Data hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh terhadap *Klebsiella pneumoniae* adalah berupa diameter zona hambat, KHM dan KBM, serta jumlah koloni yang tumbuh dalam media MHA. Data yang dilakukan analisis adalah data diameter zona hambat dan jumlah koloni yang tumbuh dalam media MHA.

Data dianalisis menggunakan aplikasi SPSS 23.0 *for windows* untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi bunga cengkeh terhadap aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Uji normalitas digunakan untuk mengetahui status distribusi data. Uji normalitas yang digunakan adalah *Saphiro Wilk* karena jumlah data kurang dari 50. Kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan Uji *Levene*. Jika semua syarat terpenuhi, data terdistribusi normal dan homogen, maka data diameter zona hambat dan jumlah koloni yang tumbuh dalam media MHA masing-masing dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* untuk melihat beda pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Kemudian dilanjutkan dengan Uji Post Hoc *LSD* untuk melihat beda antara masing-masing kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Jika data tidak memenuhi salah satu atau kedua syarat yaitu terdistribusi normal dan homogen, maka digunakan alat uji beda non parametrik yaitu Uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan Uji Post Hoc *Mann-Whitney*.

BAB V

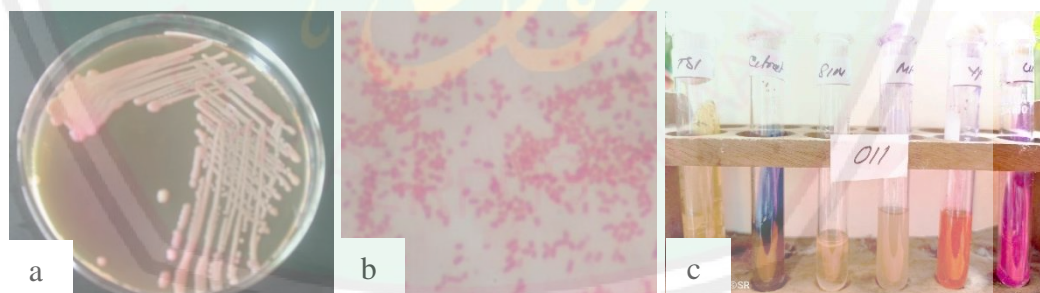
HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro yang memberikan hasil penelitian berupa data identifikasi bakteri *Klebsiella pneumoniae*, hasil ekstraksi bunga cengkeh, hasil pengamatan zona hambat, hasil pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), dan hasil pengamatan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur murni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang berasal dari CV. Wiyata Mandiri. Identifikasi ulang terhadap bakteri tersebut dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Dokter FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang secara makroskopis, mikroskopis dan biokimia.



Gambar 5. 1 Identifikasi Bakteri

a. identifikasi makroskopis: kultur pada agar *MacConkey*; b. identifikasi mikroskopis: pewarnaan gram; c. identifikasi biokimia: TSIA dan IMViC

Identifikasi makroskopis dilakukan dengan menanamkan bakteri pada media selektif yaitu agar *MacConkey*. Pada identifikasi ini didapatkan hasil yang merupakan ciri khas *Klebsiella pneumoniae* yaitu koloni mukoid berbentuk bulat dan elevasi cembung yang berwarna merah muda dengan tepi rata (beraturan) (gambar 5.1a). Warna merah muda ini menandakan bahwa bakteri ini memfermentasi laktosa. Sedangkan identifikasi mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram yang dilanjutkan dengan pengamatan menggunakan mikroskop. Hasil identifikasi mikroskopis yaitu didapatkan bakteri berbentuk batang berwarna merah muda yang menandakan sifat bakteri Gram negatif (gambar 5.1b).

Identifikasi biokimia yang dilakukan menghasilkan hasil sesuai Tabel 5.1. Pada uji TSIA didapatkan hasil bahwa *Klebsiella pneumoniae* memfermentasi semua bentuk gula yang ada pada media yaitu dektrosa, laktosa dan sukrosa. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* juga tidak menghasilkan H₂S namun menghasilkan gas selama fermentasi. Pada uji indol didapatkan hasil negatif yang menyatakan bahwa *Klebsiella pneumoniae* tidak menghasilkan indol. Begitu juga pada uji *metyl red* yang negatif memberikan kesimpulan bahwa *Klebsiella pneumoniae* memfermentasi gula melalui jalur butanediol yang tidak menghasilkan ion hidrogen yang tinggi sehingga memberikan pH > 4,4. Sedangkan pada uji *Voges Proskauer*, *Simmons Citrate*, dan Urease didapatkan hasil positif yang berarti *Klebsiella pneumoniae* dikonfirmasi melakukan fermentasi gula melalui jalur butanediol, menggunakan sitrat sebagai sumber metabolisme, dan dapat menghidrolisis urea menjadi amonia dan karbon dioksida. Hal ini memberikan kesimpulan bahwa *Klebsiella pneumoniae* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan famili *Enterobacteriaceae* dengan genus *Klebsiella*.

Tabel 5. 1 Uji Biokimia *Klebsiella pneumoniae*

Uji Biokimia	Hasil	Interpretasi
Triple sugar iron (TSI) agar	Acidic slant/Acidic butt Tidak terbentuk warna hitam Gelembung dan retakan media	fermentasi dektrosa, laktosa dan sukrosa H ₂ S Negatif Gas Positif
Indol	Berwarna kuning	Negatif
Methyl Red	Berwarna kuning	Negatif
Voges Proskauer	Berwarna merah	Positif
Simmons Citrate	Berwarna biru	Positif
Urease	Berwarna merah jambu	Positif

5.1.2 Hasil Ekstraksi Bunga Cengkeh

Hasil ekstraksi bunga cengkeh menggunakan metode *Ultrasonic-assisted extraction* (UAE) adalah cairan berwarna jingga kecoklatan. Hasil ekstraksi difiltrasi menggunakan kertas saring Whatman No.1 lalu dilakukan pemisahan antara ekstrak dengan pelarut menggunakan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak berupa pasta berminyak berwarna coklat kehitaman. Ekstrak yang telah didapatkan dilakukan pengenceran sesuai dengan konsentrasi perlakuan yaitu 64%, 32%, 16%, 8%, 4%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, dan 0,125%. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan dilusi serial.

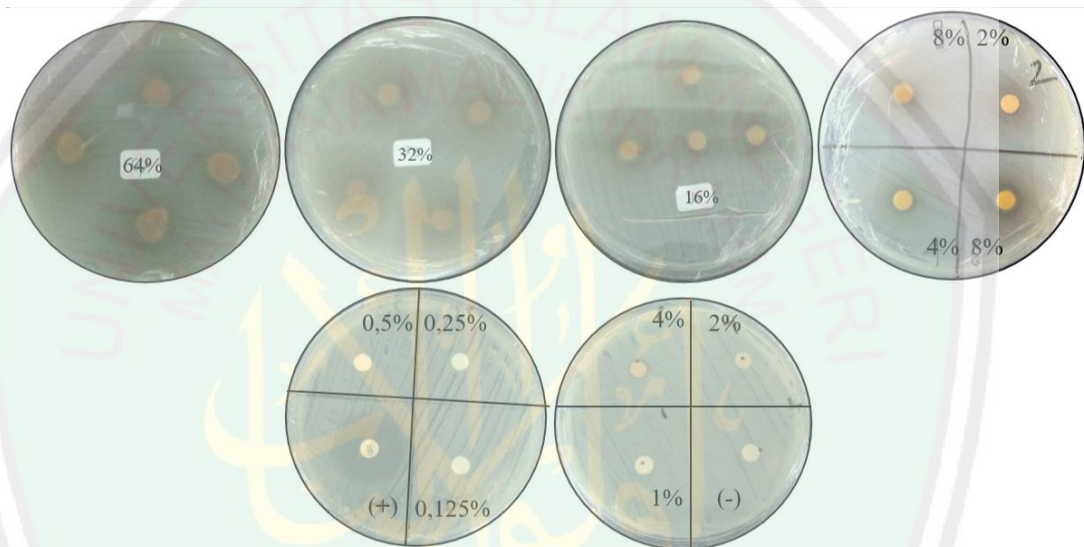


Gambar 5. 2 Ekstraksi Bunga Cengkeh

- a. ekstraksi menggunakan mesin Ultrasonic-assisated extraction; b. filtrasi dengan kertas saring;
c. pemisahan ekstrak dengan pelarut menggunakan *rotary evaporator*

5.1.3 Hasil Pengamatan Zona Hambat

Metode difusi cakram Kirby Bauer dilakukan sesuai prosedur yang dikeluarkan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) untuk mengetahui diameter zona hambat yang terbentuk pada yaitu Muller Hinton agar yang telah diinokulasikan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan ditanamkan masing-masing konsentrasi perlakuan ekstrak bunga cengkeh, setelah inkubasi selama 18-24 jam pada suhu $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$.



Gambar 5. 3 Pengamatan Zona Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh

Dari pengamatan keempat pengulangan perlakuan dan kontrol pada metode difusi cakram, konsentrasi 64%, 32%, 16%, 8%, 4%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, dan 0,125% serta kontrol positif tetrasiklin $30\mu\text{g}$ dan kontrol negatif DMSO 5%, didapatkan hasil diameter zona hambat yang ditampilkan pada Tabel 5.2.

Tabel 5. 2 Pengamatan Zona Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh (mm)
(setelah dikurangi diameter cakram)

Pengulangan Ke-	Zona Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh (mm) pada konsentrasi (%)										Kontrol	
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	(+)	(-)
1	12	9	7	6	4	2	1	1	0	0	17	0
2	15	10	8	5	3	3	2	1	0	0	18	0
Rata-rata	13,5	9,5	7,5	5,5	3,5	2,5	1,5	1	0	0	17,5	0
Std.Deviation	2,1	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	0	0	0	0,7	0

Diameter zona hambat terbesar ada pada kontrol positif yang memiliki rata-rata 17,5 mm, disusul oleh konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 64% yang memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 13,5 mm. Konsentrasi ekstrak 32%, 16%, 8%, 4% dan 2% memiliki rata-rata diameter zona hambat secara berurutan yaitu sebesar 9,5 mm, 7,5 mm, 5,5 mm, 3,5 mm, dan 2,5 mm. Sedangkan konsentrasi ekstrak yang lebih kecil yaitu 1% dan 0,5% memiliki rata-rata diameter zona hambat 1,5 mm dan 1 mm. Sementara itu, kontrol negatif dan konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 0,25% dan 0,125% tidak memiliki zona hambat (0 mm).

5.1.4 Hasil Pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* telah dibiakkan pada media *Muller Hinton Broth* (MHB) yang dicampur dengan ekstrak bunga cengkeh dengan berbagai persentase konsentrasi perlakuan dengan metode dilusi tabung, lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu $(35 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Kekeruhan dan endapan yang terbentuk pada dasar tabung perlakuan merupakan parameter yang diamati untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak bunga cengkeh terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

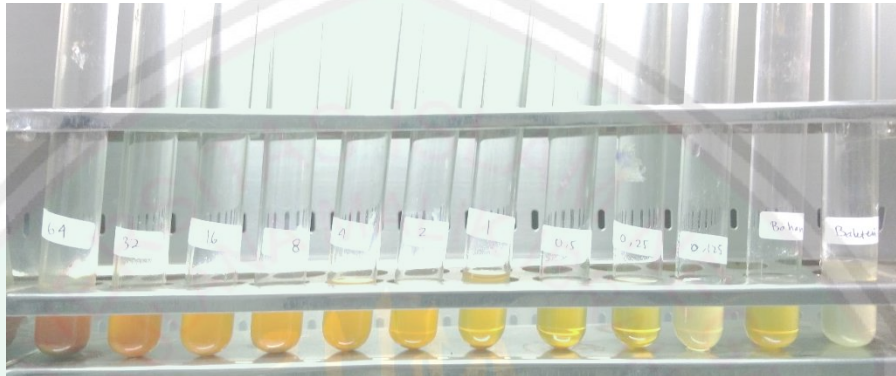
Hasil pengamatan setelah inkubasi didapatkan bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak bunga cengkeh terhadap *Klebsiella pneumoniae* adalah ekstrak dengan konsentrasi 1%, dibuktikan dengan larutan terjernih pertama dari dilusi tabung.

Tabel 5. 3 Pengamatan kekeruhan larutan secara visual

Pengulangan Ke-	Kekeruhan larutan pada konsentrasi (%)										Kontrol	
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	(+)	(-)
1	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-	+	-	+
2	+++	+++	++	++	+	+	-	-	-	+	-	+

Keterangan

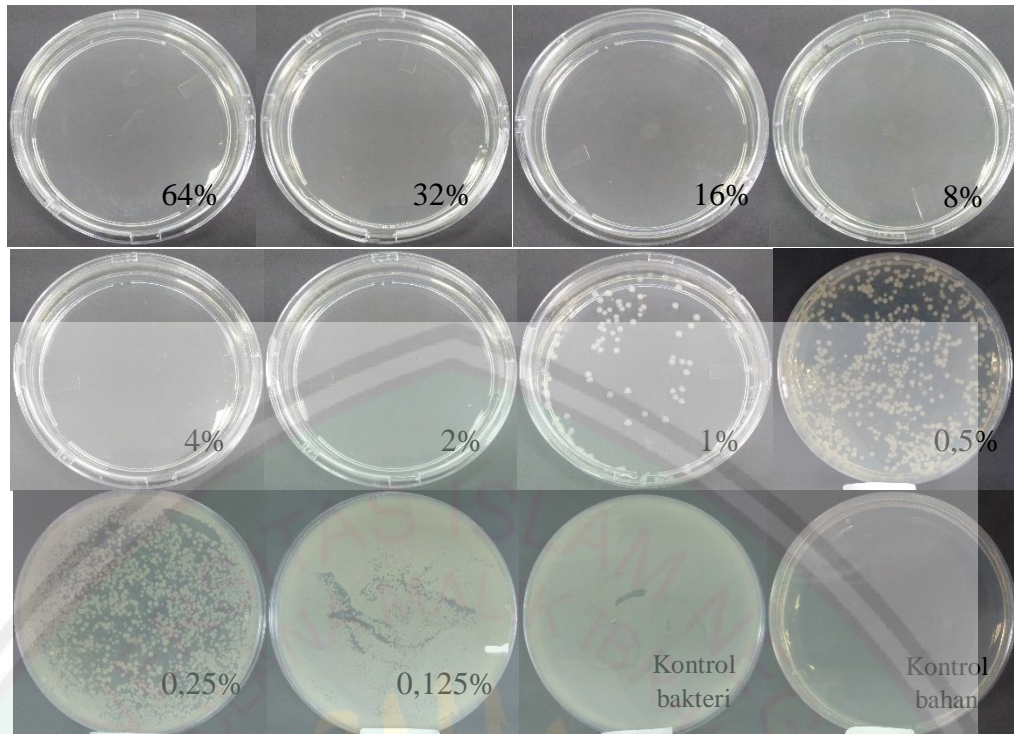
- + Sedikit keruh
- ++ Keruh
- +++ Sangat keruh
- Jernih



Gambar 5. 4 Pengamatan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

5.1.5 Hasil Pengamatan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Metode dilusi tabung juga menghasilkan data berupa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), campuran media, ekstrak bunga cengkeh, dan bakteri yang ada pada masing-masing tabung perlakuan ditumbuhkan pada media padat *Muller Hinton Agar* (MHA) sebanyak 0,1ml dengan metode *spread* lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu $(35 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Pengamatan KBM dilakukan menggunakan 2 metode yaitu visual dan dengan bantuan *colony counter*.



