

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL Ag/TiO₂
TERHADAP *MULTIDRUG-RESISTANT Klebsiella pneumoniae***

SKRIPSI

**Oleh:
NABILA ZAKIYAH
NIM. 200703110076**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL Ag/TiO₂
TERHADAP *MULTIDRUG-RESISTANT Klebsiella pneumoniae***

SKRIPSI

**Oleh:
NABILA ZAKIYAH
NIM. 200703110076**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2024**

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL Ag/TiO₂
TERHADAP MULTIDRUG-RESISTANT *Klebsiella pneumoniae***

SKRIPSI

Oleh:

NABILA ZAKIYAH

NIM. 200703110076

Telah Diperiksa dan Disetujui Untuk Diuji:

Tanggal:

Pembimbing I

apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed

NIP. 19920607 201903 1 017

Pembimbing II

apt. Sadli Syarifuddin, S.Farm., M.Sc.

NIP. 19920203 202321 1 021

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm.

NIP. 19761214 200912 1 002

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL Ag/TiO₂
TERHADAP MULTIDRUG-RESISTANT *Klebsiella pneumoniae***

SKRIPSI

Oleh:

NABILA ZAKIYAH

NIM. 200703110076

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal:

Ketua Penguji : apt. Sadli Syarifuddin, S.Farm., M.Sc.

NIP. 19920203 202321 1 021

Anggota Penguji : 1. apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed

NIP. 19920607 201903 1 017

2. apt. Hj. Alifia Putri Febriyanti, S.Farm., M.Farm. Klin

NIP. 19850201 201503 2 004

3. Ach. Nashichuddin, MA

NIP. 19730705 200003 1 002

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm.

NIP. 19761214 200912 1 002

LEMBAR PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadiret *allah* Swt. dan tak lupa shalawat serta salam kepada Nabi Muhammad saw. sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Disertai rasa syukur yang mendalam, penulis persembahkan karya tulis sederhana ini kepada pihak-pihak yang telah membantu dan mendukung penulis hingga saat ini.

Kepada kedua orang tua tercinta, Bapak Munir Fu'adi Ridlwan dan Ibu Mahmudah Zakiyah: Allah hadirkan penulis bersama kedua orang tua yang selalu memberikan dukungan yang tak terbendung, memberikan permtanyaan yang tak tamat, dan tentunya selalu mengarahkan dengan tidak sedikit paksaan. Tidak lupa adik-adikku yang akan selamanya menggemaskan, yang telah ikhlas dalam memberikan pipinya sebagai penghibur lara di kala susah dan buntu mengerjakan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa memberikan rahmat, keberkahan, dan ketinggian derajat dunia akhirat.

Kepada keluarga Riset Bakteri *K. pneumoniae* Bapak apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm, M.Biomed yang telah memberikan banyak dukungan serta arahan dalam segala aspek, juga tak lupa menanamkan pelajaran kehidupan yang semoga tak luntur disapu waktu. Semoga Allah membalas beliau dengan keberkahan hidup dan sebagik-baiknya balasan. Tidak lupa anggota team telah membantu dengan sukarela dalam menjaga dan merawat anakan-anakan bakteri dari sampel kita.

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nabila Zakiyah

NIM : 200703110076

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap *Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya 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, 2 Juli 2024

Yang membuat pernyataan,



Nabila Zakiyah

NIM. 200703110076

MOTTO

"النجاح ثمرة الاجتهاد والمثابرة"

"Kesuksesan adalah buah dari ketekunan dan kerja keras."

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur kehadiret *allah* Swt. yang telah memberikan keberlimpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyusun skripsi dengan judul “AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOPARTIKEL Ag/TiO₂ TERHADAP *MULTIDRUG-RESISTANT Klebsiella pneumoniae* ” ini dengan baik. Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad saw. yang telah membimbing kita ke jalan yang Allah ridhoi. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S-1 (Strata 1) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Penulis pada kesempatan ini mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada beberapa pihak yang senantiasa mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi yang telah selesai disusun. Dengan segala dukungan yang tak dapat saya sebutkan, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ayah dan Ibu penulis, Munir Fu'adi Ridlwan dan Mahmudah Zakiyah yang senantiasa memberikan dukungan dan doa dalam segala hal agar penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
2. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah menyediakan fasilitas dan kesempatan untuk menempuh studi di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P. W, M.Kes, Sp.Rad(K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

4. Bapak apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Bapak apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm, M.Biomed., selaku dosen pembimbing I yang selalu memberikan bimbingan, ilmu, nasihat, dan waktu serta tenaga untuk membantu penulis sehingga skripsi ini dapat ditulis sebagaimana mestinya.
6. Bapak apt. Sadli Syarifuddin S.Farm., M.Sc., selaku dosen pembimbing II yang selalu memberikan bimbingan, ilmu, arahan, dan meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
7. Ibu apt. Hj. Alifia Putri Febriyanti, S. Farm., M. Farm. Klin., selaku dosen penguji utama yang telah memberikan masukan demi keberhasilan penelitian.
8. Dosen wali penulis, apt. Mayu Rahmayanti, S.Farm., M.Sc., yang senantiasa memberikan dorongan kepada penulis agar dapat menyelesaikan skripsi ini.
9. Seluruh dosen pengajar di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang atas segala ilmu, nasehat, dan bimbingan selama penulis menempuh pendidikan di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Seluruh keluarga penulis yang senantiasa mendoakan penulis agar dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman-teman seperjuangan *Zonula* yang telah banyak membantu penulis.

12. Teman-teman seangkatan Ma'had Al-Jami'ah Al-'Aly, *Befakkariem* yang senantiasa mendukung dan mendorong semangat penulis untuk menyusun skripsi ini.
13. Rofli Agus Hidayat yang selalu mendampingi dan memberikan semangat serta menyumbangkan waktu dan tenaganya kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
14. Diri sendiri yang sudah kuat bertahan untuk berjuang menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini terdapat banyak kekurangan dan kelemahan. Disamping itu, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat sebagai tambahan referensi penelitian bagi para pembaca dan penulis sendiri.

Malang, 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
LEMBAR PERSEMBAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
ABSTRAK	xi
ABSTRACT	xii
مختص البحث	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	14
1.3 Tujuan Penelitian	14
1.3.1 Tujuan Umum	14
1.3.2 Tujuan Khusus	14
1.4 Manfaat Penelitian.....	15
1.5 Batasan Masalah.....	15
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	16
2.1 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	16
2.1.1 Definisi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	16
2.1.2 Morfologi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	17
2.1.3 Taksonomi <i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
2.2 Pneumonia.....	20
2.2.1 Definisi Pneumonia.....	20
2.2.2 Epidemiologi Pneumonia.....	20
2.2.3 Etiologi Pneumonia.....	21

2.2.4	Klasifikasi Pneumonia	23
2.2.5	Patogenesis dan Patofisiologi Pneumonia	27
2.2.6	Manifestasi Klinis Pneumonia	29
2.2.7	Faktor penyebab.....	29
2.2.8	Diagnosis Pneumonia	31
2.2.9	Penatalaksanaan Pneumonia	32
2.3	Antibiotik	35
2.3.1	Definisi Antibiotik	35
2.3.2	Mekanisme Kerja Antibiotik	35
2.4	Resistensi Antibiotik	37
2.4.1	Definisi resistensi Antibiotik	37
2.4.2	Mekanisme Resistensi Antibiotik	37
2.5	Nanopartikel Ag/TiO ₂	39
2.5.1	Definisi Nanopartikel.....	39
2.5.2	Penggunaan Nanopartikel Ag/TiO ₂	39
2.5.3	Sintesis Nanopartikel Ag/TiO ₂	41
2.5.4	<i>Safety</i> Nanopartikel Perak (Ag)	42
2.5.4.1	Studi Toksikologi In vitro pada AgNPs	42
2.5.4.2	Dalam Studi Toksikologi In vivo pada AgNPs	43
2.5.4.3	Toksitas AgNP Terhadap Sel Kekebalan Tubuh	43
2.5.5	Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ag/TiO ₂	44
2.6	Uji Aktivitas Antibakteri Ag/TiO ₂	47
2.6.1	Uji <i>Kirby-bauer</i>	47
2.6.2	Uji <i>Time Kill Assay</i>	48
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL		50
3.1	Kerangka Konseptual	50
3.1.1	Bagan Kerangka Konseptual	50
3.1.2	Uraian Kerangka Konseptual.....	50
3.2	Hipotesis Penelitian.....	52
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN		53
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	53
4.2	Waktu dan Tempat Penelitian	53

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	53
4.3.1 Variabel Penelitian.....	53
4.3.1.1 Variabel Bebas.....	53
4.3.1.2 Variabel Terikat.....	54
4.3.1.3 Variabel Kontrol.....	54
4.3.2 Definisi Operasional	54
4.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	55
4.4.1 Alat.....	55
4.4.2 Bahan	56
4.5 Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian.....	56
4.5.1 Prosedur Penelitian	58
4.5.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan yang Digunakan	58
4.5.1.2 Preparasi Media dan Biakan Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> ..	58
4.5.1.3 Pembuatan Kultur Stok <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR.....	59
4.5.1.4 Uji Aktivitas Antibakteri	59
4.6 Analisis Data	63
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	65
5.1 Preparasi Sampel.....	66
5.1.1 Identifikasi Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR.....	66
5.1.2 Karakterisasi Nanopartikel Ag/TiO ₂	74
5.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	76
5.2.1 Uji <i>Kirby Bauer</i>	76
5.2.2 Uji <i>Time Kill Assay</i>	86
5.3 Analisis Data	105
5.3.1 Analisis Data Diameter Zona Hambat	105
5.3.2 Analisis Data Jumlah Koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR	109
5.5 Perspektif Islam Terkait Penelitian	116
BAB VI PENUTUP	123
6.1 Kesimpulan	123
6.2 Saran.....	123
DAFTAR PUSTAKA	125
LAMPIRAN.....	137

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Patogen umum penyebab Pneumonia	22
Tabel 2. 2 Klasifikasi Pneumonia berdasarkan etiologinya	22
Tabel 2. 3 Etiologi umum Pneumonia komuniti dan nosokomial.....	23
Tabel 2. 4 Klasifikasi Pneumonia.....	27
Tabel 2. 5 Faktor risiko berdasarkan karakteristik	30
Tabel 2. 6 Faktor risiko Pneumonia	30
Tabel 2. 7 Antibiotik Awal Secara Empirik untuk HAP pada Pasien Tanpa Faktor Risiko Patogen MDR, Onset Dini dan Semua Derajat Penyakit	33
Tabel 2. 8 Terapi Antibiotik Awal Secara Empirik untuk HAP pada Semua Derajat Penyakit pada Pasien dengan Onset Lajut atau Terdapat Faktor Risiko Patogen MDR.....	33
Tabel 2. 9 Dosis Antibiotik Intravena Awal Secara Empirik untuk HAP pada Pasien dengan Onset Lanjut atau Terdapat Faktor Risiko Patogen MDR.....	34
Tabel 2. 10 Kategori Kekuatan Zona Hambat.....	47
Tabel 5. 1 Pengamatan Zona Hambat Hambat Nanopartikel Ag/TiO ₂ (mm)	78
Tabel 5. 2 Pengamatan Jumlah Koloni Secara Visual	88
Tabel 5. 3 Frekuensi Pertumbuhan Koloni.....	96
Tabel 5. 4 Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR pada <i>colony counter</i>	99
Tabel 5. 5 Hasil Analisis Statistika Zona Hambat Nanopartikel Ag/TiO ₂ Terhadap Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR	106
Tabel 5. 6 Hasil Uji <i>Post Hoc Mann-Whitney</i>	108
Tabel 5. 7 Hasil Analisis Statistika Jumlah Koloni Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR dalam Jangka Waktu Tertentu	110
Tabel 5. 8 Nilai P hasil uji <i>post hoc Dunn</i> sampel nanopartikel Ag/TiO ₂ terhadap Kontrol negatif	113

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Karakteristik Morfologi Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
Gambar 2. 2 Ilustrasi Skema Jalur Penularan Infeksi yang Didapat di Rumah Sakit	26
Gambar 2. 3 Patogenesis Pneumonia	28
Gambar 2. 4 Skema terapi empirik untuk HAP.....	34
Gambar 2. 5 Mekanisme Kerja β -laktam	36
Gambar 2. 6 Cara bakteri melawan kerja antibiotik.....	38
Gambar 3. 1 Kerangka konseptual	50
Gambar 4. 1 Skema uji aktivitas antibakteri menggunakan metode <i>Kirby-Bauer</i>	56
Gambar 4. 2 Skema uji aktivitas antibakteri menggunakan metode <i>Time Kill Assay</i>	57
Gambar 5. 1 Hasil Pewarnaan Gram	69
Gambar 5. 2 Uji Biokimia <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR	70
Gambar 5. 3 Hasil Uji Resistensi Bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i>	72
Gambar 5. 4 Ilustrasi Tahapan Membuat Isolat Bakteri.....	74
Gambar 5. 5 SEM Nanopartikel TiO ₂ yang didoping dengan Ag.....	75
Gambar 5. 6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR.....	77
Gambar 5. 7 Grafik Zona Hambat <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR	78
Gambar 5. 8 Ilustrasi Aglomerasi Partikel	84
Gambar 5. 9 Bercak Cair pada Permukaan MHA	93
Gambar 5. 10 Fenomena <i>Spreader</i>	95
Gambar 5. 11 Grafik Time Kill Assay	101

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Bahan Penelitian.....	137
Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian Metode <i>Kirby Bauer</i>	138
Lampiran 3. Uji Normalitas Diameter Zona Hambat.....	139
Lampiran 4. Uji Homogenitas Diameter Zona Hambat	142
Lampiran 5. Uji <i>Post Hoc Mann-Whitney</i> Diameter Zona Hambat	143
Lampiran 6. Uji Lanjutan <i>Kruskal Wallis Kirby Bauer</i>	148
Lampiran 7. Uji Normalitas Jumlah Koloni bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> MDR	152
Lampiran 8. Uji Homogenitas Jumlah Koloni Bakteri.....	155
Lampiran 9. Uji <i>Kruskal Wallis</i> Jumlah Koloni.....	156

DAFTAR SINGKATAN

BCS	: <i>Biological Safety Cabinet</i>
CAP	: <i>Community Acquired Pneumonia</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i> atau asam Deoksiribonukleat
EPS	: Eksopolisakarida
ESBL	: <i>Extended Spectrum β-lactamase</i>
HAP	: <i>Hospital Acquired Pneumonia</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
ICU	: <i>Intensive Care Unit</i>
LB	: <i>Luria Bertani</i>
M	: Molaritas
MDR	: <i>Multidrug-resistant</i>
MDRO	: <i>Multidrug-Resistant Organisms</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
MRSA	: <i>Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus</i>
VAP	: <i>Ventilator Associated Pneumonia</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

Zakiah, N. 2024. Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ag/TiO₂ Terhadap *Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae*. Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm, M.Biomed; Pembimbing II: apt. Sadli Syarifuddin, S.Farm., M.Sc.

Penyakit pernapasan yang paling sering dijumpai dan mempunyai dampak yang signifikan di seluruh dunia adalah Pneumonia. Pneumonia juga merupakan penyakit pernapasan yang menjadi penyebab kematian terbesar kedua di Indonesia. Salah satu penyebab utama pneumonia terbanyak di Indonesia adalah infeksi akibat bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan bakteri jenis gram negatif. Beberapa dekade terakhir, penggunaan antibiotik yang tidak tepat serta ketidakpatuhan pasien dalam penggunaan antibiotik sangat berkontribusi pada munculnya masalah resistensi antibiotik (*Multidrug resistant/MDR*). Nanopartikel Ag/TiO₂ dipercaya memiliki potensi sebagai antibakteri alternatif untuk mencegah penularan pneumonia akibat *Klebsiella pneumoniae* MDR melalui alat medis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah uji aktivitas antibakteri dengan metode *Kirby Bauer* untuk mengetahui zona hambat bakteri dan metode *Time Kill Assay* untuk mengetahui reduksi jumlah koloni bakteri pada interval waktu 0, 1, 6 dan 24 jam. Sampel yang digunakan adalah nanopartikel dengan dua variasi konsentrasi yaitu konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M. Hasil uji *Kirby Bauer* menunjukkan bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻³ M memiliki zona hambat lebih besaar dibandingkan dengan nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻² M. Sedangkan uji *Time Kill Assay* menunjukkan terjadinya reduksi jumlah koloni bakteri seiring berkurangnya kosentrasi Ag/TiO₂ terutama pada interval waktu inkubasi 24 jam yang dibuktikan dengan kemampuan nanopartikel Ag/TiO₂ untuk membunuh bakteri hingga media uji terlihat bersih dari pertumbuhan koloni bakteri. Kesimpulannya, nanopartikel Ag/TiO₂ memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR, baik bakteriostatik maupun bakterisidal terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR secara *in vitro*. Semakin rendah konsentrasi nanopartikel Ag/TiO₂ yang diberikan, maka semakin besar aktivitas antibakterinya untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR secara *in vitro*.

Kata Kunci: *Klebsiella pneumoniae* MDR, Nanopartikel Ag/TiO₂, *Kirby Bauer*, *Time Kill Assay*

ABSTRACT

Zakiah, N. 2024. Antibacterial Activity Test of Ag/TiO₂ Nanoparticles Against Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. Thesis. Department of Pharmacy Faculty of Medicine and Health Sciences Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Supervisor I: apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm, M.Biomed; Supervisor II: apt. Sadli Syarifuddin, S.Farm., M.Sc.

Respiratory disease most commonly encountered and having a significant impact worldwide is Pneumonia. Pneumonia is also the second leading cause of death in Indonesia. One of the major causes of pneumonia in Indonesia is infection due to *Klebsiella pneumoniae* bacteria, which is a gram-negative type bacterium. In recent decades, inappropriate use of antibiotics and patient non-compliance in antibiotic usage have significantly contributed to the emergence of antibiotic resistance problems (Multidrug resistant/MDR). Ag/TiO₂ nanoparticles are believed to have potential as an alternative antibacterial agent to prevent the transmission of MDR *Klebsiella pneumoniae*-induced pneumonia through medical devices. This research aims to determine the antibacterial activity of Ag/TiO₂ nanoparticles against MDR *Klebsiella pneumoniae* in vitro. The methods used are the Kirby Bauer method to determine the bacteria inhibition zone and the *Time Kill Assay* method to determine the reduction of bacterial colony numbers at intervals of 0, 1, 6, and 24 hours. The samples used are nanoparticles with two concentration variations, namely concentrations of 10⁻² M and 10⁻³ M. The Kirby Bauer test results show that Ag/TiO₂ nanoparticles at 10⁻³ M concentration have a larger inhibition zone compared to Ag/TiO₂ nanoparticles at 10⁻² M. Meanwhile, the *Time Kill Assay* test shows a reduction in the number of bacterial colonies as the concentration of Ag/TiO₂ decreases, especially at the 24-hour incubation interval, which is evidenced by the ability of Ag/TiO₂ nanoparticles to kill bacteria until the test media appears clean from bacterial colony growth. In conclusion, Ag/TiO₂ nanoparticles have antibacterial activity against MDR *Klebsiella pneumoniae*, both bacteriostatic and bactericidal against MDR *Klebsiella pneumoniae* bacteria in vitro. The lower the concentration of Ag/TiO₂ nanoparticles given, the greater their antibacterial activity to inhibit the growth of MDR *Klebsiella pneumoniae* bacteria in vitro.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae* MDR, Ag/TiO₂ Nanoparticles, Kirby Bauer, *Time Kill Assay*

مختصر البحث

زكية، نبيلة. 2024. تجربة نشاط مضاد للبكتيريا لجسيمات النانو Ag/TiO₂ ضد *Klebsiella pneumoniae* المتعددة المقاومة للأدوية. رسالة بكالوريوس. برنامج الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية، جامعة الدولة الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانغ. المشرف الأول: الدكتور أليف فرمان فردوسي الماجستير. المشرف الثاني: الدكتور سادلي شريف الدين الماجستير.

أمراض الجهاز التنفسي التي تُواجه بشكل شائع وتُظهر تأثيرًا ملحوظًا على مستوى العالم هي التهاب الرئة. وتُعد التهاب الرئة أيضًا ثاني أكبر سبب للوفيات في إندونيسيا. واحدة من الأسباب الرئيسية لتهاب الرئة في إندونيسيا وهي بكتيريا سالبة الغرام. في العقود الأخيرة، *Klebsiella pneumoniae* هي العدوى الناجمة عن بكتيريا ساهم استخدام المضادات الحيوية بشكل غير صحيح وعدم الامتثال من قبل المرضى في استخدام المضادات الحيوية يُعتقد أن جسيمات النانو (MDR/المضادة للعقاقير) بشكل كبير في ظهور مشكلات مقاومة المضادات الحيوية *Klebsiella pneumoniae* لها إمكانات كمضادات للبكتيريا البديلة لمنع انتقال التهاب الرئة الناجم عن Ag/TiO₂ المقاوم للعقاقير من خلال الأجهزة الطبية. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد نشاط جسيمات النانو *Klebsiella pneumoniae* MDR *in vitro* النشاط ضد Ag/TiO₂ الأسلوب المستخدم هو اختبار *Time Kill* لتحديد منطقة تثبيط البكتيريا وأسلوب *Kirby Bauer* النشاط المضاد للبكتيريا بأسلوب لتحديد تقليل عدد الأعشاب البكتيرية في فترات زمنية مختلفة هي 0، 1، 6، و 24 ساعة. العينات المستخدمة هي جسيمات النانو بتركيزين مختلفين وهما تراكيز 2-10 مول و 3-10 مول. أظهرت نتائج اختبار بتركيز 3-10 مول لها منطقة تثبيط أكبر بكثير مقارنة Ag/TiO₂ أن جسيمات النانو *Kirby Bauer* حدوث تقليل في عدد *Time Kill Assay* بتركيز 2-10 مول. بينما أظهر اختبار Ag/TiO₂ بجسيمات النانو ، خاصة في فترة التفريخ لمدة 24 ساعة وهو ما يثبت قدرة Ag/TiO₂ أعشاب البكتيريا مع انخفاض تركيز على قتل البكتيريا حتى تبدو وسائط الاختبار نظيفة من نمو الأعشاب البكتيرية. في Ag/TiO₂ جسيمات النانو *Klebsiella pneumoniae* MDR، نشاطًا مضادًا للبكتيريا ضد Ag/TiO₂ الختام، تمتلك جسيمات النانو *Klebsiella pneumoniae* MDR *in vitro* سواء كانت مثبطة للبكتيريا أو قاتلة للبكتيريا ضد *Klebsiella pneumoniae* أقل، زاد نشاطها المضاد للبكتيريا لتثبيط نمو Ag/TiO₂ تركيز جسيمات النانو *MDR in vitro*.

الكلمات الرئيسية: *Klebsiella pneumoniae* MDR ، جسيمات النانو Ag/TiO₂ ، *Kirby Bauer* ، *Time Kill Assay*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit pernapasan merupakan salah satu penyakit terbanyak di Indonesia. Menurut Kemenkes RI Tahun 2017, penyakit pernapasan menjadi penyakit terbesar kedua yang dapat menyebabkan kematian di Indonesia dengan persentase kejadian 27% setelah penyakit kardiovaskular (53%). Gejala yang paling umum biasanya diawali dengan timbulnya batuk dan sakit tenggorokan. Salah satu penyakit pernapasan yang sering dijumpai dan mempunyai dampak yang signifikan di seluruh dunia, terutama pada usia lanjut adalah pneumonia (Pangesti, 2020).

Pneumonia adalah penyakit yang disebabkan oleh adanya peradangan saluran pernapasan bawah yang mengenai jaringan paru-paru bagian alveoli. Penyakit ini dapat menimbulkan beberapa gejala ringan, sedang, bahkan gejala berat. Biasanya penderita pneumonia mengalami gejala batuk berdahak, demam, dan sesak napas (Saputro dan Santoso, 2023). Hal ini disebabkan oleh infeksius seperti virus, bakteri, jamur, aspirasi substansi asing yang masuk berupa eksudat (cairan) dan konsolidasi (bercak berawan) pada paru-paru (Abdul dan herlina, 2020).

Pneumonia merupakan salah satu penyakit dengan tingkat kematian yang tinggi, terutama di negara-negara berkembang. Menurut *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2019, pneumonia merupakan salah satu penyebab kematian menular terbesar pada anak-anak di seluruh dunia. Dalam tahun tersebut, pneumonia menyebabkan kematian sebanyak 808.694 anak di bawah usia 5 tahun, yang merupakan sekitar 15% dari total kematian anak di bawah usia lima tahun.

Indonesia, sebagai negara yang terletak di daerah tropis, berisiko menjadi daerah endemik penyakit infeksi yang dapat menjadi ancaman bagi kesehatan masyarakat (Safitri, 2023). Perubahan iklim menjadi faktor utama dalam timbulnya penyakit infeksi. Menurut Suleyman (2018), terdapat korelasi yang penting antara suhu udara dan insiden penyakit pneumonia. Variabel-variabel seperti suhu, kelembapan, dan curah hujan memengaruhi terjadinya penyakit pneumonia dengan memengaruhi membran mukosa hidung dan daya tahan kapiler. Situasi ini dapat membuat patogen penyakit pneumonia lebih mudah masuk ke saluran pernapasan dan menginfeksi manusia. Suhu yang meningkat secara berkelanjutan dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kelelahan, peningkatan produksi keringat, serta menurunkan kekebalan tubuh, sehingga meningkatkan risiko terkena pneumonia pada manusia.

Menurut *Our World in Data* 2019, wilayah Asia Tenggara, termasuk Indonesia memiliki tingkat kematian tertinggi akibat pneumonia. Data kematian di Indonesia menunjukkan bahwa pada rentang usia 15-49 tahun terdapat 2.898 kasus kematian akibat pneumonia, sementara pada rentang usia 50-69 tahun terdapat 9.531 kasus. Perbandingan data menurut usia tersebut menunjukkan bahwa terdapat jumlah kasus yang jauh lebih besar pada rentang usia 50-69 tahun (Riyadi, 2023). Pneumonia juga menjadi salah satu dari 10 besar penyakit dengan jumlah pasien rawat inap terbanyak di dunia dengan kisaran proporsi kasus 53,95% pada laki-laki dan 46,05% pada perempuan. Jumlah penderita pneumonia hampir tiap tahun meningkat (Abdul dan herlina, 2020). Laki-laki akan memiliki risiko lebih besar terinfeksi pneumonia dibandingkan perempuan karena diameter saluran pernapasan

laki-laki lebih lebih kecil dibandingkan dengan perempuan (Iswandi dan Sumaryana, 2023). Berdasarkan data kesehatan Amerika Serikat, terdapat 600.000 kasus dari sekian juta kasus pneumonia berasal dari pasien di atas usia 65 tahun. Dari pasien-pasien tersebut, sekitar 10-20% merupakan pasien yang memerlukan perawatan di *Intensive Care Unit* (ICU). Pasien lanjut usia dengan komorbiditas berat memiliki persentase 25-50% mortalitas. Sedangkan pasien dengan usia di atas 85 tahun memiliki mortalitas tiga kali lebih tinggi (Mulyana, 2019).

Salah satu penyebab terjadinya penyakit pneumonia terbanyak di Indonesia adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan bakteri jenis gram negatif (Sania dkk., 2023). Bakteri ini banyak ditemukan di dalam tubuh manusia yang terinfeksi seperti pada permukaan mukosa manusia, saluran pernapasan, permukaan di seluruh rumah sakit termasuk alat medis, wadah air yang terkontaminasi oleh limbah, serta permukaan tangan yang telah terkontaminasi oleh feses. Bakteri ini sangat berpotensi menyebabkan infeksi pneumonia sehingga mempengaruhi tingkat morbiditas dan mortalitas pada pasien rumah sakit yang memiliki kekebalan tubuh rendah bahkan kritis. Hal ini menjadikan *Klebsiella pneumoniae* sebagai bakteri penyebab utama pneumonia nosokomial (Choby *et al.*, 2020). Rumah sakit merupakan tempat terbanyak adanya pertumbuhan bakteri dengan berbagai variasi macam bakteri. Hal tersebut yang menjadikan rumah sakit sebagai tempat yang memiliki resiko penularan yang lebih tinggi dibandingkan dengan tempat lainnya. Menurut Centeleghe (2023), rumah sakit dapat menjadi sumber penularan nosokomial bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Penularan ini dapat terjadi baik melalui kontak langsung dengan penderita pneumonia maupun melalui

permukaan peralatan medis yang terkontaminasi. Dalam konteks ini, peran tenaga medis sangat signifikan dalam penyebaran bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Proses ini biasa dinamakan dengan HCAP (*Health Care Associated Pneumoniae*) yang artinya kondisi dimana infeksi terjadi akibat tenaga kesehatan (Rai dan Artana, 2016). Proses penularan bakteri *Klebsiella pneumoniae* terutama terjadi selama penggunaan peralatan medis invasif seperti ventilator dan kateter yang dimasukkan ke dalam tubuh pasien. Penularan juga dapat terjadi melalui udara atau kontak langsung dengan tenaga medis yang sebelumnya merawat pasien pneumonia dan kemudian merawat pasien lainnya. Selain itu, rumah sakit seringkali menjadi tempat dimana mikroorganisme dengan berbagai ragam jenis berkumpul. Oleh karena itu, ada kemungkinan besar alat medis yang akan digunakan terhadap pasien akan terkontaminasi oleh bakteri dari lingkungan luar. Ketika alat medis tersebut dimasukkan ke dalam tubuh pasien, maka menjadi peluang bagi kuman *Klebsiella pneumoniae* untuk masuk ke dalam tubuh pasien tersebut. Terutama dalam situasi dimana alat medis seperti ventilator dan kateter digunakan dalam jangka waktu yang lebih lama, misalnya satu hingga dua minggu yang disertai dengan penggunaan antibiotik yang kurang tepat akan menjadi peluang *Klebsiella pneumoniae* untuk bertransformasi. Dalam konteks ini, sangat dibutuhkan tindakan pencegahan yang ketat, seperti praktik kebersihan yang baik dan sterilisasi peralatan medis. Hal ini menjadi sangat penting untuk mengurangi risiko penularan bakteri ini di rumah sakit (Konoralma, 2019).

Secara historis, bakteri *Klebsiella pneumoniae* digambarkan sebagai *Friedlander's Pneumoniae* dengan angka kematian tertinggi akibat pneumonia

yang disebabkan oleh radang paru-paru berat (Fliss *et al.*, 2022). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa infeksi pneumonia oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat diatasi dengan pemberian antibiotik β -laktam (Collins *et al.*, 2022). Antibiotik β -laktam merupakan golongan obat yang paling banyak digunakan dalam pengobatan infeksi bakteri (Wei *et al.*, 2018). Mekanisme kerja antibiotik beta laktam diketahui sebagai penghambat *Penicilin Binding Protein* (PBP), yang biasanya terlibat dalam pembentukan lapisan peptidoglikan yang melapisi sebagian besar bakteri. Cincin beta laktam pada antibiotik ini menyerupai bagian D-alanil D-alanin yang biasanya diikat oleh PBP dalam rantai samping peptida. Akibatnya, antibiotik beta laktam berinteraksi dengan PBP, mengganggu sintesis peptidoglikan baru. Gangguan pada lapisan peptidoglikan tersebut menyebabkan lisis bakteri, sehingga antibiotik ini menjadi pengobatan yang paling efektif untuk infeksi bakteri (Anggita, dkk., 2022). Selama beberapa dekade terakhir, penggunaan antibiotik yang tidak tepat serta ketidakpatuhan pasien dalam penggunaan antibiotik sangat berkontribusi pada munculnya masalah resistensi antibiotik. Akibatnya, meningkatnya resistensi infeksi *Klebsiella pneumoniae* menjadi permasalahan serius dan perhatian baru bagi para tenaga kesehatan (Oliveira *et al.*, 2022).

Salah satu jenis resistensi antibiotik yang umum ditemukan adalah *Multidrug-resistant* (MDR) yang mengacu pada bakteri yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik yang berbeda. Kondisi MDR dapat disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk penggunaan antibiotik dengan dosis yang tidak tepat, diagnosa yang tidak akurat, dan infeksi oleh bakteri yang tidak tepat. Bakteri yang mengalami MDR

dikenal sebagai MDRO atau organisme yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik (Ahmad dkk., 2021). Laporan dari Amerika Serikat menyatakan bahwa pneumonia menempati urutan keenam dalam daftar penyebab kematian tertinggi dan menjadi penyebab kematian paling banyak pada kasus infeksi. Sekitar 2,1% dari patogen penyebab infeksi pneumonia diketahui berhubungan dengan bakteri penghasil ESBL. Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* umumnya menjadi bakteri penyebab utama penghasil ESBL yang ditemukan. Bakteri penghasil ESBL yang berasal dari isolat *Klebsiella pneumoniae* memiliki prevalensi global tertinggi. Karena tingginya angka bakteri penghasil ESBL dari patogen ini selama dekade terakhir, terapi antibiotik untuk infeksi pneumonia menjadi sangat terbatas (Manuaba dan Pinatih, 2021). *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri penghasil ESBL yang juga menjadi kandidat 5 besar bakteri penyebab infeksi nosokomial terbanyak di ranah global (Peirano *et al.*, 2020). Selama satu dekade terakhir, *Klebsiella pneumoniae* telah menunjukkan kecenderungan penurunan sensitivitas terhadap beberapa jenis antibiotik, terutama beta-laktam, sefalosporin generasi ketiga, dan karbapenem (Ebrahim *et al.*, 2020). Fenomena ini menjadi bukti bahwa *Klebsiella pneumoniae* terus berevolusi menjadi patogen yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik, atau biasa dikenal sebagai *Multi Drug Resistant* (Adamo and Margarit, 2018). Penemuan banyak jenis *Klebsiella pneumoniae* yang menghasilkan enzim *Extended Spectrum β -lactamase* (ESBL) dan carbapenemase di berbagai wilayah di seluruh dunia telah menyebabkan kasus infeksi *Enterobacteriaceae*, termasuk *Klebsiella pneumoniae*, dianggap sebagai patogen resisten kategori pertama atau *critical* yang dapat

menginfeksi pasien rawat inap dalam jangka waktu panjang sehingga harus segera dicari solusinya menurut WHO (Tacconelli *et al.*, 2018). *Extended Spectrum β -lactamase* (ESBL) merupakan enzim yang dihasilkan oleh bakteri dan memiliki kemampuan untuk menghidrolisis cincin beta laktam sehingga menyebabkan resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik beta laktam (Normaliska, dkk., 2019). ESBL menghidrolisis cincin beta laktam dengan membuka dan merubah struktur dari cincin beta laktam pada antibiotik kemudian menghalangi ikatan *Penisilin Binding Protein* (PBP) sehingga menyebabkan sintesis dinding sel di dalam bakteri akan terus berlanjut yang pada akhirnya berakibat pada inaktivasi dari antibiotik beta laktam tersebut (Biutifasari, 2018). Hal ini yang menjadi salah satu faktor penyebab bakteri menjadi resisten terhadap antibiotik.

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* memiliki kapsul yang merupakan lapisan polisakarida padat dengan ketebalan ± 160 nm yang secara efektif melindungi bakteri dari lingkungan yang membahayakan bakteri. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kapsul *Klebsiella pneumoniae* memberikan penghalang yang efisien untuk mencegah pembunuhan bakteri (Doorduyn *et al.*, 2016). Bakteri gram negatif merupakan mikroorganisme penyebab terbanyak yang dapat membentuk biofilm sehingga sering menyebabkan resistensi antibiotik (Sahputri, 2018). Pada tahap pembentukan biofilm, terjadi proses kolonisasi dimana bakteri *Klebsiella pneumoniae* seharusnya mengalami kematian saat menempel di permukaan peralatan medis. Namun, bakteri tersebut dapat bertahan dan berkembangbiak di permukaan peralatan medis menjadi lebih banyak. Hal ini dapat disimpulkan bahwa

penyebaran *Klebsiella pneumoniae* MDR sangat berbahaya dan dapat meningkatkan jumlah pasien yang terinfeksi (Ceresa *et al.*, 2019).

Berdasarkan fenomena yang ada, dibutuhkan solusi untuk menangani resistensi *Klebsiella pneumoniae* yaitu terapi antibiotik. Sebagaimana yang telah diajarkan di agama Islam bahwa segala penyakit pasti ada obatnya yang dapat diperoleh dari manapun. Disebutkan dalam Al-Qur'an surat Yunus ayat 57:

يَأَيُّهَا النَّاسُ قَدْ جَاءَتْكُمْ مَوْعِظَةٌ مِّن رَّبِّكُمْ وَشِفَاءٌ لِّمَا فِي الصُّدُورِ وَهُدًى وَرَحْمَةٌ
لِّلْمُؤْمِنِينَ

Artinya: "Hai manusia, sesungguhnya telah datang kepadamu pelajaran dari Tuhanmu dan penyembuh bagi penyakit-penyakit (yang berada) dalam dada dan petunjuk serta rahmat bagi orang-orang yang beriman." (QS. Yunus: 57)

Ayat tersebut menjelaskan mengenai kebesaran Allah Swt. yang telah memberikan مَوْعِظَةٌ yang berarti pengetahuan dengan perantara Al-Qur'an kepada hamba-hamba sehingga hamba-hambanya memiliki pengetahuan dan wawasan mengenai ilmu pengetahuan. Dengan adanya ilmu pengetahuan, manusia akan mudah mengeksplor segala hal di dunia termasuk ilmu sains dan kesehatan serta menghilangkan kebodohan dan kemungkarannya hamba-hambanya. Pelajaran yang didapatkan harus diwujudkan melalui perbuatan, salah satunya dengan melakukan pengembangan ilmu melalui suatu penelitian.

Kata مَوْعِظَةٌ sendiri sering diartikan sebagai nasihat atau pelajaran. Dalam konteks ayat ini, مَوْعِظَةٌ merujuk pada pelajaran dan nasihat yang diberikan oleh Allah melalui Al-Qur'an, yang bertujuan untuk memberikan panduan hidup yang benar dan bermanfaat bagi manusia. Pelajaran yang dimaksud mencakup berbagai aspek kehidupan, termasuk moralitas, etika, dan pengetahuan ilmiah.