Gambar 5. 5 Pengamatan jumlah koloni secara visual

Pengamatan visual dilakukan dengan melihat pertumbuhan koloni dengan menggunakan dasar gelap. Pertumbuhan bakteri mulai terlihat pada konsentrasi ekstrak 1% hingga 0,125%. Pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang terlihat paling banyak dan tebal adalah pada kontrol bakteri. Sedangkan pada kontrol bahan sama sekali tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Pada konsentrasi ekstrak bunga cengkeh terkecil, 0,125%, didapatkan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang hampir menutupi seluruh permukaan media MHA. Pada konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 0,25% mulai terlihat adanya pertumbuhan koloni yang berkurang, hingga berlanjut pada konsentrasi 2% yang terlihat bersih dari pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah 2%.

Tabel 5. 4 Pengamatan Jumlah Koloni secara visual

Pengulangan Ke-	Pertumbuhan Koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada MHA (CFU) pada konsentrasi (%)										Kontrol	
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	Bahan	Bakteri
1	-	-	-	-	-	-	+	++	++	+++	-	+++
2	-	-	-	-	-	-	+	++	++	+++	-	+++

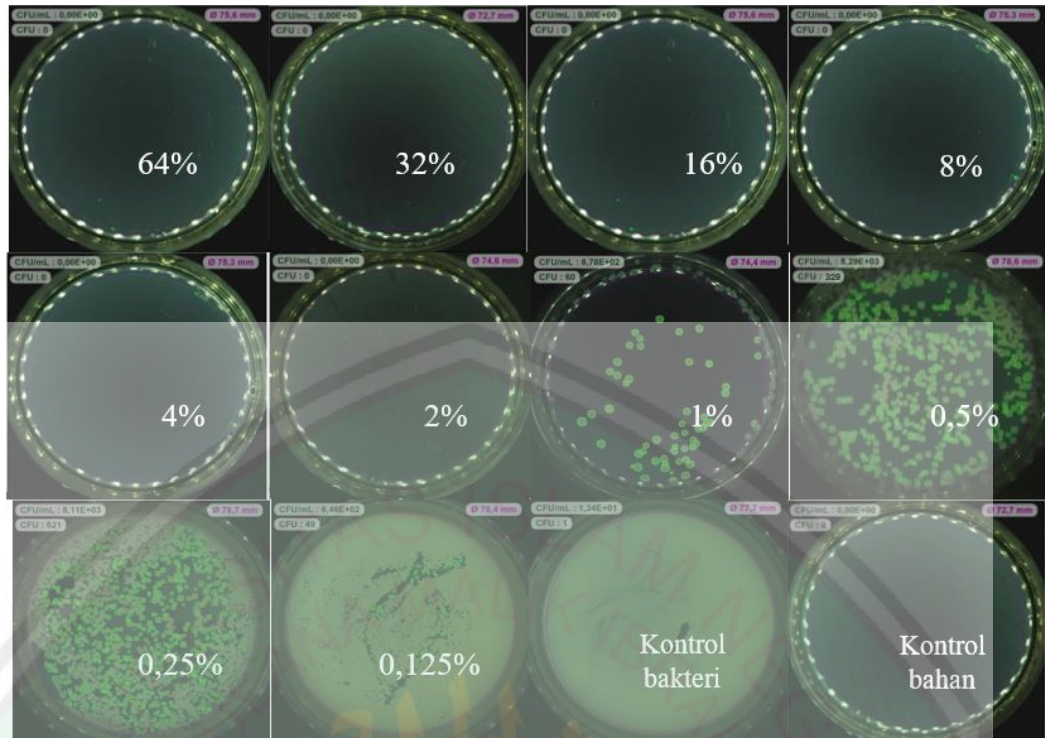
Keterangan

+++	Sangat Banyak
++	Banyak
+	Sedikit
-	Tidak Ada

Pengamatan dengan *colony counter* menunjukkan hasil bahwa semakin kecil konsentrasi ekstrak bunga cengkeh maka semakin besar jumlah koloni yang tumbuh pada media MHA. Namun pada pengulangan kedua dan ketiga menunjukkan hasil yang sedikit berbeda yaitu pada konsentrasi 32% pengulangan kedua terdeteksi 88 CFU dan pada konsentrasi 4% pengulangan ketiga terdeteksi 183 CFU. Hal ini dapat terjadi oleh karena berbagai faktor seperti adanya kontaminasi dari bakteri selain *Klebsiella pneumoniae*, permukaan luar cawan petri yang kotor, adanya gelembung udara pada media MHA, atau terdeteksinya titik yang merupakan bentukan dari cawan petri.

Tabel 5. 5 Pengamatan Jumlah Koloni dengan *colony counter*

Pengulangan Ke-	Pertumbuhan Koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> pada MHA (CFU) pada konsentrasi (%)										Kontrol	
	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	Bahan	Bakteri
1	0	0	0	0	0	0	36	266	712	49	0	1
2	0	0	0	0	0	0	49	201	621	35	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0	42,5	233,5	666,5	42	0	0,5
Std.Deviation	0	0	0	0	0	0	9,2	46	64,3	9,9	0	0,71



Gambar 5. 6 Pengamatan jumlah koloni dengan *colony counter*

5.2 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji statistik *One Way ANOVA* atau *Kruskal Wallis* untuk mencari perbandingan signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Jika data memenuhi dua asumsi klasik yaitu Uji Normalitas dan Uji Homogenitas, maka akan digunakan *One Way ANOVA*. Namun jika tidak memenuhi salah satu atau keduanya, maka akan digunakan *Kruskal Wallis*. Kemudian dilanjutkan dengan Uji Post Hoc. Analisis data dilakukan dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) pada aplikasi *SPSS 23.0 for windows*.

5.2.1 Analisis Data Diameter Zona Hambat

Data yang telah didapatkan pada pengamatan diameter zona hambat ekstrak bunga cengkeh terhadap pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* dilakukan uji normalitas menggunakan Uji *Jarque Bera* dan uji homogenitas menggunakan Uji *Breusch-Pagan*. Dilanjutkan dengan Uji *Kruskal Wallis*, dan Uji *Post Hoc*.

5.2.1.1 Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk menentukan distribusi residu data yaitu terdistribusi normal atau tidak. Uji *Jarque Bera* digunakan sebagai uji normalitas data dikarenakan jumlah sampel hanya berjumlah 24 dan tidak muncul hasil signifikansi dari Uji *Saphiro Wilk*. Berikut adalah rumus uji *Jarque Bera*.

$$JB = N \left(\frac{S^2}{6} + \frac{K^2}{24} \right)$$

Keterangan

N : Banyaknya data

S : Skewness (Kemiringan)

K : Kurtosis (Keruncingan)

$$JB = 24 \left(\frac{(-1,372)^2}{6} + \frac{(3,528)^2}{24} \right)$$

$$JB = 24 \left(\frac{1,882}{6} + \frac{12,447}{24} \right)$$

$$JB = 24 (0,314 + 0,519)$$

$$JB = 24 (0,832)$$

$$JB = 19,976$$

Tabel 5. 6 Deskripsi Statistik Data Diameter Zona Hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Skewness		Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
Unstandardized Residual	24	.0000000	3.86870907	-1.372	.472	3.528	.918
Valid N (listwise)	24						

Berdasarkan perhitungan dengan rumus diatas dapat diketahui hasil uji normalitas *Jarque Bera (JB)* sebesar 19,976. Nilai tersebut kemudian dibandingkan dengan nilai *Chi-square* dengan $df = 2$ sesuai tingkat signifikansi (α) 5% yaitu 5,99. Nilai *JB* lebih besar dari nilai *Chi-square* yang menandakan distribusi residu tidak normal. Sehingga data diameter zona hambat tidak memenuhi asumsi normalitas.

Tabel 5. 7 Tabel *Chi-square*

df	P = 0,05
1	3,84
2	5,99
3	7,82
4	9,49
5	11,07

5.2.1.2 Uji Homogenitas

Uji yang dilakukan selanjutnya adalah uji homogenitas yang bertujuan untuk menentukan variansi data yaitu homogen atau tidak. Uji homogenitas yang digunakan adalah Uji *Breusch-Pagan* oleh karena tidak memenuhi asumsi normalitas dan hasil Uji *Levene* tidak muncul. Hasil uji homogenitas yang didapatkan sebagai berikut.

Tabel 5. 8 Uji Homogenitas Diameter Zona Hambat

BREUSCH-PAGAN ^a						
Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	7773.156	1	7773.156	11.467	.003 ^b
	Residual	14913.623	22	677.892		
	Total	22686.779	23			

a. Dependent Variable: SQRES

b. Predictors: (Constant), Perlakuan

Nilai signifikansi pada Uji *Breusch-Pagan* didapatkan $P\text{-value} < 0,05$ (0,003) sehingga data memiliki variansi yang tidak homogen. Dengan demikian syarat-syarat uji *One Way ANOVA* tidak terpenuhi maka akan dilanjutkan dengan Uji *Kruskal Wallis* sebagai uji non parametrik.

5.2.1.3 Uji *Kruskal Wallis*

Uji *Kruskal Wallis* adalah uji nonparametrik berdasarkan peringkat mean yang bertujuan untuk menentukan perbedaan signifikan secara statistik antara dua kelompok variabel bebas atau lebih terhadap variabel terikat yang berskala data numerik (interval/rasio) dan ordinal. Uji ini merupakan uji alternatif dari Uji *One Way ANOVA* jika tidak memenuhi asumsi variansi sama dan/atau normalitas. Hasil Uji *Kruskal Wallis* yang didapatkan sebagai berikut.

Tabel 5. 9 Uji *Kruskal Wallis* Diameter Zona Hambat

Test Statistics ^{a,b}	
	Diameter Zona Hambat
Chi-Square	22.822
Df	11
Asymp. Sig.	.019

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Nilai signifikansi ditunjukkan pada Tabel 5.9 yaitu $P\text{-value} = 0,019$ yang berarti masing-masing perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan terhadap diameter zona hambat. Hal ini memberikan kesimpulan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima yaitu ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

Uji *Kruskal Wallis* hanya dapat digunakan untuk melihat ada tidaknya aktivitas antibakteri pada setiap kelompok, tetapi tidak dapat digunakan untuk melihat seberapa besar perbedaan aktivitas antibakteri tiap kelompok perlakuan sehingga dilakukan uji Post Hoc selanjutnya yaitu Uji *Mann-Whitney*.

5.2.1.4 Uji *Post Hoc*

Uji Post Hoc yang dilakukan sebagai kelanjutan dari Uji *Kruskal Wallis* adalah Uji *Mann-Whitney* karena data lebih dari dua kelompok dengan tujuan mengetahui besar perbedaan aktivitas antibakteri pada tiap kelompok perlakuan dan kontrol. Hasil Uji *Mann-Whitney* yang didapatkan sebagai berikut.

Tabel 5. 10 Uji *Mann-Whitney* Diameter Zona Hambat

Pairwise Comparisons of Perlakuan					
Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.
DMSO 5%-Tetrasiklin 30 μ g	20.000	7.008	2.854	.004	.285
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 1%	5.750	7.008	.821	.412	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 0,5%	4.500	7.008	.642	.521	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 0,5%	4.500	7.008	.642	.521	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 0,125%	.000	7.008	.000	1.000	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 32%	16.000	7.008	2.283	.022	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 32%	16.000	7.008	2.283	.022	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 16%	14.000	7.008	1.998	.046	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 2%	-8.000	7.008	-1.142	.254	1.000
Ekstrak 0,25%-Tetrasiklin 30 μ g	20.000	7.008	2.854	.004	.285
Ekstrak 0,125%-Tetrasiklin 30 μ g	20.000	7.008	2.854	.004	.285
DMSO 5%-Ekstrak 4%	-9.750	7.008	-1.391	.164	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 8%	-12.000	7.008	-1.712	.087	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 16%	-14.000	7.008	-1.998	.046	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 32%	-16.000	7.008	-2.283	.022	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 64%	-18.000	7.008	-2.569	.010	.674
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 16%	14.000	7.008	1.998	.046	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 0,25%	.000	7.008	.000	1.000	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 0,125%	.000	7.008	.000	1.000	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 0,5%	-4.500	7.008	-.642	.521	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 1%	-5.750	7.008	-.821	.412	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 8%	12.000	7.008	1.712	.087	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 8%	12.000	7.008	1.712	.087	1.000

Ekstrak 0,25%-Ekstrak 4%	9.750	7.008	1.391	.164	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 4%	9.750	7.008	1.391	.164	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 2%	8.000	7.008	1.142	.254	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 2%	8.000	7.008	1.142	.254	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 1%	5.750	7.008	.821	.412	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 64%	18.000	7.008	2.569	.010	.674
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 64%	18.000	7.008	2.569	.010	.674
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 1%	1.250	7.008	.178	.858	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 2%	3.500	7.008	.499	.617	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 4%	5.250	7.008	.749	.454	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 8%	7.500	7.008	1.070	.285	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 16%	9.500	7.008	1.356	.175	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 32%	11.500	7.008	1.641	.101	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 64%	13.500	7.008	1.926	.054	1.000
Ekstrak 0,5%-Tetrasiklin 30 μ g	15.500	7.008	2.212	.027	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 2%	2.250	7.008	.321	.748	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 4%	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 8%	6.250	7.008	.892	.372	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 16%	8.250	7.008	1.177	.239	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 32%	10.250	7.008	1.463	.144	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 64%	12.250	7.008	1.748	.080	1.000
Ekstrak 1%-Tetrasiklin 30 μ g	14.250	7.008	2.033	.042	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 4%	1.750	7.008	.250	.803	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 8%	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 16%	6.000	7.008	.856	.392	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 32%	8.000	7.008	1.142	.254	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 64%	10.000	7.008	1.427	.154	1.000
Ekstrak 2%-Tetrasiklin 30 μ g	12.000	7.008	1.712	.087	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 8%	2.250	7.008	.321	.748	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 16%	4.250	7.008	.606	.544	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 32%	6.250	7.008	.892	.372	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 64%	8.250	7.008	1.177	.239	1.000
Ekstrak 4%-Tetrasiklin 30 μ g	10.250	7.008	1.463	.144	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 16%	2.000	7.008	.285	.775	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 32%	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 64%	6.000	7.008	.856	.392	1.000
Ekstrak 8%-Tetrasiklin 30 μ g	8.000	7.008	1.142	.254	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 32%	2.000	7.008	.285	.775	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 64%	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 16%-Tetrasiklin 30 μ g	6.000	7.008	.856	.392	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 64%	2.000	7.008	.285	.775	1.000

Ekstrak 32%-Tetrasiklin 30 μ g	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 64%-Tetrasiklin 30 μ g	2.000	7.008	.285	.775	1.000

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.

Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .05.

Tabel 5.9 diatas memberikan informasi bahwa terdapa 14 pasang perlakuan yang memiliki P -value < 0,05 yaitu kontrol negatif DMSO 5% pada kontrol positif tetrasiklin 30 μ g (0,004), ekstrak 64% (0,010), ekstrak 32% (0,022), ekstrak 16% (0,046). Selain itu, ekstrak 0,125% juga berbeda signifikan terhadap kontrol positif tetrasiklin 30 μ g (0,004), ekstrak 64% (0,010), ekstrak 32% (0,022), ekstrak 16% (0,046). Ekstrak 0,25% memiliki P -value < 0,05 terhadap kontrol positif tetrasiklin 30 μ g (0,004), ekstrak 64% (0,010), ekstrak 32% (0,022), ekstrak 16% (0,046). Konsentrasi ekstrak yang lain yang memiliki perbedaan signifikan satu sama lain adalah ekstrak 0,5% pada kontrol positif tetrasiklin 30 μ g (0,027), dan ekstrak 1% pada kontrol positif tetrasiklin 30 μ g (0,042).

Aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang paling efektif dapat diketahui dengan membandingkan antara kontrol positif dengan ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dalam berbagai konsentrasi. Hasil yang diperoleh yaitu pada perbandingan kontrol positif tetrasiklin 30 μ g terhadap DMSO 5% adalah 20,000, terhadap ekstrak 0,125% adalah 20,000, terhadap ekstrak 0,25% adalah 20,000, terhadap ekstrak 0,5% adalah 15,500, terhadap ekstrak 1% adalah 14,250, terhadap ekstrak 2% adalah 12,000, terhadap ekstrak 4% adalah 10,250, terhadap ekstrak 8% adalah 8,000, terhadap ekstrak 16% adalah 6,000, terhadap ekstrak 32% adalah 4,000, dan terhadap ekstrak 64% adalah 2,000. Hasil yang diperoleh membuktikan bahwa semakin kecil nilai statistik uji (*test statistic*) maka ekstrak bunga cengkeh tersebut memiliki aktivitas

antibakteri yang paling efektif karena nilainya mendekati kontrol positif. Sehingga pada penelitian ini, ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 64% serta penurunan konsentrasi ekstrak bunga cengkeh berbanding lurus dengan penurunan aktivitas antibakteri (bakteriostatik) terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

5.2.2 Analisis Data Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* pada MHA

Data jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang telah ditumbuhkan pada MHA setelah dilusi tabung didapatkan dalam satuan CFU (*Colony Forming Unit*). Hasil penghitungan menggunakan *colony counter* ini kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan Uji *Jarque Bera* dan uji homogenitas menggunakan Uji *Breusch-Pagan*. Lalu dilanjutkan dengan Uji *Kruskal Wallis*, dan Uji *Post Hoc*.

5.2.2.1 Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk menentukan distribusi residu data yaitu terdistribusi normal atau tidak. Uji *Jarque Bera* digunakan sebagai uji normalitas data dikarenakan jumlah sampel hanya berjumlah 24 dan tidak muncul hasil signifikansi dari Uji *Saphiro Wilk*. Berikut adalah rumus uji *Jarque Bera*.

$$JB = N \left(\frac{S^2}{6} + \frac{K^2}{24} \right)$$

Keterangan

N : Banyaknya data

S : Skewness (Kemiringan)

K : Kurtosis (Keruncingan)

$$JB = 24 \left(\frac{(1,863)^2}{6} + \frac{(4,177)^2}{24} \right)$$

$$JB = 24 \left(\frac{3,471}{6} + \frac{17,447}{24} \right)$$

$$JB = 24 (0,578 + 0,727)$$

$$JB = 24 (1,305)$$

$$JB = 13,054$$

Tabel 5. 11 Deskripsi Statistik Data Jumlah Koloni

	N	Mean	Std. Deviation	Skewness		Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
Unstandardized Residual	24	.0000000	162.629674	1.863	.472	4.177	.918
Valid N (listwise)	24						

Berdasarkan perhitungan dengan rumus diatas dapat diketahui hasil uji normalitas *Jarque Bera (JB)* sebesar 13,054. Nilai tersebut kemudian dibandingkan dengan nilai *Chi-square* dengan $df = 2$ sesuai tingkat signifikansi (α) 5% yaitu 5,99. Nilai *JB* lebih besar dari nilai *Chi-square* yang menandakan distribusi residu tidak normal. Sehingga data jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* pada MHA tidak memenuhi asumsi normalitas.

5.2.2.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas yang bertujuan untuk menentukan variansi data yaitu homogen atau tidak. Uji homogenitas yang digunakan adalah Uji *Levene* oleh karena tidak memenuhi asumsi normalitas. Hasil uji homogenitas yang didapatkan sebagai berikut.

Tabel 5. 12 Uji Homogenitas Jumlah Koloni
Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3576966424972103200.000	11	12	.000

Nilai signifikansi pada Uji *Levene* didapatkan $P\text{-value} < 0,05$ (0,000) sehingga data memiliki variansi yang tidak homogen. Dengan demikian syarat-syarat uji *One Way ANOVA* tidak terpenuhi maka akan dilanjutkan dengan Uji *Kruskal Wallis* sebagai uji non parametrik.

5.2.2.3 Uji *Kruskal Wallis*

Uji *Kruskal Wallis* adalah uji alternatif dari Uji *One Way ANOVA* jika tidak memenuhi asumsi variansi sama dan/atau homogenitas. Hasil Uji *Kruskal Wallis* yang didapatkan sebagai berikut.

Tabel 5. 13 Uji *Kruskal Wallis* Jumlah Koloni
Test Statistics^{a,b}

	Jumlah Koloni (CFU)
Chi-Square	22.015
df	11
Asymp. Sig.	.024

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Masing-masing perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan terhadap pertumbuhan jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang telah ditumbuhkan pada MHA setelah dilusi tabung, ditunjukkan dengan $P\text{-value} = 0,024$ (Tabel 5.13). Hal ini memberikan kesimpulan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima yaitu ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

Uji *Kruskal Wallis* hanya dapat digunakan untuk melihat ada tidaknya aktivitas antibakteri pada setiap kelompok, tetapi tidak dapat digunakan untuk melihat seberapa besar perbedaan aktivitas antibakteri tiap kelompok perlakuan sehingga dilakukan uji Post Hoc selanjutnya yaitu Uji *Dunn-Bonferroni*.

5.2.1.4 Uji *Post Hoc*

Uji Post Hoc yang dilakukan sebagai kelanjutan dari Uji *Kruskal Wallis* adalah Uji *Mann-Whitney* karena data lebih dari 2 kelompok, tujuannya yaitu untuk mengetahui besar perbedaan aktivitas antibakteri pada tiap kelompok perlakuan dan kontrol. Hasil Uji *Mann-Whitney* disajikan dalam tabel 5.14.

Tabel 5. 14 Uji *Mann Whitney* Jumlah Koloni

Pairwise Comparisons of Perlakuan					
Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.
Kontrol bahan-Ekstrak 64%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 32%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 16%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 8%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Kontrol bakteri	-4.000	6.149	-.651	.515	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 64%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 32%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 16%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 8%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 4%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 2%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 64%-Ekstrak 32%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 16%	.000	6.149	.000	1.000	1.000

Ekstrak 64%-Ekstrak 8%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 32%-Ekstrak 16%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 8%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 16%-Ekstrak 8%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Esktrak 8%-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Esktrak 8%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Esktrak 8%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Esktrak 8%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Esktrak 8%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Esktrak 8%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 4%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Kontrol bakteri-Ekstrak 0,125%	-6.250	6.149	-1.017	.309	1.000
Kontrol bakteri-Ekstrak 1%	-6.750	6.149	-1.098	.272	1.000
Kontrol bakteri-Ekstrak 0,5%	-9.500	6.149	-1.545	.122	1.000
Kontrol bakteri-Ekstrak 0,25%	-11.500	6.149	-1.870	.061	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 1%	.500	6.149	.081	.935	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 0,5%	3.250	6.149	.529	.597	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 0,25%	5.250	6.149	.854	.393	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 0,5%	-2.750	6.149	-447	.655	1.000

Ekstrak 1%-Ekstrak 0,25%	-4.750	6.149	-.773	.440	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 0,25%	-2.000	6.149	-.325	.745	1.000

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same.

Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .05.

Pada tabel 5.14 didapatkan informasi yang menyatakan bahwa perbedaan yang signifikan terjadi pada beberapa pasang perlakuan yaitu kontrol bahan pada ekstrak 0,5% ($P\text{-value} = 0,028$) dan ekstrak 0,25% ($P\text{-value} = 0,012$), ekstrak 64% pada ekstrak 0,5% ($P\text{-value} = 0,028$) dan ekstrak 0,25% ($P\text{-value} = 0,012$), ekstrak 32% pada ekstrak 0,5% ($P\text{-value} = 0,028$) dan ekstrak 0,25% ($P\text{-value} = 0,012$), ekstrak 16% pada ekstrak 0,5% ($P\text{-value} = 0,028$) dan ekstrak 0,25% ($P\text{-value} = 0,012$), ekstrak 8% pada ekstrak 0,5% ($P\text{-value} = 0,028$) dan ekstrak 0,25% ($P\text{-value} = 0,012$), ekstrak 4% pada ekstrak 0,5% ($P\text{-value} = 0,028$) dan ekstrak 0,25% ($P\text{-value} = 0,012$) dan ekstrak 2% pada ekstrak 0,5% ($P\text{-value} = 0,028$) dan ekstrak 0,25% ($P\text{-value} = 0,012$).

Aktivitas antibakteri dalam membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang paling efektif dapat diketahui dengan membandingkan antara kontrol bahan dengan ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dalam berbagai konsentrasi. Hasil yang diperoleh yaitu pada perbandingan kontrol bahan terhadap ekstrak 0,25% adalah -15,500, terhadap ekstrak 0,5% adalah -13,500, terhadap ekstrak 1% adalah -10,750, terhadap ekstrak 2% adalah -10,250, terhadap kontrol bakteri -4000, terhadap ekstrak 4% adalah 0,000, terhadap ekstrak 8% adalah 0,000, terhadap ekstrak 16% adalah 0,000, terhadap ekstrak 32% adalah 0,000, dan terhadap ekstrak 64% adalah 0,000. Hal ini membuktikan bahwa nilai statistik uji (*test statistic*) konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 64% hingga 2% memiliki aktivitas antibakteri dalam membunuh *Klebsiella pneumoniae* yang paling efektif karena tidak berbeda

dengan kontrol bahan (0,000). Sehingga menurut uji *post hoc* ini, konsentrasi ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terendah yang memiliki aktivitas antibakteri paling efektif dalam membunuh *Klebsiella pneumoniae* (KBM) adalah ekstrak pada konsentrasi 2%.

5.3 Pembahasan

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara *in vitro* metode difusi cakram dapat disimpulkan bahwa diameter zona hambat (mm) terbesar ditemukan pada kontrol positif tetrasiklin 30 μ g (17,5 mm), disusul oleh ekstrak konsentrasi 64% (13,5 mm), hingga konsentrasi 0,5% (0,5 mm), serta 0,25% , 0,125% dan kontrol negatif DMSO 5% (0 mm) yang menempati posisi terendah bersama.

Menurut CLSI (2016), tetrasiklin dianggap sensitif terhadap bakteri *Enterobacteriaceae* dengan diameter zona hambat lebih dari 15mm, intermediet jika diameter zona hambat 12-14mm, dan resisten jika diameter zona hambat kurang dari 11mm, termasuk diameter cakram. Jika dilihat data diameter zona hambat pada kontrol positif didapatkan bahwa diameter yang diukur dengan diameter cakram antibiotik adalah 23-24mm. Maka tetrasiklin sensitif terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan cocok digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini. Sedangkan ekstrak bunga cengkeh masih dianggap sensitif terhadap bakteri golongan *Enterobacteriaceae* termasuk *Klebsiella pneumoniae* hingga konsentrasi 32%, intermediet pada konsentrasi 8% hingga 16% dan resisten pada konsentrasi dibawah 16%.

Ditinjau dari hasil Uji lanjut *Mann Whitney* pada data diameter zona hambat didapatkan kontrol negatif DMSO 5%, konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 0,125%, dan konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 0,25% memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif tetrasiklin 30 μ g, konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 64%, 32%, dan 16%. Selain itu, pada uji ini didapatkan hasil bahwa konsentrasi ekstrak bunga cengkeh yang paling efektif adalah ekstrak dengan konsentrasi 64%.

Terbentuknya zona hambat ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Penelitian eksperimental mikrobiologi terdahulu menunjukkan bahwa diameter zona hambat minyak atsiri cengkeh pada beberapa bakteri Gram negatif (*Vibrio Harvey*, *V. ichthyenteri*, *Photobacterium damsela*, *Edwardsiella tarda*, dan *E. tarda*) didapatkan antara 16 hingga 20mm pada konsentrasi 100% dan 13-19mm pada konsentrasi 50% (Gang Joon, 2019). Sementara penelitian Prakasam dan Packyanathan (2017) menyatakan bahwa minyak cengkeh menunjukkan terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan *Escherichia coli* sebesar 19mm pada konsentrasi 100%. Selain itu, penelitian oleh Ayoola *et al.* (2008) menyebutkan bahwa diameter zona hambat sebesar 19mm (dengan diameter cakram) pada konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 222,5mg/ml yang didapatkan dari metode distilasi uap terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan 21mm pada konsentrasi 445mg/ml. Hasil lain diterangkan oleh Prabuseenivasan *et al.* (2006) yaitu pada konsentrasi minyak cengkeh hasil distilasi uap 1:1 (100%) didapatkan diameter zona hambat sebesar 16,2 \pm 0,5mm terhadap *Klebsiella pneumoniae*. Penelitian terdahulu yang menggunakan ekstraksi sonikasi (UAE)

bunga cengkeh masih belum ada. Sedangkan diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi terbesar penelitian ini (64% = 640mg/ml) adalah $19,5 \pm 2,1$ mm, menandakan keselarasan antara hasil penelitian ini dengan penelitian terdahulu namun menghasilkan zona hambat yang lebih rendah dari hasil ekstraksi distilasi uap pada penelitian Ayoola *et al.* (2008).

Sedangkan hasil pengamatan dan analisis data uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro metode dilusi tabung menunjukkan kesimpulan bahwa KHM pada konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 1% dan KBM pada konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 2%. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) minyak atsiri cengkeh terhadap beberapa bakteri Gram negatif (*Vibrio Harvey*, *V. ichthyenteri*, *Photobacterium damsela*, *Edwardsiella tarda*, dan *E. tarda*) yaitu antara 0,125% dan 0,5% (Gang Joon, 2019). Hasil penelitian lain dari Ayoola *et al.* (2008) yang menggunakan ekstrak distilasi uap bunga cengkeh, didapatkan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* sebesar 0,016 mg/ml. Sedangkan KHM pada penelitian yang sejenis milik Prabuseenivasan *et al.* (2006) adalah $>6,4$ mg/ml. Pada penelitian ini, ekstrak bunga cengkeh hasil sonikasi (UAE) memiliki KHM pada 1% atau setara dengan 5mg/ml. Hal ini menandakan bahwa hasil penelitian sesuai dengan penelitian sebelumnya serta memiliki efek bakteristatik terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* namun lebih rendah dari ekstraksi cengkeh metode distilasi uap pada penelitian Ayoola *et al.* (2008).