Menurut tafsir Al-Misbah karya Prof Quraish Shihab, **مَوْعِظَةٌ** dalam ayat ini adalah nasihat yang bersifat mendidik dan mencerahkan, yang ditujukan untuk membimbing manusia ke jalan yang benar. Al-Qur'an sebagai sumber **مَوْعِظَةٌ** memberikan pengetahuan yang memungkinkan manusia untuk memahami dunia dengan lebih baik dan mengambil langkah-langkah yang tepat dalam menghadapi berbagai tantangan, termasuk dalam bidang sains dan kesehatan.

Dalam konteks penelitian dan pengembangan ilmu pengetahuan, **مَوْعِظَةٌ** dari Al-Qur'an mendorong umat Islam untuk tidak berhenti belajar dan terus mencari solusi bagi masalah-masalah yang dihadapi, seperti resistensi antibiotik. Dengan memanfaatkan pengetahuan yang telah diberikan Allah, manusia dapat menemukan cara-cara baru untuk mengatasi penyakit dan meningkatkan kualitas hidup.

Menjaga kesehatan merupakan anjuran dalam Islam sebagai salah satu bentuk ibadah. Rasulullah saw. mendorong umatnya untuk mencari pengobatan dan memanfaatkan segala sumber daya medis. Islam mengajarkan bahwa penyakit adalah ujian dan kesembuhan adalah sebuah rahmat dari Allah Swt. Oleh karena itu, berobat dan mengambil langkah-langkah untuk merawat tubuh merupakan bagian dari taqwa terhadap Allah Swt. Islam juga mengajarkan untuk selalu berusaha mencari pengobatan untuk kesembuhan karena tidak ada penyakit tanpa penyembuh atau obat. Hal ini dijelaskan dalam salah satu hadits yang diriwayatkan oleh Imam Muslim mengenai penyembuh suatu penyakit bahwa Nabi Muhammad saw. bersabda:

حَدَّثَنَا هَارُونُ بْنُ مَعْرُوفٍ وَأَبُو الطَّاهِرِ وَأَحْمَدُ بْنُ عَيْسَى قَالُوا حَدَّثَنَا ابْنُ وَهْبٍ أَخْبَرَنِي
عَمْرُو وَهُوَ ابْنُ الْحَارِثِ عَنْ عَبْدِ رَبِّهِ بْنِ سَعِيدٍ عَنْ أَبِي الزُّبَيْرِ عَنْ جَابِرٍ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ
صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: "Telah menceritakan kepada kami Harun bin Ma'ruf dan Abu Ath Thahir serta Ahmad bin 'Isa mereka berkata; Telah menceritakan kepada kami Ibnu Wahb; Telah mengabarkan kepadaku 'Amru, yaitu Ibnu al-Harits dari 'Abdu Rabbih bin Sa'id dari Abu Az Zubair dari Jabir dari Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam, beliau bersabda: "Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, akan sembuhlah penyakit itu dengan izin Allah 'azza wajalla." (HR Muslim). (Muslim ibn al-Hajjaj, Sahih Muslim, Hadis no. 4084)

Menurut Ibnu Qayyim al-Jauziyyah dalam kitabnya yang berjudul *Ath-Thibb an-Nabawi*, hadits-hadits tersebut memberikan legitimasi terhadap keberadaan sebab dan tanggapan terhadap mereka yang menolak kenyataan tersebut.

Dalam kitab "Zaad al-Ma'ad", Ibnu Qayyim menyatakan, "Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya. Orang yang mengetahuinya akan mengetahui (obat tersebut), dan orang yang tidak mengetahuinya akan tetap tidak mengetahuinya" (Zaad al-Ma'ad, Jilid 4, halaman 9). Kutipan ini menegaskan bahwa ilmu tentang obat mungkin diketahui oleh sebagian orang dan tidak diketahui oleh yang lainnya, sehingga pencarian ilmu dan penelitian terus-menerus adalah kunci untuk menemukan solusi atas berbagai penyakit. Penjelasan Ibnu Qayyim ini sejalan dengan ajaran Islam yang mendorong umatnya untuk berusaha keras dalam mencari solusi terhadap berbagai masalah, termasuk dalam bidang kesehatan, dengan tetap menggantungkan harapan dan keyakinan kepada Allah SWT.

Ungkapan " لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ " dapat diterapkan secara umum. Hal ini berarti bahwa ungkapan tersebut mencakup penyakit-penyakit yang mematikan dan berbagai penyakit yang belum memiliki obat yang ditemukan oleh dokter. Ini dikarenakan pengetahuan manusia terbatas pada apa yang diajarkan oleh Allah. Oleh karena itu, Rasulullah menyatakan bahwa kesembuhan dari suatu penyakit tergantung pada kecocokan obat dengan penyakit tersebut. Setiap ciptaan Allah memiliki pasangan atau lawan yang berlawanan, dan hal yang sama berlaku untuk penyakit, yaitu adanya obat yang menjadi lawannya.

Dilihat dari kasus yang telah dijelaskan sebelumnya, maka perlu dilakukan upaya untuk menekan laju resistensi antibiotik dengan pemberian antibiotik secara tepat. Salah satu cara untuk menerapkan konsep tersebut yaitu dengan menggunakan antibiotik yang masih sensitif dan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Namun, pada fenomena resistensi antibiotik, bakteri tidak mampu untuk diatasi hanya dengan pemberian antibiotik saja. Dengan adanya kasus tersebut, maka perlu dicarikan solusi terhadap masalah tersebut. Salah satu cara untuk memperlambat laju penyebaran infeksi adalah dengan cara *coating*. *Coating* atau pelapisan adalah cara yang paling sering digunakan untuk memperlambat laju penyebaran infeksi karena lebih efektif, mudah diaplikasikan (Yassin *et al.*, 2019). *Coating* dapat memproteksi permukaan peralatan medis dari kontaminasi mikroorganisme dengan cara membentuk suatu lapisan yang dapat memisahkan permukaan peralatan medis melalui daya lekatnya dengan lingkungan luar (Kopeć *et al.*, 2021). Hal ini merupakan salah satu upaya untuk

menekan persebaran infeksi pneumonia akibat bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

Nanopartikel perak (Ag) telah berhasil digunakan dalam berbagai produk, termasuk tekstil, pelapis perangkat medis, dan diimpregnasikan ke kain tekstil (Bungan dkk., 2021). Bukan hanya itu, banyak penelitian telah mencatat keefektifan nanopartikel perak (Ag) sebagai agen antibakteri spektrum luas. Efektivitas antibakteri nanopartikel Ag dimediasi oleh reaksi fotokatalitik yang menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS), seperti oksigen dan radikal hidroksil ($\bullet\text{O}_2^-$ dan $\bullet\text{OH}$). Kedua radikal ini diketahui memiliki potensi pengoksidasi kuat yang dapat merusak material organik, termasuk merusak membran sel bakteri patogen (Wafi *et al.*, 2020).

Selain Ag, timah oksida (TiO_2) sering digunakan dalam beberapa proses industri. Karena stabilitas kimianya yang baik, biaya rendah, dan aktivitas foto atau cahaya yang sangat efektif, TiO_2 sering digunakan dalam industri (Bungan dkk., 2021). Kemampuan nanopartikel TiO_2 dan Ag dalam meningkatkan sifat mekanik serta efektivitas antibakterinya terhadap bakteri Gram-positif atau Gram-negatif dan pertumbuhan sel, telah menarik perhatian banyak pihak, terutama dalam bidang industri farmasi (Aritonang *et al.*, 2020).

Berdasarkan penjelasan sebelumnya, maka dapat diketahui bahwa nanopartikel Ag/ TiO_2 memiliki potensi antibakteri terhadap suatu bakteri. Oleh karena itu, tentu perlu dilakukan uji terlebih dahulu untuk menentukan sensitivitas dan aktivitas antibakteri atau senyawa antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Pada penelitian sebelumnya telah membuktikan adanya

aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dan mendapatkan hasil bahwa terdapat aktivitas antibakteri dengan rentang konsentrasi tertentu (Barudin *et al.*, 2013).

Banyak peneliti di Indonesia telah melakukan studi untuk menguji aktivitas senyawa antibakteri. Terdapat beberapa metode uji aktivitas antibakteri, seperti metode difusi, TLC, metode dilusi, metode *Time Kill Assay*, ATP assay, Flow cytometric method (Baloiri *et al.*, 2016). Metode yang umum digunakan dalam menguji aktivitas antibakteri adalah metode dilusi dan metode difusi. Metode dilusi digunakan untuk mengevaluasi kemampuan suatu senyawa antibakteri secara kualitatif dan kuantitatif, sementara metode difusi secara khusus digunakan untuk mengevaluasi kemampuan senyawa antibakteri secara kualitatif (Sari dan Febriawan, 2021).

Salah satu uji aktivitas antibakteri secara difusi yaitu metode *Kirby-Bauer*. Metode ini sudah banyak digunakan oleh banyak peneliti di Indonesia karena dianggap sangat mudah dan praktis untuk dilakukan. Namun metode *Kirby-Bauer* hanya dapat digunakan untuk uji kualitatif antibakteri terhadap suatu pertumbuhan bakteri. Maka dari itu perlu menggunakan metode kuantitatif untuk mengetahui jumlah bakteri yang masih hidup atau mati setelah pemberian agen antibakteri. Metode kuantitatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *Time Kill Assay*. Metode ini dapat memberikan informasi mengenai jumlah bakteri yang masih hidup pada setiap titik waktu tertentu setelah terpapar oleh agen antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ (Faradina, 2020).

Sejauh ini, belum diketahui secara spesifik mengenai aktivitas dan potensi Ag/TiO₂ sebagai antibakteri dalam menghambat resistensi *Klebsiella pneumoniae* MDR yang muncul melalui penggunaan peralatan medis pada pasien di rumah sakit. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR pada permukaan peralatan medis.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, pokok masalah utama pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana aktivitas antibakteri Ag/TiO₂ (konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M) terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan metode uji Kirby-bauer?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri Ag/TiO₂ (konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M) terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan metode uji Time Kill Assay?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Secara umum, penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi (10⁻² M dan 10⁻³ M) terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri Ag/TiO₂ (konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M) terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan menggunakan metode uji Kirby-bauer.

2. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri Ag/TiO₂ (konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M) terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan menggunakan metode uji *Time Kill Assay*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah memberikan pengetahuan dan informasi mengenai aktivitas antibakteri Ag/TiO₂ (konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M) terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan menggunakan metode uji *Kirby-bauer* dan uji *Time Kill Assay* yang selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai referensi dalam penelitian dan pengembangan *coating agent* (agen pelapis) peralatan medis untuk mengatasi penyebaran pneumonia akibat bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR di masa yang mendatang.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Penyebaran resistensi bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR melalui peralatan medis di rumah sakit.
2. Nanopartikel Ag/TiO₂ diduga mempunyai potensi sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai antibiotik untuk mengatasi resistensi *Klebsiella pneumoniae* MDR.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Klebsiella pneumoniae*

2.1.1 Definisi *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae adalah jenis bakteri yang dapat ditemukan pada berbagai tempat, termasuk mukosa manusia, saluran pernapasan, permukaan alat medis di seluruh rumah sakit, air yang terkontaminasi oleh limbah, dan tangan yang terkontaminasi oleh feses. Bakteri ini bertanggung jawab atas berbagai jenis infeksi, termasuk pneumonia, dan menjadi penyebab utama pneumonia nosokomial. Hal ini dapat mempengaruhi tingkat morbiditas dan mortalitas pada pasien dengan gangguan kekebalan tubuh dan pasien kritis (Choby *et al.*, 2020). *Klebsiella pneumoniae* termasuk dalam keluarga *Enterobacteriaceae* dan secara alami dapat ditemukan di dalam saluran pencernaan manusia (Rachmawati, dkk., 2020). Walaupun demikian, pada kondisi patologis tertentu, bakteri ini dapat menyebabkan beberapa penyakit infeksi yang serius. Beberapa contohnya adalah pneumonia, meningitis, infeksi pada pembuluh darah, saluran kemih, serta organ lain seperti paru-paru dan ginjal (Flores-Valdez *et al.*, 2021).

Klebsiella pneumoniae telah dilaporkan menjadi penyebab utama sejumlah penyakit infeksi, baik yang diperoleh pasien di komunitas tempat mereka tinggal (*Community Acquired Pneumonia/CAP*) maupun yang terjadi saat pasien dirawat di rumah sakit (*Nosocomial/Hospital-Acquired Pneumoniae/HAP*) (Fang *et al.*, 2021). Kasus infeksi *Klebsiella pneumoniae* pada kondisi CAP dapat menyebabkan terbentuknya abses hati yang spesifik, tanpa adanya gejala pada sistem hepatobilier.

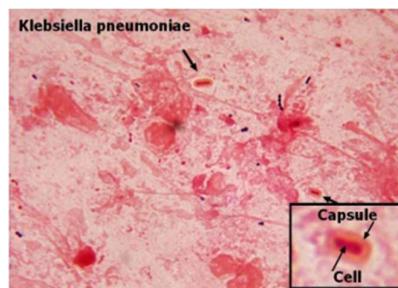
Hal ini dapat meningkatkan kejadian dan kematian akibat kasus ini di Asia (Abdul-kareem *et al.*, 2023). Beberapa faktor yang meningkatkan virulensi dari *Klebsiella pneumoniae* meliputi pembentukan antigen kapsul, jejaring produksi ekso polisakarida (EPS), lipopolisakarida, reseptor pengikat besi (siderophore) dan fimbriae (pili) (Zuraidah *et al.*, 2023). *Klebsiella pneumoniae* memiliki kapsul yang terdiri dari polisakarida kompleks dengan 77 jenis serologi yang memiliki struktur fibriler yang tebal dan dapat menutupi seluruh permukaan bakteri. EPS *Klebsiella pneumoniae* terdapat pada lapisan terluar kapsul dan memiliki sifat lengket (*mucoviscous*). Lapisan EPS berfungsi melindungi koloni *Klebsiella pneumoniae* dari sistem imun inang yang merusak. Lipopolisakarida pada *Klebsiella pneumoniae* mencegah respon imun dengan menghambat pengenalan komplemen C1q dan C3b pada membran sel bakteri. Fimbriae atau pili tipe 1 dan tipe 3 pada *Klebsiella pneumoniae* berperan dalam melekatkan bakteri pada permukaan sel inang. Pili tipe 1 digunakan untuk melekatkan bakteri pada berbagai jenis sel epitel, sedangkan pili tipe 3 membantu melekatkan *Klebsiella pneumoniae* pada permukaan abiotik (Martin and Bachman, 2018).

2.1.2 Morfologi *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae termasuk genus *Klebsiella* dalam famili *Enterobacteriaceae* adalah bakteri yang dapat ditemukan secara alami pada kulit, mulut, tanah, air, dan tanaman. Bakteri ini sering menjadi penyebab infeksi saluran pernapasan, infeksi saluran kemih, dan bahkan sepsis. *Klebsiella pneumoniae* juga dikenal sebagai patogen nosokomial yang sering ditemukan di rumah sakit (Dewi, dkk., 2019). *Klebsiella sp* adalah jenis bakteri gram negatif dengan morfologi

berupa batang pendek, mampu tumbuh dengan atau tanpa oksigen, tidak membentuk spora, tidak memiliki flagela untuk bergerak, memiliki selubung atau kapsul yang tebal, dan berukuran sekitar 0,5-1,5 μ . Meskipun tidak memiliki flagela, bakteri ini dapat memfermentasi karbohidrat untuk menghasilkan asam dan gas. *Klebsiella pneumoniae* sering menunjukkan pertumbuhan mukoid dan kapsul polisakarida yang besar. Umumnya bakteri ini dapat ditemukan di selaput lendir, mulut, dan usus orang sehat sebagai flora normal (Brooks *et al.*, 2008).

Genus ini memiliki karakteristik berbentuk batang (basil) pendek dengan ukuran sekitar 0,3-1,5 μm x 0,6-6,0 μm dan bersifat fakultatif anaerob, serta tidak membentuk spora sebagaimana yang tergambar pada Gambar 2.1. *Klebsiella pneumoniae* dapat tumbuh pada suhu 12-43°C dengan kondisi aerob, namun lebih optimal pada suhu 35-37°C dan tidak dapat tumbuh pada kondisi anaerob. Pertumbuhannya paling baik pada pH 7,2. Bakteri ini mampu menyebabkan berbagai jenis infeksi, seperti pada alveoli paru (pneumonia), saluran kemih, aliran darah, dan penyakit lainnya dengan gejala seperti demam, batuk, sesak napas, menggigil, berkeringat, dan nyeri dada akibat pleuritis (Utami, 2021).



Gambar 2. 1 Karakteristik Morfologi Bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Azura, 2022)

Beberapa jenis spesies dari genus *Klebsiella* meliputi *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, dan *Klebsiella rhinoscleromatis*. Namun,

infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *Klebsiella sp.* sebagian besar disebabkan oleh *Klebsiella pneumoniae* . Meskipun terdapat *Klebsiella oxytoca* yang diisolasi dari spesimen klinis manusia, namun persentasenya jauh lebih rendah dibandingkan dengan *Klebsiella pneumoniae* (Mardiyantoro, 2018).

2.1.3 Taksonomi *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae merupakan anggota dari genus *Klebsiella* yang memiliki ciri-ciri berupa bentuk batang yang pendek, bersifat fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (non-motil) (Bolla, dkk., 2021). Adapun taksonomi dari *Klebsiella pneumoniae* sebagai berikut.

Kingdom : Bacteriae

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Klebsiella*

Spesies : *Klebsiella sp*

(Kurniawan dan Sahli, 2019)

2.2 Pneumonia

2.2.1 Definisi Pneumonia

Pneumonia adalah infeksi saluran pernapasan akut yang merupakan penyebab utama kematian pada anak-anak di seluruh dunia, terutama di negara-negara berkembang. Penyakit ini sangat serius dan dapat menyebabkan kematian. Pneumonia paling berbahaya terjadi pada bayi dan anak-anak karena sistem kekebalan tubuh mereka yang belum sepenuhnya berkembang dengan baik. Begitu pula pada lansia karena fungsi sistem organ dan kekebalan tubuh yang sudah menurun. Gejala pneumonia yang biasa dialami adalah batuk dan kesulitan bernapas, seperti napas cepat dan tarikan dinding dada bagian bawah ke dalam (Josefa, dkk., 2019).

Infeksi bakteri pneumonia masih menjadi salah satu isu kesehatan serius di seluruh dunia yang dapat menyebabkan morbiditas dan mortalitas pada berbagai usia, terutama pada anak-anak (Assefa, 2022). Infeksi pneumonia adalah jenis infeksi saluran pernapasan yang khususnya menyerang parenkim (jaringan paru-paru). Infeksi ini dapat menyebabkan peradangan pada paru-paru dan alveoli, sehingga cairan dapat terkumpul dan membatasi asupan oksigen (Manuaba dan Pinatih, 2021).

2.2.2 Epidemiologi Pneumonia

Setiap tahun diperkirakan terdapat 120 juta kasus pneumonia di seluruh dunia, yang mengakibatkan sekitar 1,3 juta kematian. Di negara-negara berkembang, pneumonia menjadi penyebab hampir 80% kematian anak-anak di bawah usia 2 tahun. Sedangkan di negara maju, prognosis pneumonia lebih baik

dengan jumlah kematian yang lebih sedikit, meskipun jumlah kasus penyakit pneumonia cukup signifikan, yakni sekitar 2,5 juta kasus per tahun. Sekitar sepertiga hingga setengah dari kasus ini membutuhkan perawatan inap (Ebeledike dan Ahmad, 2022). Di Indonesia, prevalensi pneumonia pada balita mencapai 3,55%, dan merupakan salah satu penyebab utama kematian pada balita dengan angka kematian sebesar 0,12% (Kemenkes, 2020).

2.2.3 Etiologi Pneumonia

Etiologi pneumonia pada anak-anak dapat dikelompokkan berdasarkan usia spesifik atau patogen spesifik yang teridentifikasi. Berdasarkan yang telah dijelaskan dalam Tabel 2.1, bayi baru lahir rentan terhadap bakteri patogen yang dapat ditemukan di jalan lahir, seperti *Streptococcus* Grup B, *Klebsiella*, *Escherichia coli*, dan *Listeria monocytogenes*. Pada pneumonia neonatal onset lambat, dapat diidentifikasi adanya bakteri seperti *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Staphylococcus aureus*. Pada bayi yang lebih tua dan balita berusia antara 30 hari hingga 2 tahun, virus adalah penyebab utama pneumonia. Pada anak usia 2 sampai 5 tahun, virus pernapasan menjadi penyebab paling umum, meskipun kasus terkait *Streptococcus pneumoniae* dan *Haemophilus influenzae* tipe B dilaporkan meningkat. *Mycoplasma pneumoniae* sering terjadi pada anak-anak usia 5 hingga 13 tahun, tetapi *Streptococcus pneumoniae* masih menjadi organisme yang paling sering diidentifikasi (Ebeledike dan Ahmad, 2022). Pneumonia pada anak dapat disebabkan oleh bakteri, virus, dan jamur, termasuk Respiratory Syncytial virus (RSV), Rhinovirus, *Haemophilus influenzae*,

Parainfluenza, Human Metapneumovirus (hMPV), dan Adenovirus (Crame *et al.*, 2021).

Tabel 2. 1 Patogen umum penyebab Pneumonia

Usia	Bakteri	Virus
<20 hari	<i>E. coli</i> , <i>Group B Streptococcus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Herpes simplex virus</i> , <i>Cytomegalovirus</i>
3 minggu – 3 bulan	<i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>B. pertussis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Adenovirus</i> , <i>Respiratory Syncytial virus</i> , <i>Parainfluenza</i> , <i>Influenza</i>
4 bulan – 5 tahun	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Adenovirus</i> , <i>Rhinovirus</i> , <i>Influenza</i> , <i>Parainfluenza</i> , <i>Varicella zoster</i> , <i>Respiratory Syncytial virus</i>
>5 tahun	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Tuberculosis</i>	<i>Adenovirus</i> , <i>Epstein Barr virus</i> , <i>Influenza</i> , <i>Rhinovirus</i>

(Crame *et al.*, 2021)

Tabel 2. 2 Klasifikasi Pneumonia berdasarkan etiologinya

Grup	Penyebab	Tipe Pneumonia
Bakteri	<i>Streptokokus pneumonia</i> <i>Streptokokus piogenesis</i> <i>Stafilokokus aureus</i> <i>Klebsiela pneumonia</i> <i>Eserikia koli</i> <i>Yersinia pestis</i> <i>Legionnaires bacillus</i>	<i>Pneumoni bakterial</i> <i>Legionnaires disease</i>
Aktimonisetes	<i>Aktinomisetes israeli</i> <i>Nokardia asteroides</i>	<i>Aktinomisetes pulmonal</i> <i>Nokardia pulmonal</i>
Fungi	<i>Kokidioides imitis</i> <i>Histoplasma kapsulatum</i> <i>Blastomises dermatitidis</i> <i>Aspergillus</i> <i>Fikomisetes</i>	<i>Kokidioidomikosis</i> <i>Histoplasmosis</i> <i>Blastomikosis</i> <i>Aspergilosis</i> <i>Mukormikosis</i>
Riketsia	<i>Koksiela burneti</i>	<i>Q fever</i>
Klamidia	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Clamydial pneumonia</i>
Mikoplasma	<i>Mikloplasma pneumonia</i>	<i>Pneumonia mikrosplasma</i>
Virus	<i>Influenza virus</i> , <i>adeno virus</i> <i>respiratory syncytial</i>	<i>Pneumonia virus</i>
Protozoa	<i>Pneumositis karini</i>	<i>Pneumonia pneumosistis</i> (<i>pneumonia plasma sel</i>)

(Alsagaff dan Mukty, 2008)

Tabel 2. 3 Etiologi umum Pneumonia komuniti dan nosokomial

Lokasi Sumber	Penyebab
Komuniti	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Legionella pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> Influenza tipe A, B, C Adenovirus
Nosokomial	<i>Staphylococcus aureus</i> Basilus gram negatif (<i>Escherichia coli</i>) <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(Syamsudin dan Keban, 2013)

2.2.4 Klasifikasi Pneumonia

Menurut Lim (2022), ada berbagai cara untuk mengklasifikasikan pneumonia. WHO (2014) mendefinisikan pneumonia berat sebagai kondisi di mana seseorang mengalami batuk atau kesulitan bernapas. Pasien akan didiagnosis mengidap penyakit pneumonia jika mengalami setidaknya salah satu gejala dari tiga gejala berikut, yaitu (1) Saturasi oksigen kurang dari 90% saat diukur menggunakan oksimetri nadi atau mengalami sianosis sentral, (2) Terjadi gangguan pernapasan yang berat seperti grunting atau tarikan dada yang sangat kuat, atau (3) Terdapat tanda-tanda bahaya umum seperti ketidakmampuan untuk menyusui atau minum susu ASI, lesu atau tidak sadar, serta kejang.

Berdasarkan ATS (*American Thoracic Society*) pneumonia dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Pangesti, 2020).

2.2.4.1 *Community Acquired Pneumonia (CAP)*

Community Acquired Pneumonia (CAP) merupakan suatu kondisi seseorang yang terkena pneumonia saat berada di masyarakat. Menurut definisi dari *Infectious Diseases Society of America (IDSA)*, CAP adalah sebuah infeksi akut pada jaringan paru-paru yang ditandai dengan munculnya infiltrat baru pada gambar rontgen dada atau terdapat perubahan suara napas dan/atau adanya ronki basah lokal saat

pemeriksaan fisik paru-paru yang menunjukkan tanda-tanda pneumonia pada pasien yang tidak sedang dirawat di rumah sakit atau di tempat perawatan lain dalam kurun waktu 14 hari sebelum timbulnya gejala.

2.2.4.2 Hospital Acquired Pneumonia (HAP)

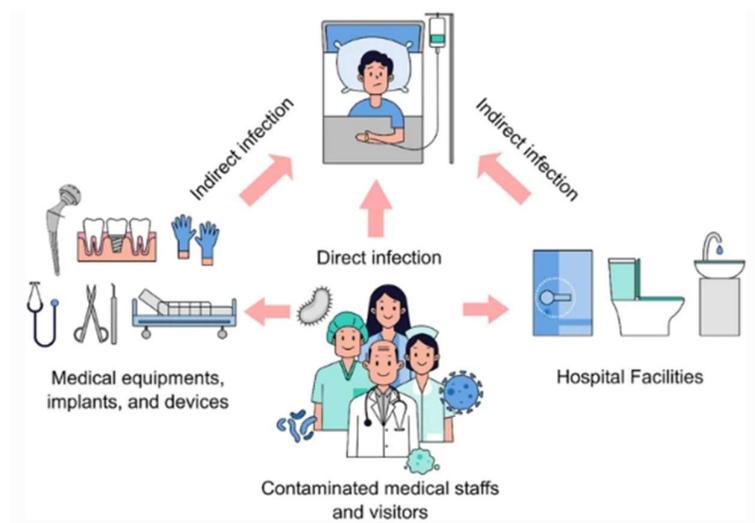
Hospital Acquired Pneumonia (HAP) adalah pneumonia yang terjadi setelah 48 jam atau lebih sejak pasien masuk rumah sakit dan bukan karena infeksi yang sudah ada saat masuk rumah sakit. HAP merupakan penyebab kedua yang paling umum dari infeksi di antara pasien di rumah sakit dan merupakan penyebab utama kematian akibat infeksi, dengan tingkat kematian sekitar 30-70%. Sekitar 27-50% kematian akibat infeksi disebabkan oleh pneumonia. Beberapa jenis mikroba yang paling sering berperan dalam infeksi pneumonia HAP adalah *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Pseudomonas aeruginosa*, serta bakteri gram negatif batang yang memproduksi atau tidak memproduksi ESBL, seperti *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella pneumoniae*.

Rumah sakit merupakan tempat terbanyak adanya pertumbuhan bakteri dengan berbagai variasi macam bakteri. Hal tersebut yang menjadikan rumah sakit sebagai tempat yang memiliki resiko penularan yang lebih tinggi dibandingkan dengan tempat lainnya. Menurut Centeleghe (2023), rumah sakit dapat menjadi sumber penularan nosokomial bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Penularan ini dapat terjadi baik melalui kontak langsung dengan penderita pneumonia maupun melalui permukaan peralatan medis yang terkontaminasi. Dalam konteks ini, peran tenaga medis sangat signifikan dalam penyebaran bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Proses ini biasa dinamakan dengan HCAP (*Health Care Associated Pneumoniae*) yang

artinya kondisi dimana infeksi terjadi akibat tenaga kesehatan (Rai dan Artana, 2016). Proses penularan bakteri *Klebsiella pneumoniae* terutama terjadi selama penggunaan peralatan medis invasif seperti ventilator dan kateter yang dimasukkan ke dalam tubuh pasien. Penularan juga dapat terjadi melalui udara atau kontak langsung dengan tenaga medis yang sebelumnya merawat pasien pneumonia dan kemudian merawat pasien lainnya. Selain itu, rumah sakit seringkali menjadi tempat dimana mikroorganisme dengan berbagai ragam jenis berkumpul. Oleh karena itu, ada kemungkinan besar alat medis yang akan digunakan terhadap pasien akan terkontaminasi oleh bakteri dari lingkungan luar. Ketika alat medis tersebut dimasukkan ke dalam tubuh pasien, maka menjadi peluang bagi bakteri *Klebsiella pneumoniae* untuk masuk ke dalam tubuh pasien tersebut. Terutama dalam situasi dimana alat medis seperti ventilator dan kateter digunakan dalam jangka waktu yang lebih lama, misalnya satu hingga dua minggu yang disertai dengan penggunaan antibiotik yang kurang tepat akan menjadi peluang *Klebsiella pneumoniae* untuk bertransformasi. Dalam konteks ini, sangat dibutuhkan tindakan pencegahan yang ketat, seperti praktik kebersihan yang baik dan sterilisasi peralatan medis. Hal ini menjadi sangat penting untuk mengurangi risiko penularan bakteri ini di rumah sakit (Konoralma, 2019).

Health Care Associated Pneumonia (HCAP) merupakan kondisi tersendiri, terpisah baik dari CAP dan pneumonia nosokomial (VAP dan HAP). Walaupun pasien HCAP datang dari komunitas, tetapi epidemiologi dan bakteriologi HCAP jauh berbeda dari karakteristik komunitas. Angka mortalitas HCAP hampir sama dengan mortalitas *Hospital Acquired Pneumonia/HAP* (19,8% vs 18,8%), jauh

lebih tinggi dari mortalitas *Community Acquired Pneumonia*/CAP (10%; $p < 0,0001$), serta lebih rendah dari mortalitas *Ventilator Associated Pneumonia*/VAP (29,3%, $p < 0,0001$) (Rai dan Artana, 2016).



Gambar 2. 2 Ilustrasi Skema Jalur Penularan Infeksi yang Didapat di Rumah Sakit (Puspasari *et al.*, 2022)

Health Care Associated Pneumonia (HCAP) disebabkan oleh berbagai spektrum patogen yang kemungkinan polimikrobia. Patogen yang umum ditemukan pada kasus HCAP serupa dengan yang ditemukan pada kasus HAP atau VAP. Patogen-patogen penyebab utamanya adalah kuman basil gram negatif aerob (*P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Acinetobacter species*) (Rai dan Artana, 2016).

2.2.4.3 Ventilator Associated Pneumonia (VAP)

Ventilator Associated Pneumonia (VAP) terjadi ketika seseorang mengalami pneumonia lebih dari 48 jam setelah pemasangan intubasi endotrakeal. Kondisi ini terjadi akibat masuknya mikroorganisme ke saluran pernapasan bagian bawah, yang bisa terjadi melalui aspirasi sekret orofaring yang berasal dari bakteri endemik

di saluran pencernaan atau patogen eksogen yang didapat dari peralatan yang terkontaminasi atau dari petugas kesehatan.

Tabel 2. 4 Klasifikasi Pneumonia

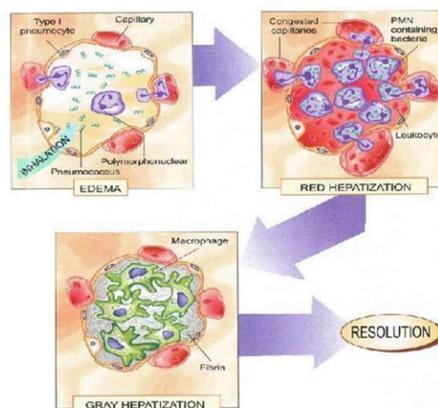
Klasifikasi	Deskripsi
A. Lokasi	
1. <i>Community-acquired Pneumonia</i>	Infeksi yang didapat dari komunitas
2. <i>Hospital-acquired Pneumonia</i>	Infeksi yang didapat setelah berada di rumah sakit selama >48 jam atau pada seseorang yang baru keluar rumah sakit (minimal 7 hari)
3. <i>Ventilator-acquired Pneumonia</i>	Infeksi yang didapat dari ICU atau telah menggunakan mesin ventilator selama >48 jam
B. Status Imun	
1. <i>Immunocompetent</i>	Tidak ada disfungsi imun
2. <i>Immunocompromised</i>	Terdapat disfungsi imun
C. Mikroba	Berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologis
1. Virus	
2. Bakteri	
3. Jamur	
4. <i>Mycobacterial</i>	
5. Parasit	

(Lim, 2022)

2.2.5 Patogenesis dan Patofisiologi Pneumonia

Dalam sebuah penelitian patologis, dilaporkan bahwa terdapat empat fase patologis dari pneumonia sebagaimana yang dijelaskan pada Gambar 2.2 (Crame *et al.*, 2021). Tahap pertama, *Congestion* yaitu terjadi selama 24 jam pertama setelah terinfeksi dan ditandai dengan adanya edema alveolus dan kongesti vaskular. Pada tahap ini kapiler-kapiler melebar dan terjadi penumpukan cairan kongesti di dalam alveolus dan eksudat yang terdapat di dalam alveolus berupa cairan jernih. Tahap kedua, *Red Hepatisation* yang terjadi pada hari ke 2-4 dan ditandai dengan pembengkakan akibat reaksi jaringan yang memfasilitasi pertumbuhan dan penyebaran kuman ke jaringan sekitarnya. Bagian paru yang terkena mengalami konsolidasi, di mana terjadi penumpukan sel darah putih jenis polimorfonuklear

(PMN), fibrin, eritrosit, cairan edema, dan terdapat kuman di dalam alveoli sehingga membuatnya padat. Pada tahap ketiga, *Grey Hepatisation* yang terjadi pada hari ke 5-7 disertai paru-paru tampak berwarna coklat tua karena adanya akumulasi hemosiderin dan hemolisis sel darah merah dalam eksudat. Pada tahap ini terjadi peningkatan deposisi fibrin, terdapat fibrin dan leukosit PMN di dalam alveoli, dan proses fagositosis berlangsung dengan cepat. Tahap keempat, *Resolution* terjadi dari hari ke 8 hingga 3 minggu ketika eksudat dipecah oleh enzim, dicerna oleh makrofag, atau dibatukkan sebagai sputum. Jika penyembuhan tidak ideal, dapat menyebabkan efusi parapneumonik dan adhesi pleura. Pada bronkopneumonia, terjadi konsolidasi patch pada satu atau lebih lobus, dan infiltrat neutrofilik terutama terjadi di sekitar pusat bronkus (Ebeledike and Ahmad, 2022). pada tahap atau stadium ini, jumlah makrofag di dalam alveoli meningkat, sel-sel akan mengalami degenerasi, deposisi fibrin berkurang, dan kuman serta sisa-sisa yang ada menghilang. Sistem bronkopulmoner pada jaringan paru yang tidak terkena tetap dalam kondisi normal (Rahajoe, 2018).



Gambar 2.3 Patogenesis Pneumonia (Damayanti dan Ryusuke, 2017)

2.2.6 Manifestasi Klinis Pneumonia

Menurut Lim (2022), tanda dan gejala pneumonia dapat dibagi menjadi dua kategori. Kategori pertama adalah gejala pernapasan, termasuk batuk (~75%), dispnea (~65%), produksi sputum (~30%), dan nyeri dada (~30%). Kategori kedua adalah gejala sistemik, seperti demam, kekakuan, mialgia, dan kebingungan. Kebingungan cenderung lebih sering terjadi pada pasien yang lebih tua atau yang menderita pneumonia dengan tingkat keparahan yang lebih tinggi.

Sementara itu, menurut Crame *et al.* (2021), gejala pneumonia bervariasi tergantung pada usia pasien. Beberapa gejala yang ditemukan di semua kelompok umur termasuk demam, batuk, rinore, dispnea, malaise, dan kelesuan. Pada bayi, gejala pneumonia meliputi berkurangnya makan, napas mendengkur, dan apnea. Sedangkan pada anak yang lebih besar, gejala pneumonia meliputi sesak napas, nyeri dada pleuritik, nyeri perut, dan sakit kepala.

2.2.7 Faktor penyebab

Beberapa faktor yang meningkatkan risiko terjadinya pneumonia dan juga keparahannya telah dipaparkan pada Tabel 2.5 antara lain adalah masa bayi, kurangnya imunisasi, kondisi malnutrisi, penyakit kronis yang mendasari, infeksi HIV, paparan HIV pada bayi yang masih sangat muda, usia ibu yang masih muda, pendidikan ibu yang rendah, status sosial ekonomi yang rendah, dan juga paparan asap atau polusi udara dalam ruangan (Marangu and Zar, 2019).

Beberapa faktor lainnya yang dapat menyebabkan pneumonia adalah faktor usia, jenis kelamin, berat badan lahir, riwayat imunisasi, pekerjaan orang tua

khususnya ibu pada balita, kebiasaan anggota keluarga dengan gaya hidup yang kurang sehat seperti merokok (Rigustia, dkk., 2019).