Distilasi uap menghasilkan ekstrak yang lebih kental dengan konsistensi seperti minyak berwarna kuning pucat (Ayoola *et al.*, 2008). Sedangkan hasil ekstraksi sonikasi (UAE) menghasilkan ekstrak yang kental berwarna coklat tua dengan sedikit minyak. Warna yang lebih cerah dan bening memudahkan dalam pengamatan visual zona hambat dan KHM. Hal ini terjadi pada beberapa penelitian sebelumnya yang menggunakan berbagai ekstrak tumbuhan menggunakan banyak metode. Ramadhania *et al.* (2020) menggunakan ekstrak buah coklat (*Thebroma cacao L.*) yang didapatkan melalui metode maserasi dan didapatkan hasil ekstrak yang berwarna sangat gelap sehingga KHM terhadap *Streptococcus pyogenes* tidak dapat ditentukan. Gelapnya warna ekstrak berbanding lurus dengan konsentrasinya (Ramadhania *et al.*, 2020). Hal ini menyebabkan zona hambat yang terbentuk kemungkinan tertutupi oleh warna ekstrak itu sendiri serta warna dan kekeruhan ekstrak menyebabkan KHM kurang terlihat dan sulit diidentifikasi.

Kemungkinan lain yang dapat menjadi penyebab perbedaan data ini yaitu adanya perbedaan kandungan kimia yang terdapat pada masing-masing hasil ekstraksi distilasi uap dan ekstraksi sonikasi (UAE). Bialon *et al.* (2017) menyatakan bahwa kandungan kimia yang ada pada minyak cengkeh komersial lebih beragam dari pada ekstrak cengkeh melalui metode maserasi (ekstraksi cara dingin) maupun soxhlet (ekstraksi cara panas). Walaupun persentase seluruh kandungan kimia yang dimilikinya tidak terlalu berbeda dan ada pula kandungan yang ada pada ekstrak cengkeh namun tidak ada pada minyak cengkeh, tetapi kandungan eugenol dan humulene juga lebih tinggi pada minyak cengkeh.. Hal ini dapat menjadi faktor yang membedakan zona hambat dan KHM pada penelitian ini dengan penelitian Ayoola *et al.* (2008).

Data uji aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro metode dilusi tabung lainnya adalah jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada MHA. Hasil analisis data tersebut menghasilkan kesimpulan bahwa bahwa penelitian ini sesuai dengan hipotesis H1, yaitu terdapat aktivitas antibakteri (bakterisidal) ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro.

Perbedaan yang signifikan terjadi pada beberapa pasang perlakuan yaitu kontrol positif tetrasiklin 30µg, dan ekstrak 64% hingga 2% terhadap ekstrak 0,25% dan 0,5%. Selain itu, didapatkn hasil bahwa konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 64%, 32%, 16%, 8%, 4% dan 2% memiliki aktivitas antibakteri dalam membunuh *Klebsiella pneumoniae* yang paling efektif karena tidak berbeda dengan kontrol bahan. Sehingga pada penelitian ini, konsentrasi ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terendah yang memiliki aktivitas antibakteri paling efektif dalam membunuh *Klebsiella pneumoniae* (KBM) adalah ekstrak pada konsentrasi 2% sesuai dengan hasil pengamatan visual.

Hasil analisis tersebut selaras dengan penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa ekstrak cengkeh memiliki aktivitas bakterisidal. Namun hasil KBM pada penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang ditandai dengan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) antara 0,25%-0,5% (Gang Joon, 2019). Perbedaan ini dimungkinkan karena bakteri yang diuji bukan *Klebsiella pneumoniae*. Sedangkan penelitian lain yang meneliti KBM ekstrak bunga cengkeh terhadap *Klebsiella pneumoniae* belum diketahui.

Kesimpulan pada penelitian ini adalah ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro, baik bakteriostatik maupun bakterisidal. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula aktivitas antibakterinya. Mekanisme yang mendasari aktivitas antibakteri bunga cengkeh diperankan oleh kandungannya seperti eugenol, tannin, saponin, flavonoid, dan humulene yang memiliki target kerja yang berbeda. Eugenol berperan dalam merusak susunan lipoprotein dinding dan membrane sel bakteri, inhibisi sintesis protein dan asam nukleat, serta menurunkan produksi endotoksin bakteri (Xu *et al.*, 2016; Swamy *et al.*, 2016). Tannin menghambat pembentukan dinding sel bakteri melalui inhibisi sintesis protein, yang memberikan peran dukungan terhadap eugenol dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh *Klebsiella pneumoniae* (Ngajow *et al.*, 2013; Akiyama *et al.*, 2001). Saponin juga memberikan mekanisme antibakteri yang menargetkan membrane sel bakteri yaitu dengan meningkatkan permeabilitas membrane sehingga terjadi proses lisis sel (Madduluri *et al.*, 2011). Flavonoidpun juga merusak membrane sel bakteri serta berperan dalam hal membatasi konsumsi oksigen oleh bakteri yang mengakibatkan penurunan metabolisme sel (Nuria *et al.*, 2009; Dwyana, 2013).

Klebsiella pneumoniae memiliki kemampuan untuk menghindari sistem imun tubuh karena memiliki kapsul ekstraseluler yang tersusun dari polisakarida dan lipoprotein sehingga membantu *Klebsiella pneumoniae* dalam menghindari respon imun sel host (Moranta, D., Regueiro, V., March, C. *et al.* 2010; Dorman *et al.*, 2018). Kapsul, dinding, dan membrane sel bakteri *Klebsiella* tersusun dari polisakarida dan lipoprotein (Paczosa dan Meccas, 2016). Endotoksin *Klebsiella*

pneumoniae yaitu LPS, dan fimbriae serta sideropor yang merupakan faktor virulensi lain yang dimiliki *Klebsiella pneumoniae* juga terbentuk dari protein dan dikode oleh DNA bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Paczosa dan Meccas, 2016; Dorman *et al.*, 2018). Segala kandungan yang terdapat pada ekstrak cengkeh memberikan efek pada masing-masing faktor virulensi *Klebsiella pneumoniae*. Kapsul, dinding, dan membrane sel bakteri *Klebsiella pneumoniae* susunannya dirusak oleh eugenol, saponin dan flavonoid. Sintesis protein dan asam nukleat bakteri *Klebsiella pneumoniae* dihambat oleh eugenol dan tannin sehingga memiliki kemungkinan mengurangi ekspresi LPS, fimbriae, dan sideropor. Selain itu, eugenol juga berperan dalam menurunkan ekspresi LPS sebagai endotoksin *Klebsiella pneumoniae* (Xu *et al.*, 2016; Swamy *et al.*, 2016; Radulovi *et al.*, 2013).

Meskipun mekanisme infeksi *Klebsiella pneumoniae* hingga patofisiologi dari bakteri tersebut telah diketahui, namun masih belum ada vaksin khusus yang diciptakan sebagai upaya preventif. Vaksin *Klebsiella pneumoniae* masih dalam proses penelitian dan pengembangan baik oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) maupun organisasi penggiat masalah infeksi dan mikrobiologi. Oleh karena itu, penanganan infeksi *Klebsiella pneumoniae* masih terbatas pada aspek kuratif. Melalui penelitian ini diharapkan dapat menjadi solusi untuk penanganan penyakit infeksi *Klebsiella pneumoniae* pada aspek kuratif. Ekstrak bunga cengkeh telah terbukti memiliki sifat bakteristatik dan bakterisidal terhadap *Klebsiella pneumoniae* dalam penelitian ini, sehingga diharapkan dapat menjadi terapi alternatif untuk eradikasi penyakit infeksi akibat *Klebsiella pneumoniae*.

5.4 Kajian Integrasi Islam

Allah menciptakan alam semesta beserta isinya dengan segala kebesaran dan kesempurnaan-Nya. Berbagai tumbuhan ditumbuhkanNya di bumi dengan beragam manfaat yang baik sehingga dapat bermanfaat bagi kehidupan manusia, seperti yang digariskan pada Alquran Surat Luqman ayat 10 yang berbunyi:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالْأَرْضَ فِي الْأَرْضِ رَواسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ○ (سورة لقمان [٣١]: ١٠)

yang artinya: *“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.”* (QS. Luqman [31]: 10). (Masykur, et al., 2014)

Penggalan kalimat pada ayat diatas yaitu *kulli zaujin kariim* (“tumbuh-tumbuhan yang baik”) merupakan penjelasan spesifik mengenai tumbuhan dan manfaatnya. Cengkeh merupakan salah satu tumbuh-tumbuhan yang baik oleh karena kandungan-kandungan yang dimilikinya seperti eugenol, saponin, tannin, dan bahan aktif lainnya yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Alquran memang tidak menjelaskan secara spesifik mengenai manfaat cengkeh bagi manusia, namun Allah selalu mendorong manusia untuk berdzikir dan berfikir atas semua ciptaan-Nya.

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ○ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا تُسَبِّحُكَ فَقَتْنَا عَذَابَ النَّارِ ○ (سورة الي عمران [٣]: ١٩٠-١٩١)

yang artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka.”* (QS. Ali-Imron [3]: 190-191).
(Masykur, *et al.*, 2014)

Salah satu ciri manusia yang beriman adalah manusia yang selalu berdzikir dan berfikir mengenai penciptaan langit dan bumi yang tidak diciptakan dengan sia-sia. Mengetahui hal tersebut, maka peneliti memilih untuk melakukan penelitian mengenai manfaat dari bunga cengkeh melalui pemberian ekstrak bunga cengkeh kepada bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Shihab (1999) juga menegaskan kembali mengenai tugas manusia di bumi yaitu memakmurkan bumi yang telah diciptakan dan diberikan oleh Allah SWT untuk mendukung kehidupan manusia, yang intinya meliputi:

- a. Al-Intifa’ (mengambil manfaat dan mendayagunakan sebaik-baiknya)
- b. Al-I’tibar (mengambil pelajaran, memikirkan, mensyukuri atas alam semesta ciptaan Allah)
- c. Al-Islah (memelihara dan menjaga kelestarian alam)

Penelitian yang dilakukan oleh peneliti merupakan salah satu implementasi dari Al-I’tibar dalam memikirkan penciptaan langit dan bumi untuk mensyukuri ciptaan Allah yang diberikan cuma-cuma kepada manusia. Hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan adanya diameter zona hambat dan Konsentrasi Hambat Minimum pada 1% yang berarti bahwa ekstrak bunga cengkeh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* hingga konsentrasi terendah sebesar 1%. Selain itu, ekstrak bunga cengkeh juga terbukti membunuh

bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan konsentrasi ekstrak terendah sebesar 2%. Hal ini memberikan pengetahuan baru bagi umat manusia bahwa ekstrak bunga cengkeh dapat menghambat dan membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan konsentrasi bahan yang rendah. Sesuai dengan Al-Intifa' yaitu mengambil manfaat dan mendayagunakan sebaik-baiknya, maka peneliti ingin menggunakan manfaat antibakteri ekstrak bunga cengkeh ini sebagai obat untuk penyakit pneumonia oleh karena bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang sulit untuk disembuhkan, tanpa melupakan aspek Al-Islah yaitu memelihara dan menjaga kelestarian cengkeh.

Surat Asy-Syu'ara ayat 80 yang berbunyi:

وَ إِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ○ (سورة الشعراء [٢٦]: ٨٠)

yang artinya “*Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku.*”
(QS. Asy-Syu'ara [26]: 80).
(Masykur, *et al.*, 2014)

memberikan petunjuk dan penjas bagi umat manusia bahwa Allah SWT telah menjadikan obat untuk segala penyakit yang diturunkan oleh-Nya, tetapi Allah menyembunyikan pengetahuan tentang hal tersebut dari manusia dan menjadikan dari mereka jalan kepadanya (al-Jauziyah, 2005). Oleh karena itu Nabi Muhammad SAW memperkuat ayat tersebut dengan sebuah hadis yang berbunyi:

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ الْمُثَنَّى، حَدَّثَنَا أَبُو أَحْمَدَ الزُّبَيْرِيُّ، حَدَّثَنَا عُمَرُ بْنُ سَعِيدٍ بْنِ أَبِي حُسَيْنٍ، قَالَ حَدَّثَنِي عَطَاءُ بْنُ أَبِي رَبَاحٍ، عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ - رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ - عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ " مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً "

yang berarti “*Diriwayatkan oleh Abu Hurairah bahwa Rasulullah SAW bersabda “Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya.”*”
(*Shahih Al-Bukhari 5678, Buku 76, Nomor 1*)

Dalil diatas menjadi dasar bahwa cengkeh dapat menjadi penawar untuk penyakit pneumonia sehingga dapat menurunkan angka prevalensi dan mortalitas akibat pneumonia di Indonesia, khususnya di Malang.

Nabi Muhammad SAW memiliki pengobatan cara nabi atau dikenal sebagai *Thibbun Nabawi*. Metode pengobatan ini memiliki 3 jenis pengobatan, yaitu: (1) pengobatan menggunakan obat-obatan alamiyah; (2) pengobatan menggunakan obat-obatan ilahiyah; dan (3) kombinasi keduanya. Contoh pengobatan menggunakan obat-obatan alamiyah yaitu penggunaan madu, bekam, *ghurah*, jintan hitam, bawang putih, jahe, dan lainnya. Sedangkan penggunaan obat-obatan ilahiyah contohnya adalah ruyah (al-Jauziyah, 2005).

Bunga cengkeh dapat dikategorikan sebagai pengobatan alamiyah sesuai dengan anjuran Nabi Muhammad SAW karena bunga cengkeh merupakan tumbuhan asli yang ada di alam. Pendekatan ilmiah yang telah dilakukan pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa cengkeh memiliki manfaat antibakteri melalui berbagai mekanisme kandungan yang dimilikinya seperti eugenol, saponin, tannin, dan bahan aktif lainnya sehingga dapat mengeradikasi bakteri salah satunya *Klebsiella pneumoniae*. Maka dari itu, penggunaan bunga cengkeh sebagai tanaman obat dapat menjadi sebuah ikhtiar sesuai dengan anjuran dalam alquran dan hadis yang menjelaskan bahwa semua ciptaan Allah memiliki manfaat pada kehidupan manusia termasuk manfaat pengobatan.

Adanya penelitian aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* memberikan pengetahuan baru untuk umat Islam sehingga dapat memperkuat Islam dan peradabannya. Manfaat penelitian ini untuk kemajuan Islam yaitu sebagai langkah pengembangan Thibbun Nabawi melalui obat-obatan alamiyah berupa ekstrak bunga cengkeh yang dikemas dalam bentuk tablet ataupun kapsul yang dapat diperjualbelikan dengan harga yang terjangkau.

BAB VI

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data serta pembahasan yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibakteri, baik bakteriostatik maupun bakterisidal, terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro. Semakin rendah konsentrasi ekstrak bunga cengkeh yang diberikan, maka semakin rendah pula aktivitas antibakterinya untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* secara in vitro, dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah 1%. Sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah 2%.

7.2 Saran

Pengembangan penelitian harus terus dilakukan untuk kemajuan ilmu sehingga bermanfaat bagi kehidupan manusia. Oleh karena itu, berikut adalah beberapa saran untuk peneliti selanjutnya dalam melakukan penelitian kedepannya.