Tabel 2. 5 Faktor risiko berdasarkan karakteristik

A. Karakteristik Host	B. Karakteristik Sosio-Ekonomi dan Lingkungan
Bayi	Usia Pernikahan Dini
Kurangnya Imunisasi	Kurangnya Edukasi
Kurangnya ASI Eksklusif	Rendahnya Status Ekonomi
Malnutrisi Parah	Buruknya <i>Antenatal Care</i>
Penyakit Kronis	Paparan Asap Rokok
Paparan HIV pada Bayi	Polusi dalam Ruangan
Infeksi HIV	Kepadatan
BBLR/Prematur	

(Marangu and Zar, 2019)

Selain hal tersebut, Lim (2022) menjelaskan adanya faktor-faktor risiko lain yang dapat meningkatkan kemungkinan seseorang didiagnosis pneumonia yang dijabarkan pada pada Tabel 2.6

Tabel 2. 6 Faktor risiko Pneumonia

Faktor Risiko	Kondisi
Usia	>65 tahun
Kondisi komorbid	PPOK, kanker, diabetes, hepatitis kronis, gangguan ginjal
Penyakit <i>immunosuppressive</i>	HIV, transplantasi organ solid, agen <i>immunosuppressive</i>
Faktor yang meningkatkan risiko terhirup	Penempatan <i>endotracheal tube</i> , <i>stroke</i> , penyakit neurologis
Gaya hidup	Merokok, minum alcohol, malnutrisi
Obat-obatan	<i>Proton-pump inhibitors</i> , obat antipsikotik, kortikosteroid hirup

(Lim, 2022)

Faktor risiko bakteri MDR penyebab HAP menurut ATS/IDSA (2004) sebagai berikut:

- Pemakaian antibiotik pada 90 hari terakhir
- Dirawat di rumah sakit ≥ 5 hari

- Tingginya frekuensi resisten antibiotik di masyarakat atau di rumah sakit tersebut
- Penyakit immunosupresi dan atau pemeberian imunoterapi

2.2.8 Diagnosis Pneumonia

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

1. Pneumonia dianggap nosokomial jika terjadi 48 jam setelah masuk rumah sakit.
2. Diagnosis pneumonia nosokomial memerlukan:
 - Pemeriksaan foto toraks yang menunjukkan infiltrat baru atau progresif
 - Memenuhi setidaknya 2 dari kriteria berikut: suhu tubuh $> 38^{\circ}\text{C}$, sekret purulen, leukositosis.

Kriteria untuk pneumonia nosokomial yang berat, menurut ATS, melibatkan:

1. Perawatan di ruang rawat intensif.
2. Kondisi gagal napas yang memerlukan alat bantu napas atau kebutuhan oksigen $> 35\%$ untuk menjaga saturasi oksigen $> 90\%$.
3. Perubahan radiologis yang progresif, seperti pneumonia multilobar atau kavitas dari infiltrat paru.
4. Adanya bukti sepsis berat dengan tanda-tanda seperti hipotensi, dan/atau disfungsi organ, seperti syok (tekanan sistolik < 90 mmHg atau diastolik < 60 mmHg), kebutuhan vasopresor selama lebih dari 4 jam, jumlah urin < 20 ml/jam atau total jumlah urin < 80 ml/4 jam, dan gagal ginjal akut yang membutuhkan dialisis.

Pemeriksaan yang perlu dilakukan mencakup:

1. Pewarnaan gram dan Kultur Dahak: Melibatkan pewarnaan gram dan kultur dahak yang dihasilkan dari batuk, induksi sputum, atau aspirasi sekret dari selang endotrakeal atau trakeostomi. Dilakukan pemeriksaan biakan kuman secara semikuantitatif atau kuantitatif. Hasil dianggap bermakna jika ditemukan $\geq 10^6$ *colony-forming units/ml* dari sputum, $\geq 10^5 - 10^6$ *colony-forming units/ml* dari aspirasi endotracheal tube, $\geq 10^4 - 10^5$ *colony-forming units/ml* dari bronchoalveolar lavage (BAL), dan $\geq 10^3$ *colony-forming units/ml* dari sikatan bronkus.
2. Kriteria dahak untuk Pemeriksaan Apusan Langsung dan Biakan: Termasuk kriteria seperti jumlah sel PMN > 25 / lapangan pandang kecil (lpk) dan sel epitel < 10 / lpk.
3. Analisis Gas Darah: Digunakan untuk membantu menentukan tingkat keparahan penyakit.
4. Pemeriksaan Invasif Jika Kondisi Memburuk atau Tidak Ada Respons Terhadap Pengobatan: Melibatkan tindakan bronkoskopi dengan cara bilasan, sikatan bronkus dengan kateter ganda terlindung, bronchoalveolar lavage (BAL), atau aspirasi transtorakal. Tindakan ini perlu dilakukan jika kondisi pasien memburuk atau tidak ada respons terhadap pengobatan.

2.2.9 Penatalaksanaan Pneumonia

Terapi antibiotik merupakan pengobatan terhadap infeksi bakteri yang menjadi penyebab pneumonia, seperti bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Antibiotik bekerja dengan menghentikan pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri yang menyebabkan infeksi (Li *et al.*, 2022). Efektivitas antibiotik dalam melawan infeksi

hanya terbatas pada bakteri, bukan virus. Ini dikarenakan antibiotik bekerja dengan cara membunuh atau menghentikan perkembangan bakteri. Antibiotik tidak memiliki efek terhadap virus karena virus memiliki mekanisme yang berbeda dalam reproduksinya dan tidak memiliki struktur sel seperti bakteri (Hamid, dkk., 2020). Beberapa nama antibiotik pneumonia berdasarkan bakteri penyebabnya dijelaskan pada Tabel 2.7.

Tabel 2. 7 Antibiotik Awal Secara Empirik untuk HAP pada Pasien Tanpa Faktor Risiko Patogen MDR, Onset Dini dan Semua Derajat Penyakit

Patogen potensial	Antibiotik yang direkomendasikan
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Betalaktam + antibetalaktamase (Amoksilin klavulanat) Atau
<i>Haemophilus influenzae</i>	
Metisilin-sensitif <i>Staphylococcus aureus</i>	Sefalosporin G3 nonpseudomonal (Seftriakson, sefotaksim) Atau Kuinolon respirasi (Levoflaksasin, Moksiflaksasin)
Antibiotik sensitive basil gram negative enterik - <i>Escherichia coli</i> - <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterpbacter spp</i> - <i>Proteus spp</i> <i>Serratina marcescens</i>	

(ATS/IDSA, 2004)

Tabel 2. 8 Terapi Antibiotik Awal Secara Empirik untuk HAP pada Semua Derajat Penyakit pada Pasien dengan Onset Lajut atau Terdapat Faktor Risiko Patogen MDR

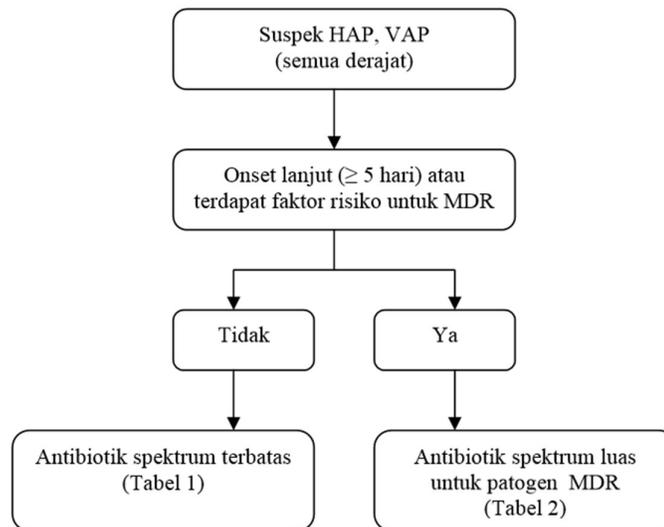
Patogen potensial	Terapi antibiotik kombinasi
Patogen MDR tanpa atau dengan pathogen pada tabel 2.7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ESBL) <i>Acinetobacter sp</i>	Sefalosporin antipseudomonal (Safepim, seftasidim, sefpirom) atau Karbapenem antipseudomonal (Meropenem, imipenem) atau β -laktam / penghambat β lactamase (Piperasilin-tasobaktam)
<i>Methicillin resisten</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	ditambah Flurokuinolon antipseudomonal (Siprofloksasin atau levoflaksasin) atau Aminoglikosida (Amikasin, gentamisin atau tobramisin) ditambah Linesolid atau vankonisin atau teikoplanin

(ATS/IDSA, 2004)

Tabel 2. 9 Dosis Antibiotik Intravena Awal Secara Empirik untuk HAP pada Pasien dengan Onset Lanjut atau Terdapat Faktor Risiko Patogen MDR

Antibiotik	Dosis
Sefalosporin antipseudomonal	
Safepim	1-2 gr setiap 8-12 jam
Seftasidim	2 gr setiap 8 jam
Sefpirom	1 gr setiap 8 jam
Karbapenem	
Meropenem	1 gr setiap 8 jam
Imipenem	500 mg setiap 6 jam/1 gr setiap 8 jam
β-laktam / penghambat β laktamase	
Piperasilin-tasobaktam	4,5 gr setiap 6 jam
Aminoglikosida	
Gentamisin	7 mg/kg BB/hr
Tobramisin	7 mg/kg BB/hr
Amikasin	20 mg/kg BB/hr
Kuinolon antipseudomonal	
Levofloksasin	750 mg setiap hari
Siprofloksasin	400 mg setiap 8 jam
Vankomisin	15 mg/kg BB/12 jam
Linesolid	600 mg setiap 12 jam
Teikoplanin	400 mg/hari

(ATS/IDSA, 2004)



Gambar 2. 4 Skema terapi empirik untuk HAP (PDPI, 2003)

Menurut Salukanan (2018) dalam penelitiannya dijelaskan bahwa antibiotik meropenem menjadi pengobatan antibiotik yang paling sensitif terhadap bakteri

Klebsiella pneumoniae . Dalam penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa antibiotik meropenem lebih sensitif terhadap *Klebsiella pneumoniae* (49%) dibanding dengan *Pseudomonas aeruginosa* (32%) dan *Acinetobacter baumannii* (19%).

2.3 Antibiotik

2.3.1 Definisi Antibiotik

Antibiotik adalah senyawa kimia yang diproduksi oleh mikroorganisme dan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain. Peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik disebabkan oleh kurangnya informasi yang akurat yang mengakibatkan banyaknya konsumsi antibiotik yang tidak tepat (Pratiwi, dkk., 2020).

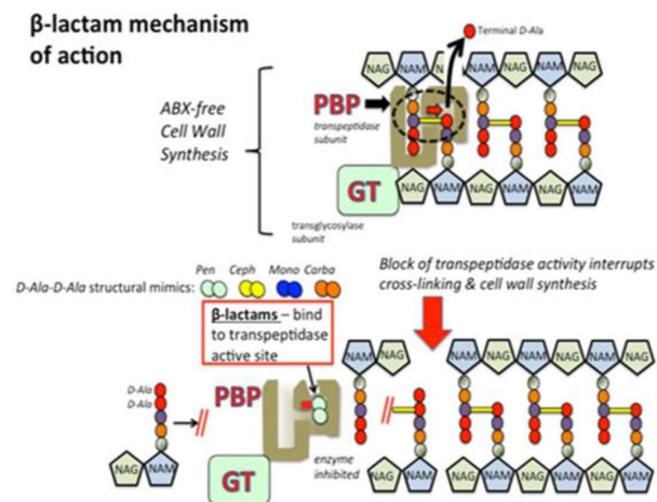
Antibiotik adalah obat-obatan yang terdiri dari senyawa atau zat kimia yang diproduksi oleh bakteri. Tujuan utama antibiotik adalah untuk menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme patogen yang menyebabkan penyakit infeksi, namun dengan tingkat toksisitas yang rendah. Antibiotik merupakan salah satu jenis obat yang banyak digunakan oleh masyarakat karena ketersediaannya yang mudah, bahkan tanpa memerlukan resep dokter. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan tanpa pengawasan medis ini dapat menimbulkan permasalahan baru seperti resistensi antibiotik (Saragih, dkk., 2022).

2.3.2 Mekanisme Kerja Antibiotik

Antibiotik bekerja melawan berbagai jenis bakteri melalui berbagai mekanisme. Ini termasuk antibiotik yang dapat merusak dinding sel bakteri, menghentikan produksi protein, dan antibiotik yang menargetkan DNA atau

replikasi DNA. Dinding sel bakteri terdiri dari polimer-polimer yang mengandung rantai peptida yang berjalan sepanjang gula dan membentuk ikatan silang yang kuat. Rantai peptida ini memainkan peran penting dalam meningkatkan kekuatan dinding sel bakteri. β -laktam, glikopeptida, daptomycin, dan colistin adalah beberapa jenis antibiotik yang dapat mempengaruhi dinding sel bakteri (Anggita et al., 2022).

Mekanisme kerja antibiotik beta laktam diketahui sebagai penghambat *Penicilin Binding Protein* (PBP) yang biasanya terlibat dalam pembentukan lapisan peptidoglikan yang melapisi sebagian besar bakteri. Cincin beta laktam pada antibiotik ini menyerupai bagian D-alanil D-alanin yang biasanya diikat oleh PBP dalam rantai samping peptida. Akibatnya, antibiotik beta laktam berinteraksi dengan PBP mengganggu sintesis peptidoglikan baru. Gangguan pada lapisan peptidoglikan tersebut menyebabkan lisis bakteri, sehingga antibiotik ini menjadi pengobatan yang paling efektif untuk infeksi bakteri (Anggita, dkk., 2022).



Gambar 2.5 Mekanisme Kerja β -laktam (Zango et al., 2019)

2.4 Resistensi Antibiotik

2.4.1 Definisi resistensi Antibiotik

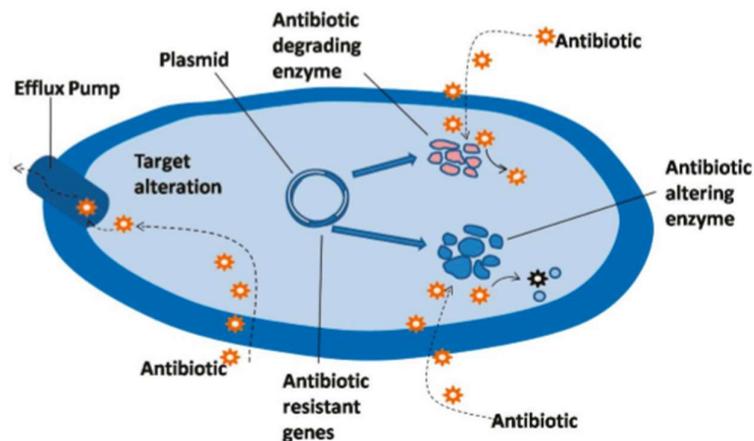
Menurut Kemenkes RI (2011) Resistensi dapat diartikan sebagai kemampuan bakteri dalam menetralkan dan melemahkan daya kerja antibiotik. Resistensi menjadi suatu masalah kesehatan yang sangat besar yang harus dikelola seluruh dunia karena menyebabkan peningkatan angka kematian (WHO, 2015). Menurut WHO (2015) angka kematian akibat resistensi antimikroba sampai tahun 2014 sekitar 700.000 orang per tahun. Dengan cepatnya perkembangan dan penyebaran infeksi akibat mikroorganisme resisten, pada tahun 2050 diperkirakan kematian akibat resistensi antimikroba lebih besar dibanding kematian akibat kanker. Hal ini mengakibatkan pengobatan menjadi tidak efektif, peningkatan morbiditas maupun mortalitas pasien, dan peningkatan biaya kesehatan (Hamid, dkk., 2020).

Resistensi terhadap antibiotik terjadi karena penggunaan yang tidak tepat, dan beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya resistensi antara lain penggunaan antibiotik dengan durasi yang terlalu pendek, dosis yang tidak mencukupi, kesalahan dalam diagnosis, penggunaan antibiotik yang tidak sesuai indikasi, dan penggunaan antibiotik tanpa resep (Ompusunggu, 2020).

2.4.2 Mekanisme Resistensi Antibiotik

Beberapa mikroorganisme patogen mengembangkan resistensi terhadap antibiotik β -laktam dengan mengubah antibiotik secara molekuler atau melepaskan enzim seperti transferase yang mempengaruhi struktur kimia antibiotik. Dalam kelompok antibiotik β -laktam, resistensi terjadi melalui hidrolisis ikatan amida yang membuat antibiotik menjadi tidak efektif akibat produksi enzim β -laktamase

(Varela *et al.*, 2021). Pada bakteri gram Negatif, kelompok antibiotik aminoglikosida kehilangan efektivitasnya karena modifikasi molekuler melalui fosforilasi, adenilasi, dan asetilasi (Motaweq, 2022). Selain itu, bakteri juga dapat mengembangkan resistensi dengan memodifikasi target mereka untuk mengubah cara kerja antibiotik yang sebelumnya efektif. Salah satu mekanisme resistensi adalah melalui pompa efleksi (*efflux pump*) yang diatur oleh gen-gen tertentu yang mengenali dan mengeluarkan agen antibakteri serta senyawa struktural yang tidak berhubungan secara rendah sehingga menghasilkan konsentrasi antibiotik yang tidak efektif atau minim terhadap pertumbuhan bakteri (Ilori, 2023).



Gambar 2. 6 Cara bakteri melawan kerja antibiotik (Chandra et al., 2017)

Berdasarkan Gambar 2.3, mekanisme resistensi dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yaitu: 1) mekanisme yang melibatkan plasmid, seperti efleksi aktif, enzim inaktivator yang dihasilkan oleh bakteri dan pengaturan gen pada kromosom; dan 2) mekanisme yang melibatkan kromosom, termasuk perubahan target antibiotik, peningkatan sintesis metabolit antagonis, serta pengembangan jalur mekanisme yang sebelumnya dihambat oleh antibiotik (Juniah dan Arianti, 2023).

2.5 Nanopartikel Ag/TiO₂

2.5.1 Definisi Nanopartikel

Nanopartikel merupakan partikel koloid padat dengan diameter 1-1000 nm (Kumowal, dkk., 2019). Dengan ukurannya yang sangat kecil, memiliki beberapa keunggulan menembus ruang-ruang antarsel yang dapat ditembus oleh partikel koloidal. Selain itu, dengan ukurannya yang kecil tersebut nanopartikel memiliki nilai perbandingan antara luas permukaan dan volume yang lebih besar jika dibandingkan dengan partikel sejenis dalam ukuran besar. Hal ini yang membuat nanopartikel menjadi lebih reaktif (Abdassah, M., 2017).

2.5.2 Penggunaan Nanopartikel Ag/TiO₂

Nanopartikel perak (Ag) telah berhasil digunakan dalam berbagai produk, termasuk tekstil, pelapis perangkat medis, dan diimpregnasikan ke kain tekstil (Bungan dkk., 2021). Bukan hanya itu, banyak penelitian telah mencatat keefektifan nanopartikel perak (Ag) sebagai agen antibakteri spektrum luas. Efektivitas antibakteri nanopartikel Ag dimediasi oleh reaksi fotokatalitik yang menghasilkan Spesies Oksigen Reaktif (ROS), seperti oksigen dan radikal hidroksil ($\bullet\text{O}_2^-$ dan $\bullet\text{OH}$). Kedua radikal ini diketahui memiliki potensi pengoksidasi kuat yang dapat merusak material organik, termasuk merusak membran sel bakteri patogen (Wafi *et al.*, 2020).

Partikel perak/silver (Ag) banyak digunakan untuk pencegahan infeksi telah diterapkan di berbagai bidang masyarakat. Partikel ini dapat menjadi alternatif untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik. Seiring dengan itu, penelitian yang dilakukan untuk mengeksplorasi karakteristik antimikroba dari partikel Ag masih

berlangsung untuk memperluas manfaatnya (Sim *et al.*, 2018). Ag merupakan logam transisi yang memiliki sifat antimikroba. Bentuk aktif Ag dalam hal ini adalah ion Ag^+ . Selain berbentuk ion, partikel Ag juga dapat berinteraksi dengan molekul organik lain seperti oksigen dan hidrogen, sehingga menghasilkan radikal aktif. Hal ini menjadikan partikel Ag sebagai agen antimikroba yang memiliki potensi untuk digunakan dalam berbagai aplikasi (Singh *et al.*, 2022).

Selain Ag, timah oksida (TiO_2) sering digunakan dalam beberapa proses industri. Karena stabilitas kimianya yang baik, biaya rendah, dan aktivitas foto atau cahaya yang sangat efektif, TiO_2 sering digunakan dalam industri (Bungan dkk., 2021). Titanium dioksida (TiO_2) dahulu digunakan sebagai bahan pembuatan produk *sunscreen*, cat, pasta gigi, dan sejenisnya. Namun, pada tahun 1990-an, penemuan baru menunjukkan bahwa TiO_2 memiliki sifat sebagai fotokatalis. Hal ini mendorong banyak penelitian untuk mengeksplorasi karakteristik fisikokimia yang baru dari TiO_2 ketika partikelnya diperkecil menjadi ukuran nanometer (Khanh *et al.*, 2021). Nanopartikel TiO_2 merupakan partikel dalam skala nanometer berbentuk serbuk yang memiliki sifat kimia stabil, non-toksik, serta terjangkau secara ekonomi. Titanium dioksida termasuk ke dalam kategori GRAS atau *Generally Recognized as Safe*. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa nanopartikel TiO_2 memiliki aktivitas antimikroba yang baik dan besifat spektrum luas, baik sebagai antifungi maupun antibakteri (López de Dicastillo *et al.*, 2021). Hal tersebut menjadikan alasan para ilmuwan untuk terus melakukan modifikasi dan pengembangan terhadap senyawa TiO_2 .

Kemampuan nanopartikel TiO_2 dan Ag dalam meningkatkan sifat mekanik serta efektivitas antibakterinya terhadap bakteri Gram-positif atau Gram-negatif dan pertumbuhan sel telah menarik perhatian banyak pihak, terutama di bidang industri farmasi (Aritonang *et al.*, 2020). Jika dilihat lebih lanjut, partikel Ag dan TiO_2 keduanya memiliki aktivitas antibakteri. Namun sejauh ini belum terdapat tinjauan terhadap aktivitas antibakteri material nanopartikel Ag/ TiO_2 terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

2.5.3 Sintesis Nanopartikel Ag/ TiO_2

Nanopartikel Ag/ TiO_2 dapat dihasilkan melalui metode doping dengan menggunakan 1 mol % TiO_2 yang telah didoping Ag. Proses ini dimulai dengan menambahkan larutan AgNO_3 dalam air ke dalam larutan TiCl_3 , HNO_3 , dan EDTA dengan volume yang diinginkan. Campuran reaksi kemudian dikurangi volumenya menjadi sekitar 50 mL melalui penguapan pada pelat pemanas. Selanjutnya, larutan tri-natrium sitrat ditambahkan untuk mengurangi Ag⁺ menjadi Ag dengan pengadukan konstan. Campuran ini kemudian diuapkan hingga kering. Serbuk prekursor yang dihasilkan selanjutnya mengalami proses kalsinasi pada suhu 450°C selama 4 jam.

Setelah proses kalsinasi, bubuk yang dihasilkan dicuci minimal lima kali dengan air suling untuk menghilangkan ion Na^+ dan produk samping lainnya yang mungkin terbentuk selama reaksi. Setelah proses pencucian, serbuk dikeringkan dalam oven pada suhu 125°C selama 24 jam untuk mendapatkan nanopowder TiO_2 yang telah didoping Ag. Hasil akhir dari proses ini adalah nanopartikel Ag/ TiO_2 dengan kandungan 1 mol% TiO_2 yang telah didoping Ag (Ridha *et al.*, 2021).

2.5.4 *Safety* Nanopartikel Perak (Ag)

2.5.4.1 Studi Toksikologi *In vitro* pada AgNPs

Nanopartikel memiliki sifat tertentu seperti ukuran, bentuk, dan kepadatan spesifik yang mempengaruhi distribusi dan interaksi mereka di dalam sel atau organ target. Hal ini dapat mengakibatkan penggumpalan dan penggumpalan nanopartikel pada lokasi tertentu dalam tubuh, memengaruhi hasil pengujian secara kolorimetri. Pengujian *in vitro* tradisional pada nanopartikel seringkali menghasilkan interpretasi data yang salah, terutama terkait dengan serapan seluler, sehingga keandalan hasilnya kurang dapat diandalkan. Efek sitotoksik dari nanopartikel perak khususnya terkait dengan stres oksidatif dan efek genotoksik. Produksi reaktif oksigen (ROS) yang dipicu oleh pengambilan nanopartikel perak oleh sel dapat menyebabkan stres oksidatif, menginduksi kematian sel melalui apoptosis atau nekrosis. Dosis tertentu dari nanopartikel perak juga dapat mempengaruhi kerusakan DNA pada sel, yang tercermin dalam perubahan ekspresi protein dan regulasi gen tertentu. Penelitian menunjukkan bahwa toksisitas nanopartikel perak bergantung pada ukuran dan bentuknya, serta dapat memengaruhi berbagai jenis sel dengan cara yang berbeda, termasuk sel ginjal, sel hepatoma, dan sel endotel vena umbilikal manusia. Paparan nanopartikel perak juga dapat merugikan bakteri, mempengaruhi ekspresi gen dan pertumbuhan mikroorganisme, yang berpotensi untuk aplikasi antibakteri. Meskipun penelitian *in vitro* memberikan wawasan yang baik tentang toksisitas nanopartikel, uji *in vivo* tetap diperlukan untuk memverifikasi keamanan dan efektivitasnya sebelum pengujian pada manusia (Noga *et al.*, 2023).

2.5.4.2 Dalam Studi Toksikologi *In vivo* pada AgNPs

Dibandingkan dengan penelitian di laboratorium, penelitian langsung pada makhluk hidup memberikan sedikit informasi tentang bagaimana nanopartikel perak (AgNP) menyebabkan kerusakan. Penelitian *in vivo* tentang efek AgNP pada berbagai spesies, seperti hewan darat, ikan, dan tanaman, memberikan wawasan tentang dampak racunnya. AgNP, karena ukuran mereka yang sangat kecil, dapat dengan mudah masuk ke tubuh makhluk hidup melalui berbagai cara, seperti pernapasan, makan, dan kontak dengan kulit. Mereka dapat merusak organ penting seperti sumsum tulang, jantung, dan mata. Paparan AgNP dapat menyebabkan efek berbahaya pada berbagai sistem tubuh, termasuk kardiovaskular, pernapasan, saraf, hati, dan kulit. Sebagai contoh, tikus yang terpapar AgNP melalui makanan menunjukkan perubahan pada hati mereka, sementara tikus yang terpapar melalui pernapasan memiliki masalah pada paru-paru mereka. Pada tingkat sel, AgNP dapat menyebabkan kerusakan DNA, apoptosis, dan nekrosis. Selain itu, penelitian menunjukkan bahwa toksisitas AgNP bervariasi tergantung pada ukuran dan konsentrasinya. Paparan pada organisme seperti krustasea dan ikan dapat menyebabkan kematian dan kerusakan serius. Oleh karena itu, penelitian *in vivo* membantu kita memahami lebih baik cara AgNP menyebabkan kerusakan pada organisme hidup dan berpotensi membahayakan kesehatan manusia (Noga *et al.*, 2023).

2.5.4.3 Toksisitas AgNP Terhadap Sel Kekebalan Tubuh

AgNP, atau nanopartikel perak, sering digunakan dalam produk konsumen, namun, kekhawatiran mengenai toksisitasnya membatasi penggunaannya. Ulasan

ini membahas dampak toksisitas AgNP pada sistem kekebalan tubuh. Sifat fisikokimia AgNP, seperti ukuran, distribusi, dan muatan permukaan, mempengaruhi respon kekebalan tubuh. Modifikasi permukaan AgNP tampaknya memiliki pengaruh terbesar terhadap sistem kekebalan, dan lapisan luar nanopartikel menentukan tingkat toksisitasnya. AgNP memiliki efek stimulasi dan penghambatan pada produksi sitokin yang terlibat dalam respons inflamasi, tergantung pada jenis sel dan dosisnya. Interaksi AgNP dengan sistem kekebalan tubuh dapat memengaruhi respons imun adaptif melalui produksi sitokin dan kemokin. Studi menunjukkan bahwa AgNP dapat memodulasi ekspresi gen dan produksi sitokin pada berbagai jenis sel, termasuk sel imun dan sel darah tepi. Dampaknya bervariasi tergantung pada ukuran, dosis, dan waktu paparan AgNP. AgNP juga dapat mempengaruhi sel induk mesenkim dan neutrofil, memicu respons seperti apoptosis dan pelepasan perangkap neutrofil ekstraseluler. Meskipun AgNP dapat memiliki efek imunomodulator, dampak toksisitasnya pada berbagai jenis sel menimbulkan keprihatinan mengenai penggunaannya dalam produk konsumen (Noga *et al.*, 2023).

2.5.5 Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ag/TiO₂

Terdapat tiga mekanisme utama yang menjadi dasar aktivitas antimikroba partikel Ag, yaitu (1) Merusak struktur dinding sel bakteri dengan cara membentuk pori-pori akibat reaksi dengan komponen peptidoglikan, (2) Menghambat respirasi seluler dan jalur metabolik bakteri melalui produksi senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS), dan (3) Merusak molekul dan menghambat siklus replikasi DNA (Sim *et al.*, 2018; Prakash *et al.*, 2022). Beberapa penelitian juga menunjukkan

bahwa kemampuan bakterisida nanopartikel TiO₂ dapat ditingkatkan dengan menggabungkannya dengan logam lain seperti Cu, Ag, dan Au (Prakash *et al.*, 2022).

Telah dilaporkan bahwa AgNP dapat menempel pada dinding sel bakteri dan akibatnya menyusup ke dalamnya. Kejadian ini akan menyebabkan perubahan fisik pada membran bakteri, seperti kerusakan membran yang dapat mengakibatkan kebocoran isi sel dan kematian bakteri (Khalandi *et al.*, 2017). Hal ini juga menunjukkan bahwa efek antibakteri AgNPs pada bakteri Gram-negatif lebih kuat dibandingkan bakteri Gram-positif. Fenomena ini dapat dijelaskan dengan adanya perbedaan ketebalan dinding sel antara bakteri gram positif (30 nm) dan bakteri gram negatif (3–4 nm), yang sebagian besar terdiri dari peptidoglikan (Chatterjee *et al.*, 2015). Selain itu, membran sel bakteri telah terbukti bermuatan negatif karena adanya gugus karboksil, fosfat, dan amino. Muatan positif memberikan tarikan elektrostatik antara AgNP dan membran sel mikroorganisme yang bermuatan negatif, sehingga memfasilitasi perlekatan AgNP ke membran sel. Oleh karena itu, peningkatan efek antibakteri dapat diperoleh dengan mengubah muatan permukaan AgNP untuk mencapai gaya tarik menarik yang lebih kuat (Qing *et al.*, 2018).

Setelah menempel pada dinding bakteri, AgNP juga dapat menembus membran dan masuk ke dalam bakteri. Terdapat efek antibakteri yang bergantung pada ukuran, yaitu nanopartikel yang lebih kecil mempunyai luas permukaan yang besar jika bersentuhan dengan sel bakteri dan dapat mencapai sitoplasma lebih sering dibandingkan nanopartikel yang lebih besar (Khalandi *et al.*, 2017). Ketika

AgNP menembus ke dalam sel mikroba, ia dapat berinteraksi dengan struktur seluler dan biomolekul seperti protein, lipid, dan DNA. Interaksi antara AgNP dengan struktur seluler atau biomolekul akan menyebabkan disfungsi bakteri dan akhirnya kematian. Secara khusus, interaksi AgNP dengan ribosom menyebabkan denaturasinya yang menyebabkan terhambatnya translasi dan sintesis protein. Ada juga spekulasi bahwa AgNP berinteraksi secara efektif dengan gugus karboksil dan tiol dari β -galaktosidase, menghambat fungsi biologis intraseluler, dan menyebabkan kematian sel (Ramezani *et al.*, 2019).

Selain itu, mekanisme antibakteri AgNP juga disebabkan oleh kemampuannya menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies radikal bebas tingkat tinggi seperti hidrogen peroksida, anion superoksida, radikal hidroksil, asam hipoklorit, dan oksigen singlet (Gomaa, 2017). Dalam keadaan normal, ROS yang dihasilkan dalam sel terbatas dan dapat dihilangkan oleh sistem antioksidan. AgNP memberikan efek antibakteri melalui inaktivasi dehidrogenase rantai pernapasan dan akhirnya menghasilkan ROS berlebih, yang menghambat respirasi dan pertumbuhan sel. AgNP dapat menurunkan regulasi ekspresi enzim antioksidan seperti glutathione (GSH), superoksida dismutase, dan katalase, yang dapat mempercepat akumulasi ROS. Peningkatan ROS menyebabkan respons seperti apoptosis, peroksidasi lipid, penipisan GSH, dan kerusakan DNA. Selain itu, aktivitas antibakteri AgNP juga dipengaruhi oleh metabolisme terkait adenosin trifosfat (ATP) dan ROS. (Qing *et al.*, 2018)

Karena kelebihan ini, nanopartikel perak dapat digunakan dalam aplikasi jangka panjang di bidang kesehatan (Pollivkova *et al.*, 2017).

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ag/TiO₂

2.6.1 Uji Kirby-bauer

Teknik ini menggunakan metode difusi cakram untuk mengevaluasi sensitivitas atau resistensi bakteri patogen aerob dan anaerob fakultatif terhadap berbagai senyawa antibakteri. Tujuannya untuk menentukan kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan organisme, yang dapat diamati dari adanya zona hambat pertumbuhan di sekitar cakram (Wahyuni, 2020). Metode difusi cakram dalam pengujian antimikroba memiliki tingkat kesesuaian antara 82.0% hingga 100%, tergantung pada jenis antibakteri atau antimikroba yang digunakan (Sariadji, dkk., 2018). Metode ini sudah banyak digunakan oleh banyak peneliti di Indonesia karena dianggap sangat sederhana dan mudah, praktis untuk dilakukan, tidak membutuhkan biaya yang banyak dibandingkan dengan metode yang kompleks, serta hasilnya muncul dengan cepat (Sari dan Febriawan, 2021). Namun, metode difusi cakram ini memiliki kekurangan, seperti tingkat osmolaritas yang rendah pada larutan uji dan penggunaan konsentrasi sampel yang lebih sedikit (Rahman, dkk., 2022).

Tabel 2. 10 Kategori Kekuatan Zona Hambat

Diameter	Kekuatan Daya Hambat
≤ 5 mm	Lemah (<i>weak</i>)
6-10 mm	Sedang (<i>moderate</i>)
11-20 mm	Kuat (<i>strong</i>)
≥ 21 mm	Sangat kuat (<i>very strong</i>)

(Paramastri dan Qurrahman, 2022)

Cara mengukur zona hambat adalah dengan mengukur zona terluar dari kertas cakram sampai pada batas terluar zona hambat dengan menggunakan jangka sorong atau dengan alat ukur lainnya.

2.6.2 Uji *Time Kill Assay*

Tes time-kill adalah metode yang paling tepat untuk menentukan efek bakterisida atau fungisida. Ini adalah alat yang ampuh untuk memperolehnya informasi tentang interaksi dinamis antara agen antimikroba dan strain mikroba. Tes mematikan waktu terungkap antimikroba yang bergantung pada waktu atau bergantung pada konsentrasi efek (Baloiri *et al.*, 2016).

Untuk bakteri, tes ini telah distandarisasi dan dijelaskan dengan baik dalam dokumen M26-A CLSI (Prada *et al.*, 2020). Hal ini dilakukan dalam budaya kaldu medium menggunakan tiga tabung berisi suspensi bakteri 5×10^5 CFU/mL. Tabung pertama dan kedua berisi molekul atau ekstrak yang biasanya diuji pada konsentrasi akhir 0,25 MIC dan 1 MIC, dan yang ketiga dianggap sebagai pengendalian pertumbuhan. Inkubasi dilakukan dalam kondisi yang sesuai untuk interval waktu yang bervariasi (0, 4, 6, 8, 10, 12 dan 24 jam). Kemudian, persentase sel mati dihitung relatif terhadap pertumbuhannya kontrol dengan menentukan jumlah sel hidup (CFU/mL) masing-masing tabung dengan metode agar plate count. Umumnya bersifat bakterisida efek diperoleh dengan persentase kematian 90% selama 6 jam, yaitu setara dengan 99,9% kematian selama 24 jam (Li *et al.*, 2022). Selain itu, ini Metode ini dapat digunakan untuk menentukan sinergisme atau antagonisme antar obat (dua atau lebih) dalam kombinasi. Demikian pula, beberapa zat antijamur dipelajari dengan metode ini (Baloiri *et al.*, 2016).

Metode *Time Kill Assay* digunakan untuk mengevaluasi keefektifan antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan teknik *Total Plate Count* dan analisis persentase serta log reduksi. Selain itu, metode ini

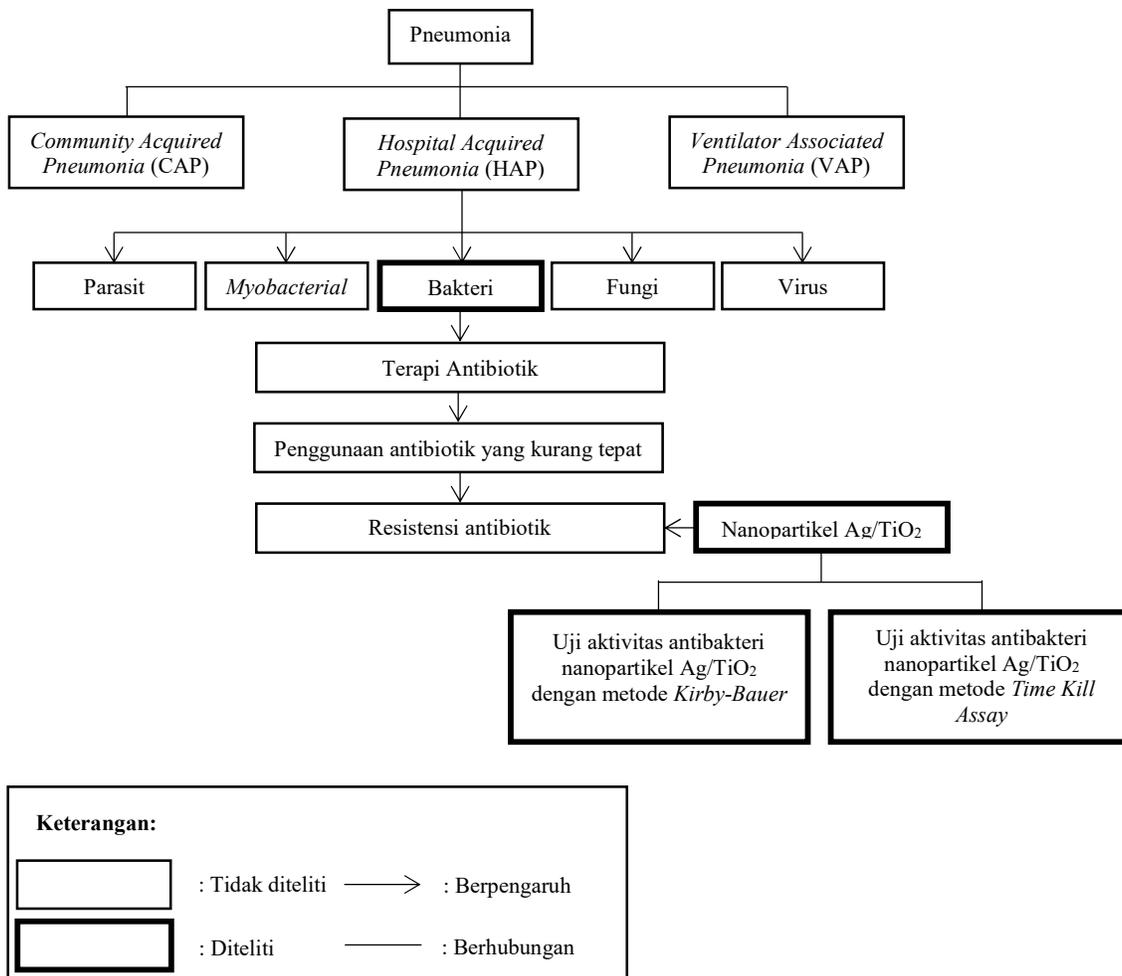
dilakukan untuk mengetahui rentang waktu tertentu yang dibutuhkan oleh suatu agen antibakteri pada konsentrasi tertentu untuk mematikan koloni bakteri (Faradina, 2020). Prosedur pengujian mengikuti standar ASTM E-2313. Setelah persiapan kultur bakteri, sejumlah sampel uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril. Kultur bakteri dalam tabung reaksi yang akan diuji (biasanya 1/10 atau kurang dari volume sampel uji) kemudian diinokulasi ke dalam tabung reaksi yang berisi agen antibakteri, diaduk, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah waktu yang ditentukan, sejumlah kecil campuran bakteri dan sampel uji diambil dan ditempatkan ke dalam cawan LB Agar. Kemudian, cawan tersebut diinkubasi lagi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk mengamati apakah terjadi pengurangan jumlah koloni bakteri (Subhan, dkk., 2020).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual

3.1.1 Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3. 1 Kerangka konseptual

3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual

Pneumonia merupakan salah satu penyakit infeksi pernapasan yang dapat ditularkan melalui kontak dengan penderita. Berdasarkan cara infeksi pasien, pneumonia dibagi menjadi tiga, yaitu CAP (*Community Acquired Pneumonia*), HAP

(*Hospital Acquired Pneumonia*), dan VAP (*Ventilator Associated Pneumonia*). Pada HAP atau *Hospital Acquired Pneumonia*, mikroba penyebab pneumonia dapat berasal dari bakteri, virus, fungi atau jamur, *Mycobacterial*, dan parasit. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Choby (2020), bakteri penyebab utama pneumonia nosokomial adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Pada pasien yang telah terinfeksi pneumonia perlu dilakukan tindakan berupa pengobatan. Pengobatan yang umum diberikan kepada penderita pneumonia adalah antibiotik. Terapi ini bertujuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebagai penyebab infeksi pneumonia. Namun penggunaan antibiotik yang tidak tepat serta ketidakpatuhan pasien dalam penggunaan antibiotik sangat berkontribusi pada munculnya masalah resistensi antibiotik. Hal ini dijelaskan pada Gambar 3.1 mengenai kasus tersebut, maka dibutuhkan adanya evaluasi terhadap kasus pneumonia dengan mencari alternatif lain demi menghambat penyebaran infeksi *Klebsiella pneumoniae* MDR di rumah sakit khususnya ICU.

Menurut Bungan (2021), nanopartikel Ag/TiO₂ diketahui memiliki kemampuan bakterisidal (membunuh bakteri) dan bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri). Hal ini diperkuat dengan adanya bukti penelitian dari Nur Hayati (2013) bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ terbukti dapat menghambat bahkan membunuh koloni bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan beberapa hasil penelitian dijelaskan bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ dipercaya dapat menjadi solusi terhadap resistensi antibiotik pneumonia karena memiliki potensi efektivitas dengan spektrum luas untuk mematikan bakteri gram negatif seperti bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Oleh karena itu, butuh adanya penelitian terhadap kasus

tersebut untuk membuktikan keefektifan nanopartikel Ag/TiO₂ sebagai antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR sehingga dapat dijadikan antibiotik pneumonia akibat bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan menggunakan uji *Kirby-Bauer* dan uji *Time Kill Assay*.

3.2 Hipotesis Penelitian

H₀: Nanopartikel Ag/TiO₂ tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

H₁: Nanopartikel Ag/TiO₂ memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan melibatkan pengujian dan pengukuran aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR. Penelitian ini menggambarkan efek konsentrasi nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap aktivitas antibakteri dengan mengukur diameter zona hambat dan jumlah koloni bakteri.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai pada Oktober 2023 hingga Desember 2023. Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Program Studi Sarjana Farmasi dan Laboratorium Steril Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

4.3.1.1 Variabel Bebas

Variabel bebas juga dikenal sebagai variabel independen yang merupakan variabel yang menyebabkan perubahan atau timbulnya variabel dependen, yaitu variabel yang tergantung pada variabel independen (Hidayat, 2017). Dalam penelitian ini, variabel bebas yang digunakan adalah konsentrasi nanopartikel Ag/TiO₂.

4.3.1.2 Variabel Terikat

Variabel terikat atau variabel dependen adalah variabel yang dipengaruhi atau menjadi hasil dari variabel bebas. Variabel ini bergantung pada perubahan variabel bebas, terkadang variabel ini disebut dengan variabel efek (Hidayat, 2017). Dalam penelitian ini, variabel terikat adalah diameter zona hambat dan waktu hambat nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

4.3.1.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga variabel independen terhadap variabel dependen tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Sugiyono, 2017). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah Strain bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR, media pertumbuhan *Luria Bertani* (LB) dan media uji *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan *Mueller Hinton Broth* (MHB).

4.3.2 Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian ini sebagai berikut.

1. Konsentrasi nanopartikel Ag/TiO₂ adalah jumlah nanopartikel Ag/TiO₂ yang terkandung dalam sampel.
2. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dalam penelitian ini menjadi variabel kontrol dan merupakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang menunjukkan resistensi terhadap beberapa kelas antibiotik yang berbeda secara simultan.

3. Penghambatan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR adalah Kemampuan nanopartikel Ag/TiO₂ dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR pada permukaan peralatan medis.
4. Metode Uji Kirby-bauer merupakan metode yang digunakan untuk menentukan sensitivitas atau resistensi bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR terhadap antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ dengan mengukur zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram sensitif. Diameter zona hambat ini memberikan informasi tentang aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR.
5. Metode Uji Time Kill Assay merupakan metode yang digunakan untuk mengevaluasi efek antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan memantau perubahan jumlah dan viabilitas bakteri selama periode waktu tertentu.

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

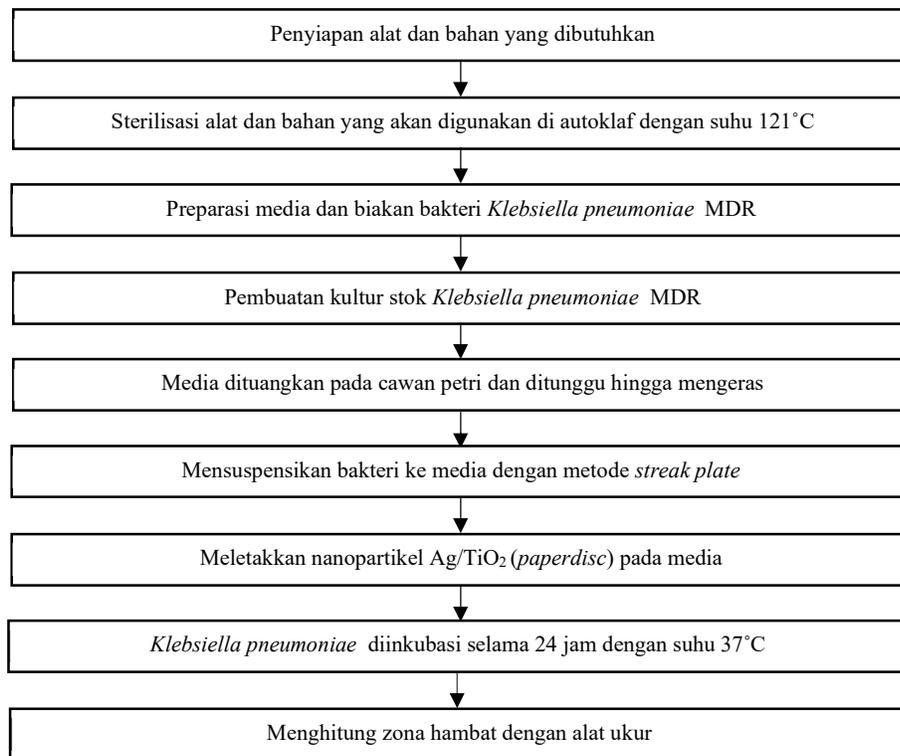
Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, autoklaf, *Biological Safety Cabinet* (BSC), *Hot Plate*, Inkubator, *Vortex*, peralatan gelas seperti cawan petri, beaker glass, gelas ukur, tabung erlenmeyer, kaca arloji, tabung reaksi, *magnetic stirrer*, ose, dan batang pengaduk serta peralatan lainnya seperti pinset, rak tabung reaksi, mikropipet, pipet, sendok tanduk, spatula, aluminium foil, kertas label, tissue, kapas, gunting, korek api, dan bunsen.

4.4.2 Bahan

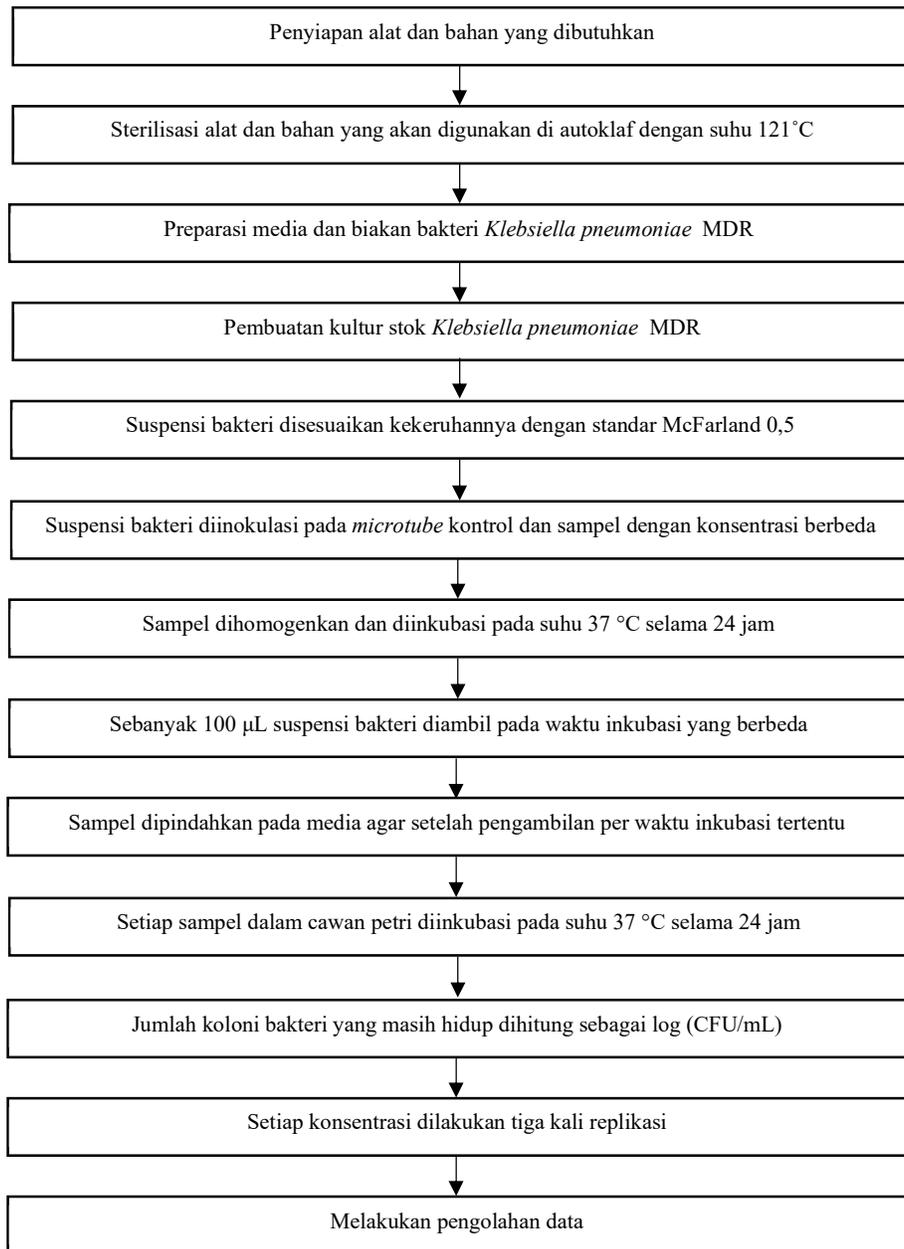
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Multi-Drug Resistant* (MDR) *Klebsiella pneumoniae* yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Material nanopartikel Ag/TiO₂ yang didapatkan dari Laboratorium Kimia Analisis Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Media *Luria Bertani Broth* bubuk, Media *Luria Bertani* Agar bubuk, Media *Mueller Hinton Broth*, Media *Mueller Hinton* Agar, Cakram disc/*Paper disc*, Alkohol 70%, Aquadest, Gliserol 20%, plastik, tali, kertas perkamen, dan kertas label.

4.5 Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian

Adapun skema kerja pada penelitian ini tergambar pada Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Skema uji aktivitas antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer



Gambar 4. 2 Skema uji aktivitas antibakteri menggunakan metode *Time Kill Assay*

4.5.1 Prosedur Penelitian

4.5.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan yang Digunakan

Sterilisasi merupakan sebuah metode yang digunakan untuk menghilangkan semua jenis organisme yang ada pada suatu alat atau bahan. Tujuan sterilisasi dalam bidang mikrobiologi adalah membunuh, menghambat pertumbuhan, dan menghilangkan semua mikroorganisme yang terdapat pada alat dan bahan yang akan digunakan dalam suatu kegiatan laboratorium dengan tujuan menciptakan keadaan yang bebas dari kontaminasi (Murtius, 2018).

Pada penelitian ini alat dan bahan yang digunakan merupakan peralatan dan bahan yang tahan panas sehingga sterilisasi yang digunakan adalah sterilisasi panas dengan membungkus terlebih dahulu semua alat dan bahan tersebut dengan aluminium foil atau kertas *wrapping* lalu dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu tekanan tinggi hingga 121°C selama 15 menit pada tekanan 15 psi (Emmawati *et al.*, 2022).

4.5.1.2 Preparasi Media dan Biakan Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Media yang digunakan untuk metode *Time Kill Assay* adalah *Luria Bertani Broth* (LB) dan *Luria Bertani Agar* (LA), sedangkan untuk uji *Kirby-bauer* menggunakan media *Mueller Hinton Broth* (MH) dan *Mueller Hinton Agar* (MA). Media-media tersebut disiapkan dengan menimbang masing-masing media yang masih dalam sediaan serbuk menggunakan timbangan analitik dengan media agar sebanyak 9,5 gram dan media broth 2,5 gram. Kemudian masing-masing dilarutkan dengan 250 ml untuk MHA dan 100 ml untuk LB Broth aquades kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Kedua media yang telah dibuat disterilisasi

menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit bersama dengan alat-alat lainnya (Arfianti, 2020).

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik meropenem 1 gram dalam bentuk injeksi. Dalam hal ini perlu dilakukan pengenceran terlebih dahulu sebelum digunakan menggunakan aquadest. Pengenceran dilakukan dengan menyuntikkan aquadest sebanyak 20 ml ke dalam vial meropenem 1 gram dan kemudian dihomogenkan dengan sedikit dikocok.

4.5.1.3 Pembuatan Kultur Stok *Klebsiella pneumoniae* MDR

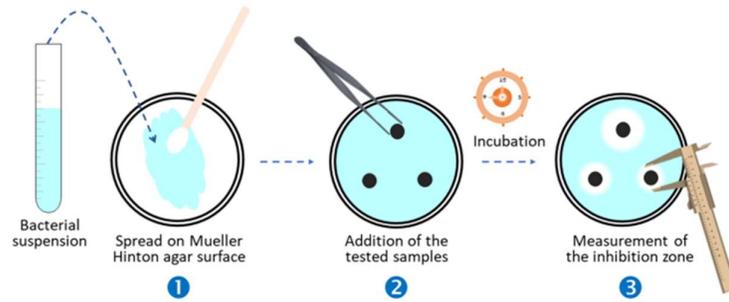
Strain *Klebsiella pneumoniae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang ditumbuhkan dalam media *Luria Bertani Broth* (LB) dan *Mueller Hinton Broth* (MHB). Bakteri *Klebsiella pneumoniae* diinokulasikan ke dalam 10 mL LB Broth secara aseptis dalam BSC di tabung reaksi dan diinkubasi dalam inkubator selama 1 malam atau 24 jam pada suhu 37°C (Arfianti, 2020). *Culture stock* yang dibuat ditutup terlebih dahulu dengan menggunakan kapas dan dilapisi aluminium foil secara rapat untuk menghindari adanya kontaminasi dari lingkungan luar. Dalam hal ini juga, dilakukan inkubasi terhadap LB Broth tanpa diberi bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR sebagai kontrol terhadap *Culture stock*.

4.5.1.4 Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode Kirby-bauer

Langkah awal dalam uji ini adalah persiapan alat dan bahan. Alat dan bahan yang telah disterilisasi dengan menggunakan autoklaf diletakkan ke dalam BCS secara aseptis dengan menyemprotkan semua alat dan bahan menggunakan alkohol

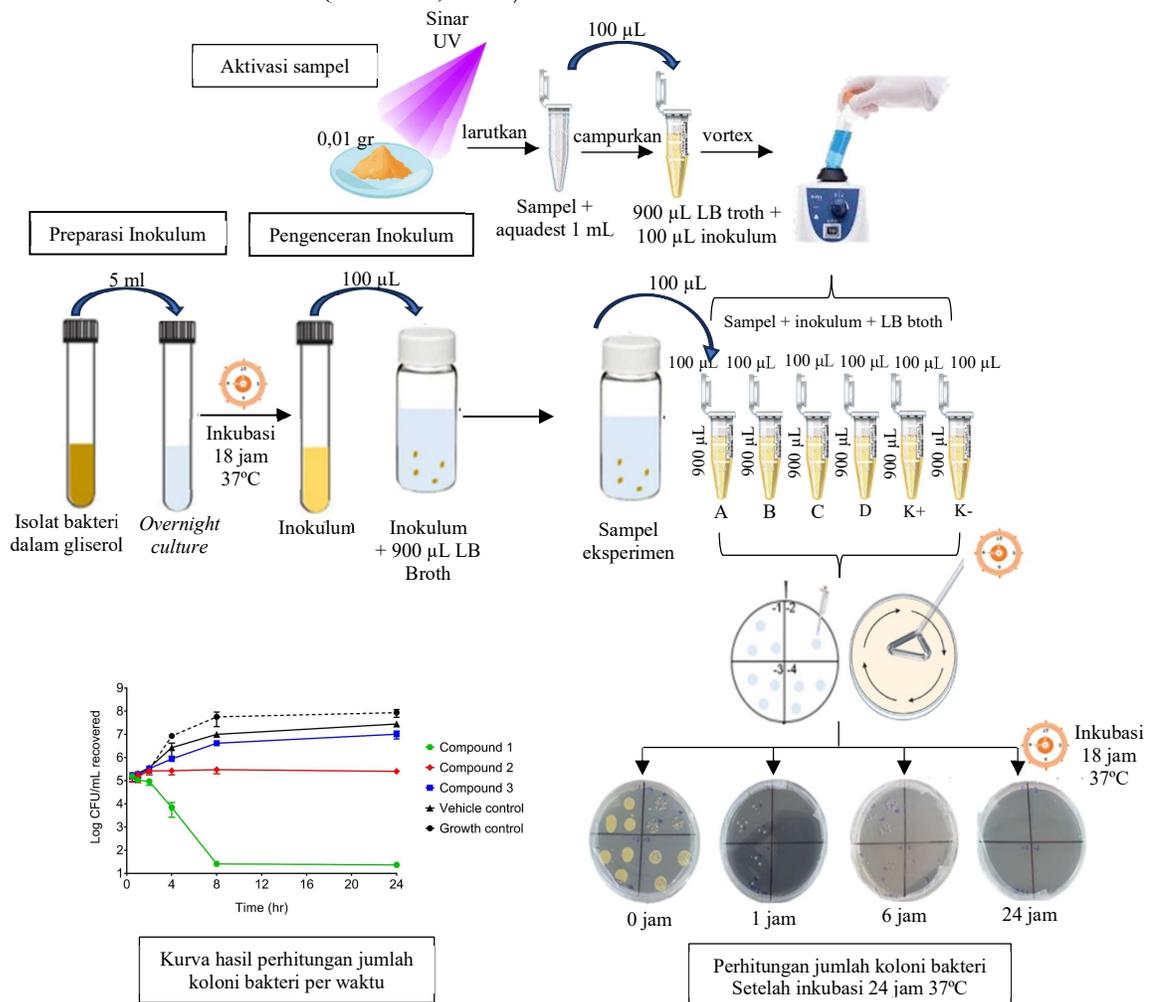
70% sebelum dimasukkan ke dalam BCS. Kemudian menuangkan MHA yang telah disterilisasikan dan masih cair ke dalam cawan petri sebagai media pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan ditunggu hingga media mengeras. Setelah media mengeras, suspensi bakteri diinokulasi dari media murni ke media MHA yang sudah mengeras dengan menggunakan ose dengan metode streak plate secara merata. Pada metode ini terdapat lima bahan uji yang akan diletakkan pada media MHA, yaitu nanopartikel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻² M, nanopartikel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻³ M, antibiotik meropenem sebagai kontrol positif dan LB Broth sebagai kontrol negatif. Selain itu, pada metode ini juga melakukan uji tersebut pada senyawa TiO₂ sebagai pembanding. Masing-masing sampel ditimbang menggunakan timbangan analitik sebanyak 0,01 gram dan kemudian dilarutkan dengan sedikit aquadest untuk diberi *paper disk*. Metode *Kirby Bauer* terhadap aktivitas antibakteri dilakukan dengan meletakkan sampel-sampel yang telah disiapkan, yaitu nanopartikel Ag/TiO₂ (konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M), senyawa TiO₂, kontrol positif dan kontrol negatif dalam bentuk *paper disc* dengan menggunakan pinset pada permukaan MHA yang telah ditanamkan bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebelumnya. Selanjutnya menginkubasi cawan tersebut ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pada hari berikutnya, mengamati zona hambat yang terbentuk setelah perlakuan di sekitar sampel-sampel tersebut dan diukur dengan menggunakan alat ukur jangka sorong. Diameter zona bening atau zona hambat digunakan untuk mengelompokkan jenis sifat dari nanopartikel Ag/TiO₂ (Wahyuni, 2020; Yassin *et al.*, 2019).



Gambar 4. 3 Ilustrasi Proses Metode *Kirby Bauer* (El Guerraf *et al.*, 2022)

2. Metode *Time Kill-Assay*

Metode *Time Kill Assay* dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari nanopartikel Ag/TiO₂ dengan menganalisis perubahan jumlah mikroorganisme yang masih hidup dalam waktu tertentu setelah terpapar oleh antibakteri dengan konsentrasi tertentu (Faradina, 2020).



Gambar 4. 4 Ilustrasi Proses Metode *Time Kill Assay*

Sama halnya dengan metode sebelumnya, pada metode *Time Kill Assay culture stock* dibuat pada hari sebelumnya dengan menginkubasi inkulum dalam inkubator selama ± 24 jam pada suhu 37°C untuk menumbuhkan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Setelah didapatkan inkulum yang diinginkan, dilakukan pengenceran inkulum 10^8 CFU/ml dengan cara mengambil $100\ \mu\text{L}$ *overnight culture* kemudian ditambahkan dalam *microtube* yang telah diisi dengan $900\ \mu\text{L}$ LB Broth untuk menghasilkan inkulum akhir sekitar 10^7 CFU/ml (Ustun *et al.*, 2013).

Langkah pertama dari metode ini adalah mensuspensikan biakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan mengambil koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR menggunakan ose dari media *Culture stock* kemudian diinokulasi pada media *Luria Bertani Broth* dengan teknik aseptis untuk menghindari adanya kontaminasi (Sarosa, dkk., 2018). Kemudian menyiapkan beberapa *microtube* (sekitar ± 6 *microtube*) yang masing-masing telah diisi dengan $900\ \mu\text{L}$ LB Broth. Selanjutnya, suspensi bakteri diambil sebanyak $100\ \mu\text{L}$ menggunakan mikropipet untuk diinokulasi ke dalam lima *microtube* yang berisi $900\ \mu\text{L}$ yang mana empat *microtube* tersebut telah ditambahkan nanopartikel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10^{-2} M dan 10^{-3} M, senyawa TiO₂, serta meropenem. Sedangkan dua tabung sisanya diisi dengan $900\ \mu\text{L}$ LB Broth yang ditambahkan suspensi bakteri sebagai kontrol positif dan $900\ \mu\text{L}$ LB Broth tanpa ditambahkan sampel apapun sebagai kontrol negatif. *Microtube-microtube* tersebut kemudian diinkubasi dalam *shaker rotary* pada suhu 37°C dengan pengadukan 150-200 rpm. Kemudian sebanyak $100\ \mu\text{L}$ sampel diambil dari setiap tabung dengan

menggunakan mikropipet pada waktu inkubasi yang berbeda (30 menit, 3, 6, dan 12 jam) lalu digosokkan pada LB Agar yang telah disiapkan di cawan petri. Setiap cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jumlah koloni bakteri yang masih hidup dihitung sebagai log (CFU/mL) atau sumbu Y dan waktu sebagai sumbu X. Setiap konsentrasi dilakukan tiga kali replikasi dan kemudian dilakukan pengolahan data (Harun *et.al.*, 2020; Loo *et.al.* 2018).

4.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menilai hasil dari kedua uji aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ yaitu uji *Kirby-bauer* dan uji *Time Kill Assay*. Dari uji *Kirby-bauer* akan didapatkan hasil aktivitas antibakteri dengan menghitung diameter zona hambat pada cakram yang berisi kultur bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR setelah diberikan antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ dengan dua konsentrasi yang berbeda. Kemudian dari data hasil pengukuran diameter zona hambat, dikelola menggunakan SPSS untuk diuji statistik. Uji yang digunakan adalah uji normalitas, uji homogenitas, dan uji *ANOVA* untuk uji parametrik dan uji *Kruskal Wallis* untuk uji non parametrik. Jika ditemukan perbedaan yang signifikan, maka pada uji *ANOVA* dilanjutkan dengan uji *post hoc Tukey*, sedangkan pada uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

Sedangkan pada uji *Time Kill Assay*, data yang diperoleh dari pengujian aktivitas antibakteri akan dianalisis secara statistik. Analisis statistik meliputi pengecekan homogenitas dan normalitas data. Untuk menguji homogenitas dan normalitas data, akan digunakan software SPSS dan nilai signifikansi (P-value) yang ditetapkan adalah $P < 0,05$ (Harun *et al.*, 2020). Jika data menunjukkan

kecenderungan homogen dan terdistribusi secara normal, analisis statistik yang akan digunakan adalah *One-way* ANOVA. Namun, jika data tidak memenuhi syarat normalitas atau homogenitas, maka akan dilakukan pendekatan alternatif yaitu uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* (Norfai dan Abdullah, 2018).

Uji *One-way* ANOVA dilakukan dengan cara mengevaluasi perbedaan signifikan antara kelompok konsentrasi nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR jika dinyatakan data tersebut parametrik. Sedangkan uji *Kruskal-Wallis* dilakukan dengan cara membandingkan perbedaan signifikan antara kelompok konsentrasi dalam situasi di mana distribusi data tidak terduga atau tidak memenuhi syarat parametrik. Apabila hasil data dinyatakan signifikan, maka dilakukan uji *Post Hoc* untuk menentukan kelompok mana yang memiliki perbedaan secara signifikan. Hal ini dapat diketahui dari nilai F hitung yang menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok-kelompok. Pada uji *One-way* ANOVA, teknik analisis *Post Hoc* dilakukan dengan menggunakan uji *Turkey*. Sedangkan analisis *Post Hoc* untuk uji *Kruskal-Wallis* adalah uji *Dunn* (Norfai dan Abdullah, 2018). Namun, jika nilai F hitung menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok-kelompok, maka analisis *Post Hoc* tidak diperlukan. (Saad, dkk., 2019).

Dengan menggunakan metode analisis statistik yang sesuai, diharapkan dapat mengungkapkan perbedaan signifikan dalam aktivitas antibakteri berdasarkan variasi konsentrasi nanopartikel Ag/TiO₂ pada *Klebsiella pneumoniae* .

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nanopartikel merupakan sistem koloid submikronik yang memiliki ukuran partikel dengan skala nanometer. Suatu nanometer memiliki ukuran molekul 1-100 nm atau lebih kecil (Patra *et al.*, 2010). Komponen zat dengan ukuran nanopartikel yang kecil memberikan banyak kelebihan seperti kemampuan menembus ruang-ruang antarsel lebih tinggi, kelarutan zat tinggi, serta afinitas yang meningkat karena luas permukaan kontak besar dapat dikembangkan pada sistem penghantaran obat. Ukuran dan karakteristik permukaan nanopartikel mudah dimanipulasi untuk mencapai target sasaran pengobatan sehingga dapat dimanfaatkan untuk sistem penghantaran terkendali. Dibandingkan dengan mikropartikel dengan ukuran lebih besar, nanopartikel mampu melewati *biological barrier* karena memiliki daya serap intraseluler yang relatif tinggi (Reis *et al.*, 2005). *Biological barrier* adalah mekanisme pertahanan alami tubuh yang melindungi dari patogen dan zat berbahaya (Murphy and Weaver, 2016).

Ag digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara melekat pada suatu organisme sehingga mengganggu permeabilitas membran sel dan respirasi seluler dari suatu mikroorganisme. Toksisitas Ag dalam bentuk nanopartikel meningkat karena luas permukaan partikel yang besar sehingga dispersi pada bahan lebih baik dan efektif untuk meningkatkan kerja aktivitas antibakteri (Handaya, 2011). Bentuk dan ukuran dari nanopartikel Ag sangat berpengaruh terhadap penentuan sifat optik dan kemampuan aktivitas antimikrobanya. Ag dalam bentuk nanopartikel memiliki sifat yang lebih stabil dan

aplikasi yang beragam dalam berbagai bidang seperti katalis, optik, dan agen antimikroba (Handaya, dkk., 2011).

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *Kirby Bauer* dan metode *Time Kill Assay* dan memiliki beberapa tujuan, yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari nanopartikel Ag/TiO₂ dengan menggunakan kedua metode tersebut. Hasil dari penelitian ini berupa data yang didapatkan dari besarnya diameter zona hambat melalui metode *Kirby Bauer* dan jumlah koloni bakteri yang tumbuh setelah pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ melalui metode *Time Kill Assay*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober hingga Desember dan bertempat di laboratorium Steril Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

5.1 Preparasi Sampel

5.1.1 Identifikasi Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR

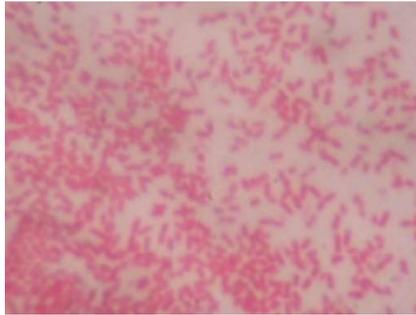
Pada penelitian ini, bakteri yang digunakan adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Bakteri yang digunakan sebagai bahan penelitian dideterminasi terlebih dahulu dengan tujuan mengetahui kebenaran bakteri dan menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan. Determinasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijawa Malang. Berdasarkan hasil determinasi maka dapat dipastikan bahwa bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang diperoleh bersifat *Multidrug-resistant*.

Data uji bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijawa Malang menjelaskan bahwa bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR diambil dari sputum atau dahak pasien

penderita pneumonia. Menurut Qaedi dkk. (2021) dalam penelitiannya dijelaskan bahwa bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri penghasil ESBL yang paling banyak didapatkan melalui sputum pasien dengan persentase 47,1% yaitu 16 dari 34 isolat *Klebsiella pneumoniae* dibandingkan dengan jenis lainnya (Ahmad, dkk., 2021). Sputum tersebut kemudian diinokulasi pada media agar MacConkey untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Langkah selanjutnya mengidentifikasi bakteri secara morfologi dengan melakukan pewarnaan gram untuk mengetahui isolat yang diteliti termasuk dalam bakteri gram positif atau negatif. Selain digunakan untuk membedakan kelompok bakteri gram positif atau negatif, pewarnaan gram juga dapat dilakukan untuk melihat bentuk dan susunan bakteri. Indikasi pewarnaannya yaitu bakteri gram positif akan berwarna violet dan bakteri gram negatif akan berwarna merah. Kemudian hasil tersebut dicatat dan difoto bentuk dari sel bakteri tersebut apakah bulat (coccus), batang (basil), maupun bergelombang (spiral) (Nurhidayati, dkk., 2015).

Bakteri gram positif merupakan bakteri yang mampu mempertahankan zat warna kristal violet dan memperlihatkan warna keunguan, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah pada pengamatan di mikroskop. Perbedaan warna pada proses pewarnaan gram dilihat dari perbedaan struktur dinding sel yang menyusun bakteri (Sya'baniar et al., 2017). Dalam uji ini, bakteri diwarnai dengan serangkaian pewarna, termasuk kristal violet, iodine, alkohol (atau etanol), dan safranin. Pewarnaan gram pada bakteri dilakukan dengan mentetesi *crystal violet* yang berfungsi sebagai histologis noda yang dapat mendeteksi jenis gram. Selanjutnya penambahan iodine berfungsi sebagai disinfektan dan antiseptik serta sebagai

penguat ikatan pada kompleks Mg-Ribonuclead acid. Kemudian ditambah alkohol yang berfungsi mencuci lemak pada dinding sel bakteri. Dan yang terakhir ditambahkan safranin sebagai zat warna tandingan luruhnya *crystal violet* pada dinding sel (Amin, dkk., 2023). Hasil pengamatan mikroskopis dari pewarnaan gram dapat dilihat pada Gambar 5.1 yang menunjukkan bahwa isolat bakteri uji merupakan bakteri gram negatif. Hasil tersebut ditandai dengan sel bakteri berwarna merah setelah dilakukan pengecatan gram (Gambar 5.1). Bakteri gram negatif menghasilkan warna merah pada uji pewarnaan gram karena sifat dinding sel mereka. Dinding sel bakteri gram negatif memiliki lapisan tipis peptidoglikan di antara dua lapisan membran lipid. Ketika kristal violet diterapkan pada bakteri selama proses pewarnaan, kristal violet dapat dengan mudah menembus lapisan tipis peptidoglikan ini. Selanjutnya, ketika alkohol atau etanol digunakan sebagai agen *destaining*, membran lipid luar bakteri gram negatif dapat dihilangkan. Proses ini membuat lapisan tipis peptidoglikan menjadi lebih permeabel terhadap zat pewarna selanjutnya, yaitu safranin (pewarna merah). Sebagai hasilnya, bakteri gram negatif akan membawa warna merah setelah pewarnaan selesai. Di sisi lain, bakteri gram positif memiliki dinding sel yang lebih tebal, sehingga kristal violet sulit untuk menembus dinding sel yang tebal tersebut. Sel gram positif akan tetap mempertahankan warna ungu atau biru dari kristal violet setelah proses pewarnaan selesai. Oleh karena itu, perbedaan struktur dinding sel ini menyebabkan bakteri gram negatif menghasilkan warna merah pada uji pewarnaan gram (Nurhidayati, dkk., 2015).



Gambar 5. 1 Hasil Pewarnaan Gram

Genus ini memiliki karakteristik berbentuk batang (basil) pendek dengan ukuran sekitar $0,3-1,5 \mu\text{m} \times 0,6-6,0 \mu\text{m}$ dan bersifat fakultatif anaerob, serta tidak membentuk spora (Utami, 2021).

Setelah teridentifikasi bahwa bakteri yang didapatkan dari sputum merupakan bakteri gram negatif, dilanjutkan dengan uji biokimia bakteri. Reaksi biokimia dipakai untuk melihat perbedaan metabolisme bakteri. Setiap bakteri membutuhkan energi untuk bertahan hidup. Secara khusus, famili *Enterobacteriaceae* dapat meragikan glukosa, mereduksi nitrat menjadi nitrit, tetapi tidak dapat mencairkan alginat. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat meragikan laktosa. Untuk mengetahui ada atau tidaknya fermentasi laktosa, dilakukan uji pada agar MacConkey. Apabila terjadi fermentasi laktosa, warna agar akan berubah menjadi merah (Hansen et al., 2004). Pada famili *Enterobacteriaceae*, identifikasi spesies dapat dilakukan dengan uji biokimia (Abdullah et al., 2015). Secara khusus, bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat diidentifikasi menggunakan *Microbact*. Identifikasi dengan *Microbact* dilakukan berdasarkan perbedaan pH. Terdapat dua varian strip *Microbact*, yaitu 12A dan 12B. Masing-masing varian strip menguji 12 variasi biokimia yang berbeda. Strip 12A digunakan untuk identifikasi bakteri dengan oksidase negatif dan hasil fermentasi glukosa-nitrat positif. Sedangkan pada strip

12B digunakan untuk identifikasi bakteri dengan oksidase positif dan hasil fermentasi glukosa-nitrat negatif. Pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* digunakan varian strip Microbact 12A dengan jenis uji biokimia yang akan diuji, yaitu Lysine, Ornithine, H₂S, Glucose, Mannitol, Xylose, ONPG, Indole, Urease, VP, Citrate, dan TDA. Pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* didapatkan hasil positif pada uji Lysine, Glucose, Mannitol, Xylose, ONPG, Urease, VP, dan Citrate (O'hara, 2005). Hasil dari uji biokimia terhadap bakteri dapat dilihat pada Gambar 5. 2.