1. Perlunya penelitian lebih lanjut mengenai kandungan bahan-bahan aktif yang terdapat pada ekstrak bunga cengkeh yang didapatkan melalui proses ekstraksi metode sonikasi (UAE, *Ultrasonic-assisted extraction*).
2. Perlu penelitian lebih lanjut dengan metode in vivo untuk menguji aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

3. Perlunya penelitian lebih lanjut mengenai efek samping dan toksisitas dari penggunaan ekstrak bunga cengkeh sebagai alternatif obat untuk penyakit pneumonia oleh karena *Klebsiella pneumoniae*.



DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama, H. Fuji, K., Yamasaki, O., Oono, T. dan Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48: 487-491.
- Al-Bukhari, Abu Abdullah Muhammad bin Ismail. (2011). *Ensiklopedia Hadits; Shahih al-Bukhari*, Terj. Masyhar dan Muhammad Suhadi. Jakarta: Almahira, Cet. I.
- al-Jauziyah, I. Q. (2005). *Pengobatan Cara Nabi*. Bandung: Pustaka.
- Ashurst, J. V., dan Dawson, A. (2019). *Klebsiella Pneumonia*. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519004/>
- Ayoola, G. A., Lawore, F. M., Adelowotan, T., Adenipekun, E., Coker, H. A. B., dan Odugbemi, T. O. (2008). Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzigium aromaticum* (clove). *African Journal of Microbiology Research*. 2: 162-166.
- Bachman, M. A., Lenio, S., Schmidt, L., Oyler, J. E., dan Weiser, J. N. (2012). Interaction of Lipocalin 2, Transferrin, and Siderophores Determines the Replicative Niche of *Klebsiella pneumoniae* during Pneumonia. *MBio*, 3(6), e00224-11.
- Balouiri, M., Sadiki, M., dan Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2): 71-79.
- Bengoechea, J. A., dan Sa Pessoa, J. (2019). *Klebsiella pneumoniae* infection biology: Living to counteract host defences. *FEMS Microbiology Reviews*, 43(2): 123-144.
- Bialon, M., Krzyśko-Łupicka, T., Pik, A., dan Wiczorek, P. P. (2017). Chemical Composition of Herbal Macerates and Corresponding Commercial Essential Oils and Their Effect on Bacteria *Escherichia coli*. *Molecules*, 22(1887): 1-16.
- Brooks, G., Carroll, K. C., Butel, J., dan Morse, S. (2012). *Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology 26/E*. *McGraw-Hill Publishing*.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253.
- CDC. (2013). Vital signs: carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 62: 165-170.
- CDC. (2015). *CDC works 24/7 to protect US from health, safety and security threats*. CDC, Atlanta, GA.

- CDC. (2016). *Klebsiella pneumoniae*. Diakses pada tanggal 15 Januari 2020, dari <http://www.cdc.gov/drugresistance/resistance-bank/>
- Charan Raja, M. R. (2015). Versatile and Synergistic Potential of Eugenol: A Review. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 06(05): 1-6.
- CLSI. (2009). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard*, Edisi 8, CLSI document M07-A8. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI. (2009). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard*, Edisi 10, CLSI document M02-A11. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cortés-Rojas, D. F., de Souza, C. R. F., dan Oliveira, W. P. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2): 90–96.
- Cushnie, T. P. T., dan Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343-356.
- Darsini, N. N. (2013). Analisis Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Obat Tradisional Pengobatan Penyakit Saluran Kencing Di Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli Provinsi Bali. *Jurnal Bumi Lestari*, 13(1): 159-165.
- Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. (2008). *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 5. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- Departemen Kesehatan RI. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur. (2018). *Profil Kesehatan Provinsi Jawa Timur Tahun 2017*. Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur. Surabaya.
- Dorland, W. A. N. (2012). *Dorland's illustrated medical dictionary*. Edisi 32. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier.
- Dorman, M.J., Feltwell, T., Goulding, D.A., Parkhill, J., dan Short, F.L. (2018). The capsule regulatory network of *Klebsiella pneumoniae* defined by density-TraDISort. *mBio* 9(6): e01863-18.
- Dwyana, Z., Johannes, E., dan Saerong, W. (2011). Uji ekstrak kasar alga merah (*Eucheuma cottonii*) sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen. *Jurnal Universitas Hassanudin*: 4-6.
- Federer, W. T. (1967). *Experimental Design, Theory and Application*. Oxford and IBH Publ. Co: New Delhi.
- Gang-Joon, H. (2019). Antibacterial Activity of Clove Essential Oil and Eugenol against Fish Pathogenic Bacteria Isolated from Cultured Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Slovenian Veterinary Research*, 56(1).

- GBD Collaborators. (2015). Global, regional and national levels of age-specific mortality and 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* ; 385:1990–2013.
- Giguère, Steeve. (2007). *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. Wiley Blackwell.
- Hartsel, J. A., Eades, J., Hickory, B., dan Makriyannis, A. (2016). *Cannabis sativa and Hemp. Nutraceuticals: 735–754*.
- Hudzicki, J. (2016). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. American Society for Microbiology. (<https://www.asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>).
- Jumiarni, W. O., dan Komalasari, O. (2017). Eksplorasi Jenis dan Pemanfaatan Tumbuhan Obat Pada Masyarakat Suku Muna di Permukiman Kota Wuna. *Traditional Medicine Journal*, 22(1): 45-56.
- Kaur, D., dan Chandrul, K. K. (2017). *Syzygium aromaticum L. (Clove): A vital herbal drug used in periodontal disease*. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 5(02).
- Kemendes RI. (2017). *Data dan Informasi: Profil Kesehatan Indonesia 2016*. Pusat Data dan Informasi. Jakarta.
- Kemendes RI. (2018). *Data dan Informasi: Profil Kesehatan Indonesia 2017*. Pusat Data dan Informasi. Jakarta.
- Khalid. (2009). Khasiat Daun Pepaya. Diakses pada tanggal 20 Maret 2011, dari (<http://www.carahidup.um.ac.id>).
- Khalil, A. A., Rahman, U. ur, Khan, M. R., Sahar, A., Mehmood, T., dan Khan, M. (2017). Essential oil eugenol: Sources, extraction techniques and nutraceutical perspectives. *RSC Advances*, 7(52): 32669–32681.
- Kumar, P., Jaiswal, P., Singh, V. K., dan Singh, D. K. (2011). Medicinal, Therapeutic and Pharmacological Effects of *Syzygium Aromaticum* (Laung). *Pharmacologyonline*: 1044–1055.
- Kusuma, D. A. (2013). Perbedaan Pola Kepekaan terhadap Antibiotik pada *Klebsiella Sp.* yang Mengkolonisasi Nasofaring Balita. *Jurnal Media Medika Muda*.
- Li, P., Tian, L., dan Li, T. (2015). Study on Ultrasonic-Assisted Extraction of Essential Oil from Cinnamon Bark and Preliminary Investigation of Its Antibacterial Activity. In T.-C. Zhang & M. Nakajima (Eds.), *Advances in Applied Biotechnology*. Springer Berlin Heidelberg, 332: 349–360.

- Lim, T. K. (2014). *Edible medicinal and non medicinal plants: Volume 8, flowers*. Springer.
- Llobet, E., Martínez-Moliner, V., Moranta, D., Dahlström, K. M., Regueiro, V., Tomás, A., Cano, V., Pérez-Gutiérrez, C., Frank, C. G., Fernández-Carrasco, H., Insua, J. L., Salminen, T. A., Garmendia, J., dan Bengoechea, J. A. (2015). Deciphering tissue-induced *Klebsiella pneumoniae* lipid A structure. *PNAS*: E6369–E6378.
- MacFaddin, J. (2000). *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*, Edisi 3. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Madduluri, S., Rao, K.B., dan Sitaram, B. (2013). In vitro evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 5(4): 679-84.
- McDevitt, S. (2016). *Methyl Red and Voges-Proskauer Test Protocols*. American Society for Microbiology.
- Molton, J. S., Tambyah, P. A., Ang, B. S. P., Ling, M. L., dan Fisher, D. A. (2013). The Global Spread of Healthcare-Associated Multidrug-Resistant Bacteria: A Perspective From Asia. *Clinical Infectious Diseases*, 56(9): 1310–1318.
- Moranta, D., Regueiro, V., March, C. *et al.* (2010). *Klebsiella pneumoniae* capsule polysaccharide impedes the expression of β -defensins by airway epithelial cells. *Infection and Immunity*, 78(3): 1135–46.
- Morello, J. A., Mizer, H. E., dan Wilson, M. E. (2003). *Laboratory manual and workbook in microbiology: Applications to patient care*. McGraw-Hill.
- Morrissey, I., Hackel, M., Badal, R., Bouchillon, S., Hawser, S., dan Biedenbach, D. (2013). A Review of Ten Years of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) from 2002 to 2011. *Pharmaceuticals*, 6(11): 1335–1346.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., dan Pfaller, M. A. (2016). *Medical microbiology*, Edisi 8. Philadelphia, PA: Elsevier.
- Ngajow, M., Abidjulu, J., dan Kamu, V. S. (2013). Pengaruh antibakteri ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 2(2): 128-32.
- Nuria, M.C., Faizatun, A., dan Sumantri. (2009). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 5(2): 26-37.

- Nurmalasari, N., Sukarsa, S., dan Hidayah, H. A. (2012). Studi Kasus Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Obat-Obatan Tradisional Oleh Masyarakat Adat Kampung Naga Di Tasikmalaya. *Jurnal Biosfera*, 29(3): 141-150.
- Packyanathan, J. S., dan Prakasam, G. (2017). Antibacterial Effect of Clove Oil against Clinical Strains of Escherichia coli. *J. Pharm. Sci.* 9(7): 1203-1204.
- Paczosa, M. K., dan Mecsas, J. (2016). Klebsiella pneumoniae: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3): 629–661.
- Pandey, A., dan Singh, P. (2011). Antibacterial activity of Syzygium aromaticum (clove) with metal ion effect against food borne pathogens. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 1(2): 69-80.
- Pemerintah Kota Malang. (2017). *Profil Kesehatan Kota Malang Tahun 2016*. Dinas Kesehatan Kota Malang. Malang.
- Pemerintah Kota Malang. (2018). *Profil Kesehatan Kota Malang Tahun 2017*. Dinas Kesehatan Kota Malang. Malang.
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. (2003). *Pneumonia Komuniti: Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia*. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia.
- Perhimpunan Dokter Paru Indonesia. (2003). *Pneumonia Nosokomial: Pedoman Diagnosis dan Penatalaksanaan di Indonesia*. Perhimpunan Dokter Paru Indonesia.
- Pichersky, E. (2006). Biosynthesis of Plant Volatiles: Nature's Diversity and Ingenuity. *Science*, 311(5762): 808-8811.
- Poeloengan, M., dan Praptiwi, P. (2012). Uji aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana Linn*). *Media Litbang Kesehatan*, 20(2): 65-69.
- Porth, C. M., dan Matfin, G. (2009). *Pathophysiology concepts of altered health states*, Edisi 8. Philadelphia, Pa: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
- Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., dan Igacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 6(39):1-8.
- Putra, I. W., Irwanto, I., Dharmawati, I., Setyaningtyas, A., Puspitasari, D., Wahyu, A. D., dan Kuntaman, K. (2019). Microbial Pattern and Antibiotic Susceptibility in Pediatric Intensive Care Unit dr. Soetomo Hospital, Surabaya. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*, 7(5): 122-130.

- Radulovi, N. S., Blagojevi, P. D., Stojanovi, Z. Z., dan Stojanovi, N. M. (2013). Antimicrobial Plant Metabolites: Structural Diversity and Mechanism of Action. *Current Medicinal Chemistry*, 20(7): 932–952.
- Ramadhanie, C. D., Purawningsih, S., dan Koendhori, E. B. (2020). Effectivity of Cacao Rind Ethanol Extract in Inhibiting *Streptococcus pyogenes* Growth In Vitro. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Universitas Airlangga*. XI(01):6-8.
- Rhayour, K., Bouchikhi, T., Tantaoui-Elaraki, A., Sendide, K., dan Remmal, A. (2003). The Mechanism of Bactericidal Action of Oregano and Clove Essential Oils and of their Phenolic Major Components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4): 286–292.
- Rizal. (2010). Microbial Pattern And Antimicrobial Resistance OF Isolates Collected From Various Specimen In DR. Oen Solo Baru Hospital, Sukoharjo. *The Indonesian Journal of Medical Science*, 1(7): 392-9
- Roumenina, L. T. (2015). Complement system part II: role in immunity. *Frontiers in Immunology*, 6(257): 1-26.
- Satsu, H., Matsuda, T., Toshimitsu, T., Mori, A., Mae, T., Tsukagawa, M., Kitahara, M. dan Shimizu, M. (2004). Regulation of interleukin-8 secretion in human intestinal epithelial Caco-2 cells by α -humulene. *BioFactors*, 21: 137-139.
- Shihab, Muhammad Quraish. (1999). *Membumikan al-Qur'an: Fungsi dan Peran Wahyu dalam Kehidupan Masyarakat*. Bandung: Mizan.
- Silbernagl, S., dan Lang, F. (2000). *Color Atlas of Pathophysiology*. Thieme.
- Struve, C., Bojer, M., dan Krogfelt, K. A. (2008). Characterization of *Klebsiella pneumoniae* Type 1 Fimbriae by Detection of Phase Variation during Colonization and Infection and Impact on Virulence. *Infection and Immunity*, 76(9): 4055–4065.
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., dan Sinniah, U. R. (2016). Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016: 1–21.
- Syakir, S. A. (2014). *Mukhtashar Tafsir Ibnu Katsir*, Jakarta : Darus Sunnah Press, Jilid 1, Cet. 2.
- Taxonomy Browser. (n.d). Diakses pada tanggal 21 Desember 2019, dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=573>
- Tim Redaksi: Masykur, I. G., Hidayatulloh, A., Fadhilah, M., Hadi, F., Sail, A. I., Nq, N., Febriana, D. U., Sandyta, A., Sobar, I. (2014). *Almumayyaz: Al-Qur'an Tajwid Warna Transliterasi Per Kata Terjemah Per Kata*. Bekasi: Cipta Bagus Segara.

- Tortora, G. J., Funke, B. R., dan Case, C. L. (2010). *Microbiology: An introduction*, Edisi 10. Pearson Benjamin Cummings.
- Uddin, A., Rana, S., dan Yaakob, Z. (2017). Study of Chemical Composition and Medicinal Properties of Volatile Oil from Clove Buds (*Eugenia caryophyllus*). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(2): 895–899.
- UNICEF. (2018). *Estimates of child cause of death, Acute Respiratory Infection 2018*, UNICEF, Office of Information: 1.
- van Duijn, P. J., Dautzenberg, M. J. D., dan Oostdijk, E. A. N. (2011). Recent trends in antibiotic resistance in European ICUs. *Current Opinion in Critical Care*, 17(6): 658–665.
- Wei, J., Wenjie, Y., Ping, L., Na, W., Haixia, R., dan Xuequn, Z. (2018). Antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* through β -arrestin recruitment-induced β -lactamase signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 15: 2247-2254.
- Wu, M., dan Li, X. (2015). *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. In *Molecular Medical Microbiology* (87): 1547–1564. Elsevier.
- Xu, J.-G., Liu, T., Hu, Q.-P., dan Cao, X.-M. (2016). Chemical Composition, Antibacterial Properties and Mechanism of Action of Essential Oil from Clove Buds against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(1194): 1-13.
- Zachariah, T. J., dan Leela, N. K. (2006). *Handbook of Herbs and Spices*, Edisi 1, Volume 3. Cambridge, England: Woodhead Publishing.
- Zhang, Q.W., Lin, L. G., dan Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13(1): 20.
- Zhang, X., Chen, D., Xu, G., Huang, W., dan Wang, X. (2018). Molecular epidemiology and drug resistant mechanism in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated from pediatric patients in Shanghai, China. *PLoS ONE*, 13(3): 1-10.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Etik Penelitian

	<p style="text-align: center;">FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN</p> <p style="text-align: center;">Gedung Klinik UMMI It 2 Jalan Gajayana No. 50, Dinoyo, Kec Lowokwaru, Kota Malang E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id - Website : http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id</p>
	<p style="text-align: center;">KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 005/EC/KEPK-FKIK/2020</p>

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul	Uji Aktivitas Ekstrak Bunga Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>) dan Ekstrak Batang Serai Dapur (<i>Cymbopogon citratus</i>) terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Sub Judul	1. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>) terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i> secara in vitro 2. Pengaruh pemberian Ekstrak Batang Serai Dapur (<i>Cymbopogon citratus</i>) terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i>
Peneliti	1. Nila Aisyah Wahyuni 2. Indriana Mukhtar
Unit / Lembaga	Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Tempat Penelitian	Laboratorium Mikrobiologi FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

<p>Mengetahui Dekan FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang</p>  <p>Prof. Dr. Bambang Pardjanto, SpB. SpBP-RE(K) NIPT. 20161201 1 515</p>	<p style="text-align: right;">Malang, 13 JAN 2020 Ketua</p>  <p>dr. Avin Ainur F. M. Biomed NIP. 19800203 200912 2 002</p>
--	--

Keterangan :

- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).

Lampiran 2. Uji Normalitas Diameter Zona Hambat

Case Processing Summary

	Perlakuan	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Diameter Zona Hambat	Tetrasiklin	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	30µg						
	DMSO 5%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 64%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 32%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 16%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 8%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 4%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 2%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 1%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 0,5%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 0,25%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 0,125%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%

Descriptives^{a,b,c,d}

	Perlakuan	Statistic	Std.	
			Error	
Diameter Zona Hambat	Ekstrak 64%	Mean	13.500	1.5000
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-5.559
			Upper Bound	32.559
		5% Trimmed Mean	.	.
		Median	13.500	.
		Variance	4.500	.
		Std. Deviation	2.1213	.
		Minimum	12.0	.
		Maximum	15.0	.
		Range	3.0	.
		Interquartile Range	.	.
		Skewness	.	.

	Kurtosis		.	.
Ekstrak 32%	Mean		9.500	.5000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3.147	
		Upper Bound	15.853	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		9.500	
	Variance		.500	
	Std. Deviation		.7071	
	Minimum		9.0	
	Maximum		10.0	
	Range		1.0	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.
Ekstrak 16%	Mean		7.500	.5000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.147	
		Upper Bound	13.853	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		7.500	
	Variance		.500	
	Std. Deviation		.7071	
	Minimum		7.0	
	Maximum		8.0	
	Range		1.0	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.
Esktrak 8%	Mean		4.500	.5000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-1.853	
		Upper Bound	10.853	
	5% Trimmed Mean		.	

Median	4.500	
Variance	.500	
Std. Deviation	.7071	
Minimum	4.0	
Maximum	5.0	
Range	1.0	
Interquartile Range	.	
Skewness	.	.
Kurtosis	.	.
Ekstrak 4%	Mean	3.500 .5000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound -2.853
		Upper Bound 9.853
	5% Trimmed Mean	.
	Median	3.500
	Variance	.500
	Std. Deviation	.7071
	Minimum	3.0
	Maximum	4.0
	Range	1.0
	Interquartile Range	.
	Skewness	.
	Kurtosis	.
Ekstrak 2%	Mean	2.500 .5000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound -3.853
		Upper Bound 8.853
	5% Trimmed Mean	.
	Median	2.500
	Variance	.500
	Std. Deviation	.7071
	Minimum	2.0
	Maximum	3.0
	Range	1.0
	Interquartile Range	.

	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.
Ekstrak 1%	Mean		1.500	.5000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-4.853	
		Upper Bound	7.853	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		1.500	
	Variance		.500	
	Std. Deviation		.7071	
	Minimum		1.0	
	Maximum		2.0	
	Range		1.0	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.
Ekstrak 0,5%	Mean		.500	.5000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-5.853	
		Upper Bound	6.853	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		.500	
	Variance		.500	
	Std. Deviation		.7071	
	Minimum		.0	
	Maximum		1.0	
	Range		1.0	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.

- Diameter Zona Hambat is constant when Perlakuan = Tetrasiklin 30 μ g. It has been omitted.
- Diameter Zona Hambat is constant when Perlakuan = DMSO 5%. It has been omitted.
- Diameter Zona Hambat is constant when Perlakuan = Ekstrak 0,25%. It has been omitted.
- Diameter Zona Hambat is constant when Perlakuan = Ekstrak 0,125%. It has been omitted.

Tests of Normality^{a,b,d,e}

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^c		
		Statistic	df	Sig.
Diameter Zona Hambat	Ekstrak 64%	.260	2	.
	Ekstrak 32%	.260	2	.
	Ekstrak 16%	.260	2	.
	Ekstrak 8%	.260	2	.
	Ekstrak 4%	.260	2	.
	Ekstrak 2%	.260	2	.
	Ekstrak 1%	.260	2	.
	Ekstrak 0,5%	.260	2	.

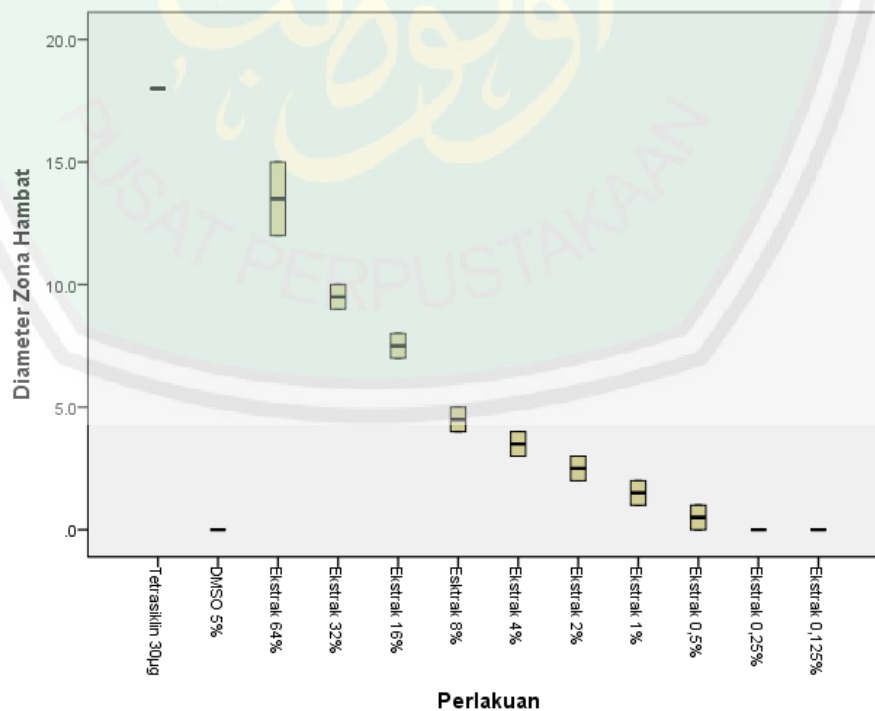
a. Diameter Zona Hambat is constant when Perlakuan = Tetrasiklin 30 μ g. It has been omitted.

b. Diameter Zona Hambat is constant when Perlakuan = DMSO 5%. It has been omitted.

c. Lilliefors Significance Correction

d. Diameter Zona Hambat is constant when Perlakuan = Ekstrak 0,25%. It has been omitted.

e. Diameter Zona Hambat is constant when Perlakuan = Ekstrak 0,125%. It has been omitted.



Lampiran 3. Uji Homogenitas Diameter Zona Hambat

Test of Homogeneity of Variances

SQRES

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.	11	.	.

ANOVA

SQRES

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22963.847	11	2087.622	76.327	.000
Within Groups	328.213	12	27.351		
Total	23292.060	23			

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Perlakuan ^b	.	Enter

a. Dependent Variable: SQRES

b. All requested variables entered.

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.585 ^a	.343	.313	26.03636

a. Predictors: (Constant), Perlakuan

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	7773.156	1	7773.156	11.467	.003 ^b
	Residual	14913.623	22	677.892		
	Total	22686.779	23			

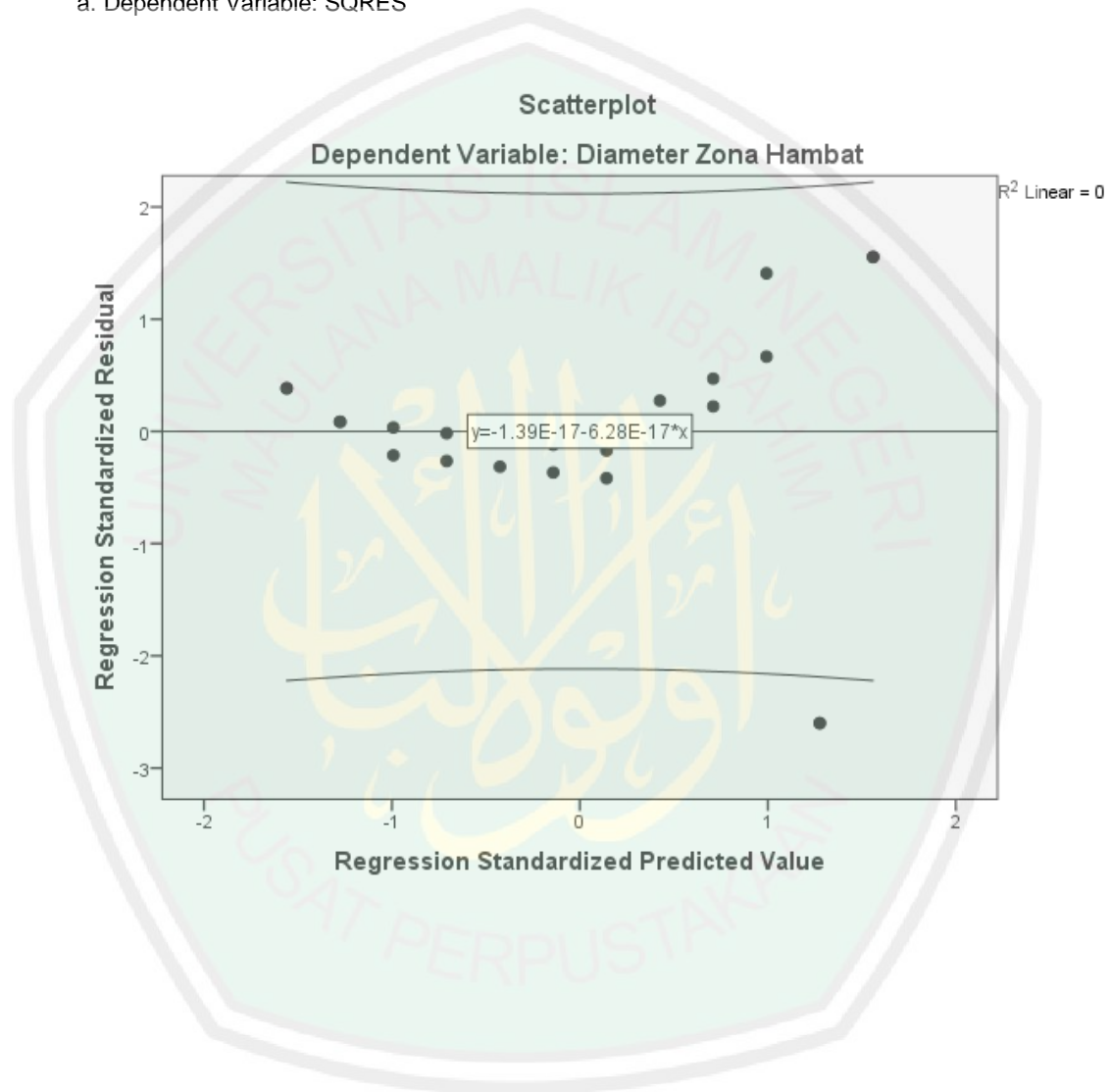
a. Dependent Variable: SQRES

b. Predictors: (Constant), Perlakuan

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	48.230	11.331		4.257	.000
	Perlakuan	-5.213	1.540	-.585	-3.386	.003

a. Dependent Variable: SQRES



Lampiran 4. Uji Kruskal Wallis Diameter Zona Hambat

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
Diameter Zona Hambat	Tetrasiklin 30 μ g	2	23.50
	DMSO 5%	2	3.50
	Ekstrak 64%	2	21.50
	Ekstrak 32%	2	19.50
	Ekstrak 16%	2	17.50
	Ekstrak 8%	2	15.50
	Ekstrak 4%	2	13.25
	Ekstrak 2%	2	11.50
	Ekstrak 1%	2	9.25
	Ekstrak 0,5%	2	8.00
	Ekstrak 0,25%	2	3.50
	Ekstrak 0,125%	2	3.50
	Total		24

Test Statistics^{a,b}

	Diameter Zona Hambat
Chi-Square	22.822
df	11
Asymp. Sig.	.019

a. Kruskal Wallis Test

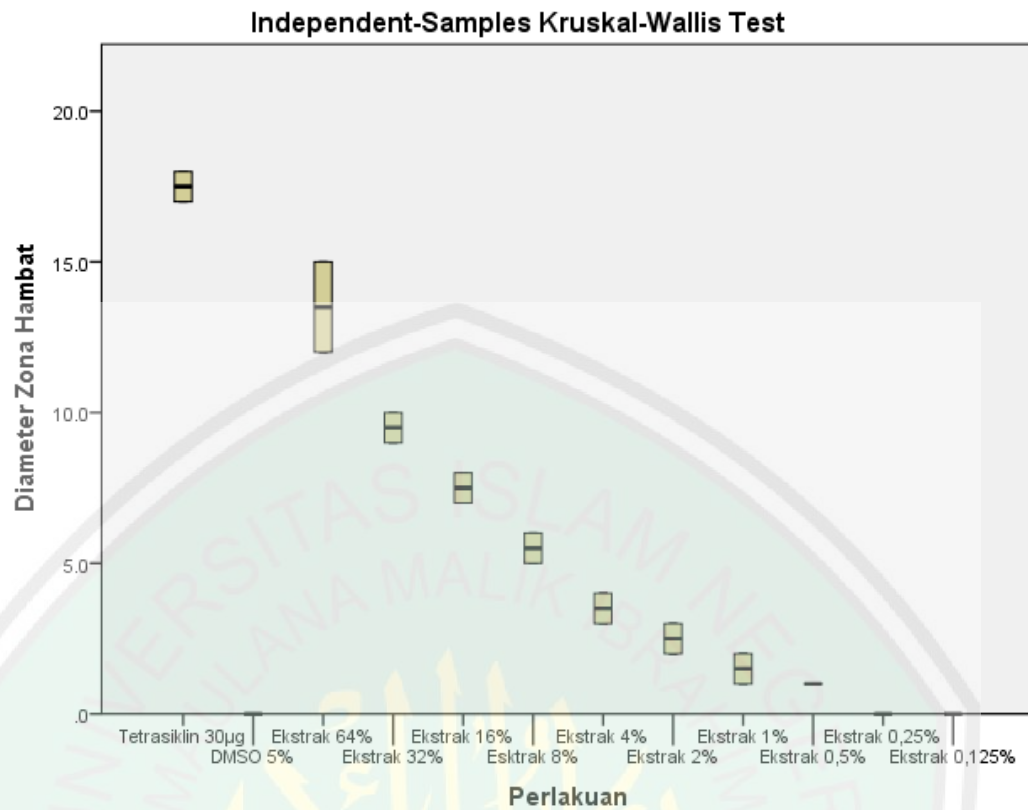
b. Grouping Variable: Perlakuan

Lampiran 5. Uji Post Hoc Diameter Zona Hambat

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Diameter Zona Hambat is the same across categories of Perlakuan.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	.019	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,050.