Gambar 5. 2 Uji Biokimia *Klebsiella pneumoniae* MDR

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR tersebut diuji biokimia dengan menggunakan strip *Microbact* 12A. Uji ini dilakukan dengan mengambil satu koloni bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam dengan menggunakan ose kemudian dilarutkan ke dalam 3-5 ml garam fisiologis dalam tabung reaksi steril hingga homogen. Kemudian larutan bakteri yang telah homogen dimasukkan ke dalam sumur *Microbact* 12A sebanyak 100 μ L atau 4 tetes. Untuk sumur lysin, ornitin dan H₂S ditambahkan larutan mineral oil sebanyak 1-2 tetes. Setelah itu, *Microbact* 12A diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. *Microbact* 12A yang telah diinkubasi kemudian diberikan reagent pada sumur nomor 8 dengan indol kovact sebanyak 2 tetes, sumur nomor 10 dengan VP I dan VP II masing masing 1

tetes, dan sumur nomor 12 dengan TDA sebanyak 1 tetes. Selanjutnya mengevaluasi hasil dengan melihat sumur-sumur *Microbact* 12A apakah positif atau negatif dengan cara membandingkan dengan tabel warna dan hasilnya ditulis pada formulir *Patent Record*. Angka-angka oktaf didapatkan dari penjumlahan reaksi positif dari tiap-tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktaf). Terakhir, nama bakteri dilihat dengan komputer berdasarkan angka oktaf yang keluar (O'hara,2005).

Berdasarkan hasil uji biokimia menggunakan varian strip *Microbact* 12A pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* diperoleh hasil yang menunjukkan bahwa uji *Lysine* (hijau), *Glucose* (kuning), *Mannitol* (kuning), *Xylose* (kuning), ONPG (kuning), *Urease* (merah muda), VP (merah) dan *Citrate* (biru) memberikan hasil positif. Ini menunjukkan bahwa bakteri *Klebsiella pneumoniae* mampu memproduksi enzim-enzim yang diperlukan untuk menghidrolisis *lysine*, memfermentasi glukosa, manitol, dan *xylose*, serta menghasilkan produk dari reaksi ONPG, *Urease*, VP dan *Citrate*. Sementara itu, uji *Ornithine*, H_2S , *Indole*, dan TDA menunjukkan hasil negatif yang berarti bakteri ini tidak mampu menghidrolisis ornithine, tidak memproduksi gas hidrogen sulfida, tidak menghasilkan indole dari triptofan, dan tidak memiliki aktivitas TDA. Hasil ini sesuai dengan karakterisasi biokimia yang diharapkan untuk *Klebsiella pneumoniae* (O'hara,2005).

Setelah teridentifikasi bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan famili *Enterobacteriaceae*, dilanjutkan dengan uji resistensi bakteri. Uji tersebut dilakukan dengan menginokulasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada media agar yang kemudian diberi lima jenis antibiotik berupa

paper disk yaitu Amoxicilin, Ciproflaxacin, Gentamicin, Ceftriaxone dan Imipenem. Dari hasil uji tersebut, dapat diketahui bahwa terdapat zona hambat disekitar dua cakram yang berisi antibiotik Amoxicilin dan Ciproflaxacin yang menandakan masih ada efek antibakteri dari antibiotik tersebut (Roe, 2020). Sedangkan pada tiga *paperdisc* lainnya, tidak ditemukan adanya zona hambat yang menandakan kurangnya sensitifitas antibiotik tersebut terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebagaimana yang tergambar pada Gambar 5.3.



Gambar 5. 3 Hasil Uji Resistensi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

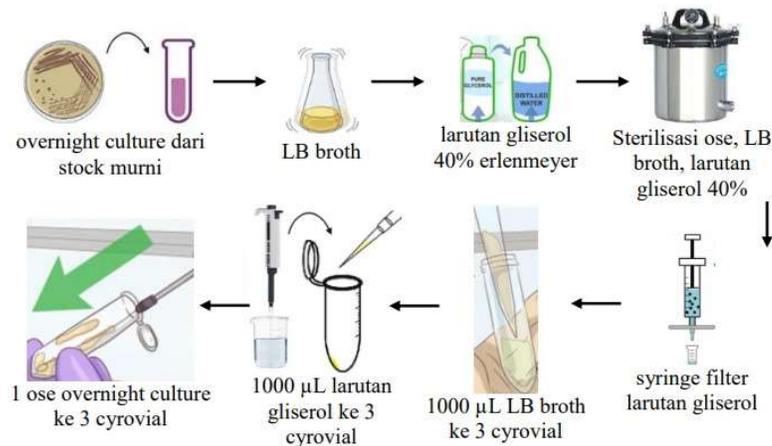
Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijawa Malang berupa koloni yang telah ditanamkan pada media agar MacConkey yang telah melalui beberapa uji sehingga dapat dipastikan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR (Gambar 5.4).



Gambar 5. 4 Koloni Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR

Tahap selanjutnya adalah isolasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dari media murni berupa agar *Mueller-Hinton* (MHA) ke medium baru. Proses dilakukan dengan penambahan gliserol dan LB Broth pada isolat bakteri dan melalui serangkaian langkah esensial guna menjamin keberhasilan dan keberlanjutan viabilitas selama penyimpanan jangka panjang. Tahap awal adalah mempersiapkan media cair berupa LB Broth yang optimal untuk pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Proses isolasi dilakukan menggunakan alat steril seperti ose steril menjadi sarana untuk mentransfer koloni bakteri dari MHA ke dalam medium yang baru. Kemudian inkubasi media bersama bakteri dilakukan pada suhu yang optimal yaitu 37 °C. Langkah selanjutnya adalah menambahkan gliserol kemudian LB Broth ke dalam media yang telah ditumbuhi bakteri yang diletakkan di dalam tabung *cryogenic* (vial) sebagai agen kriopreservan dengan konsentrasi berkisar antara 15-20% v/v untuk memberikan perlindungan terhadap pembekuan dan mempertahankan viabilitas selama penyimpanan beku. Kultur bakteri yang telah ditambahkan gliserol dan LB Broth dibagi ke dalam beberapa vial steril dengan meninggalkan cukup ruang kosong di vial untuk menghindari kerusakan akibat ekspansi saat membeku. Kemudian memberi penamaan dengan label yang mencakup informasi rinci seperti jenis bakteri, tanggal, dan kondisi penyimpanan. Vial-vial tersebut diletakkan dalam pendingin atau alat pembekuan cepat yang sesuai untuk membekukan kultur. Pembekuan cepat dapat membantu meminimalkan kerusakan sel selama proses pembekuan. Kultur diletakkan dalam *freezer* dengan suhu yang sangat rendah dibawah -18 °C. Prosedur ini bertujuan untuk mempertahankan isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dalam kondisi

penyimpanan yang lama, memudahkan distribusi, dan memfasilitasi pemulihan bakteri untuk penelitian lebih lanjut atau aplikasi di masa depan.



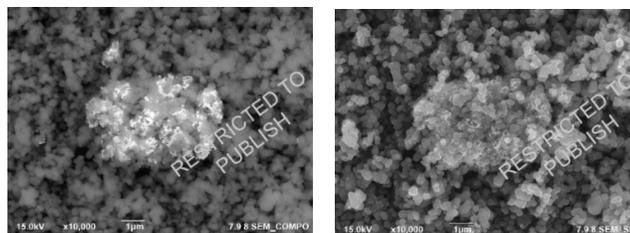
Gambar 5. 4 Ilustrasi Tahapan Membuat Isolat Bakteri

5.1.2 Karakterisasi Nanopartikel Ag/TiO₂

Nanopartikel yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh melalui proses sintesis. Pembuatan nanopartikel perak dilakukan dengan metode reduksi sintesis nanopartikel perak dengan dibuat sebanyak 50 ml, direplikasi sebanyak 3 kali (AgNP 1, AgNP 2, dan AgNP 3). Pembuatan nanopartikel perak dilakukan dengan metode reduksi kimia dengan cara mereaksikan 50 ml larutan AgNO₃ 0,001 M dengan 5 ml larutan natrium sitrat (Na₃C₆H₅O₇) 1%. Larutan AgNO₃ dipanaskan hingga mendidih dengan suhu 100 °C, kemudian ditambahkan natrium sitrat (Na₃C₆H₅O₇) tetes demi tetes hingga habis dengan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Pemanasan dihentikan saat larutan mulai berubah warna menjadi kuning, namun terus diaduk hingga suhunya sama dengan suhu ruang. Pembentukan nanopartikel perak dapat diamati secara visual tampak larutan berwarna kuning hingga kemerahan. Nanopartikel perak memiliki sifat karakteristik teroksidasi dan

mudah mengalami aglomerasi satu sama lain sehingga dibutuhkan stabilisator pada saat proses sintesis. Dalam sintesis ini menggunakan pereduksi natrium sitrat yang juga berfungsi sebagai stabilisator, sehingga tidak diperlukan zat stabilisator tambahan (Ristian 2013).

Karakterisasi dengan SEM dan TEM menghasilkan data sebagai berikut. Dari hasil SEM menunjukkan nanopartikel Ag/TiO₂ mempunyai bentuk *pseudo-cube* dan terdispersi tunggal. Logam yang didopping dengan TiO₂ berwarna hitam keabuan. Hasil tersebut juga didukung dengan hasil SEM yang menunjukkan Ag/TiO₂ mempunyai ukuran partikel yang lebih kecil dibandingkan TiO₂ murni.



Gambar 5. 5 SEM Nanopartikel TiO₂ yang didoping dengan Ag

Metode reduksi kimia nanopartikel perak pada permukaan TiO₂ merupakan salah satu teknik yang paling sederhana yang digunakan untuk pembuatan nanopartikel Ag/TiO₂ dengan ukuran, bentuk, dan penyebaran yang optimal (Suriati *et al.*, 2014). Prinsip dasar dari metode ini melibatkan adsorpsi prekursor perak pada permukaan nanopartikel TiO₂ dengan bantuan zat pereduksi seperti natrium sitrat, natrium borohidrida, dan pereaksi organik lainnya yang kemudian diikuti dengan proses reduksi kimia (Zhou *et al.*, 2015). Sebagai contoh, TiO₂ yang telah diendapkan dengan partikel Ag berhasil dibentuk melalui metode reduksi kimia menggunakan reaktor semi-batch penghancuran bakteri (Do *et al.*, 2006). Langkah awal dari metode ini adalah dengan penambahan kandungan perak nitrat dan

natrium dodesil sulfat yang berperan sebagai zat pereduksi ke dalam suspensi TiO₂. Setelah proses pencampuran, endapan TiO₂ yang mengandung Ag terbentuk dengan memasukkan larutan berair hidrazin hidrat menggunakan pompa umpan mikro. Nanopartikel TiO₂ yang telah mengendap dengan Ag kemudian mengalami proses kalsinasi pada suhu 500 °C. Hasil pengamatan menggunakan mikroskop SEM memverifikasi adanya endapan nanopartikel perak berukuran 5 nm pada permukaan TiO₂, sebagaimana terlihat pada Gambar 5. 5.

5.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

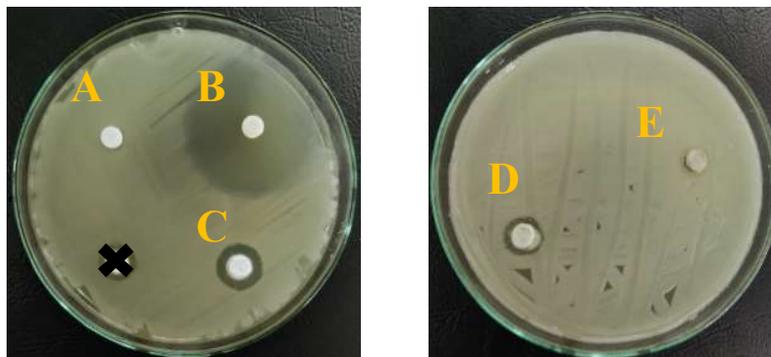
5.2.1 Uji Kirby Bauer

Pada uji aktivitas antibakteri digunakan bakteri uji berupa *Klebsiella pneumoniae* MDR yang merupakan golongan bakteri gram negatif dan bersifat resisten terhadap beberapa golongan antibiotik. Penggunaan bakteri ini bertujuan untuk mengetahui spektrum dari senyawa antibakteri yang terdapat pada nanopartikel Ag/TiO₂. Suatu zat dikatakan berspektrum luas apabila dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, dan berspektrum sempit apabila hanya menghambat salah satu dari golongan bakteri (Rahmadhany, 2022).

Pada penelitian ini, uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan dua metode yaitu metode kertas cakram (*Kirby Bauer*) dan metode *Time Kill Assay*. Metode *Kirby Bauer* merupakan metode yang paling sering digunakan oleh para peneliti dalam melakukan eksperimen uji aktivitas antibakteri dari suatu senyawa. Metode ini menjadi metode paling umum digunakan karena dianggap paling mudah dan tidak membutuhkan banyak waktu untuk mendapatkan hasilnya. Metode *Kirby Bauer* ini dilakukan dengan menempelkan kertas cakram yang ukuran ± 6 mm yang

telah direndam dalam beberapa material, yaitu nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻² M, nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻³ M, TiO₂, kontrol positif dan kontrol negatif. Kertas cakram tersebut kemudian diletakkan pada media MHA yang sebelumnya telah ditanam dengan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Kontrol positif yang digunakan adalah meropenem injeksi 1 gram yang dicerkan dengan 20 ml aquades dengan konsentrasi 50 mg/ml dan kontrol negatif berupa LB Broth. Hasil dari uji aktivitas antibakteri *Kirby Bauer* adalah dengan terbentuknya zona bening pada daerah sekitar cakram dalam.

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 *Muller Hinton Agar* (MHA) yang telah diinokulasikan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dan ditanamkan masing-masing konsentrasi perlakuan nanopartikel Ag/TiO₂ setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

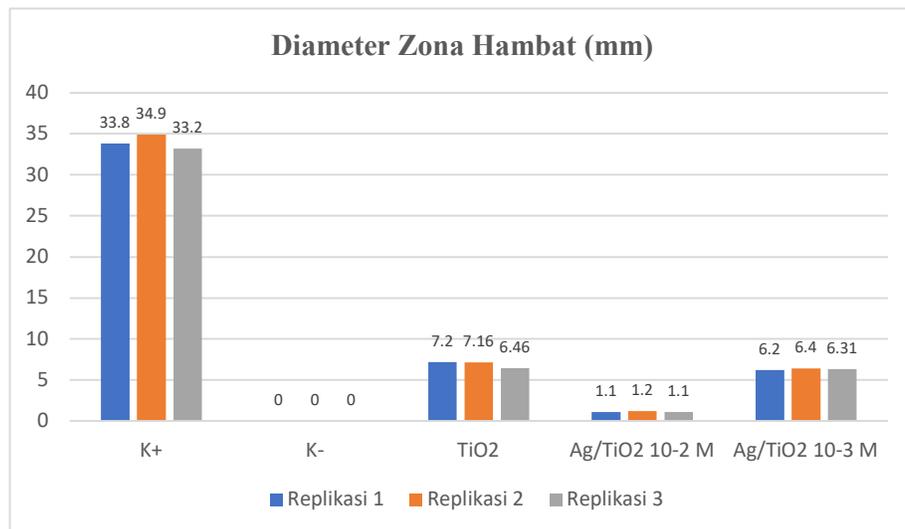


Gambar 5. 6 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR
Keterangan: A = K- (LB Broth); B = K+ (meropenem);
C = TiO₂; D = Ag/TiO₂ 10⁻³ M; E = Ag/TiO₂ 10⁻² M

Dari pengamatan metode difusi cakram (Gambar 5.6) dengan terdiri dari kontrol positif (meropenem), kontrol negatif (LB Broth), senyawa TiO_2 , nanopartikel Ag/TiO_2 konsentrasi 10^{-2} M dan 10^{-3} M didapatkan hasil diameter zona hambat yang ditampilkan pada Tabel 5.1. Diameter zona hambat pada masing-masing bahan uji diukur menggunakan jangka sorong dan kemudian dikurangi dengan diameter cakram (± 6 mm) untuk mendapatkan hasil diameter zona hambat bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang sesungguhnya.

Tabel 5. 1 Pengamatan Zona Hambat Hambat Nanopartikel Ag/TiO_2 (mm) (setelah dikurangi diameter cakram)

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata	SD
	Pengukuran 1	Pengukuran 2	Pengukuran 3		
K+	33.80	34.90	33.20	33.96	0.70
K-	0	0	0	0	0
TiO_2	7.20	7.16	6.46	6.94	0.34
Ag/TiO_2 10^{-2} M	1.10	1.20	1.10	1.13	0.05
Ag/TiO_2 10^{-3} M	6.20	6.40	6.31	6.30	0.08



Gambar 5. 7 Grafik Zona Hambat *Klebsiella pneumoniae* MDR

Diameter zona hambat terbesar ada pada kontrol positif yang memiliki rata-rata 33.96 mm, disusul oleh senyawa TiO_2 yang memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 6.94 mm. Kemudian pada sampel perlakuan yaitu nanopartikel Ag/ TiO_2 dengan konsentrasi 10^{-2} M dan 10^{-3} M berturut-turut memiliki rata-rata diameter zona hambat sebesar 1.13 mm dan 6.30 mm. Sedangkan kontrol negatif (LB Broth) tidak memiliki zona hambat (0 mm). Hal ini dapat disimpulkan bahwa kontrol positif memiliki diameter paling besar dan sampel Ag/ TiO_2 konsentrasi 10^{-2} berdiameter paling kecil (Gambar 5. 7).

Berdasarkan hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri dari material nanopartikel Ag/ TiO_2 terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR secara *in vitro* metode difusi cakram dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter zona hambat (mm) terbesar ditemukan pada kontrol positif meropenem (33.96 mm), disusul oleh senyawa TiO_2 (6.94 mm), kemudian nanopartikel Ag/ TiO_2 konsentrasi 10^{-3} M (6.30 mm), nanopartikel Ag/ TiO_2 konsentrasi 10^{-2} (1.13 mm), dan terakhir kontrol negatif LB Broth (0 mm).

Menurut CLSI (2016), meropenem dianggap sensitif terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan diameter zona hambat lebih dari 22 mm, intermediet jika diameter zona hambat 15-21 mm, dan resisten jika diameter zona hambat kurang dari 14 mm, termasuk diameter cakram. Dari penelitian yang dilakukan oleh Hapsari (2020), meropenem menghasilkan zona hambat terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR lebih dari 23 mm. Salukanan (2018) menjelaskan bahwa meropenem lebih sensitif terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan persentase 49% dibandingkan dengan bakteri *Pseudomonas*

aeruginosa (32%) dan *Acinetobacter baumannii* (19%). Pada penelitian ini, jika dilihat data diameter zona hambat pada kontrol positif didapatkan bahwa diameter yang diukur dengan diameter cakram antibiotik adalah 39-41 mm. Berdasarkan mekanisme kerjanya, meropenem dianggap dapat membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Meropenem merupakan antibiotik golongan karbapenem yang berspektrum luas dan mampu menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan menghambat *Penicillin Binding Protein* (PBP) yang biasanya terlibat dalam pembentukan lapisan peptidoglikan yang melapisi sebagian besar bakteri. Cincin beta laktam pada antibiotik ini menyerupai bagian D-alanil D-alanin yang biasanya diikat oleh PBP dalam rantai samping peptida. Akibatnya, antibiotik beta laktam berinteraksi dengan PBP dan mengganggu sintesis peptidoglikan baru. Gangguan pada lapisan peptidoglikan tersebut menyebabkan lisis bakteri (Anggita, dkk., 2022).

Pada beberapa penelitian, dilaporkan bahwa antibiotik meropenem dapat menghambat hingga 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR (Sinanjung *et al.*, 2020). Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Handi (2020) yang menyebutkan bahwa isolat *Klebsiella pneumoniae* memiliki sensitivitas yang baik terhadap meropenem (98,43%). Menurut Permenkes RI Nomor 8 Tahun 2015 disebutkan bahwa sensitivitas suatu antibiotik dapat dikatakan baik apabila mempunyai sensitivitas $\geq 80\%$. Maka meropenem sensitif terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dan cocok digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini. Dalam hal ini, meropenem dipilih sebagai kontrol positif dalam pengujian sensitivitas agen antibakteri yakni

nanopartikel Ag/TiO₂ untuk memastikan keakuratan hasil dari aktivitas antibakteri dari nanopartikel tersebut. Selain itu, meropenem dipilih karena efektivitasnya terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR sehingga cocok dijadikan sebagai acuan untuk mengevaluasi kerentanan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR terhadap senyawa nanopartikel Ag/TiO₂.

Hasil penelitian yang diperoleh pada penelitian ini kemudian diuji secara statistik. Pada uji homogenitas dan normalitas, kelompok varian data penelitian dikatakan tidak homogen dan tidak berdistribusi normal yang ditandai dengan nilai sig. dari kedua uji tersebut menunjukkan nilai $p < 0,05$. Sehingga pada penelitian ini analisis statistik yang digunakan adalah nonparametrik. Uji yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis* yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri pada setiap pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ dalam dua konsentrasi terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Ditinjau dari hasil uji *Mann-Whitney*, diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan melalui perbandingan pemberian antar dua sampel. Sehingga dapat disimpulkan bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR pada dua konsentrasi uji pada penelitian ini. Selain itu, pada uji ini didapatkan hasil bahwa konsentrasi nanopartikel Ag/TiO₂ yang paling efektif adalah nanopartikel dengan konsentrasi 10⁻³ M. Adanya bukti aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR pada penelitian ini serupa dengan hasil yang diperoleh oleh Siddique *et al.* (2020). Dalam penelitiannya dibuktikan dengan munculnya zona hambat disekitar cakram pada kisaran 12-37 mm setelah pemberian nanopartikel

perak dan menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa nanopartikel perak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

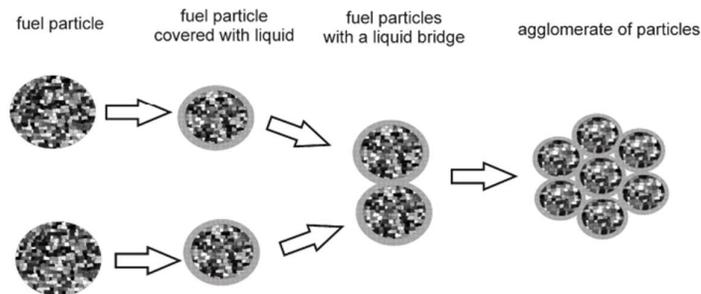
Terbentuknya zona hamhat ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap pertumbuhan bakteri *Klbesiella pneumoniae* MDR. Penelitian eksperimental mikrobiologi terdahulu menunjukkan bahwa diameter zona hambat nanopartikel Ag/TiO₂ pada beberapa bakteri gram negatif, salah satunya bakteri *Escherichia coli* adalah 38 mm dengan konsentrasi 2 M (Barudin *et al.*, 2013). Sementara penelitian Qi dan Hong (2018) menyatakan bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ menunjukkan terbentuknya zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* sebesar 15 mm pada konsentrasi 0,5 M. Selain itu, Qi dan Hong (2018) juga melakukan penelitian aktivitas antibakteri dari nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan didapatkan hasil zona hambat sebesar 34 mm pada konsetrasi 0,5 M. Pada penelitian yang dilakukan oleh Saoki Rahmamn (2017) menyebutkan bahwa dari hasil uji aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ pada konsentrasi 5%, 7%, dan 9% dengan konsentrasi material 0,02 gr/10 mL tanpa disinari sinar UV menunjukkan adanya kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan nilai zona hambat masing-masing 4,9 mm, 2,6 mm, dan 3,8 mm. Hal ini menandakan keselarasan antara hasil penelitian ini dengan penelitian terdahulu namun menghasilkan zona hambat yang lebih rendah.

Berdasarkan analisis data yang telah dilakukan, diperoleh hasil bahwa senyawa TiO₂ menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi terhadap bakteri

Klebsiella pneumoniae MDR jika dibandingkan dengan nanopartikel Ag/TiO₂. Peningkatan aktivitas antibakteri senyawa TiO₂ terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dibandingkan dengan nanopartikel Ag/TiO₂ dianggap dapat terjadi dikarenakan oleh beberapa faktor. Beberapa diantaranya adalah sifat fisikokimia dari nanopartikel tersebut. Sifat fisikokimia dari nanopartikel tersebut memiliki peran utama dalam berinteraksi dengan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Ukuran partikel, distribusi, dan komposisi permukaan dapat memengaruhi kemampuan nanopartikel untuk menembus membran sel bakteri dan berinteraksi secara efektif. Nanopartikel dengan ukuran yang lebih kecil cenderung memiliki area permukaan yang lebih luas sehingga meningkatkan luas area untuk kontak dengan bakteri serta meningkatkan efektivitas sebagai antibakteri (Mardikani, 2019). Selain itu, muatan listrik pada permukaan partikel atau zeta potential juga berpengaruh karena dapat memengaruhi interaksi elektrostatis dengan membran sel bakteri. Partikel yang bermuatan dapat berinteraksi dengan membran bakteri yang bermuatan berlawanan kemudian mengganggu integritas membran dan mengakibatkan kematian bakteri. Menurut Riski (2019), saat nanopartikel perak kontak dengan bakteri, maka partikel perak akan mempengaruhi metabolisme sel dan menghambat pertumbuhan sel. Partikel perak melakukan penetrasi dalam membran sel kemudian mencegah sintesis protein, selanjutnya terjadi penurunan permeabilitas membran, dan pada akhirnya akan menyebabkan kematian sel.

Secara umum diharapkan dengan makin kecilnya ukuran partikel, koloid akan lebih stabil karena rendahnya gaya gravitasi pada partikel sehingga partikel tidak mudah mengendap (Mujamilah dan Sulungbudi, 2013). Namun, ukuran partikel

yang semakin kecil belum tentu juga memiliki stabilitas yang baik. Hal tersebut disebabkan oleh suatu nanopartikel memiliki kecenderungan untuk beraglomerasi. Partikel berukuran nanometer memiliki *surface* area spesifik yang sangat besar. Pada *surface* area yang besar ikatan kimia antar partikel membentuk dipol listrik yang kuat sehingga dapat beraglomerasi (Ariyanta, 2014).



Gambar 5. 8 Ilustrasi Aglomerasi Partikel (Donskoy, 2023)

Aglomerasi merupakan suatu proses penggabungan partikel-partikel padat bahan yang berukuran kecil menjadi partikel-partikel padat yang lebih besar (Gafar, 2018). Aglomerasi nanopartikel mengakibatkan penurunan aktivitas kimia dan fisiknya sehingga menghambat efisiensinya dalam kinerja aktivitas antibakteri dikarenakan aglomerasi dapat mengurangi luas permukaan spesifik nanopartikel dan adanya pembentukan aglomerat ini menghambat distribusi nanopartikel (Korayem et al., 2017). Komposisi kimia yang tidak merata pada permukaan aglomerat dapat mengurangi efisiensi antibakteri, terutama jika sebagian besar senyawa perak terperangkap di dalam aglomerat dan tidak dapat berinteraksi secara langsung dengan bakteri. Aglomerasi juga dapat mengurangi kemampuan fotokatalitik nanopartikel. Aktivitas fotokatalitik TiO_2 yang dapat meningkatkan efek antibakteri dapat terhambat karena redistribusi cahaya yang terjadi dalam

aglomerat. Senyawa TiO_2 memiliki sifat fotokatalitik yang signifikan memungkinkan pembentukan radikal oksigen aktif dan radikal hidroksil pada permukaan materi ketika terpapar cahaya. Mekanisme ini dapat memperkuat efek antibakteri dengan cara mengganggu integritas membran sel bakteri dan proses vital lainnya. Selain itu, faktor lingkungan juga dapat mempengaruhi aglomerasi. Variabilitas pH dan kelembaban lingkungan dapat memodulasi stabilitas dan aktivitas antimikroba dari kedua bahan dengan senyawa TiO_2 mungkin menunjukkan respons yang lebih konsisten atau efektif dalam kondisi tertentu (Rahman, 2017).

Terbentuknya zona hambat nanopartikel Ag/TiO_2 yang lebih kecil dibandingkan dengan senyawa TiO_2 bisa saja disebabkan oleh beberapa faktor yang berkaitan dengan sifat fotokatalitiknya. Intensitas radiasi UV yang tidak mencukupi dalam proses sintesis nanopartikel dapat menghambat aktivitas fotokatalisis karena nanopartikel memerlukan radiasi UV sebagai pemicu untuk mengaktifkan sifat fotokatalitiknya. Kondisi eksperimental yang minim pencahayaan atau intensitas radiasi yang rendah dapat mengurangi efektivitas fotokatalisis dan oleh karena itu menghambat terbentuknya zona hambat yang diharapkan. Selain itu, efektivitas reaksi fotokatalitik dalam menghasilkan spesies reaktif yang merusak (ROS), seperti radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$), merupakan faktor penting dalam aktivitas antibakteri. Jika reaksi fotokatalitik tidak berjalan efektif atau tidak menghasilkan jumlah ROS yang cukup, maka kemungkinan terbentuknya zona hambat menjadi terbatas (Chimal *et al.*, 2022). Faktor-faktor lingkungan seperti kelembaban, pH, dan suhu juga dapat memengaruhi aktivitas fotokatalitik sehingga kondisi yang

tidak mendukung dapat mengurangi efektivitas pembentukan zona hambat. Selain itu, pola aglomerasi partikel juga dapat menjadi faktor penghambat yang mengurangi efektivitas fotokatalisis (Ramadhani, 2023).

Di sisi lain, perbedaan aktivitas antibakteri ini dapat juga dipengaruhi oleh interaksi kimia dan mekanisme antimikroba yang terjadi pada nanopartikel Ag/TiO₂. Meskipun perak dikenal memiliki sifat antimikroba yang kuat, perbandingan rasio antara perak dan titanium dioksida dalam nanopartikel dapat mempengaruhi efisiensi antibakterinya. Pemilihan rasio yang optimal antara kedua bahan tersebut menjadi kritis untuk mencapai respons antimikroba yang optimal terhadap *Klebsiella pneumoniae* MDR (Rahman, 2017).

5.2.2 Uji *Time Kill Assay*

Metode *Time Kill Assay* adalah sebuah teknik yang diterapkan dalam penelitian ini untuk memeriksa efek bakterisidal dari zat tertentu terhadap bakteri. Metode ini memberikan pemahaman yang mendalam tentang seberapa cepat suatu zat dapat membunuh bakteri dengan melakukan penghitungan jumlah bakteri yang bertahan hidup dalam beberapa periode waktu setelah perlakuan. Dalam konteks penelitian, tujuan penerapan metode ini bervariasi tergantung pada aspek penelitian yang ingin diteliti. Beberapa tujuan umum meliputi mengevaluasi sensitivitas bakteri terhadap zat uji, mengidentifikasi konsentrasi optimal zat untuk mengurangi jumlah bakteri, serta menentukan konsentrasi zat yang dapat secara efektif mengurangi jumlah bakteri dengan tingkat efikasi tertentu (Mulyaningsih, dkk., 2022). Meskipun metode ini memiliki keunggulan dalam mengungkap efektivitas bakterisidal suatu zat dan menentukan konsentrasi yang tepat untuk mengurangi

jumlah bakteri, terdapat pula beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan, seperti waktu yang dibutuhkan untuk melaksanakan pengujian yang cukup lama dan kompleksitas teknis yang memerlukan keahlian khusus. Oleh karena itu, keputusan untuk menggunakan metode *Time Kill Assay* dalam penelitian ini didasarkan pada keunggulan metode ini dalam mengevaluasi efek bakterisidal zat yang diuji kemampuannya dalam menilai kecepatan bakterisidal dari zat tersebut dan kemampuannya dalam menentukan konsentrasi yang efektif untuk mengurangi jumlah bakteri yang semuanya merupakan pertimbangan penting dalam konteks penelitian ini.

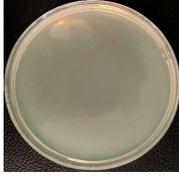
Time Kill Assay dilakukan pada setiap medium menggunakan medium MHA. Metode ini merupakan metode modifikasi yang dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas agen antibakteri Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan mengamati perubahan jumlah bakteri seiring waktu. Dalam uji ini, agen antibakteri diaplikasikan pada kultur bakteri kemudian sampel diambil dan ditetaskan pada media MHA sebanyak 0,1 ml dengan metode *spread plate* lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Hal ini dilakukan secara berkala pada beberapa rentang waktu inkubasi, yaitu pada menit ke-20 (0 jam), 1 jam, 6 jam, dan 24 jam setelah inkubasi untuk mengukur jumlah bakteri yang tersisa (Ustun *et al.*, 2013).

Rentang waktu ini dipilih dengan pertimbangan karakteristik bakteri dan tujuan penelitian. Pada interval 0 jam (20 menit), penelitian menggunakan periode waktu singkat ini untuk mengevaluasi efek antibakteri awal dari zat yang diuji. Pada interval ini, sampel diamati apakah ada penurunan jumlah koloni bakteri segera

setelah aplikasi zat. Sedangkan interval 1 jam dipilih untuk melihat efek antibakteri setelah interaksi yang lebih lama dengan bakteri dan memberikan gambaran apakah efek tersebut masih berlanjut atau mulai menurun (Balouiri *et al.*, 2016). Interval 6 jam digunakan untuk mengevaluasi efek antibakteri pada periode pertengahan. Pada titik ini, efek yang mungkin tidak terlihat pada waktu yang lebih singkat dapat mulai terlihat dan dapat diamati jika terdapat penurunan signifikan jumlah koloni bakteri (Meliani, 2017). Waktu inkubasi 24 jam digunakan untuk mengevaluasi efek antibakteri secara keseluruhan, melihat apakah zat tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri dalam jangka waktu yang lebih lama (Fitria, dkk., 2018). Pemilihan rentang waktu inkubasi yang bervariasi ini memungkinkan pemahaman yang lebih baik tentang respons bakteri terhadap zat yang diuji pada berbagai tahap waktu yang berbeda. Informasi yang diperoleh dari *Time Kill Assay* menentukan sejauh mana agen antibakteri dapat menghambat (*bakteriostatik*) atau membunuh bakteri (*bakteriasidal*) serta menentukan profil dinamika interaksi antara agen antibakteri dan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

Tabel 5. 2 Pengamatan Jumlah Koloni Secara Visual

Sampel	20 menit	1 jam	6 jam	24 jam
Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M				
Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M				

Sampel	20 menit	1 jam	6 jam	24 jam
TiO ₂				
Kontrol Positif				
Kontrol Negatif				

Pengamatan visual dilakukan dengan melihat pertumbuhan koloni bakteri dengan menggunakan dasar gelap. Pengamatan visual ini dilakukan pada empat interval waktu, yaitu pada menit ke-20, 1 jam, 6 jam dan 24 jam masa inkubasi di masing-masing sampel.

Berdasarkan Tabel 5. 2, terlihat perubahan pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR pada sampel nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻² M di empat interval waktu. Adamenit ke-20 dan 1 jam masa inkubasi, didapatkan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang hampir menutupi seluruh permukaan media MHA. Sedangkan pada waktu inkubasi 6 jam, terlihat adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dari masa inkubasi sebelumnya. Setelah melalui inkubasi selama 24 jam, jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR pada sampel nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻² M tidak terlihat berbeda secara signifikan dengan masa inkubasi 6 jam. Dari hal tersebut, dapat diketahui bahwa pemberian agen antibakteri berupa nanopartikel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi

10^{-2} M tidak begitu memberikan pengaruh atau efektivitas yang signifikan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

Berbeda dengan nanopartikel Ag/TiO₂ 10^{-2} M, nanopartikel Ag/TiO₂ 10^{-3} M memberikan pengaruh yang lebih baik dalam membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Hal ini dibuktikan dengan adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang drastis pada setiap interval waktu. Dimana pada menit ke-20 masa inkubasi, jumlah koloni yang tumbuh jauh lebih sedikit dibandingkan dengan pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ 10^{-2} M. Bahkan perubahan yang menarik terlihat pada interval waktu ke-1 jam inkubasi, dimana terjadi penurunan yang signifikan dalam pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Sedangkan pada interval waktu ke-6 jam inkubasi terdapat adanya pertumbuhan koloni bakteri yang berkurang hingga hampir terlihat bersih dari pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Kemudian pada interval waktu ke-24 jam inkubasi, tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR sama sekali. Dari hasil penelitian yang telah didapatkan, diketahui bahwa pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ 10^{-3} M memberikan efektivitas antibakteri yang baik pada penghambatan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

Dalam penelitian ini juga melibatkan TiO₂ yang merupakan kontrol pembanding untuk menilai efektivitas antibakteri dari sampel nanopartikel Ag/TiO₂. Hal ini dilakukan dengan membandingkan hasil antara TiO₂ murni dengan nanopartikel Ag/TiO₂ sehingga dapat ditentukan apakah penambahan Ag dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dibandingkan dengan TiO₂ murni (Dorman *et*

al., 2018). Selain itu, dalam penelitian ini menyertakan TiO₂ murni untuk mengetahui mekanisme aksi dari kombinasi nanopartikel Ag/TiO₂ (Swamy *et al.*, 2016). TiO₂ diketahui dapat menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) dibawah cahaya yang berkontribusi terhadap efek antibakteri. Dengan membandingkan TiO₂ dengan nanopartikel Ag/TiO₂, dapat diketahui apakah dan bagaimana Ag memperkuat atau memodifikasi mekanisme nanopartikel tersebut (Akiyama *et al.*, 2021). Berdasarkan Tabel %. 1, pada interval waktu ke-20 menit, 1 jam dan 6 jam masa inkubasi, terlihat adanya pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang hampir menutupi seluruh permukaan MHA (*spreader*). Sedangkan pada interval waktu inkubasi ke-24 jam, sampel menghasilkan jumlah koloni lebih sedikit dibandingkan dengan interval waktu sebelumnya.

Dalam metode ini, kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik Meropenem. Meropenem merupakan antibiotik yang sangat efektif dan berspektrum luas yang biasa digunakan sebagai standar untuk memastikan bahwa metode uji yang digunakan mampu mendeteksi aktiitas antibakteri (Dwyana *et al.*, 2013).

Seperti yang terlihat pada Tabel 5. 2, hasil dari inkubasi sampel kontrol positif pada interval waktu ke-20 menit dan 1 jam terdapat sangat sedikit koloni bakteri yang tumbuh bahkan hampir terlihat bersih. Sedangkan pada masa inkubasi ke-6 dan 24 jam sama sekali tidak terlihat adanya pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Hal ini menunjukkan bahwa Meropenem berhasil menghambat pertumbuhan bakteri secara efektif dan mengindikasikan bahwa prosedur uji yang digunakan valid dan berfungsi dengan baik (Bialon *et al.*, 2017).