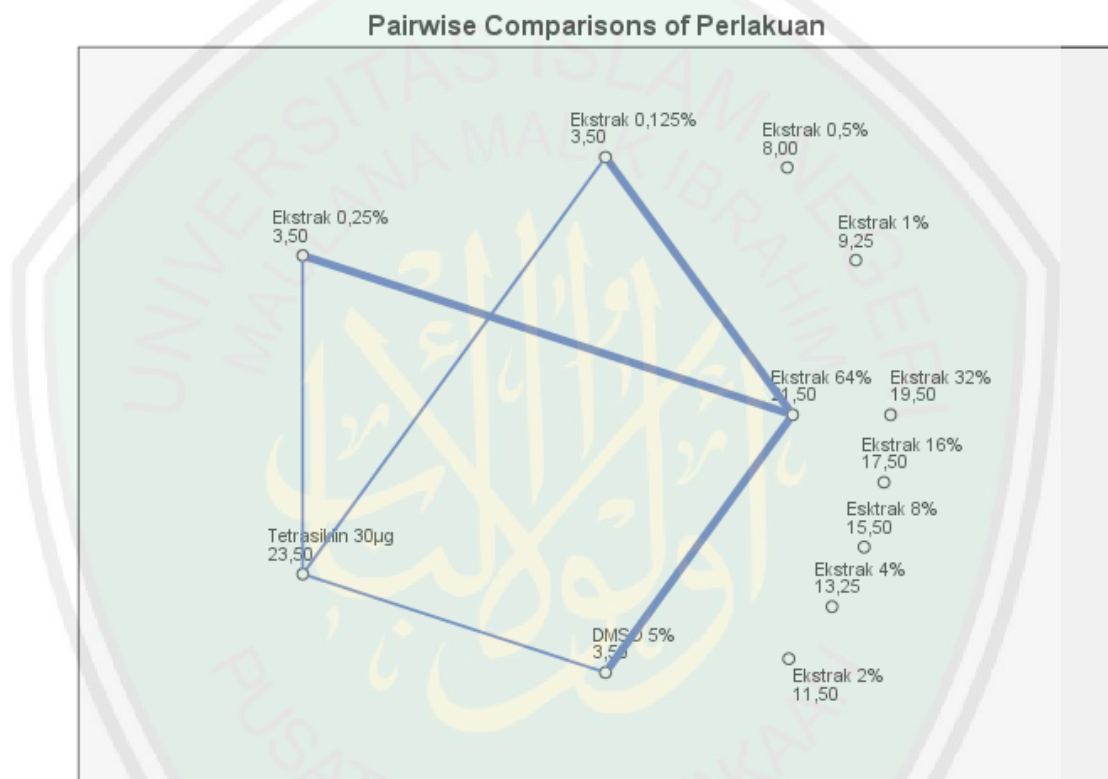
Pairwise Comparisons of Perlakuan

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.
DMSO 5%-Tetrasiklin 30µg	20.000	7.008	2.854	.004	.285
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 1%	5.750	7.008	.821	.412	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 0,5%	4.500	7.008	.642	.521	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 0,5%	4.500	7.008	.642	.521	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 0,125%	.000	7.008	.000	1.000	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 32%	16.000	7.008	2.283	.022	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 32%	16.000	7.008	2.283	.022	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 16%	14.000	7.008	1.998	.046	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 2%	-8.000	7.008	-1.142	.254	1.000
Ekstrak 0,25%-Tetrasiklin 30µg	20.000	7.008	2.854	.004	.285
Ekstrak 0,125%-Tetrasiklin 30µg	20.000	7.008	2.854	.004	.285
DMSO 5%-Ekstrak 4%	-9.750	7.008	-1.391	.164	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 8%	-12.000	7.008	-1.712	.087	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 16%	-14.000	7.008	-1.998	.046	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 32%	-16.000	7.008	-2.283	.022	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 64%	-18.000	7.008	-2.569	.010	.674
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 16%	14.000	7.008	1.998	.046	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 0,25%	.000	7.008	.000	1.000	1.000

DMSO 5%-Ekstrak 0,125%	.000	7.008	.000	1.000	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 0,5%	-4.500	7.008	-.642	.521	1.000
DMSO 5%-Ekstrak 1%	-5.750	7.008	-.821	.412	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 8%	12.000	7.008	1.712	.087	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 8%	12.000	7.008	1.712	.087	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 4%	9.750	7.008	1.391	.164	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 4%	9.750	7.008	1.391	.164	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 2%	8.000	7.008	1.142	.254	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 2%	8.000	7.008	1.142	.254	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 1%	5.750	7.008	.821	.412	1.000
Ekstrak 0,25%-Ekstrak 64%	18.000	7.008	2.569	.010	.674
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 64%	18.000	7.008	2.569	.010	.674
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 1%	1.250	7.008	.178	.858	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 2%	3.500	7.008	.499	.617	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 4%	5.250	7.008	.749	.454	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 8%	7.500	7.008	1.070	.285	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 16%	9.500	7.008	1.356	.175	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 32%	11.500	7.008	1.641	.101	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 64%	13.500	7.008	1.926	.054	1.000
Ekstrak 0,5%-Tetrasiklin 30 μ g	15.500	7.008	2.212	.027	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 2%	2.250	7.008	.321	.748	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 4%	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 8%	6.250	7.008	.892	.372	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 16%	8.250	7.008	1.177	.239	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 32%	10.250	7.008	1.463	.144	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 64%	12.250	7.008	1.748	.080	1.000
Ekstrak 1%-Tetrasiklin 30 μ g	14.250	7.008	2.033	.042	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 4%	1.750	7.008	.250	.803	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 8%	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 16%	6.000	7.008	.856	.392	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 32%	8.000	7.008	1.142	.254	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 64%	10.000	7.008	1.427	.154	1.000
Ekstrak 2%-Tetrasiklin 30 μ g	12.000	7.008	1.712	.087	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 8%	2.250	7.008	.321	.748	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 16%	4.250	7.008	.606	.544	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 32%	6.250	7.008	.892	.372	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 64%	8.250	7.008	1.177	.239	1.000
Ekstrak 4%-Tetrasiklin 30 μ g	10.250	7.008	1.463	.144	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 16%	2.000	7.008	.285	.775	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 32%	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 64%	6.000	7.008	.856	.392	1.000

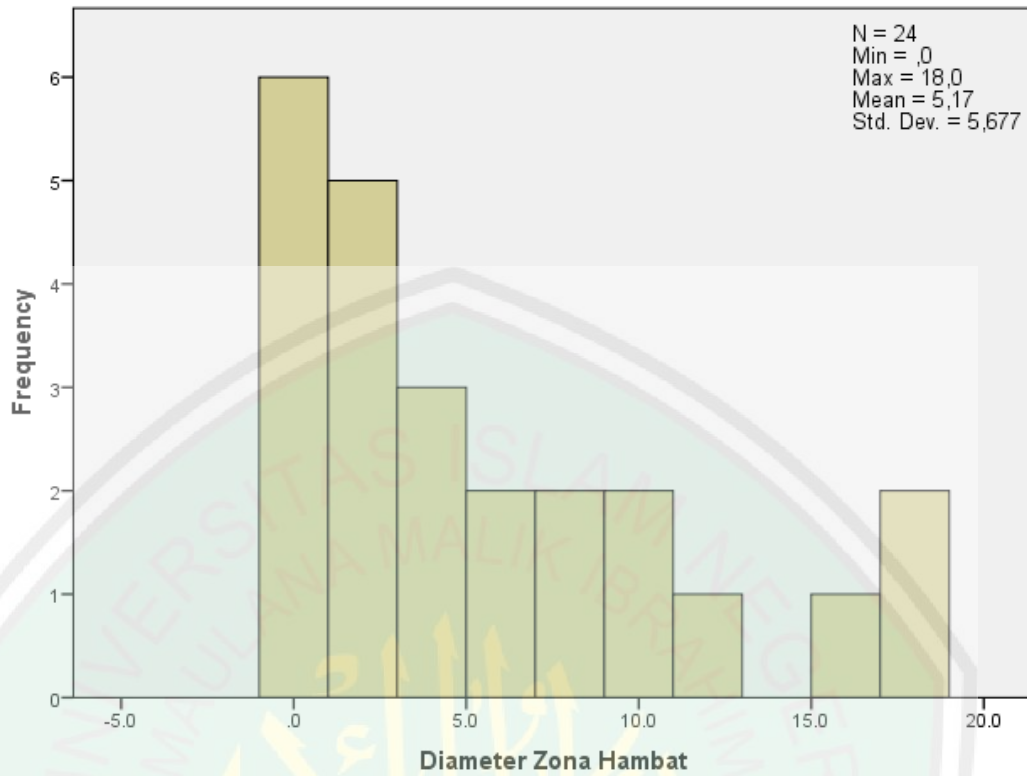
Ekstrak 8%-Tetrasiklin 30µg	8.000	7.008	1.142	.254	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 32%	2.000	7.008	.285	.775	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 64%	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 16%-Tetrasiklin 30µg	6.000	7.008	.856	.392	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 64%	2.000	7.008	.285	.775	1.000
Ekstrak 32%-Tetrasiklin 30µg	4.000	7.008	.571	.568	1.000
Ekstrak 64%-Tetrasiklin 30µg	2.000	7.008	.285	.775	1.000

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same. Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .05.

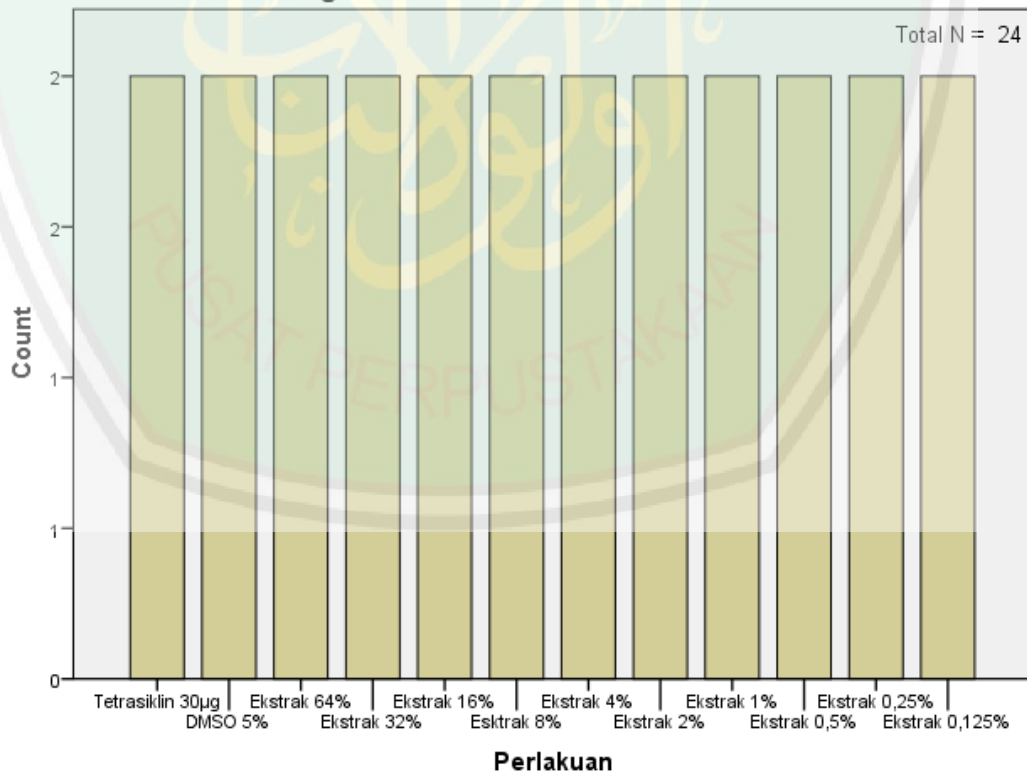


Each node shows the sample average rank of Perlakuan.

Continuous Field Information Diameter Zona Hambat



Categorical Field Information Perlakuan



Lampiran 6. Uji Normalitas Jumlah Koloni

Case Processing Summary

	Perlakuan	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Jumlah Koloni (CFU)	Kontrol bahan	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Kontrol bakteri	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 64%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 32%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 16%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 8%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 4%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 2%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 1%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 0,5%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 0,25%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%
	Ekstrak 0,125%	2	100.0%	0	0.0%	2	100.0%

Descriptives^{a,b,c,d,e,f,g}

	Perlakuan	Statistic	Std.		
			Error		
Jumlah Koloni (CFU)	Kontrol bakteri	Mean	.500	.5000	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-5.853	
		Upper Bound	6.853		
		5% Trimmed Mean	.		
		Median	.500		
		Variance	.500		
		Std. Deviation	.7071		
		Minimum	.0		
		Maximum	1.0		
		Range	1.0		
		Interquartile Range	.		
		Skewness	.	.	
		Kurtosis	.	.	
	Ekstrak 1%	Mean	42.500	6.5000	

	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-40.090	
		Upper Bound	125.090	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		42.500	
	Variance		84.500	
	Std. Deviation		9.1924	
	Minimum		36.0	
	Maximum		49.0	
	Range		13.0	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.
Ekstrak 0,5%	Mean		233.500	32.5000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-179.452	
		Upper Bound	646.452	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		233.500	
	Variance		2112.500	
	Std. Deviation		45.9619	
	Minimum		201.0	
	Maximum		266.0	
	Range		65.0	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.
Ekstrak 0,25%	Mean		666.500	45.5000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	88.368	
		Upper Bound	1244.632	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		666.500	
	Variance		4140.500	

	Std. Deviation		64.3467	
	Minimum		621.0	
	Maximum		712.0	
	Range		91.0	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.
Ekstrak 0,125%	Mean		42.000	7.0000
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-46.943	
		Upper Bound	130.943	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		42.000	
	Variance		98.000	
	Std. Deviation		9.8995	
	Minimum		35.0	
	Maximum		49.0	
	Range		14.0	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		.	.
	Kurtosis		.	.

- Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Kontrol bahan. It has been omitted.
- Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 64%. It has been omitted.
- Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 32%. It has been omitted.
- Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 16%. It has been omitted.
- Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 8%. It has been omitted.
- Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 4%. It has been omitted.
- Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 2%. It has been omitted.

Tests of Normality^{a,c,d,e,f,g,h}

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^b		
		Statistic	df	Sig.
Jumlah Koloni (CFU)	Kontrol bakteri	.260	2	.
	Ekstrak 1%	.260	2	.
	Ekstrak 0,5%	.260	2	.
	Ekstrak 0,25%	.260	2	.
	Ekstrak 0,125%	.260	2	.

- a. Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Kontrol bahan. It has been omitted.
- b. Lilliefors Significance Correction
- c. Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 64%. It has been omitted.
- d. Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 32%. It has been omitted.
- e. Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 16%. It has been omitted.
- f. Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 8%. It has been omitted.
- g. Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 4%. It has been omitted.
- h. Jumlah Koloni (CFU) is constant when Perlakuan = Ekstrak 2%. It has been omitted.

Lampiran 7. Uji Homogenitas Jumlah Koloni

Test of Homogeneity of Variances

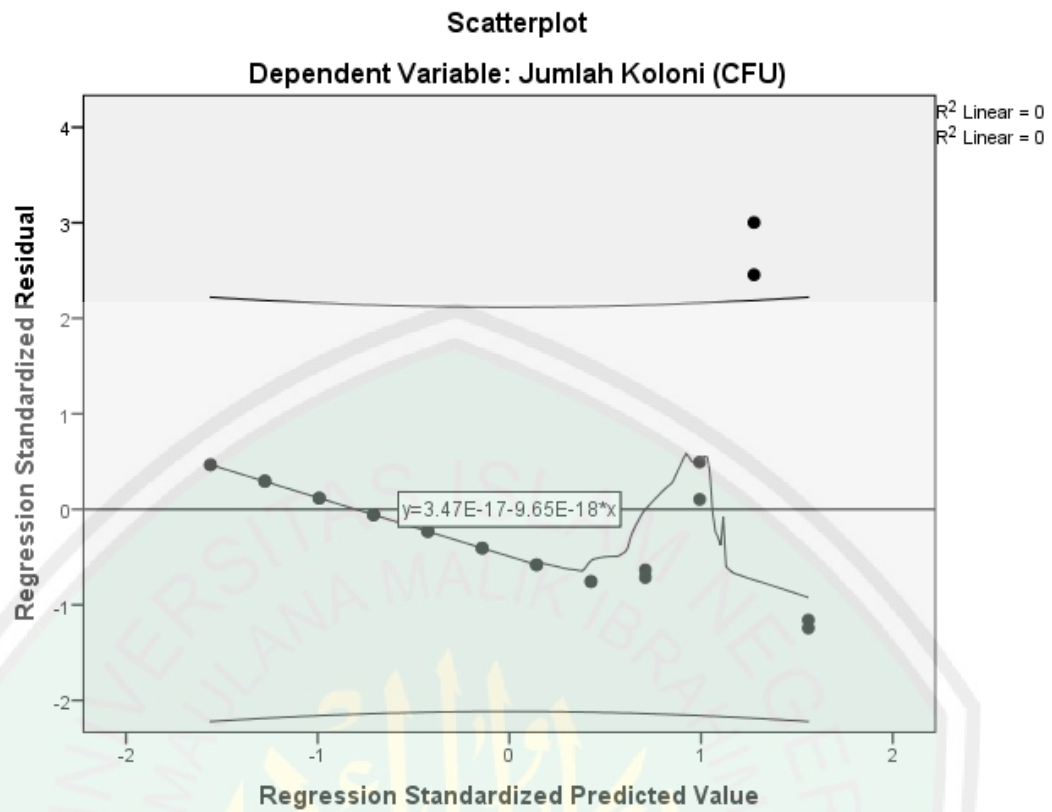
SQRES

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3576966424972 103200.000	11	12	.000

ANOVA

SQRES

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75433286917.2 08	11	6857571537.92 8	23.844	.000
Within Groups	3451171909.61 0	12	287597659.134		
Total	78884458826.8 18	23			



Lampiran 8. Uji Kruskal Wallis Jumlah Koloni

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
Jumlah Koloni (CFU)	Kontrol bahan	2	8.00
	Kontrol bakteri	2	12.00
	Ekstrak 64%	2	8.00
	Ekstrak 32%	2	8.00
	Ekstrak 16%	2	8.00
	Ekstrak 8%	2	8.00
	Ekstrak 4%	2	8.00
	Ekstrak 2%	2	8.00
	Ekstrak 1%	2	18.75
	Ekstrak 0,5%	2	21.50
	Ekstrak 0,25%	2	23.50
	Ekstrak 0,125%	2	18.25
	Total	24	

	Jumlah Koloni (CFU)
Chi-Square	22.015
df	11
Asymp. Sig.	.024

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

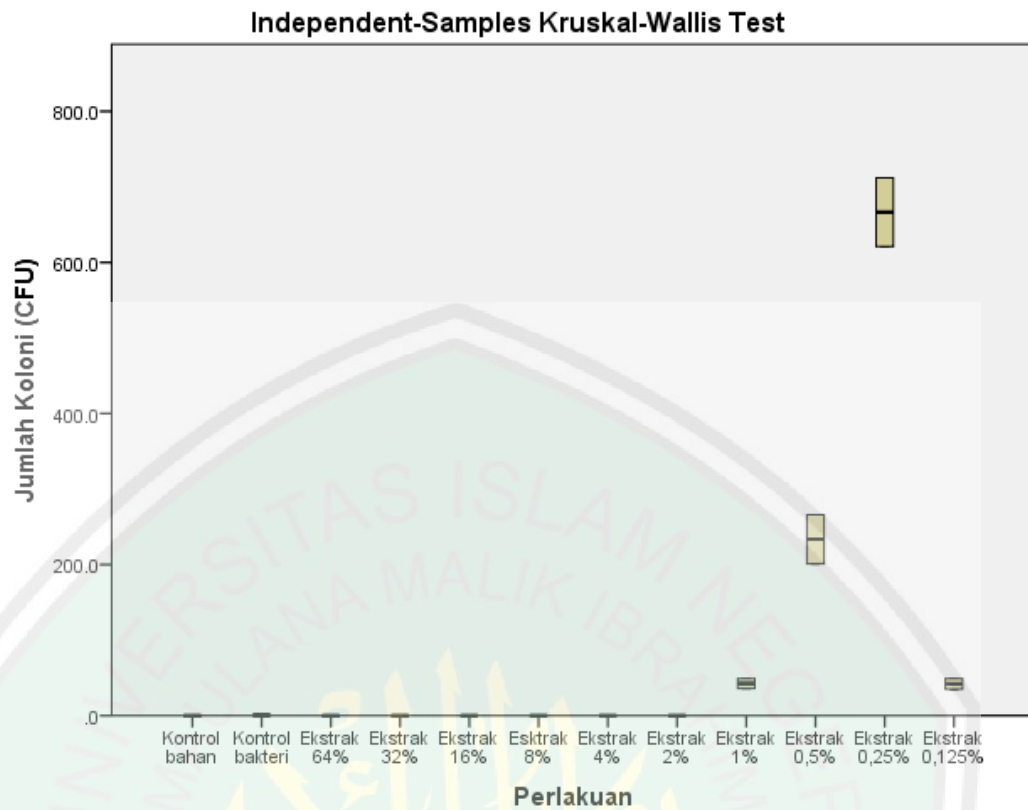
Lampiran 9. Uji Post Hoc Jumlah Koloni

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Jumlah Koloni (CFU) is the same across categories of Perlakuan.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	.024	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is .050.

Total N	24
Test Statistic	22.015 ^a
Degree Of Freedom	11
Asymptotic Sig.(2-sided test)	.024

a. The test statistic is adjusted for ties.



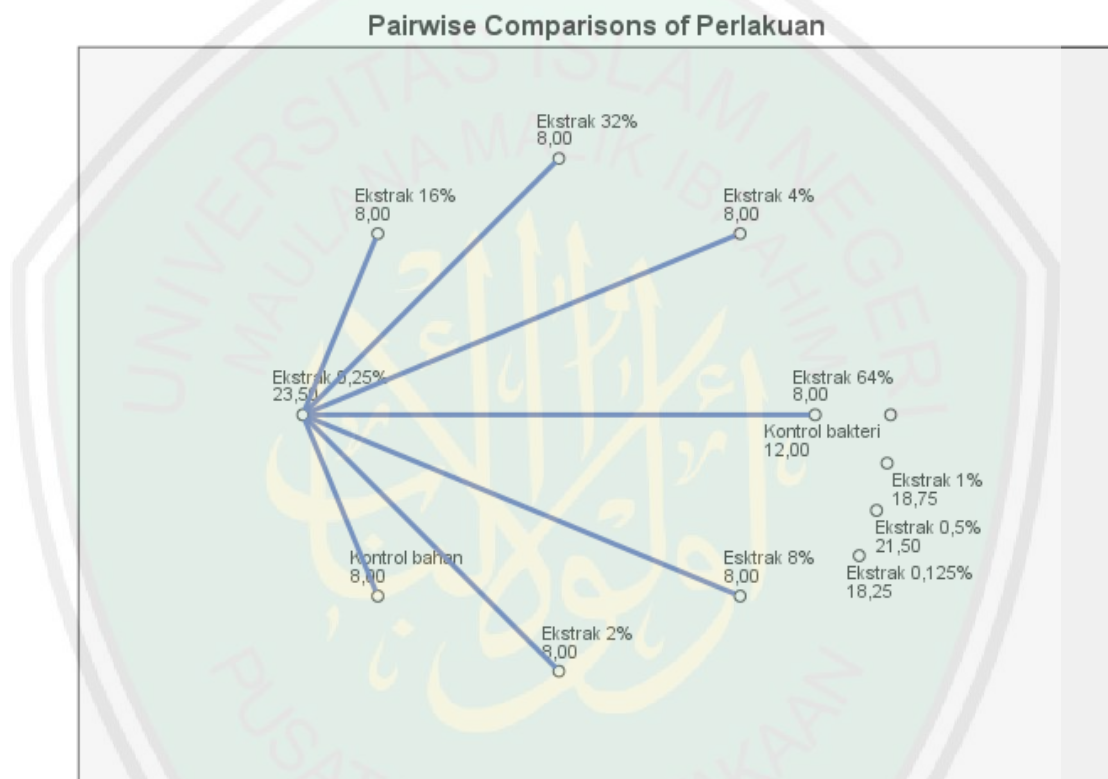
Pairwise Comparisons of Perlakuan

Sample 1-Sample 2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj. Sig.
Kontrol bahan-Ekstrak 64%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 32%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 16%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 8%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Kontrol bahan-Kontrol bakteri	-4.000	6.149	-.651	.515	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Kontrol bahan-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 64%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 32%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 16%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 8%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 4%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 2%-Kontrol bakteri	4.000	6.149	.651	.515	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000

Ekstrak 2%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 2%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 64%-Ekstrak 32%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 16%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 8%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 64%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 32%-Ekstrak 16%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 8%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 32%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 16%-Ekstrak 8%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 16%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 8%-Ekstrak 4%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 8%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Ekstrak 4%-Ekstrak 2%	.000	6.149	.000	1.000	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 0,125%	-10.250	6.149	-1.667	.096	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 1%	-10.750	6.149	-1.748	.080	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 0,5%	-13.500	6.149	-2.196	.028	1.000
Ekstrak 4%-Ekstrak 0,25%	-15.500	6.149	-2.521	.012	.772
Kontrol bakteri-Ekstrak 0,125%	-6.250	6.149	-1.017	.309	1.000
Kontrol bakteri-Ekstrak 1%	-6.750	6.149	-1.098	.272	1.000
Kontrol bakteri-Ekstrak 0,5%	-9.500	6.149	-1.545	.122	1.000

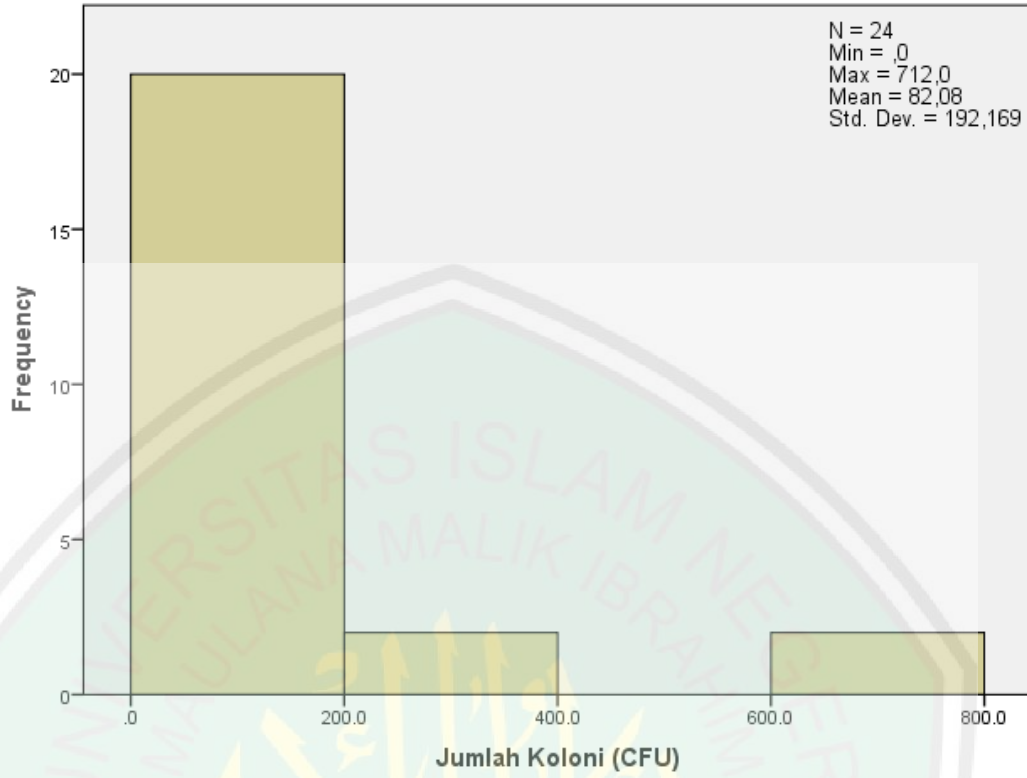
Kontrol bakteri-Ekstrak 0,25%	-11.500	6.149	-1.870	.061	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 1%	.500	6.149	.081	.935	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 0,5%	3.250	6.149	.529	.597	1.000
Ekstrak 0,125%-Ekstrak 0,25%	5.250	6.149	.854	.393	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 0,5%	-2.750	6.149	-.447	.655	1.000
Ekstrak 1%-Ekstrak 0,25%	-4.750	6.149	-.773	.440	1.000
Ekstrak 0,5%-Ekstrak 0,25%	-2.000	6.149	-.325	.745	1.000

Each row tests the null hypothesis that the Sample 1 and Sample 2 distributions are the same. Asymptotic significances (2-sided tests) are displayed. The significance level is .05.



Each node shows the sample average rank of Perlakuan.

Continuous Field Information Jumlah Koloni (CFU)



Categorical Field Information Perlakuan