Metode ini juga melibatkan kontrol negative sebagai pembanding yang menunjukkan kondisi saat media MHA tidak terpapar oleh agen antibakteri. Kontrol negative yang digunakan adalah LB Broth yang telah disuspensikan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. LB Broth merupakan media pertumbuhan normal bakteri sehingga dapat melihat bagaimana bakteri tumbuh dalam kondisi normal tanpa paparan agen antibakteri (Ramadhanie *et al.*, 2020). Dari hasil penelitian, terlihat bahwa pada keempat interval waktu inkubasi (20 menit, 1 jam, 6 jam, 24 jam), pada kontrol negative terjadi pertumbuhan secara signifikan koloni bakteri yang menutupi seluruh permukaan MHA yang menunjukkan adanya kondisi mendukung pertumbuhan bakteri, terutama pada kondisi tertentu yang memungkinkan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR untuk berkembang. Hal ini terjadi karena tidak adanya faktor atau hal yang dapat menghalangi pertumbuhan bakteri.

Dari hasil pengamatan secara visual, dapat disimpulkan bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻³ M lebih efektif dalam membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dibandingkan dengan nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻² M. Hal ini dibuktikan dengan perbandingan jumlah koloni dari kedua sampel tersebut. Dimana nanopartikel Ag/TiO₂ tidak begitu memberikan hasil penurunan jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR pada setiap interval waktu inkubasi. Bahkan pada masa inkubasi di menit 1-20 dan 1 jam, sampel tersebut menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri yang sangat padat dan hampir menutupi seluruh permukaan MHA (*spreader*). Pada hal ini menandakan bahwa kemampuan nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻² M dalam menghambat atau membunuh bakteri

Klebsiella pneumoniae MDR sangat rendah. Berbanding terbalik dengan nanopartikel Ag/TiO₂10⁻³ M yang sangat efektif dalam menghambat bahkan membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Bahkan pada menit ke-20 menit masa inkubasi, koloni bakteri yang tumbuh sangat sedikit. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR data dibunuh maksimal dengan antibiotik Meropenem dan nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻³ M padarentang waktu inkubais 24 jam. Hal ini dapat disimpulkan bahwa efek antimikroba dari nanopartikel Ag/TiO₂ akan lebih efektif pada konsentrasi yang lebih rendah.

Pada penelitian ini, juga terdapat beberapa kendala yang muncul dalam metode *Time Kill Assay* untuk menguji aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Salah satu kendala utama yang diamati adalah munculnya bercak-bercak cairan berbentuk seperti pulau-pulau pada permukaan media MHA (Müller-Hinton Agar) di cawan petri. Contoh fenomena tersebut dapat dilihat pada Gambar 5. 9.



Gambar 5. 9 Bercak Cair pada Permukaan MHA

Fenomena ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu: (1) pengenceran sampel yang tidak merata atau tidak homogen dapat menyebabkan distribusi bakteri yang tidak merata di sepanjang permukaan MHA. Hal ini mengakibatkan terbentuknya bercak cairan atau pulau-pulau bakteri yang sulit dihitung dengan akurat karena koloni tidak tersebar secara konsisten (Gang Joon, 2019), (2) teknik

penanaman yang kurang tepat (Balouri *et al.*, 2016). Teknik penanaman yang tidak dilakukan dengan hati-hati dan teliti, seperti penggunaan alat penanam yang tidak steril atau tekanan tangan yang tidak konsisten saat menyebar sampel pada media juga dapat menyebabkan pembentukan bercak cairan (Hudzicki, 2016), (3) kelebihan volume sampel yang dituangkan ke dalam cawan petri dapat menyebabkan penumpukan cairan dan membentuk bercak pada permukaan MHA (Adityawarman, 2017), (4) kontaminasi yang tidak terdeteksi juga dapat menyebabkan pertumbuhan koloni yang tidak teratur dan munculnya bercak cairan (Li *et al.*, 2015), (5) ketidakstabilan lingkungan selama percobaan, seperti suhu dan kelembapan yang tidak stabil, dapat mempengaruhi pembentukan koloni bakteri yang konsisten (Balouiri *et al.*, 2016).

Untuk mengatasi masalah ini, penting untuk memperhatikan beberapa langkah. Prosedur pengenceran sampel harus dilakukan secara homogen dan merata untuk memastikan distribusi bakteri yang konsisten sebelum penanaman (Adusei *et al.*, 2019). Teknik penanaman harus dilakukan dengan hati-hati dan teliti menggunakan alat penanam yang steril dan tekanan tangan yang konsisten saat menyebar sampel pada media. Selain itu, volume sampel yang dituangkan harus sesuai dengan kapasitas cawan petri untuk menghindari penumpukan cairan (Rahmad, 2020). Kemudian langkah-langkah pencegahan kontaminasi, seperti penggunaan alat-alat steril dan lingkungan kerja yang bersih, juga harus diterapkan secara ketat. Pemantauan kondisi lingkungan, seperti suhu dan kelembapan, selama percobaan juga sangat penting untuk memastikan kondisi yang konsisten (Amla *et al.*, 2018).

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk mengimplementasikan langkah-langkah di atas secara ketat guna menghindari munculnya fenomena bercak cairan pada permukaan MHA. Protokol teknis perlu diperbaiki agar dapat meminimalisir adanya gangguan atau kontaminasi bahan penelitian dari lingkungan luar. Selain itu, perlunya mendalami dan memahami teknik penanaman yang benar agar tidak terjadi kesalahan saat melakukan penelitian. Dengan demikian, hasil dari metode *Time Kill Assay* dapat lebih akurat dan andal dalam mengevaluasi efek bakterisidal dari nanopartikel yang diuji.

Fenomena lain yang terjadi pada penelitian ini adalah terbentuknya *spreader* pada beberapa sampel seperti pada Gambar 5. 10.



Gambar 5. 10 Fenomena *Spreader*

Fenomena ini muncul dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri yang hampir menutupi seluruh permukaan media MHA (Müller-Hinton Agar, yang disebut sebagai "*spreader*"). *Spreader* adalah pertumbuhan koloni bakteri yang sangat luas dan menyebar hingga menutupi sebagian besar atau seluruh permukaan agar (Rahmad, 2018). Ciri-ciri *spreader* meliputi koloni yang tersebar secara merata atau tidak merata di seluruh permukaan media mengakibatkan kesulitan dalam penghitungan koloni karena koloni tidak dapat dibedakan satu sama lain dengan jelas (Hugo and Russell, 2003).

Faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan ini adalah kualitas permukaan MHA. Media dengan permukaan yang kasar dapat memungkinkan bakteri untuk tumbuh lebih mudah dan membentuk biofilm. Biofilm ini terkumpul dan terpadu, membentuk koloni yang padat dan menyatu (Prasetya et al., 2021). Selain itu, tipe bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang resisten terhadap antibiotik juga berkontribusi pada pertumbuhan yang tidak terkendali. Bakteri ini cenderung tumbuh dengan cepat dan padat terutama jika media agar mengandung nutrisi yang melimpah, menyediakan sumber makanan yang cukup bagi bakteri untuk berkembang biak (Solikhah et al., 2018).

Kondisi lingkungan yang ideal seperti suhu, kelembapan, dan pH yang sesuai merupakan peran penting dalam mendukung pertumbuhan cepat dan padat dari koloni bakteri. Suhu yang optimal, kelembapan yang cukup, dan pH yang mendukung dapat meningkatkan laju pertumbuhan bakteri secara signifikan (Prasetya et al., 2021).

Tabel 5. 3 Frekuensi Pertumbuhan Koloni

Interval Waktu	Ag/TiO₂ 10⁻²M	Ag/TiO₂ 10⁻³M	TiO₂	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
20 menit	97%	1%	99%	1%	99%
1 jam	99%	0%	99%	0%	99%
6 jam	60%	0%	98%	0%	97%
24 jam	46%	0%	80%	0%	99%

Untuk mengatasi masalah ini, beberapa langkah dapat diambil. Perlu memastikan bahwa permukaan media MHA halus dan konsisten untuk mencegah pembentukan biofilm yang berlebihan. Kemudian penggunaan media agar dengan konsentrasi nutrisi yang sesuai dan tidak berlebihan dapat membantu mengontrol pertumbuhan bakteri (Raznouf et al., 2020). Selain itu, pengendalian kondisi

lingkungan seperti suhu, kelembapan, dan pH selama percobaan sangat penting untuk memastikan bahwa pertumbuhan bakteri tetap terkendali (Nadya, 2022).

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk melakukan uji coba awal dengan berbagai konsentrasi nutrisi pada media agar untuk menentukan kadar optimal yang tidak menyebabkan pertumbuhan bakteri yang berlebihan. Selain itu, perlu juga dilakukan pengawasan ketat terhadap kondisi lingkungan laboratorium untuk memastikan bahwa semua variabel yang dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri tetap dalam batas yang diinginkan. Dengan penerapan langkah-langkah ini, diharapkan hasil dari metode *Time Kill Assay* dapat lebih akurat dan dapat diandalkan dalam mengevaluasi efek antibakteri dari nanopartikel yang diuji.

CFU/ml atau *Colony Forming Units per milliliter* adalah suatu satuan yang digunakan dalam biologi mikroba untuk mengukur jumlah bakteri atau mikroorganisme dalam suatu sampel. Penggunaan CFU/ml dalam penelitian mikrobiologi penting karena memberikan gambaran kuantitatif yang spesifik tentang kepadatan bakteri dalam larutan atau sampel tertentu. Dalam metode *Time Kill Assay*, penggunaan CFU/ml memungkinkan para peneliti untuk mengukur efek antibakteri dari suatu zat atau senyawa dengan cara yang terstandarisasi dan terukur. Konversi jumlah koloni bakteri menjadi CFU/ml dilakukan untuk memberikan representasi yang lebih akurat tentang konsentrasi bakteri dalam sampel, sehingga memungkinkan perbandingan yang lebih mudah antara hasil percobaan yang berbeda. Dengan kata lain, CFU/ml memberikan gambaran tentang seberapa padat bakteri dalam sampel tersebut. Rentang jumlah koloni 30-300 koloni merupakan standar dalam penelitian mikrobiologi untuk menentukan apakah hasil

percobaan dianggap valid secara statistik. Rentang ini didasarkan pada pertimbangan statistik bahwa jumlah koloni bakteri di bawah 30 mungkin tidak memberikan hasil yang cukup signifikan secara biologis, sementara jumlah di atas 300 dapat menyebabkan hasil yang terlalu padat untuk dihitung dengan akurat dan dapat menghasilkan hasil yang terlalu variabel. Dengan memastikan jumlah koloni bakteri berada dalam rentang 30-300, dapat dipastikan bahwa hasil percobaan memberikan data yang konsisten, signifikan secara statistik, dan dapat dipercaya (Sundari and Fadhliani, 2019). Maka dari itu, dalam penelitian ini penggunaan CFU/ml sangat penting dalam mengevaluasi efek suatu zat terhadap pertumbuhan bakteri dan dalam membuat kesimpulan yang akurat tentang efektivitasnya sebagai agen antibakteri.

Dari pengamatan metode *Time Kill Assay* yang terdiri dari kontrol positif, kontrol negatif, senyawa TiO₂, nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M yang didapatkan hasil jumlah koloni bakteri menggunakan *colony caounter* dan CFU/ml yang ditampilkan pada Tabel 5.2. Menurut Sukandar., *et al* (2010) bahwa sebaiknya jumlah koloni mikroba yang tumbuh dan dapat dihitung berkisar antara 30-300 koloni. Metode cawan dengan jumlah koloni yang tinggi (>300) sulit untuk dihitung sehingga kemungkinan kesalahan perhitungan sangat besar. Satuan yang digunakan untuk menyatakan jumlah koloni atau bakteri adalah cfu/mL (cfu = *colony forming units*) (Kadri, dkk., 2015). Jumlah koloni bakteri dari sampel dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{CFU/ml} = \frac{\Sigma \text{ koloni per cawan}}{\text{volume sampel} \times \text{faktor pengenceran}}$$

Hasil perhitungan CFU/ml per sampel dapat dilihat pada Tabel 5. 2. Dalam hal ini terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan ketika menghitung jumlah koloni bakteri dari sampel yaitu (Azizah dan Soesetyaningsih, 2020):

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 CFU/g (Sutton, 2011). Jika jumlah koloni tiap sampel lebih dari 300 CFU/g dikategorikan sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD) atau *too numerous to count* (TNTC) (Sukmawati dan Hardianti, 2018).
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu atau satu deret rantai koloni yang terikat sebagai suatu garis dihitung sebagai satu koloni.
3. Koloni yang tumbuh menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri, tidak disebut sebagai koloni melainkan *spreader*.
4. Jika hasil perbandingan jumlah bakteri dari hasil pengenceran berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya adalah < 2 maka hasilnya dirata-rata. Namun jika hasilnya ≥ 2 , maka menggunakan jumlah mikroba dari hasil pengenceran sebelumnya (pengenceran terkecil).

Tabel 5. 4 Perhitungan Jumlah Koloni Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR pada *colony counter*

Sampel	Waktu	Jumlah Koloni					CFU/ml	Keterangan
		Perhitungan			Rata-rata	SD		
		1	2	3				
Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	20 menit	843	844	848	845.00	2.65	8.45 x 10 ²	Spreader
	1 jam	790	799	799	796.00	5.20	7.96 x 10 ²	Spreader
	6 jam	400	402	405	402.33	2.52	4.02 x 10 ²	Spreader
	24 jam	90	86	85	87.00	2.65	0.87 x 10 ²	-
Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	20 menit	10	12	16	12.67	3.06	0.13 x 10 ²	-
	1 jam	4	4	4	4.00	0.00	0.04 x 10 ²	-
	6 jam	1	1	1	1.00	0.00	0.01 x 10 ²	-
	24 jam	0	0	0	0.00	0.00	0 x 10 ²	-
TiO ₂	20 menit	790	793	793	792.00	1.73	7.92 x 10 ²	Spreader
	1 jam	630	635	540	601.67	53.46	6.02 x 10 ²	Spreader
	6 jam	600	600	601	600.33	0.58	6.00 x 10 ²	Spreader
	24 jam	200	210	220	210.00	10.00	2.10 x 10 ²	-
Kontrol Positif (Meropenem)	20 menit	8	7	7	7.33	0.58	0.07 x 10 ²	-
	1 jam	2	2	2	2.00	0.00	0.02 x 10 ²	-
	6 jam	0	0	0	0.00	0.00	0	-

Sampel	Waktu	Jumlah Koloni				Rata-rata	SD	CFU/ml	Keterangan
		Perhitungan							
		1	2	3					
	24 jam	0	0	0	0.00	0.00	0	-	
Kontrol Negatif (Media + Bakteri)	20 menit	810	813	815	812.67	2.52	8.13×10^2	Spreader	
	1 jam	509	520	520	516.33	6.35	5.16×10^2	Spreader	
	6 jam	730	730	730	730.00	0.00	7.30×10^2	Spreader	
	24 jam	330	340	340	336.67	5.77	3.37×10^2	Spreader	

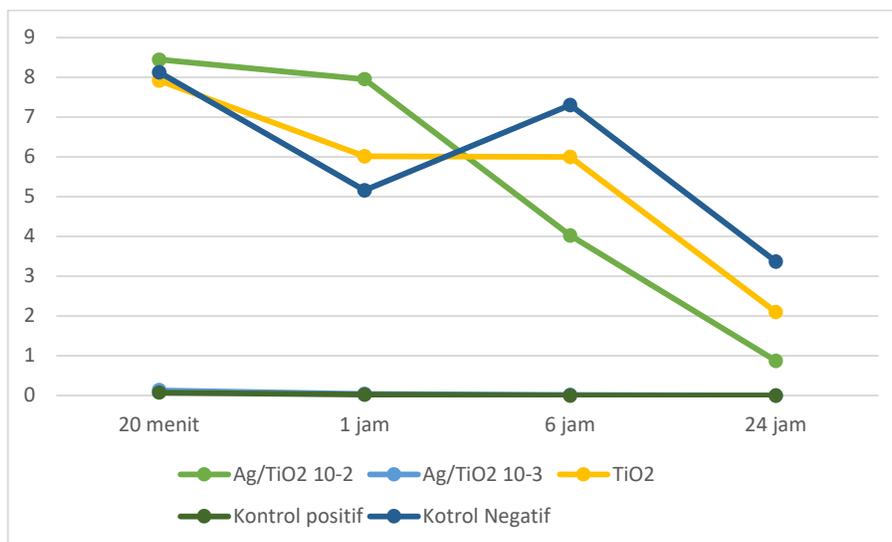
Hasil pengamatan dan analisis data uji aktivitas antibakteri dari material nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR secara *in vitro* dengan metode *Time Kill Assay* mengungkap pola yang menarik dan informatif. Dari data tersebut, dapat menarik beberapa kesimpulan yang penting dalam konteks penelitian ini.

Penelitian ini mengukur jumlah koloni bakteri dalam berbagai sampel dengan perlakuan dan konsentrasi bahan aktif yang berbeda pada interval waktu 20 menit, 1 jam, 6 jam, dan 24 jam. Pada sampel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻² M, jumlah koloni bakteri tercatat sebesar 845 pada 20 menit dan menurun bertahap menjadi 796 pada 1 jam, 402.33 pada 6 jam, dan mencapai 87 pada 24 jam, menunjukkan peningkatan efektivitas antibakteri seiring waktu. Pada konsentrasi 10⁻³ M, efek antibakteri sangat kuat sejak awal, dengan jumlah koloni 12.6 pada 20 menit, 4 pada 1 jam, 1 pada 6 jam, dan eliminasi total (0 koloni) pada 24 jam. Sebaliknya, sampel TiO₂ menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih lambat dengan jumlah koloni 792 pada 20 menit, menurun menjadi 601.67 pada 1 jam, 600.33 pada 6 jam, dan 210 pada 24 jam. Meropenem sebagai kontrol positif menunjukkan efek yang sangat kuat dengan jumlah koloni 7.33 pada 20 menit dan tersisa 2 koloni pada 1 jam inkubasi. Eliminasi total (0 koloni) dalam 6 jam hingga 24 jam inkubasi. Kontrol negatif (LB Broth) menunjukkan pertumbuhan bakteri yang tidak terhambat dengan jumlah koloni 812.67 pada 20 menit, sedikit menurun menjadi

516.33 pada 1 jam, meningkat kembali menjadi 730 pada 6 jam, dan mencapai 336.67 pada 24 jam.

Pada sampel yang menghasilkan nilai CFU dengan angka 0 menunjukkan bahwa agen tersebut berhasil membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri sampai pada tingkat di mana cawan tidak dapat membentuk koloni yang dapat dideteksi. Hal ini dapat diinterpretasikan sebagai indikasi bahwa agen antimikroba tersebut efektif dalam mengeliminasi bakteri yang diuji dalam kondisi eksperimental yang disimulasikan (Misra *et al.*, 2013).

Hasil ini menunjukkan bahwa Ag/TiO₂, terutama pada konsentrasi 10⁻³ M yang memiliki efek antibakteri yang signifikan, sementara TiO₂ juga efektif tetapi tidak sekuat Ag/TiO₂. Meropenem sangat efektif sebagai kontrol positif, dan LB Broth mendukung pertumbuhan bakteri sebagai kontrol negatif.



Gambar 5. 11 Grafik *Time Kill Assay*

Dari gambar grafik (Gambar 5. 11) di atas dapat dilihat secara pasti bagaimana bentuk dinamika perubahan jumlah koloni bakteri setiap interval waktu

percobaan sehingga dapat diketahui secara pasti sifat bakteriasidal (kemampuan agen membunuh bakteri secara langsung) ataupun bakteriostatik (kemampuan agen untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa membunuhnya secara langsung) masing-masing sampel terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

Dalam penelitian ini, dilakukan pengukuran jumlah koloni bakteri per unit volume menggunakan satuan CFU/ml (*Colony Forming Units per milliliter*) pada rentang waktu inkubasi yang berbeda. Pada sampel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻² M, terlihat bahwa jumlah koloni bakteri pada rentang waktu 20 menit mencapai 8.45 x 10² CFU/ml, namun mengalami penurunan pada rentang waktu 1 jam, 6 jam, dan 24 jam menjadi 7.96 x 10² CFU/ml, 4.02 x 10² CFU/ml, dan 0.87 x 10² CFU/ml secara berturut-turut. Hal ini menunjukkan bahwa adanya penurunan signifikan dalam jumlah koloni bakteri seiring berjalannya waktu inkubasi. Penurunan jumlah koloni bakteri ini bisa terjadi karena efek antibakteri dari zat yang diuji, yaitu Ag/TiO₂ yang mulai menunjukkan dampaknya terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR seiring berjalannya waktu. Selain itu, pada konsentrasi Ag/TiO₂ 10⁻³ M, terlihat bahwa pada rentang waktu 24 jam tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang dapat diamati menunjukkan bahwa zat tersebut efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Sementara itu, pada sampel TiO₂ terlihat bahwa jumlah koloni bakteri cenderung menurun dari 7.92 x 10² CFU/ml pada waktu inkubasi 20 menit menjadi 2.10 x 10² CFU/ml pada waktu inkubasi 24 jam. Penurunan ini menunjukkan potensi efek antimikroba dari senyawa TiO₂ terhadap bakteri, meskipun tidak

sekuat pada sampel Ag/TiO₂. Sedangkan pada kontrol positif, terlihat bahwa hanya terdapat koloni bakteri pada waktu inkubasi awal (20 menit) dan kemudian tidak ada pertumbuhan bakteri yang terdeteksi pada waktu inkubasi selanjutnya yang menunjukkan efektivitas yang tinggi sebagai agen antimikroba pada waktu awal.

Selanjutnya, kontrol negatif menunjukkan peningkatan jumlah koloni bakteri seiring dengan waktu inkubasi yang menandakan pertumbuhan bakteri yang tidak terhambat. Penurunan jumlah koloni bakteri dari waktu inkubasi awal hingga waktu inkubasi yang lebih lama pada sampel Ag/TiO₂ dan TiO₂ serta ketidakadaan pertumbuhan bakteri pada sampel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻³ M dan kontrol positif mengindikasikan efek antimikroba dari zat-zat tersebut. Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ dan senyawa TiO₂ memiliki sifat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Kashyap *et al.*, 2020). Kesimpulannya adalah hasil ini mendukung potensi penggunaan nanopartikel Ag/TiO₂ sebagai agen antimikroba dalam pengendalian infeksi bakteri.

Dalam hasil penelitian *Time Kill Assay*, terdapat variasi respons antibakteri dari masing-masing sampel yang diuji yang tercermin dari data jumlah CFU/ml pada rentang waktu inkubasi yang berbeda. Sampel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻² M dan TiO₂ menunjukkan jumlah CFU/ml yang awalnya tinggi, namun mengalami penurunan yang signifikan seiring berjalannya waktu. Hal ini dapat dijelaskan oleh aktivitas antibakteri dari kedua zat tersebut yang secara bertahap menghambat pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, sampel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻³ M dan kontrol positif menunjukkan efek antibakteri yang lebih kuat

dengan jumlah CFU/ml yang menurun secara drastis bahkan mencapai nol pada akhir inkubasi 24 jam. Hal ini menandakan bahwa kedua zat tersebut mampu secara efektif membunuh bakteri yang diuji. Faktor-faktor seperti konsentrasi zat, waktu inkubasi, serta karakteristik kimia dan mekanisme aksi dari masing-masing senyawa turut memengaruhi respons antibakteri yang diamati. Selain itu, berdasarkan karakteristiknya, nanopartikel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻³ M dan kontrol positif cenderung bersifat bakterisidal yang berarti mampu membunuh bakteri secara langsung, sedangkan Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻² M dan TiO₂ bersifat bakteriostatik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri tanpa menyebabkan kematian sel bakteri. Oleh karena itu, hasil penelitian ini memberikan pemahaman yang lebih dalam tentang potensi efek antibakteri dari masing-masing sampel yang diuji serta sifat bakterisidal atau bakteriostatik dari senyawa tersebut.

Penelitian ini memperoleh hasil bahwasanya nanopartikel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻³ M lebih efektif membunuh atau melemahkan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dibandingkan dengan nanopartikel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻² M. Hal ini bisa saja disebabkan oleh adanya interaksi antara nanopartikel dengan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Beberapa faktor yang mempengaruhi hal tersebut adalah ukuran, bentuk dan muatan permukaan dari nanopartikel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi yang lebih rendah mungkin memiliki karakteristik fisik atau kimia yang membuatnya lebih efektif dalam berinteraksi dengan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR, salah satunya dengan kemampuan nanopartikel tersebut untuk menembus dinding sel bakteri atau merusak membran sel (Pankey *et al.*, 2014). Faktor lain yang menjadi penyebab terjadinya hal

tersebut karena adanya fenomena aglomerasi pada nanopartikel Ag/TiO₂. Sebagaimana yang telah dijelaskan oleh Gafar (2018), aglomerasi merupakan suatu proses penggabungan partikel-partikel padat bahan yang berukuran kecil menjadi partikel-partikel padat yang besar. Adanya aglomerasi ini sangat mempengaruhi efisiensi kinerja antibakteri dari nanopartikel Ag/TiO₂ karena dapat mengurangi luas permukaan area nanopartikel (Korayem *et al.*, 2017). Hal tersebut dapat menghambat distribusi nanopartikel karena ukurannya yang semakin membesar akibat adanya penggumpalan partikel-partikel (Aryanta 2014).

5.3 Analisis Data

5.3.1 Analisis Data Diameter Zona Hambat

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 20 for windows*. Data yang telah didapatkan pada pengamatan diameter zona hambat nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis*, dan uji *Post Hoc*.

Uji normalitas terhadap diameter zona hambat *Klebsiella pneumoniae* MDR berdasarkan pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ bertujuan untuk mengetahui apakah

data memiliki sebaran normal atau tidak. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah data kurang dari 50 data dengan kriteria apabila nilai sig > *level of significance* ($\alpha = 5\%$) maka data dinyatakan normal. Sebaliknya, apabila nilai sig (signifikansi) < *level of significance* ($\alpha = 5\%$) maka data penelitian tidak berdistribusi normal. Hasil uji normalitas terhadap diameter zona hambat dan pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR berdasarkan pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ dapat dilihat melalui Tabel 5.2.

Tabel 5. 5 Hasil Analisis Statistika Zona Hambat Nanopartikel Ag/TiO₂ Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR

Zona Hambat	Uji Normalitas (<i>Shapiro Wilk</i>)	Uji Homogenitas (<i>Levene Test</i>)	Uji <i>Kruskal Wallis</i>
Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	0.000*	0.013**	0.009***
Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	0.890		
TiO ₂	0.092		
Kontrol Positif	0.679		

Keterangan:

* data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$)

** kelompok varian data tidak homogen ($p < 0,05$)

*** terdapat perbedaan data zona hambat secara signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 5.5 dapat diketahui bahwa uji normalitas pengaruh pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap diameter zona hambat menghasilkan sig *Shapiro Wilk* > 0,05 pada nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻³ M (0,890), TiO₂ (0,92), dan kontrol positif (0,679). Namun sig *Shapiro Wilk* bernilai < 0,05 pada nanopartikel Ag/TiO₂ 10⁻² M (0,000), maka data tidak memenuhi kriteria data distribusi normal karena data dapat dikatakan berdistribusi normal jika semua data bernilai sig (signifikansi) > 0,05. Sehingga data diameter zona hambat tidak memenuhi asumsi normalitas.

Uji homogenitas dilakukan bertujuan untuk menentukan apakah variansi data penelitian homogen atau tidak. Uji homogenitas yang digunakan adalah *Levene*

Test. Homogenitas data dapat dilihat dari nilai signifikansi dari uji ini. Jika nilai sig (signifikansi) $> 0,05$, maka varian kelompok data dikatakan homogen atau sama. Namun, jika nilai sig (signifikansi) $< 0,05$, maka varian kelompok data dikatakan tidak sama atau tidak homogen. Hasil uji homogenitas yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Nilai signifikansi pada uji *Levene* didapatkan *p-value* $< 0,05$ (0,013) 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. 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.

Uji aktivitas antibakteri pada pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dilakukan dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Kriteria pengujian menyebutkan apabila sig \leq *level of significance* ($\alpha = 0,05$) maka hipotesis penelitian diterima, sehingga dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang kelompok perlakuan yang berbeda signifikan pada pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

Berdasarkan Tabel 5.5 diketahui bahwa uji aktivitas antibakteri dari material nanopartikel Ag/TiO₂ menghasilkan nilai sig 0,009 pada uji *Kruskal Wallis*. Nilai

sig yang diperoleh $< \alpha$ (0,05) sehingga hipotesis penelitian ini diterima atau H_0 ditolak dan H_1 diterima.

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*. 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. Adapun kriteria dari uji ini apabila satu pasang perlakuan menghasilkan probabilitas $< level\ of\ significance$ ($\alpha = 0,05$) maka dapat dinyatakan terdapat pengaruh pemberian perlakuan yang berbeda signifikan terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Hasil analisis *Post Hoc Mann-Whitney* perbedaan pengaruh pemberian material nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap diameter zona hambat bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dapat dilihat pada Tabel 5.6.

Tabel 5. 6 Hasil Uji *Post Hoc Mann-Whitney*

Sampel	K+	K-	Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	TiO ₂
K+	-	0.037*	0.046*	0.050	0.050
K-	0.037*	-	0.034*	0.037*	0.037*
Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	0.046*	0.034*	-	0.046*	0.046*
Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	0.050	0.037*	0.046*	-	0.050
TiO ₂	0.050	0.037*	0.046*	0.050	-

Keterangan: *Terdapat perbedaan signifikan ($P < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 5.6 di atas, dapat diketahui bahwa kelompok kontrol positif yaitu pemberian antibiotik meropenem memiliki perbedaan diameter zona hambat yang berbeda signifikan terhadap kontrol negatif (0.037) dan nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻² M (0.046). Sedangkan kontrol negatif berbeda signifikan

terhadap semua sampel, yaitu nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻² M (0.034), Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻³ M (0.037), senyawa TiO₂ (0.037) dan kontrol positif (0.037). Nilai dari hasil uji *Mann Whitney* dari nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻² M terhadap nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻³ menunjukkan nilai 0.46. Berdasar pada nilai *p-value* < 0,05, hal ini menandakan bahwa antara keduanya memiliki perbedaan efek yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Selain itu, terdapat juga perbedaan yang signifikan antara senyawa TiO₂ dengan nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻² M (0.046). Sedangkan senyawa TiO₂ tidak memiliki perbedaan efek yang signifikan terhadap nanopartikel Ag/TiO₂ konsentrasi 10⁻³ M (0,050). Hal ini menandakan bahwa antarkeduanya memiliki efek yang hampir sama terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

5.3.2 Analisis Data Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* MDR

Analisis data pada metode 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 20 for windows*.

Data jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang telah ditumbuhkan pada MHA setelah dilusi tabung didapatkan dalam satuan CFU

(*Colony Forming Unit*). Hasil perhitungan menggunakan *colony counter* ini kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Lalu dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* dan uji *Post Hoc*.

Uji normalitas terhadap perhitungan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR berdasarkan pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki sebaran normal atau tidak. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah data kurang dari 50 data yaitu hanya 24 data dengan kriteria apabila nilai sig > *level of significance* ($\alpha = 5\%$) maka data dinyatakan normal. Sebaliknya, apabila nilai sig (*signifikansi*) < *level of significance* ($\alpha = 5\%$) maka data penelitian tidak berdistribusi normal. Hasil uji normalitas terhadap jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR berdasarkan pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ dapat dilihat melalui Tabel 5.7.

Tabel 5. 7 Hasil Analisis Statistika Jumlah Koloni Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dalam Jangka Waktu Tertentu

Jumlah Koloni	Uji Normalitas (<i>Shapiro Wilk</i>)	Uji Homogenitas (<i>Levene Test</i>)	Uji <i>Kruskal Wallis</i>
Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	0.426	0.002**	0.008***
Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	0.218		
TiO ₂	0.399		
Kontrol Positif	0.117		
Kontrol Negatif	0.717		

Keterangan:

* data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$)

** kelompok varian data tidak homogen ($p < 0,05$)

*** terdapat perbedaan data zona hambat secara signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 5.7 dapat diketahui bahwa uji normalitas perhitungan CFU/mL dari jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR melalui metode *Time Kill Assay* menghasilkan sig *Shapiro Wilk* > 0,05 pada nanopartikel Ag/TiO₂

10^{-2} M (0.426), nanopartikel Ag/TiO₂ 10^{-3} M (0.218), TiO₂ (0.399), kontrol positif (0.117) dan kontrol negatif (0.717). Dari hasil uji normalitas *Shapiro Wilk* tersebut, maka data memenuhi kriteria data distribusi normal karena data dapat dikatakan berdistribusi normal jika semua data bernilai sig (signifikansi) > 0,05. Sehingga data jumlah koloni (CFU/mL) bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR memenuhi asumsi normalitas.

Uji homogenitas dilakukan bertujuan untuk menentukan apakah variansi data penelitian homogen atau tidak. Uji homogenitas yang digunakan adalah *Levene Test*. Homogenitas data dapat dilihat dari nilai signifikansi dari uji ini. Jika nilai sig (signifikansi) > 0,05, maka varian kelompok data dikatakan homogen atau sama. Namun, jika nilai sig (signifikansi) < 0,05, maka varian kelompok data dikatakan tidak sama atau tidak homogen. Hasil uji homogenitas yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 5.7.

Nilai signifikansi pada uji *Levene* didapatkan *p-value* < 0,05 (0,002) 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. 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.

Uji aktivitas antibakteri pada pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan menggunakan metode *Time Kill Assay* dilakukan dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Kriteria pengujian menyebutkan apabila $\text{sig} \leq \text{level of significance}$ ($\alpha = 0,05$) maka hipotesis penelitian diterima, sehingga dapat dinyatakan bahwa minimal ada satu pasang kelompok perlakuan yang berbeda signifikan pada pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

Berdasarkan Tabel 5.7 diketahui bahwa uji aktivitas antibakteri dari material nanopartikel Ag/TiO₂ dengan metode *Time Kill Assay* menghasilkan nilai sig 0,002 pada uji *Kruskal Wallis*. Nilai sig yang diperoleh $< \alpha$ (0,05) sehingga hipotesis penelitian ini diterima atau H₀ ditolak dan H₁ diterima. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa minimal ada satu pasang perlakuan yang berbeda signifikan pada jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR setelah pemberian nanopartikel Ag/TiO₂.

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*. Uji *Post Hoc* yang dilakukan sebagai kelanjutan dari uji *Kruskal Wallis* adalah uji *Dunn* karena data lebih dari dua kelompok dengan tujuan mengetahui besar perbedaan aktivitas antibakteri pada tiap kelompok perlakuan dan kontrol. Adapun kriteria dari uji ini apabila satu pasang perlakuan menghasilkan probabilitas $< \text{level of significance}$ ($\alpha = 0,05$) maka dapat dinyatakan terdapat pengaruh pemberian perlakuan yang

berbeda signifikan terhadap jumlah pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Hasil analisis *Post Hoc Dunn* perbedaan pengaruh pemberian material nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR pada interval waktu tertentu dapat dilihat pada Tabel 5.6.

Tabel 5. 8 Nilai P hasil uji *post hoc Dunn* sampel nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap Kontrol negatif

Sampel	Waktu			
	20 menit	1 jam	6 jam	24 jam
K+	0.009*	0.000*	0.000*	0.000*
Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	0.905	0.874	0.632	0.057
Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	0.015*	0.015*	0.000*	0.000*
TiO ₂	0.632	0.878	0.405	0.754

Keterangan: *Terdapat perbedaan signifikan ($P < 0,05$)

Uji *post hoc Dunn* merupakan metode statistik non-parametrik yang digunakan untuk melakukan perbandingan berganda setelah melakukan uji *Kruskal Wallis* yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara tiga atau lebih kelompok sampel independen (Shynta, 2022). Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi pasangan kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Pada penelitian ini, uji *post hoc Dunn* dilakukan pada masing-masing interval waktu, yaitu 20 menit, 1 jam, 6 jam dan 24 jam.

Hasil uji *post hoc Dunn* yang disajikan pada tabel di atas menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam aktivitas antibakteri dari berbagai sampel terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR pada berbagai interval waktu. Tabel 5.8 menampilkan nilai p hasil uji *post hoc Dunn* untuk perbandingan nilai kontrol positif pada berbagai sampel nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap kontrol negatif pada empat interval waktu yang berbeda, yaitu 20 menit, 1 jam, 6 jam, dan 24 jam. Hasil uji menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ($p < 0.05$) pada semua

interval waktu untuk sampel kontrol positif terhadap kontrol negatif dengan nilai p masing-masing sebesar 0.009 pada 20 menit, 0.000 pada 1 jam, 6 jam, dan 24 jam. Demikian pula, sampel Ag/TiO₂ 10⁻³ M menunjukkan perbedaan signifikan pada semua interval waktu terhadap kontrol negatif dengan nilai p sebesar 0.015 pada 20 menit dan 1 jam, serta 0.000 pada 6 jam dan 24 jam.

Sebaliknya, sampel Ag/TiO₂ 10⁻² M dan TiO₂ tidak menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kontrol negatif pada semua interval waktu yang diuji. Nilai p untuk sampel Ag/TiO₂ 10⁻² M terhadap kontrol negatif adalah 0.905 pada 20 menit, 0.874 pada 1 jam, 0.632 pada 6 jam, dan 0.057 pada 24 jam. Sedangkan nilai p untuk sampel TiO₂ terhadap kontrol negatif adalah 0.632 pada 20 menit, 0.878 pada 1 jam, 0.405 pada 6 jam, dan 0.754 pada 24 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kedua sampel ini tidak mengalami perubahan signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif pada setiap waktu pengamatan.

Perbedaan signifikan antara kontrol negatif dan sampel Ag/TiO₂ 10⁻³ M dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Nanopartikel Ag dalam sampel Ag/TiO₂ 10⁻³ M diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang kuat karena kemampuannya menghasilkan radikal bebas yang merusak membran sel bakteri dan mengganggu fungsi seluler (Chen and Schluesener, 2008). Selain itu, nanopartikel Ag dapat berinteraksi dengan komponen seluler lainnya, menyebabkan stres oksidatif dan akhirnya mempengaruhi viabilitas sel (Rai *et al.*, 2009). Pada konsentrasi yang lebih rendah seperti 10⁻³ M, nanopartikel ini mungkin lebih efektif dalam menembus sel dan menyebabkan kerusakan dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi di mana partikel dapat mengagregasi dan mengurangi efisiensinya (Rai

et al., 2009). Selain itu, pada sampel Ag/TiO₂ 10⁻³ M terdapat perbedaan signifikan mungkin disebabkan oleh efek antimikroba dan fotokatalitik dari nanopartikel perak (Ag) yang terkandung dalam TiO₂ (Moritz and Geszke-Moritz, 2013).

Sebaliknya, tidak adanya perbedaan signifikan pada sampel Ag/TiO₂ 10⁻² M dan TiO₂ mungkin disebabkan oleh efek yang lebih stabil atau terdistribusi merata dari nanopartikel pada konsentrasi yang lebih tinggi, atau karena sifat fotokatalitik TiO₂ yang memerlukan kondisi tertentu seperti pencahayaan UV untuk diaktifkan sepenuhnya (Moritz and Geszke-Moritz, 2013). Dalam kondisi uji yang tidak optimal, aktivitas fotokatalitik TiO₂ mungkin tidak cukup untuk menghasilkan perubahan signifikan (Fujishima *et al.*, 2000).

Dari hasil ini, terlihat bahwa efektivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ sangat dipengaruhi oleh konsentrasi nanopartikel dan waktu paparan. Semakin rendah konsentrasi nanopartikel dan semakin lama waktu paparan, maka aktivitas antibakterinya cenderung meningkat. Hal ini bisa dijelaskan oleh fakta bahwa nanopartikel perak (Ag) dikenal memiliki sifat antibakteri yang kuat, yang bekerja melalui beberapa mekanisme, termasuk pelepasan ion perak yang dapat merusak membran sel bakteri, mengganggu fungsi enzim, dan menyebabkan stress oksidatif pada sel bakteri (Amin, 2019). Selain itu, TiO₂ juga memiliki sifat fotokatalitik yang dapat menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) ketika terpapar cahaya, yang juga dapat merusak sel bakteri. Kombinasi Ag dan TiO₂ dalam nanopartikel ini memberikan efek sinergis yang meningkatkan aktivitas antibakteri secara keseluruhan (Rahmad, 2018). Namun, efektivitas ini juga tergantung pada konsentrasi dan waktu, di mana konsentrasi yang lebih rendah dan waktu paparan

yang lebih lama memberikan lebih banyak peluang bagi nanopartikel untuk berinteraksi dengan sel bakteri dan mengekspresikan efek antibakterinya.

Dari hasil tersebut, mencerminkan bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ dapat menjadi strategi efektif untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Klebsiella pneumonia* MDR dengan pengaturan yang tepat dari konsentrasi dan durasi paparan untuk mencapai hasil optimal dalam menekan pertumbuhan bakteri. Nanopartikel Ag/TiO₂ dapat secara efektif menghambat atau membunuh bakteri patogen yang sulit diobati dengan dilakukan pelapisan pada alat medis sehingga dapat menekankan penyebaran pneumonia. Hal ini juga membuka jalan bagi pengembangan terapi antibakteri baru yang dapat mengatasi tantangan resistensi antibiotik.

5.5 Integrasi Sains dan Islam dalam Penemuan Antibakteri dari Nanopartikel Ag/TiO₂

Penelitian ini menunjukkan dengan adanya ilmu pengetahuan, kita mampu mengetahui berbagai macam hal yang tentunya bertujuan untuk menambah ketauhidan dan kepercayaan kita kepada ajaran-ajaran Allah yang dijelaskan dalam Al-Qur'an, Allah berfirman dalam Al-Qur'an suret *al-Hajj* ayat 54 yang berbunyi:

وَلْيَعْلَمَ الَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّكَ فَيُؤْمِنُوا بِهِ فَتُخْبِتَ لَهُ قُلُوبُهُمْ ۗ وَإِنَّ اللَّهَ
لَهَادِ الَّذِينَ آمَنُوا إِلَى صِرَاطٍ مُسْتَقِيمٍ

Artinya: “Dan agar orang-orang yang telah diberi ilmu, meyakini bahwasanya Al-Qur'an itulah yang hak dari Tuhanmu lalu mereka beriman dan tunduk hati mereka kepadanya, dan sesungguhnya Allah adalah pemberi petunjuk bagi orang-orang yang beriman kepada jalan yang lurus” (QS. Al-Hajj ayat 54).

Imam Burhanuddin Az-zarnuji dalam kitab Ta'limul Muta'alim telah menjelaskan banyak manfaat dalam mencari ilmu. Jadi hendaknya manusia tidak mengabaikan apa yang bermanfaat dan apa yang berbahaya di dunia dan di akhiratnya, seperti halnya bakteri patogen yang kecil namun dapat membahayakan kesehatan manusia apabila terinfeksi. Adapun Allah Swt. telah memfasilitasi umatnya untuk terus berkembang melalui ciptaan-ciptaannya. Semua ciptaan Allah memiliki manfaat dan harus dimanfaatkan. Karena dengan terungkapnya rahasia-rahasia alam melalui hasil penelitian mempertebal keimanan kepada Allah sebagai pencipta alam semesta ini, juga akan menambah khazanah pengetahuan tentang alam untuk dimanfaatkan dalam kesejahteraan hidup umat manusia.

Nanopartikel Ag/TiO₂ merupakan senyawa yang diduga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Nanopartikel ini juga merupakan penemuan baru yang diperoleh melalui proses sintesis dari AgNO₃ konsentrasi 10⁻¹ M yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M. Al-quran memang tidak menjelaskan secara spesifik mengenai manfaat nanopartikel Ag/TiO₂ bagi manusia, namun Allah selalu mendorong manusia untuk berdzikir dan berfikir atas semua ciptaan-Nya, sebagaimana firman Allah Swt. dalam suret *ali* Imon ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۗ الَّذِيْنَ
يَذْكُرُونَ اللّٰهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ ۗ رَبَّنَا
مَا خَلَقْتَهُذَا بَاطِلًا ۗ سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang menginget Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam

keadaan berbaring, dan memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), "Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia. Maha Suci Engkau. Lindungilah kami dari azab neraka." (Q.S Ali-Imron ayat 190-191).

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 salah dzat di bumi yaitu nanopartikel Ag/TiO₂ melalui eksperimen pemberian nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

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

- b. *Al-Intifa'* (mengambil manfaat dan mendayagunakan sebaik-baiknya)
- c. *Al-I'tibar* (mengambil pelajaran, memikirkan, mensyukuuri atas alam semesta ciptaan Allah Swt.)
- d. *Al-Islah* (memelihara dan menjaga kelestarian)

Penelitian yang telah dilakukan merupakan salah satu implementasi dari *Al-I'tibar* dalam memikirkan penciptaan langit dan bumi untuk mensyukuri ciptaan Allah Swt. yang diberikan cuma-cuma kepada manusia. Hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan adanya diameter zona hambat yang dihasilkan oleh nanopartikel Ag/TiO₂ dengan konsentrasi 10⁻² M dan 10⁻³ M dan jumlah koloni yang berkurang seiring waktu inkubasi yang berarti bahwa nanopartikel tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella penumoniae* MDR dengan konsentrasi tertentu. Melalui pengukuran zona hambat dan perhitungan jumlah

koloni yang telah dilakukan, hal ini memberikan pengetahuan baru bagi umat manusia bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ dapat menghambat dan membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dengan konsentrasi sampel yang lebih rendah. Sesuai dengan *Al-Intifa'* yaitu mengambil manfaat dan mendayagunakan sebaik-baiknya, maka peneliti ingin menggunakan manfaat kemampuan antibakteri dari nanopartikel Ag/TiO₂ ini sebagai pelapis pada alat medis untuk mencegah penularan penyakit pneumonia oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang sulit untuk disembuhkan, tanpa melupakan aspek *Al-Islah* yaitu memelihara dan menjaga kelestarian nanopartikel Ag/TiO₂, sebagaimana dalam surat Asy-Syu'ara ayat 80:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

Artinya: "Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku." (Q.S Asy-Syu'ara ayat 80).

Ayat di atas memberikan petunjuk dan penjelasan bagi umat manusia bahwa Allah Swt. telah menjadikan obat untuk segala penyakit yang diturunkan oleh-Nya, tetapi Allah Swt. 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 hadits yang diriwayatkan oleh Abu Hurairah:

عن أبي هريرة - رضي الله عنه - عن النبي صلى الله عليه وسلم قال: "ما أنزل الله داء إلا أنزل له شفاء".

Artinya: "Diriwayatkan oleh Abu Hurairah bahwa Rasulullah saw. bersabda: Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya" (HR. Bukhori: 5246).

Dalil di atas menjadi dasar bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ dapat menjadi penawar atau pencegah untuk penyebaran penyakit pneumonia sehingga dapat menurunkan angka prevalensi dan mortalitas akibat pneumonia di Indonesia.

Bukti dari adanya aktivitas penghambatan pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR oleh nanopartikel Ag/TiO₂ dihasilkan zona bening dan jumlah koloni yang bervariasi pada media agar. Hasil yang bervariasi karena setiap hal memiliki ketentuan dan ukuran masing-masing sebagaimana firman Allah dalam QS. Al-Furqan ayat 2:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya: “Yang memiliki kerajaan langit dan bumi, tidak mempunyai anak, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(-Nya), dan Dia menciptakan segala sesuatu, lalu menetapkan ukuran-ukurannya dengan tepat” (Q.S Al-Furqon ayat 2).

Kata *qaddar* dalam segi bahasa berarti kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Kata *qaddar* diartikan juga sebagai ketentuan dan sistem yang ditetapkan terhadap segala sesuatu. Ayat ini memberikan penjelasan sesuatu telah diatur rapi dengan ukuran-ukuran tertentu (Shihab, 2002). Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini adalah daya hambat yang dihasilkan oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang diteliti termasuk dalam kategori kecil sampai sedang terhadap bakteri patogen yang diuji. Diriwayatkan dari Jabir berkata, Rasulullah saw. bersabda:

عن جابر قال، قال رسول الله صلى الله عليه وسلم: “المؤمن يألف ويؤلف ولا خير فيمن لا يألف ولا يؤلف وخير الناس أنفعهم للناس

Artinya: “Orang beriman itu bersikap ramah dan tidak ada kebaikan bagi seorang yang tidak bersikap ramah. Dan sebaik-baiknya manusia adalah orang yang paling

bermanfaat bagi manusia". (HR. Al-Qadlaa'iy dalam Musnad Asy-Syihab no. 129, Ath-Tabaraaniy dalam Al-Ausath no. 5787)

Manfaat yang bisa diberikan kepada orang lain tidak selalu tentang materi tapi juga bisa dengan ilmu yang bermanfaat. Baik ilmu agama maupun ilmu umum. Bahkan, seseorang yang memiliki ilmu yang kemudian disebarkan kepada orang lain dan membawa kemanfaatan bagi orang tersebut dengan datangnya hidayah kepada-Nya, maka ini adalah keberuntungan yang sangat besar. Demikian hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan kontribusi pada dunia kesehatan.

Dalam perspektif Islam, penelitian mengenai aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR dapat diartikan sebagai usaha ilmiah untuk menjaga kesehatan dan kesejahteraan manusia. Islam memberikan dorongan besar terhadap ilmu pengetahuan dan penelitian yang bermanfaat bagi umat manusia, serta menganggap kesehatan sebagai amanah yang perlu dijaga dengan sebaik-baiknya.

Penelitian ini dapat dipandang sebagai bentuk *ikhtiar* dalam memahami dan mencari solusi terhadap tantangan kesehatan, khususnya dalam menghadapi bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR yang resisten terhadap antibiotik konvensional. Dengan memanfaatkan teknologi nanopartikel Ag/TiO₂, penelitian ini dapat memiliki dampak positif terhadap pengembangan terapi antibakteri yang lebih efektif.

Dalam Islam, penggunaan ilmu pengetahuan dan teknologi untuk meningkatkan kesehatan manusia dianggap sebagai bentuk ibadah. Prinsip-prinsip kehati-hatian dan keseimbangan dalam penggunaan teknologi juga ditekankan

sehingga penelitian ini harus dilakukan dengan mempertimbangkan etika, dampak lingkungan, dan keamanan. Selain itu juga, Islam mendorong upaya kolaboratif dan pengetahuan yang bersifat bermanfaat bagi umat manusia secara keseluruhan.

Dalam hal ini, penting bagi para peneliti untuk memastikan bahwa penelitian atau eksperimental dapat membawa manfaat dan kebaikan bagi masyarakat. Oleh karena itu, dari perspektif Islam penelitian ini dapat dianggap sebagai bentuk pengabdian intelektual dan tanggung jawab sosial untuk meningkatkan kesehatan dan kesejahteraan umat manusia dengan tetap memperhatikan nilai-nilai etika dan moral yang diakui dalam ajaran Islam.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data serta pembahasan yang telah dilakukan, melalui uji aktivitas antibakteri menggunakan *Kirby Bauer* dan *Time Kill Assay* menunjukkan nanopartikel Ag/TiO₂ memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR. Pada uji *Kirby Bauer* terjadi pembentukan zona hambat yang semakin besar seiring penurunan konsentrasi nanopartikel. Sedangkan pada uji *Time Kill Assay* menunjukkan terjadinya reduksi jumlah koloni bakteri secara signifikan setelah inkubasi dengan nanopartikel. Hal ini dapat disimpulkan bahwa nanopartikel Ag/TiO₂ memiliki aktivitas antibakteri, baik bakteriostatik maupun bakterisidal terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR secara *in vitro*. Semakin rendah konsentrasi nanopartikel Ag/TiO₂ yang diberikan, maka semakin besar aktivitas antibakterinya untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR secara *in vitro*.

6.2 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 melakukan penelitian lebih lanjut dengan metode *in vivo* untuk menguji aktivitas antibakteri nanopartikel Ag/TiO₂ terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR.

2. Perlunya melakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek samping dan toksisitas dari penggunaan nanopartikel Ag/TiO₂ sebagai alternatif pelapis alat medis untuk mencegah penyebaran pneumoniae akibat *Klebsiella pneumoniae* MDR.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdassah, M. 2017. Nanopartikel dengan Gelasi Ionik. *Jurnal Farmaka*. Volume 15, Nomor 1: 45–52.
- Abdjul, R. L., dan Herlina, S. 2020. Asuhan Keperawatan Pada Pasien Dewasa Dengan Pneumonia: Study Kasus. *Indonesian Jurnal of Health Development*. Volume 2, Nomor 2: 102–107.
- Abdul-kareem, L. T., Al-, A.-M., and Hussein, Z. A. 2023. *Klebsiella spp.* Isolate Distribution from Different Infections in Najaf in 2021. *Eurasian Medical Research Periodical*. Volume 18. (March):14–25.
- Adamo R, and Margarit I. 2018. Fighting antibiotik-resistant *Klebsiella pneumoniae* with “sweet” immune targets. *American Society for Microbiology : mBIO*, Volume 9, Nomor 3: 1-4.
- Adityawarman. 2017. Isolasi, Identifikasi dan Aktivitas Antibakteri Bakteri Endofit Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Terhadap *Escherichia coli*. [Skripsi]. Pontianak: Program Studi Pendidikan Dokter.
- Adusei, E.B.A. *et al.* 2019. Resistance Modulation Action, Time-Kill Kinetics Assay, and Inhibition of Biofilm Formation Effects of Plumbagin from *Plumbago zeylanica* Linn. *Journal of Tropical Medicine*. Volume 4, Nomor 8.
- Ahmad, Q., Sabrina, T., Diba, M. F., dan Amallia, E. 2021. Gambaran Infeksi *Klebsiella pneumoniae* Penghasil *Extended-Spectrum B-Lactamase* (Esbl) Pada Pasien Covid-19 Di Rsup Dr. Mohammad Hoesin Periode Januari 2021-Juni 2021. *JMJ, Special Issues, JAMHESIC*. Hal: 186-198.
- Alsagaff H, dan Mukty H.A. 2008. *Dasar-dasar Ilmu Penyakit Paru*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Amelia, R. R., Putri, R. A., Soleha, T. U. 2022. Identifikasi Bakteri gram Negatif Penghasil *Extended Spectrum Beta- Lactamase* (ESBL) Pada Urin Pengguna Kateter di Ruang Rawat Inap Kelas III RSUD Dr . H Abdul Moeloek Bandar Lampung. *Medula*. Volume 13, Nomor 1: 1–7.
- Amenu, D. 2014. Factors Influencing The Enumerate Numbers of Viable Microorganisms in Foods, Landmark. *Research Journals of Agriculture and Soil Sciences (LRJASS)*. Volume 1, Nomor 1: 001-002.
- American Thoracic Society. Guidelines for management of adults with community-acquired pneumonia. Diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy, and prevention. *Am J Respir Crit.Care Med* 2001; 163: 1730-54
- Amin, S.S. *et al.* 2023. Identifikasi Bakteri dari Telapak Tangan dengan Pewarnaan gram Identification of Bacteria from Palms with gram Stain. *CHEMVIRO: Jurnal Kimia dan Ilmu Lingkungan*. Volume 1, Nomor 1: 30–35.
- Anggita, D., Nuraisyah, S. dan Wiriansya, E.P. 2022. Mekanisme Kerja Antibiotik. *UMI Medical Journal*. Volume 7, Nomor 1: 46–58.
- Arfianti, E. 2020. Uji Daya Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* . [Karya Tulis Ilmiah]. Surakarta: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
- Aritonang, H.F., Tarigan, A.K. and Wuntu, A.D. 2020. Synthesis and characterization of ag-doped zno nanoparticles and their photocatalytic

- degradation activity. *International Journal of Advanced Science and Technology*. Volume 29, Nomor 08.
- Ariyanta, H.A. 2014. Preparasi Nanopartikel Perak Dengan Metode Reduksi Luka Infeksi: Silver Nanoparticles Preparation by Reduction Method and its Application as Antibacterial for Cause of Wound Infection. *Jurnal MKMI*. 36–42.
- Aruan, R.H., Pratikno, H. and Hadiwidodo, S. 2023. Analisa Pengaruh Suhu Material pada Pengaplikasian Coating Epoxy terhadap Kekuatan Adhesi Baja A36'. *Jurnal Teknik ITS*. Volume 12, Nomor 1: 3–9.
- Assefa, M. 2022. Multi-drug resistant gram-negative bacterial pneumonia: etiology, risk factors, and drug resistance patterns. *Pneumonia*. Volume 14, Nomor 1: 4.
- Ayu, D.I. 2015. Sintesis Nano TiO₂ Menggunakan Metode Sol-Gel dengan Penambahan PEG sebagai Antimikroba. [Skripsi]. Semarang: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Azizah, A. and Soesetyaningsih, E. 2020. Akurasi Perhitungan Bakteri pada Daging Sapi Menggunakan Metode Hitung Cawan. *Berkala Sainstek*. Volume 8, Nomor 3: 75.
- Azura, Vania Shela. 2022. Uji Viabilitas dan Pengamatan Morfologi Liofilisat Bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang Disimpan Selama Dua Bulan Pada Suhu -20°C. [Skripsi]. Yogyakarta: Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.
- Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibsouda, S.K. 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Volume 6, Nomor 2: 71–79.
- Barudin, N.H. A. *et al.* 2013. Antibacterial activity of Ag-TiO₂ nanoparticles with various silver contents. *Materials Science Forum*. Nomor 756(September 2019): 238–245.
- Benkova, M., Soukup, O. and Marek, J. 2020. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology*. Volume 129, Nomor 4: 806–822.
- Biutifasari, V. 2018. Extended Spectrum Beta-Lactamase. *Emergency Management of Infectious Diseases: Second Edition*. Volume 1, Nomor 1: 552–555.
- Bolla, N. E., Suarjana, I. G. K., dan Gelgel, K. T. P. 2021. Isolasi dan Identifikasi *Klebsiella sp.* Asal Rongga Hidung Babi Penderita Porcine Respiratory Disease Complex. *Indonesia Medicus Veterinus*. Volume 10, Nomor 6: 917–925.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., dan Morse, S. A. 2008. Mikrobiologi Iftdokteran. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Salemba Medika.
- Bungan, G. K., Aritonang, H. F., dan Wuntu, A. D. 2021. Pembuatan Nanokomposit Kitosan/TiO₂/Ag Dan Analisis Aktivasnya Sebagai Antibakteri. *Chemistry Progress*. Volume 14, Nomor 1: 32–39.
- Cao, Z., Yue, C., Kong, Q., Liu, Y., and Li, J. 2022. Risk Factors for a Hospital-Acquired Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infection: A Five-Year Retrospective Study. *Infection and Drug Resistance*. Volume 15. (February): 641–654.
- Centeghe, I. *et al.* 2023. American Journal of Infection Control *Klebsiella*

- pneumoniae* survives on surfaces as a dry bio film. Volume 51: 1157–1162.
- Ceresa, C. *et al.* 2019. Medical-grade silicone coated with rhamnolipid R89 is effective against *Staphylococcus* spp. Biofilms. *Molecules*. Volume 24, Nomor 21.
- Chakhtouna, H. *et al.* 2021. Recent progress on Ag/TiO₂ photocatalysts: photocatalytic and bactericidal behaviors. *Environmental Science and Pollution Research*. Volume 28, Nomor 33: 44638–44666.
- Chandra, H. *et al.* 2017. Antimicrobial resistance and the alternative resources with special emphasis on plant-based antimicrobials—a review. *Plants*. Volume 6, Nomor 2: 16.
- Chatterjee, T. *et al.* 2015. Antibacterial effect of silver nanoparticles and the modeling of bacterial growth kinetics using a modified Gompertz model. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. Volume 1850, Nomor 2: 299–306.
- Chen, X., and Schluesener, H. J. 2008. Nanosilver: A nanoparticle in medical application. *Toxicology Letters*. Volume 176, Nomor 1: 1-12.
- Choby, J. E., Howard-Anderson, J., and Weiss, D. S. 2020. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* – clinical and molecular perspectives. In *Journal of Internal Medicine*. Volume 287, Nomor 3: 283–300.
- Collins, C. D. *et al.* 2022. Antibiotik Use in Patients with β -Lactam Allergies and Pneumonia: Impact of an Antibiotik Side Chain-Based Cross-Reactivity Chart Combined with Enhanced Allergy Assessment. *Open Forum Infectious Diseases*. Volume 9, Nomor 1: 1–10.
- Crame, E., Shields, M. D., and McCrossan, P. 2021. Paediatric pneumonia: a guide to diagnosis, investigation and treatment. *Paediatrics and Child Health (United Kingdom)*. Volume 31, Nomor 6: 250–257.
- Cui, Q.Y. and Sun, H.H. 2018. The preparation of Ag-TiO₂ and the study on its bacteriostatic properties. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Volume 186, Nomor 3.
- Damayanti, K., & Ryusuke, O. 2017. Pneumonia. [Tugas Responsi]. Denpasar: Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.
- Dewi, N., NMA Tarini, dan NND Fatmawati. 2019. Deteksi Gen fimH pada Isolat Klinis *Klebsiella pneumoniae* di RSUP Sanglah Denpasar. *E-Jurnal Medika*. Volume 8, Nomor 4: 1–6.
- Donskoy, I. 2023. Particle Agglomeration of Biomass and Plastic Waste during Their Thermochemical Fixed-Bed Conversion. *Energies*. pp. 1–26.
- Doorduyn, Dennis J.; Rooijackers, Suzan H.M.; Schaik, Willem van; Bardeel, B.W. 2016. Complement resistance mechanisms of *Klebsiella pneumoniae*. *Immunobiology*, pp. 1102-1109.
- Ebeledike C, Ahmad T. 2022. Pediatric Pneumonia Pathophysiology. StatPearls Publishing [Online Book].
- Ebrahim, S. H., Kattan, R. F., Elambilakkat, S., Khan, A. A., & Memish, Z. A. 2020. Religious Mass Gathering (Hajj) and Antimicrobial Resistance: From Challenges to Opportunities. *Handbook of Environmental Chemistry*. Volume 91: 295–310.

- El Guerraf, A. *et al.* 2022. Antibacterial activity and volatile organic compounds sensing property of polypyrrole-coated cellulosic paper for food packaging purpose. *Polymer Bulletin*. Volume 79, Nomor 12: 11543–11566.
- Emmawati, A., Marwati, Banin, M. M., Prayitno, Y. A. 2022. Mikrobiologi Hasil Pertanian.
- Fang Li, Weir, M. D., Fouad, A. F., Xu, H.H.K. 2016. Time-kill behavior against eight bacterial species and cytotoxicity of antibacterial monomers. *Bone*. Volume 23, Nomor 1: 1–7.
- Fang, X. *et al.* 2021. Characterization of antibiotik resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Denmark. *BioRxiv*. 2021.12.20.473592.
- Faradina, E. M. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) Terhadap Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).
- Fitria, A., Nurgraha, A. T., Meliani, Y., Choiriah, A. 2018. The Bactericidal and Antibiofilm Activity of Stem Bark of *Jatropha multifida* L. Against *Staphylococcus aureus* and MRSA. *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis*. Volume 18: 42–55.
- Fliss, M. *et al.* 2022. Brief report: community-acquired Friedlander’s pneumonia and pulmonary metastatic *Klebsiella pneumoniae* infection caused by hypervirulent ST23 in the Netherlands. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Volume 41, Nomor 8: 1133–1138.
- Flores-Valdez, M. *et al.* 2021. Whole Genome Sequencing of Pediatric *Klebsiella pneumoniae* Strains Reveals Important Insights Into Their Virulence-Associated Traits. *Frontiers in Microbiology*. Volume 12. (August): 1–13.
- Fujishima, A., Rao, T. N., and Tryk, D. A. 2000. Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*. Volume 1, Nomor 1: 1-21.
- Gafar, P. A. 2018. Proses Penginstanan Aglomerasi Kering Dan Pengaruhnya Terhadap Sifat Fisiko Kimia Kopi Bubuk Robusta (*Coffea robusta* Lindl. Ex De Will). *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. Volume 29, Nomor 2: 163.
- Gaid, E., Assiri, A., McNabb, S., and Banjar, W. 2018. Device-associated nosocomial infection in general hospitals, Kingdom of Saudi Arabia, 2013–2016. *Journal of Epidemiology and Global Health*. Volume 7: S35–S40.
- Gajic, I. *et al.* 2022. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics*. Volume 11, Nomor 4: 1–26.
- Gomaa, E.Z. 2017. Silver nanoparticles as an antimicrobial agent: A case study on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as models for gram-positive and gram-negative bacteria. *Journal of General and Applied Microbiology*. Volume 63, Nomor 1: 36–43.
- Hamid, F., Kotto, F. R., dan Prasetya, P. W. 2020. Karakteristik Pengguna Antibiotik Tanpa Resep Dokter Di Kalangan Guru Kecamatan Labakkang, Kabupaten Pangkajene Dan Kepulauan. *Alami Journal (Alauddin Islamic Medical) Journal*. Volume 4, Nomor 2: 18–31.

- Hapsari, A.D. 2020. Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol 96% Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) Terhadap *Klebsiella pneumoniae*. *Global Health*. Volume 167, Nomor 1: 1–5.
- Harun, N. H. *et al.* 2020. Bactericidal Capacity of a Heterogeneous TiO₂/ZnO Nanocomposite against Multidrug-Resistant and Non-Multidrug-Resistant Bacterial Strains Associated with Nosocomial Infections. *ACS Omega*. Volume 5, Nomor 21: 12027–12034.
- Hidayat, A. A. A. 2017. *Metode Penelitian Keperawatan dan Teknik Analisis Data*. Jakarta: Salemba Medika.
- Hugo, W. B., and Russell, A. D. 2003. *Pharmaceutical Microbiology*. Blackwell Publishing.
- Ibnu Qayyim al-Jawziyyah, Zaad al-Ma'ad fi Hadyi Khayr al-'Ibaad, Jilid 4, halaman 9.
- Ilori, O. J. 2023. Potential use of Plant Extract for Water Purification : A Review. *International Journal of Research and Review*. Volume 10, Nomor 4: 74–79.
- Iswandi, I., dan Sumaryana. 2023. Pola Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Pneumonia Rawat Inap Di Rsud Dr. Gondo Suwarno Tahun 2021. *Jurnal Ilmiah Farmasi Akademi Farmasi Jember*. Volume 5, Nomor 2: 43–57.
- Josefa, R., Sovia, R., and Mandala, E. P. 2019. Sistem Pakar Diagnosa Penyakit Pneumonia Pada Anak Menggunakan Metode Case Based Reasoning. *Sainteks*. Volume 6: 868–872.
- Juniah dan Arianti, M. 2023. Pentingnya Pengetahuan Kesehatan Demam Typhoid Anak. *Jurnal Pengabdian masyarakat*. Volume 2, Nomor 1: 7-14.
- Kadri, A.N., Gelgel, K.T.P. and Suarjana, I.G.K. 2015. Perbedaan Cara Penyebaran Suspensi terhadap Jumlah Bakteri pada Media Eosin Methylene Blue Agar. *Indonesia Medicus Veterinus*. Volume 4, Nomor 3: 205–212.
- Kalil, A.C. *et al.* 2016. Management of Adults With Hospital-acquired and Ventilator-associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the American Thoracic Society. *Clinical Infectious Diseases*. Volume 63, Nomor 5: e61–e111.
- Kashyap, A. *et al.* 2020. Effect of amino-functionalization of MWCNTs on the mechanical and thermal properties of MWCNTs/epoxy composites. *Bulletin of Materials Science*. Volume 43, Nomor 1: 1–9.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotika. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [Kemenkes RI]Kemenkes RI. 2017. Petunjuk Teknis Penatalaksanaan Penyakit Kardiovaskular Untuk Dokter. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [Kemenkes RI] Kementrian Kesehatan RI. 2020. Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2019. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [Kemenkes RI] Kementrian Kesehatan RI. 2021. Pedoman Penggunaan Antibiotik. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khalandi, B. *et al.* 2017. A Review on Potential Role of Silver Nanoparticles and

- Possible Mechanisms of their Actions on Bacteria. *Drug Research*. Volume 67, Nomor 2: 70–76.
- Khanh, T. *et al.* 2021. The Role of Carboxymethyl Cellulose and Na₂ SiO₃ in the Process of Coating TiO₂ Nanotube on Quartz Substrate Vai trò của Carboxymethyl Cellulose và Na₂ SiO₃ trong quá trình phủ ống Nano TiO₂ lên nền thạch anh. Volume 37, Nomor 4: 94–103.
- Konoralma, K. 2019. Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial di Rumah Sakit Umum Gmim Pancaran Kasih Manado. *Jurnal Kesmas*. Volume 8, Nomor 1: 23–35.
- Kopeć, K., Žuk, M. and Ciach, T. 2021. Hydrogel antibacterial coating for silicone medical devices. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives*, 26(September), pp. 135–147.
- Kowalska-Krochmal, B., and Dudek-Wicher, R. 2021. The minimum inhibitory concentration of antibiotiks: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens*. Volume 10, Nomor 2: 1–21.
- Kumowal, S., Fatimawali, F. and Jayanto, I. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Pharmacon*. Volume 8, Nomor 4: 781.
- Kurniawan, F. B., dan Sahli, I. T. 2018. *Bakteriologi*. Jakarta : EGC
- Li, H. Y. *et al.* 2022. Management of Ventilator-Associated Pneumonia: Quality Assessment of Clinical Practice Guidelines and Variations in Recommendations on Drug Therapy for Prevention and Treatment. *Frontiers in Pharmacology*. Volume 13, Nomor (May): 1–15.
- Lim WS. 2022. Pneumonia—Overview. *Respiratory Medicine*. Volume 2, Nomor 2: 185–197.
- López de Dicastillo, C. *et al.* 2021. ‘Antimicrobial Effect of Titanium Dioxide Nanoparticles’, in Antimicrobial Resistance - A One Health Perspective. IntechOpen.
- Mandell, L.A. *et al.* 2007. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society Consensus Guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clinical Infectious Diseases*. Nomor 44(SUPPL. 2).
- Manuaba, I. A. S. P., Iswari, I. S., dan Pinatih, K. J. P. 2021. Prevalensi Bakteri *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumoniae* Penghasil Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Yang Diisolasi Dari Pasien Pneumonia Di Rsup Sanglah Periode Tahun 2019-2020. *Jurnal Medika Udayana*. Volume 10, Nomor 12: 51–57.
- Marangu, D., & Zar, H. J. 2019. Childhood pneumonia in low-and-middle-income countries: An update. *Paediatric Respiratory Reviews*. Volume 32, Nomor (June): 3–9.
- Mardikani, R. P. 2019. Karakterisasi Nanopartikel Perak Ionik Dengan Metode Elektrolisis Dan Pengaplikasiannya Untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermidis*). [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Mardiyantoro, F., Munika. K., Sutanti, V., Cahyati, M., Pratiwi, A. R. 2018.

Penyembuhan Luka Rongga Mulut. Malang : UB Press.

- Marlina, E.T. *et al.* 2021. Pengaruh Penggunaan Kulit Lidah Buaya sebagai Disinfektan Alami terhadap Daya Hambat Bakteri di Ruang Penampungan Susu. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*. Volume 20, Nomor 2: 158.
- Martin, R. M., and Bachman, M. A. 2018. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Volume 8, Nomor (JAN): 1–15.
- Meliani, Y. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Dan *Time Kill Assay* Ekstrak Etil Asetat Batang *Jatropha multifida* Linn Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Dan MRSA. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
- Moritz, M., and Geszke-Moritz, M. 2013. The newest achievements in synthesis, immobilization and practical applications of antibacterial nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*. Nomor 228: 596-613.
- Motaweq, Z. Y. 2022. Prevalence of b-lactamase produced in *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter cloacae* isolated from gingivitis in Al-Najaf Province, Iraq. *Nusantara Bioscience*. Volume 14, Nomor 1: 78–83.
- Mujamilah and Sulungbudi, G.T. 2013. Karakteristik Dinamik Sistem Koloid Magnetik Berbasis Nanopartikel Oksida Fe-Chitosan. *J. Kimia Kemasan* 35, Nomor 1: 65–70.
- Mulyana, R. 2019. Terapi Antibiotika pada Pneumonia Usia Lanjut. *Jurnal Kesehatan Andalas*. Volume 8, Nomor 1: 172.
- Mulyaningsih, S., Mufidah, S., Nurrahmi, Z. dan Putranti, W. 2022. Time-Kill Assay Antibakteri Ekstrak Metanol Termas Terhadap *Bacillus subtilis*. *Prosiding Seminar Nasional Pusat Informasi Dan Kajian Obat*. Volume 1, Nomor 2: 1–7.
- Murtius, W. S. 2018. *Modul Praktek Dasar Mikrobiologi*. Padang: UNAND.
- Noga, M. *et al.* 2023. Toxicological Aspects, Safety Assessment, and Green Toxicology of Silver Nanoparticles (AgNPs)—Critical Review: State of the Art. *International Journal of Molecular Sciences*. Volume 24, Nomor 6.
- Normaliska, R., Sudarwanto, M.B. dan Latif, H. 2019. Pola Resistensi Antibiotik pada *Escherichia coli* Penghasil ESBL dari Sampel Lingkungan di RPH-R Kota Bogor. *Acta VETERINARIA Indonesiana*. Volume 7, Nomor 2: 42–48.
- Norvai dan Abdullah. 2018. Efektifitas Penggunaan Sabun Dalam Mencuci Tangan Terhadap Jumlah Kuman. *Jurnal Publikasi Kesehatan Masyarakat Indonesia*. Volume 5, Nomor 2: 65-70.
- Oliveira, R. *et al.* 2022. Exploring the Antibiotik Resistance Profile of Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Portugal. *Antibiotiks*. Volume 11, Nomor 11: 1–14.
- Ompusunggu, H. E. S. 2020. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Perilaku Penggunaan Antibiotik Tanpa Resep Pada Mahasiswa/I Universitas HKBP Nommensen Medan. *Nommensen Journal of Medicine*. Volume 5, Nomor 2: 48–51.

- Pangesti, R. A. 2020. Proporsi Gambaran Infiltrat Paru Akibat Pneumonia pada Foto Toraks Calon Jemaah Haji di Rumah Sakit Haji Jakarta. [Skripsi]. Jakarta: Program Studi Pendidikan Kedokteran UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Paramastri, P.K. dan Qurrohman, M.T. 2022. Efektifitas Ekstrak Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* var *laurentii*) Sebagai Antifungi *Candida albicans*. *the Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*. Volume 5, Nomor 2: 149.
- Peirano, Gisele., Chen, Liang., Kreswirth, Barry N., Pitout, Johann D D Pitout. 2020. Emerging Antimicrobial-Resistant High-Risk *Klebsiella pneumoniae* Clones ST307 and ST147. *Antimicrob Agents Chemother*. Volume 64, Nomor 10.
- [Permenkes RI] Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2015. Program Pengendalian Resistensi Antimikroba Di Rumah Sakit. Jakarta: Menteri kesehatan Republik Indonesia.
- Polívková, M. *et al.* 2017. Antimicrobial treatment of polymeric medical devices by silver nanomaterials and related technology. *International Journal of Molecular Sciences*. Volume 18, Nomor 2.
- Prada-Prada, S. *et al.* 2020. Antimicrobial activity of Ib-M peptides against *Escherichia coli* O157: H7. *PLoS ONE*. Volume 15, Nomor 2: 15–20.
- Prakash, J., Cho, J., and Mishra, Y. K. 2022. Photocatalytic TiO₂ nanomaterials as potential antimicrobial and antiviral agents: Scope against blocking the SARS-COV-2 spread. *Micro and Nano Engineering*. Volume 14, Nomor 100100.
- Prasetya, Y.A., Nisyak, K. and Hisbiyah, A. 2021. Aktivitas Antibakteri Dan Antibiofilm Nanokomposit Seng Oksida-Perak (Zno-Ag) dengan Minyak Cengkeh Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi)*. Volume 8, Nomor 2: 196–207.
- Pratiwi, A. I., Wiyono, W. I., dan Jayanto, I. 2020. Pengetahuan Dan Penggunaan Antibiotik Secara Swamedikasi Pada Masyarakat Kota. *Jurnal Biomedik*. Volume 12, Nomor 3: 176-185.
- Puspasari, V. *et al.* 2022. ZnO-based antimicrobial coatings for biomedical applications. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. Volume 45, Nomor 9: 1421–1445.
- Qing, Y. *et al.* 2018. Potential antibacterial mechanism of silver nanoparticles and the optimization of orthopedic implants by advanced modification technologies. *International Journal of Nanomedicine*. Nomor 13: 3311–3327.
- Rachmawati, D. P. ., Rabbani, K., Rumidatul, A., Fadhila, F., dan Maryana, Y. 2020. Pengujian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Dan Kayu Ranting Sengon (*Falcataria Moluccana*) Dengan Pelarut N-Heksana, Etil Asetat Dan Metanol Terhadap *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*. Volume 11, Nomor 2: 70.
- Rahajoe N.N., Supriyatno B., Setyanto D.B. 2018. *Buku Ajar Respirologi Anak*. Jakarta : Badan Penerbit IDAI

- Rahman, I. W., Fadlilah, R. N., Ka'bah, Kristiana, H. N., dan Dirga, A. 2022. Potensi Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Serratia marcescens*. *Jurnal Ilmu Alam Dan Lingkungan*. Volume 13, Nomor 1: 14–22.
- Rahman, S. 2017. Sintesis dan Karakterisasi Fotokatalis Titanium (IV) Oksida (TiO_2) Terdoping Perak (Ag) Menggunakan Metode Sonikasi Untuk Mendegradasi Bakteri *Escherichia coli*. [Skripsi]. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rai, I. B. N. dan Artana, I. G. N. B. 2016. "Workshop On Pneumonia" Deal The Challenge-Improve The Outcome. Denpasar: Percetakan Bali
- Rai, M., Yadav, A., and Gade, A. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. Volume 27, Nomor 1: 76-83.
- Ramezani, M. *et al.* 2019. Synthesis and characterization of an antimicrobial textile by hexagon silver nanoparticles with a new capping agent via the polyol process. *Textile Research Journal*. Volume 89, Nomor 23–24: 5130–5143.
- Ranzani, O. T., Niederman, M. S., and Torres, A. 2022. Ventilator-associated pneumonia. *Intensive Care Medicine*. Volume 48, Nomor 9: 1222–1226.
- Revest, M., Egmann, G., Chapron, A., Jouneau, S., and Tattevin, P. 2016. Adjuvant corticosteroids for patients hospitalized with community- acquired pneumonia : is it time ?. *Commentary*. Volume 8, Nomor 21: 288–291.
- Reviono. 2017. *PNEUMONIA. Adakah Tempat untuk Pemberian Antiinflamasi?* Cetakan 1 Edisi 1. Surakarta: UNS Press.
- Ridha, N.J. *et al.* 2021. Synthesis of Ag decorated TiO_2 nanoneedles for photocatalytic degradation of methylene blue dye. *Materials Research Express*. Volume 8, Nomor 12.
- Rigustia, R., Zeffira, L., dan Vani, A. T. 2019. Faktor Risiko yang Berhubungan dengan Kejadian Pneumonia pada Balita di Puskesmas Ikur Koto Kota Padang. *Health & Medical Journal*. Volume 1, Nomor 1: 22–29.
- Riskesdas, K. 2018. Hasil Utama Riset Kesehata Dasar (RISKESDAS). *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*. Volume 44, Nomor 8: 1–200.
- Riyadi, F. A. 2023. Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Pneumonia Dewasa Di Instalasi Rawat Inap Rsi Siti Khadijah Palembang Tahun 2021. [Skripsi]. Palembang: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.
- Saad, R., Mukramin, A. G. A., Putra, D. P. 2019. The Influence of Problem-Based Learning Model and Prior Knowledge toward the Physics Procedural Aplication Ability. *Jurnal Pendidikan Fisika*. Volume 7, Nomor 2: 49–64.
- Safitri, D. 2023. Hubungan Lingkungan Fisik Rumah Dan Perilaku Merokok Dengan Kejadian Pneumonia Pada Balita Di Wilayah Kerja Puskesmas Gandus. [Skripsi]. Palembang: Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sriwijaya
- Sahputri, J., Lindarto, D. dan Ganie, R.A. 2018. Negatif Dengan Resistensi Antibiotik Pada Wanita Diabetes Melitus Tipe 2 Relationship Between the Formation of Biofilm By gram Negative. Volume 4, Nomor 1.
- Salukanan, R.T., Zulfariansyah, A. and Sitanggang, R.H. 2018. Pola Pneumonia Nosokomial di Unit Perawatan Intensif Rumah Sakit Umum Pusat Dr.

- Hasan Sadikin Bandung Periode Januari–Desember 2017. *Jurnal Anestesi Perioperatif*. Volume 6, Nomor 2: 126–136.
- Sania, D.A., Majdawati, A., dan Pratiwi, A.S.A. 2023. Efektivitas minyak Atsiri *Cinnamomum burmannii* terhadap Fisiologis dan Radiografi Toraks Hewan Model Pneumonia (*Rattus norvegicus*). *Journals of Ners Community*. Volume 13, Nomor 1: 134-153.
- Sari, Z. A. A., dan Febriawan, R. 2021. Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode *Well Diffusion* Dan *Kirby Bauer* Terhadap Pertumbuhan Bakteri. *Jurnal Medika Hutama*. Volume 2, Nomor 4: 1156–1162.
- Sariadji, K., Sembiring, M., dan Dewi, R. M., 2018. Perbandingan Hasil Uji Kepekaan Antibiotik *Corynebacterium diphtheriae* Menggunakan Metode Disk Difusi Agar dan MIC Strip. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*. Volume 7, Nomor 2.
- Sarosa, A. H., P, H. T., Santoso, B. I., Nurhadianty, V., & Cahyani, C. 2018. Pengaruh Penambahan Minyak Nilam Sebagai Bahan Aditif Pada Sabun Cair Dalam Upaya Meningkatkan Daya Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal Of Essential Oil*. Volume 3, Nomor 1: 1–8.
- Saputro, T. R., dan Santoso, B. 2023. Implementasi Convolutional Neural Network ada Penyakit Pneumonia (Studi Kasus : Dinas Kesehatan Kota Tangerang Selatan). *OKTAL : Jurnal Ilmu Komputer dan Science*. Volume 2, Nomor 3: 1007–1013.
- Saragih, T. J. dkk. 2022. Penyuluhan Penggunaan Antibiotik yang Tepat pada Masyarakat di Kelurahan Buaran RT 001 / RW 005. *JPMKT*. Volume 1, Nomor 1: 17–25.
- Serafin, M.B. *et al.* 2020. Synergistic effect of sertraline and disulfiram against multidrug resistant bacteria as a new alternative to drug repositioning. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Nomor 56: 1–6.
- Siddique, M.H. *et al.* 2020. Effect of Silver Nanoparticles on Biofilm Formation and EPS Production of Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* . *BioMed Research International*, 2020.
- Sim, W., Barnard, R. T., Blaskovich, M. A. T., Ziora, Z. M. 2018. Antimicrobial silver in medicinal and consumer applications: A patent review of the past decade (2007–2017). *Antibiotiks*. Volume 7, Nomor 4: 1–15.
- Sinanjung, K., Aman, A.T. and Nirwati, H. 2020. Extended spectrum beta lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates and its susceptibility pattern to antibiotics at Dr. Soeradji Tirtonegoro General Hospital Klaten, Central Java. *Journal of the Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*. Volume 52, Nomor 01: 17–27.
- Singh, M. *et al.* 2022. Silver Nanoparticles and Its Mechanistic Insight for Chronic Wound Healing: Review on Recent Progress. *Molecules*. Volume 27, Nomor 17: 1–16.
- Solikhah, A. M., Darmawati, S., and Prastiyanto, M.E. 2018. Analisis Profil Protein Propionibacterium acnes *Multidrug Resistance* (MDR) dengan SDS-PAGE. [Manuscript]. Semarang: Program Studi D IV Analisis Kesehatan.

- Subhan, A., Manalu, W., Rahminiwati, M., & Darusman, H. S. 2020. Inovasi Formula Produk Hand Rub Berbasis Alkohol Sebagai Upaya Efisiensi Pengelolaan Sediaan Farmasi Di Rumah Sakit. *Majalah Farmasetika*. Volume 4, Nomor 1: 256–262.
- Sugiyono. 2017. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung : Alfabeta, CV.
- Sukandar D, Radiastuti N, Jayanegara I, Hudaya A. 2010. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. *BPPT Jakarta*. Volume 2, Nomor 1: 333-339.
- Sukmawati dan F. Hardianti. 2018. Analisis Total Plate Count (TPC) Mikroba Pada Ikan Asin Kakap Di Kota Sorong Papua Barat. *Jurnal Biodjati*. Volume 3, Nomor 1: 72- 78.
- Sundari, S. and Fadhliani. 2019. Uji Angka Lempeng Total (ALT) pada Sediaan Kosmetik Lotion X di BBPOM Medan. *Jurnal Biologica Samudra*. Volume 1, Nomor 1: 25–28.
- Sutton, S. 2011. Accuracy of Plate Counts. *Journal of Validation Technology*. Volume 17, Nomor 3: 42-46.
- Sya'baniar, L., Erina, & Arman Sayuti. 2017. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria (LAB) Genus *Lactobacillus* from The Feces of Sumatra Orangutan (*Pongo abelii*) In Kasang Kulim Zoo Bangkinang Riau. Volume 1, Nomor 3: 351–359.
- Syamsudin and Keban S.A. 2013. *Buku Ajar Farmakoterapi: Gangguan Saluran Pernapasan*. Salemba Medika: Jakarta.
- Tacconelli, E. *et al.* 2018. Discovery, research, and development of new antibiotiks: the WHO priority list of antibiotik-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*. Volume 18, Nomor 3: 318–327.
- Tasci, S.S., Kavalci, C. and Kayipmaz, A.E. 2018. Relationship of Meteorological and Air Pollution Parameters with Pneumonia in Elderly Patients. *Emergency Medicine International*. Nomor 2018: 1–9.
- Ustun, Y., Sagsen, B., Durmaz, S., & Percin, D. 2013. *In vitro* antimicrobial efficiency of different root canal sealers against *Enterococcus faecalis*. *European Journal of General Dentistry*. Volume 2, Nomor 02: 134–138.
- Utami, D. W. 2021. Uji Aktivitas Antibiofilm *Aspergillus terreus* terhadap Biofilm *Klebsiella pneumoniae* . [Skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Varela, M. F. *et al.* 2021. Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents' terial Resistance to Antimicrobial Agents. *Antibiotiks*. Volume 10: 593.
- Virawan, H., Nuryastuti, T. and Nirwati, H. 2020. Multidrugresistant *Klebsiella pneumoniae* from clinical isolates at dr. Soeradji Tirtonegoro central hospital Klaten. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. Volume 11, Nomor 2: 109–120.
- Wafi, A., *et al.* 2020. The photocatalytic and antibacterial performance of nitrogen-doped TiO_2 : Surface-structure dependence and silver-deposition effect. *Nanomaterials*. Volume 10, Nomor 11: 1–19.
- Wahyuni, N. A. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* Secara *In vitro*. [Skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Malang.

- Wei, J. *et al.* 2018. Antibiotik resistance of *Klebsiella pneumoniae* through β -arrestin recruitment-induced β -lactamase signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*. Volume 15, Nomor 3: 2247–2254.
- [WHO] World Health Organization, 2014, Guidelines for ATC Classification and DDD Assignment 2013.
- [WHO] World Health Organization. 2015. WHO global strategy for containment of antimicrobial resistance. Switzerland: WHO.
- Yassin, M.A. *et al.* 2019. Facile coating of urinary catheter with bio-inspired antibacterial coating. *Heliyon*. Volume 5, Nomor 12: e02986.
- Zango, U. *et al.* 2019. A Review on β -lactam Antibiotic Drug Resistant. *MedCrave*. Volume 3, Nomor 2: 52–56.
- Zuraidah, Widiyari, and Oviana, W. 2023. Antibacterial potential of leaf and fruit of citrus extract (*Citrus aurantifolia*) against *Klebsiella oxytoca*. *JPBIO (Jurnal Pendidikan Biologi)*. Volume 8, Nomor 1: 106-114.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Bahan Penelitian

3. Perhitungan Media LB Broth

Media LB Broth (25 gram/1000 ml) dibuat dalam erlenmeyer 250 ml sebanyak 100 ml

$$\frac{25 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} = \frac{m}{100 \text{ ml}}$$
$$m = \frac{25 \text{ gram} \times 100 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 2,5 \text{ gram}$$

4. Perhitungan Media *Mueller Hinton Agar*

Media *Mueller Hinton Agar* (38 gram/1000 ml) dibuat dalam 2 erlenmeyer 250 ml sebanyak 250 ml

$$\frac{38 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} = \frac{m}{250 \text{ ml}}$$
$$m = \frac{38 \text{ gram} \times 250 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 9,5 \text{ gram}$$

Total MHA yang digunakan = 9,5 gram x 2 = 19 gram

5. Perhitungan Media *Mueller Hinton Agar*

Media *Mueller Hinton Agar* (38 gram/1000 ml) dibuat dalam 5 erlenmeyer 250 ml sebanyak 250 ml

$$\frac{38 \text{ gram}}{1000 \text{ ml}} = \frac{m}{250 \text{ ml}}$$
$$m = \frac{38 \text{ gram} \times 250 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} = 9,5 \text{ gram}$$

Total MHA yang digunakan = 9,5 gram x 5 = 47,5 gram

6. Perhitungan Pengenceran Kontrol Positif Meropenem

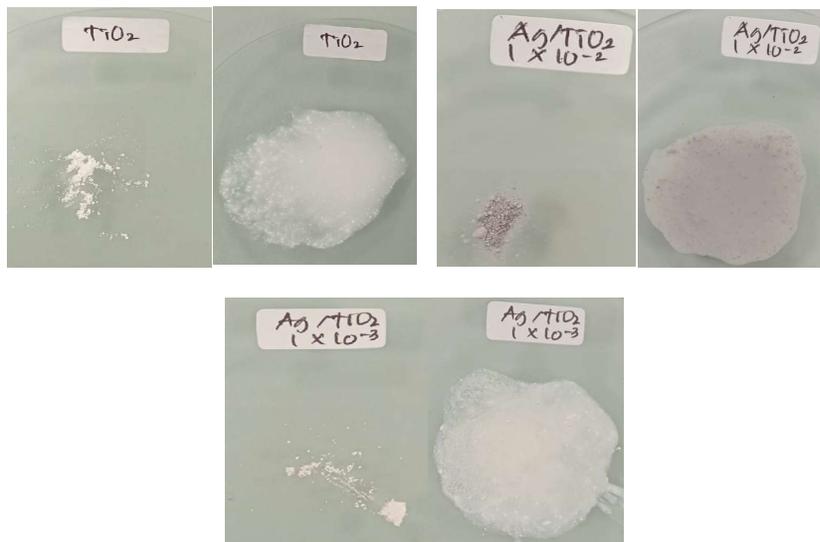
Kontrol positif Meropenem injeksi 1 gram (5 ml/250 mg) diencerkan dengan aquadest

$$\frac{5 \text{ ml}}{250 \text{ gram}} = \frac{v}{1000 \text{ mg}}$$

$$v = \frac{5 \text{ ml} \cdot 1000 \text{ mg}}{250 \text{ mg}} = 20 \text{ ml}$$

Lampiran 2. Dokumentasi Penelitian Metode Kirby Bauer

Gambar Sampel



Overnight Culture Bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR



Lampiran 3. Hasil Uji Dunn Metode Kruskal Wallis

Waktu	Sampel	K+	K-	Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	TiO ₂
20 menit	K+	-	0.009*	0.005*	0.678	0.011*
	K-	0.009*	-	0.905	0.015*	0.632
	Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	0.005*	0.905	-	0.016*	0.549
	Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	0.678	0.015*	0.016*	-	0.042*
	TiO ₂	0.011*	0.632	0.549	0.042*	-
1 jam	K+	-	0.000*	0.002*	0.872	0.011*
	K-	0.000*	-	0.784	0.015*	0.878
	Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	0.002*	0.874	-	0.009*	0.359
	Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	0.872	0.015*	0.009*	-	0.019*
	TiO ₂	0.011*	0.878	0.359	0.019*	-
6 jam	K+	-	0.000*	0.000*	0.905	0.001*
	K-	0.000*	-	0.632	0.000*	0.405
	Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	0.000*	0.632	-	0.002*	0.359
	Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	0.905	0.000*	0.002*	-	0.020*
	TiO ₂	0.001*	0.405	0.359	0.020*	-
24 jam	K+	-	0.000*	0.034*	1.000	0.000*
	K-	0.000*	-	0.057	0.000*	0.754
	Ag/TiO ₂ 10 ⁻² M	0.034*	0.057	-	0.001*	0.075
	Ag/TiO ₂ 10 ⁻³ M	1.000	0.000*	0.001*	-	0.000*
	TiO ₂	0.000*	0.754	0.075	0.000*	-

Keterangan: *Terdapat perbedaan signifikan (P < 0,05)

Lampiran 4. Uji Normalitas Diameter Zona Hambat

Case Processing Summary

	Antibakteri	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Zona Hambat	Ag/TiO ₂ 10-2	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	Ag/TiO ₂ 10-3	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	TiO ₂	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	Kontrol Positif	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%
	Kontrol Negatif	3	100.0%	0	0.0%	3	100.0%

Descriptives^a

		Antibakteri		Statistic	Std. Error
Zona Hambat	Ag/TiO ₂ 10-2	Mean		1.1333	.03333
		95% Confidence Interval for Lower Bound		.9899	
		Mean	Upper Bound	1.2768	

	5% Trimmed Mean		.	
	Median		1.1000	
	Variance		.003	
	Std. Deviation		.05774	
	Minimum		1.10	
	Maximum		1.20	
	Range		.10	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		1.732	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		6.3033	.05783
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	6.0545	
	Mean	Upper Bound	6.5522	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		6.3100	
	Variance		.010	
Ag/TiO2 10-3	Std. Deviation		.10017	
	Minimum		6.20	
	Maximum		6.40	
	Range		.20	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-.298	1.225
	Kurtosis		.	.
	Mean		6.9400	.24028
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	5.9062	
	Mean	Upper Bound	7.9738	
	5% Trimmed Mean		.	
	Median		7.1600	
	Variance		.173	
TiO2	Std. Deviation		.41617	
	Minimum		6.46	
	Maximum		7.20	
	Range		.74	
	Interquartile Range		.	
	Skewness		-1.714	1.225

	Kurtosis			
	Mean		33.9667	.49777
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	31.8249	
		Upper Bound	36.1084	
	5% Trimmed Mean			
	Median		33.8000	
	Variance		.743	
Kontrol Positif	Std. Deviation		.86217	
	Minimum		33.20	
	Maximum		34.90	
	Range		1.70	
	Interquartile Range			
	Skewness		.837	1.225
	Kurtosis			

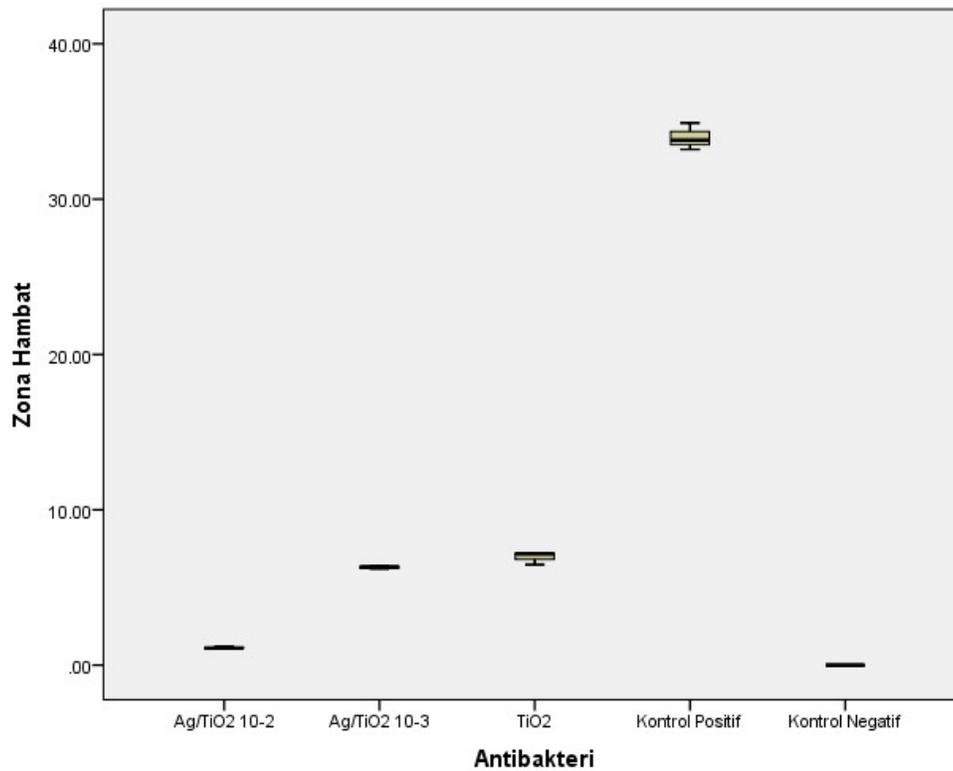
a. Zona Hambat is constant when Antibakteri = Kontrol Negatif. It has been omitted.

Tests of Normality^b

	Antibakteri	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Zona Hambat	Ag/TiO ₂ 10-2	.385	3	.	.750	3	.000
	Ag/TiO ₂ 10-3	.193	3	.	.997	3	.890
	TiO ₂	.368	3	.	.790	3	.092
	Kontrol Positif	.243	3	.	.972	3	.679

a. Lilliefors Significance Correction

b. Zona Hambat is constant when Antibakteri = Kontrol Negatif. It has been omitted.



Lampiran 5. Uji Homogenitas Diameter Zona Hambat

Test of Homogeneity of Variances

Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.528	4	10	.013

ANOVA

Zona Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2326.497	4	581.624	3127.348	.000
Within Groups	1.860	10	.186		
Total	2328.357	14			

Lampiran 4. Uji *Kruskal Wallis* Diameter Zona Hambat

Ranks			
	Antibakteri	N	Mean Rank
Zona Hambat	Ag/TiO2 10-2	3	5.00
	Ag/TiO2 10-3	3	8.00
	TiO2	3	11.00
	Kontrol Positif	3	14.00
	Kontrol Negatif	3	2.00
	Total	15	

Test Statistics ^{a,b}	
	Zona Hambat
Chi-Square	13.622
df	4
Asymp. Sig.	.009

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Antibakteri

Lampiran 6. Uji *Post Hoc Mann-Whitney* Diameter Zona Hambat

1. *Mann-Whitney Test* Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat	Kontrol Positif	3	5.00	15.00
	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

2. Mann-Whitney Test Kontrol Porsitif dan Nanopartikel Ag/TiO₂ Konsentrasi 10⁻² M

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Ag/TiO ₂ 10-2	3	2.00	6.00
Zona Hambat	Kontrol Positif	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

3. Mann-Whitney Test Kontrol Porsitif dan Nanopartikel Ag/TiO₂ Konsentrasi 10⁻³ M

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Ag/TiO ₂ 10-3	3	2.00	6.00
Zona Hambat	Kontrol Positif	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

4. *Mann-Whitney Test* Kontrol Porsitif dan Senyawa TiO₂

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	TiO ₂	3	2.00	6.00
Zona Hambat	Kontrol Positif	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

5. *Mann-Whitney Test* Kontrol Negatif dan Nanopartikel Ag/TiO₂ Konsentrasi 10⁻² M

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Ag/TiO ₂ 10-2	3	5.00	15.00
Zona Hambat	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

6. Mann-Whitney Test Kontrol Negatif dan Nanopartikel Ag/TiO₂ Konsentrasi 10⁻³ M

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Ag/TiO ₂ 10-3	3	5.00	15.00
Zona Hambat	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

7. Mann-Whitney Test Kontrol Negatif dan Senyawa TiO₂

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	TiO ₂	3	5.00	15.00
Zona Hambat	Kontrol Negatif	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.087
Asymp. Sig. (2-tailed)	.037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

8. Mann-Whitney Test Nanopartikel Ag/TiO₂ Konsentrasi 10⁻² M dan Nanopartikel Ag/TiO₂ Konsentrasi 10⁻³ M

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Ag/TiO ₂ 10-2	3	2.00	6.00
Zona Hambat	Ag/TiO ₂ 10-3	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

9. Mann-Whitney Test Nanopartikel Ag/TiO₂ Konsentrasi 10⁻² M dan Senyawa TiO₂

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Ag/TiO ₂ 10-2	3	2.00	6.00
Zona Hambat	TiO ₂	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

10. Mann-Whitney Test Nanopartikel Ag/TiO₂ Konsentrasi 10⁻³ M dan Senyawa TiO₂

Ranks				
	Sampel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Ag/TiO ₂ 10-3	3	2.00	6.00
Zona Hambat	TiO ₂	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics ^a	
	Zona Hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

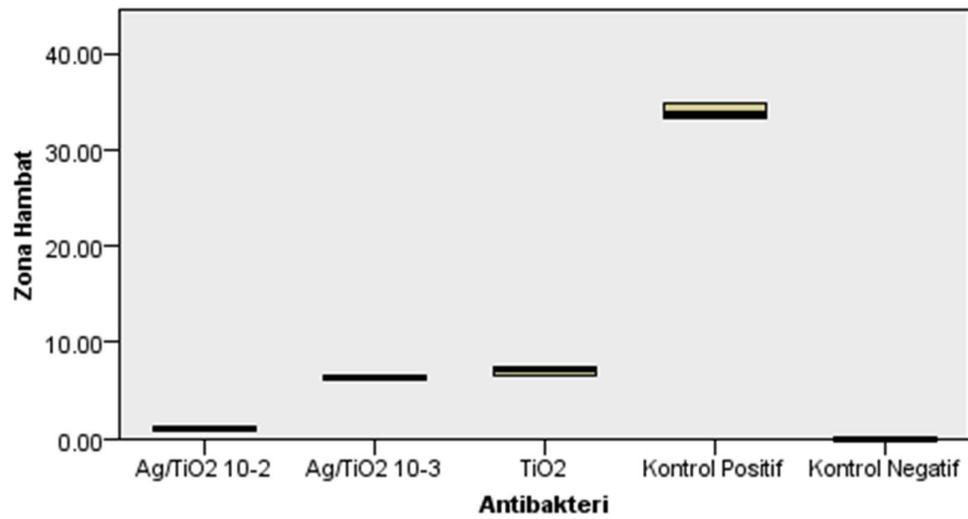
b. Not corrected for ties.

Lampiran 7. Uji Lanjutan Kruskal Wallis Kirby Bauer

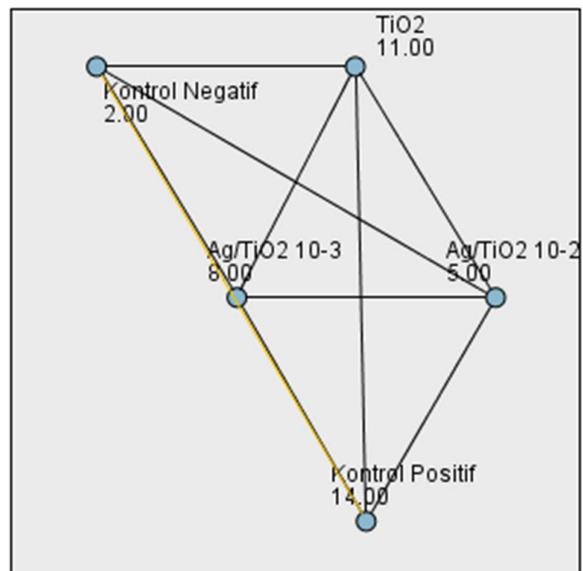
Hypothesis Test Summary				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Zona Hambat is the same across categories of Antibakteri.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	.009	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is .05.

Independent-Samples Kruskal-Wallis Test



Pairwise Comparisons of Antibakteri

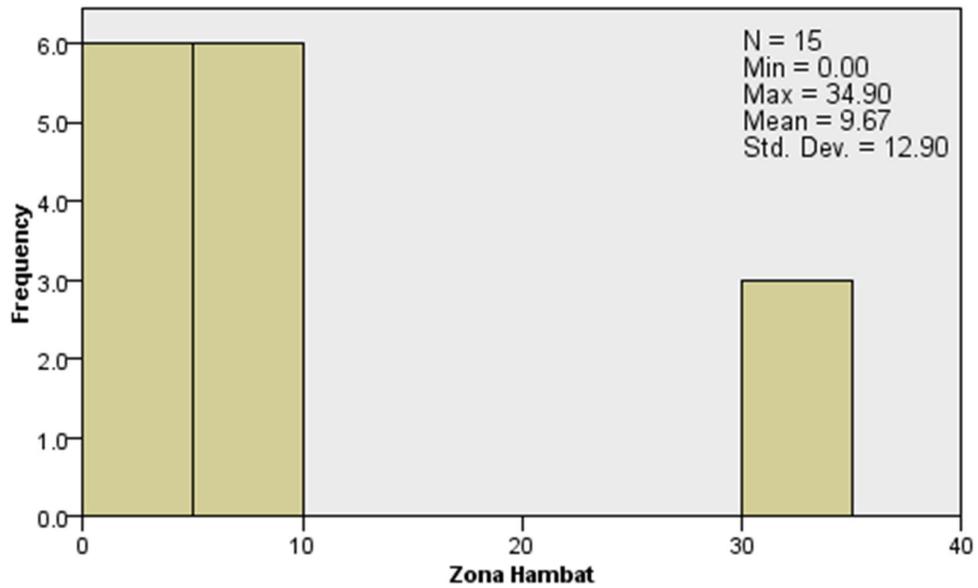


Each node shows the sample average rank of Antibakteri.

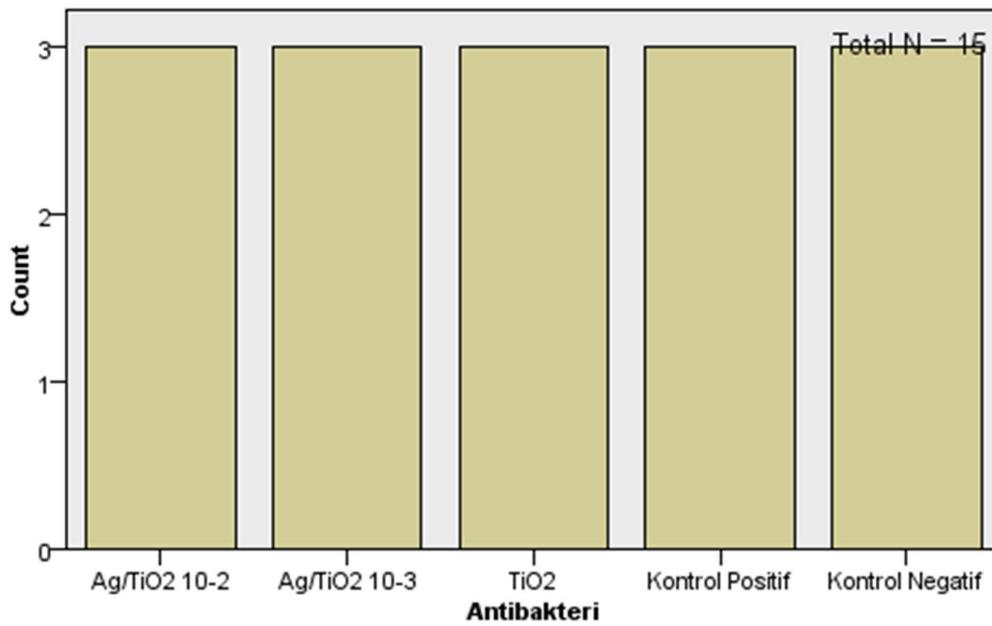
Sample1-Sample2	Test Statistic	Std. Error	Std. Test Statistic	Sig.	Adj.Sig.
Kontrol Negatif-Ag/TiO2 10-2	3.000	3.635	.825	.409	1.000
Kontrol Negatif-Ag/TiO2 10-3	6.000	3.635	1.651	.099	.988
Kontrol Negatif-TiO2	9.000	3.635	2.476	.013	.133
Kontrol Negatif-Kontrol Positif	12.000	3.635	3.301	.001	.010
Ag/TiO2 10-2-Ag/TiO2 10-3	-3.000	3.635	-.825	.409	1.000
Ag/TiO2 10-2-TiO2	-6.000	3.635	-1.651	.099	.988
Ag/TiO2 10-2-Kontrol Positif	-9.000	3.635	-2.476	.013	.133
Ag/TiO2 10-3-TiO2	-3.000	3.635	-.825	.409	1.000
Ag/TiO2 10-3-Kontrol Positif	-6.000	3.635	-1.651	.099	.988
TiO2-Kontrol Positif	-3.000	3.635	-.825	.409	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.

Continuous Field Information



Categorical Field Information



Lampiran 8. Uji Normalitas Jumlah Koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* MDR

Case Processing Summary

	Antibakteri	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
CFU/ml	Ag/TiO2 10-2	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Ag/TiO2 10-3	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	TiO2	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Kontrol Positif	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%
	Kontrol Negatif	4	100.0%	0	0.0%	4	100.0%

Descriptives

	Antibakteri	Statistic	Std. Error		
CFU/ml	Ag/TiO2 10-2	Mean	5.3250	1.78556	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-.3575	
			Upper Bound	11.0075	
		5% Trimmed Mean		5.3989	
		Median		5.9900	
		Variance		12.753	
		Std. Deviation		3.57113	
		Minimum		.87	
		Maximum		8.45	
		Range		7.58	
		Interquartile Range		6.67	
		Skewness		-.612	1.014
		Kurtosis		-2.425	2.619
		CFU/ml	Ag/TiO2 10-3	Mean	.0450
95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound			-.0491	
	Upper Bound			.1391	
5% Trimmed Mean				.0428	
Median				.0250	
Variance				.004	
Std. Deviation				.05916	
Minimum				.00	

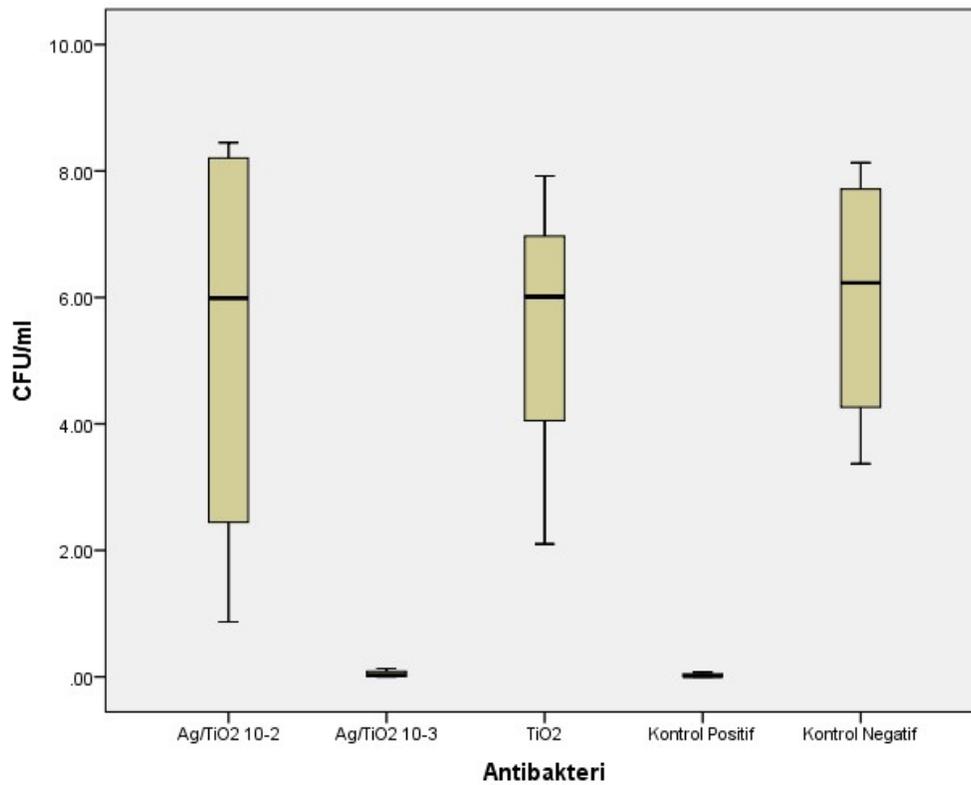
		Maximum	.13	
		Range	.13	
		Interquartile Range	.11	
		Skewness	1.545	1.014
		Kurtosis	2.229	2.619
		Mean	5.5100	1.22258
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	1.6192
			Upper Bound	9.4008
		5% Trimmed Mean	5.5656	
		Median	6.0100	
		Variance	5.979	
	TiO2	Std. Deviation	2.44516	
		Minimum	2.10	
		Maximum	7.92	
		Range	5.82	
		Interquartile Range	4.37	
		Skewness	-1.158	1.014
		Kurtosis	2.266	2.619
		Mean	.0225	.01652
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-.0301
			Upper Bound	.0751
		5% Trimmed Mean	.0211	
		Median	.0100	
		Variance	.001	
	Kontrol Positif	Std. Deviation	.03304	
		Minimum	.00	
		Maximum	.07	
		Range	.07	
		Interquartile Range	.06	
		Skewness	1.560	1.014
		Kurtosis	2.173	2.619
		Mean	5.9900	1.07428
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	2.5712
	Kontrol Negatif		Upper Bound	9.4088
		5% Trimmed Mean	6.0167	

Median	6.2300	
Variance	4.616	
Std. Deviation	2.14857	
Minimum	3.37	
Maximum	8.13	
Range	4.76	
Interquartile Range	4.11	
Skewness	-.437	1.014
Kurtosis	-2.314	2.619

Tests of Normality

	Antibakteri	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CFU/ml	Ag/TiO ₂ 10-2	.270	4	.	.899	4	.426
	Ag/TiO ₂ 10-3	.284	4	.	.848	4	.218
	TiO ₂	.329	4	.	.893	4	.399
	Kontrol Positif	.280	4	.	.808	4	.117
	Kontrol Negatif	.229	4	.	.950	4	.717

a. Lilliefors Significance Correction



Lampiran 9. Uji Homogenitas Jumlah Koloni Bakteri

Test of Homogeneity of Variances

CFU/ml

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.801	4	15	.002

ANOVA

CFU/ml

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	150.108	4	37.527	8.035	.001
Within Groups	70.058	15	4.671		
Total	220.166	19			

Lampiran 10. Uji *Kruskal Wallis* Jumlah Koloni

Ranks			
	Antibakteri	N	Mean Rank
CFU/ml	Ag/TiO2 10-2	4	14.75
	Ag/TiO2 10-3	4	5.00
	TiO2	4	14.00
	Kontrol Positif	4	4.00
	Kontrol Negatif	4	14.75
	Total	20	

Test Statistics ^{a,b}	
	CFU/ml
Chi-Square	13.856
df	4
Asymp. Sig.	.008

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Antibakteri