

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

a. Tanaman kayu manis dan klasifikasi

Tanaman kayu manis sangat mudah ditemukan di Indonesia. Tanaman ini menjadi salah satu komoditi rempah-rempah terbesar di Indonesia. Budidaya tanaman ini di Indonesia sangat baik terutama di daerah Sumatera Barat. Jenis tanaman kayu manis termasuk dalam famili Lauraceae yang terdiri dari 47 marga dan lebih dari 1900 spesies yang berbentuk pohon-pohonan dan semak. Di Indonesia sendiri jenis kayu manis yang dikenal sebagai spesies *Cinnamomum burmannii* dengan nama dagang disebut casia vera (Rismunandar dan Paimin, 2001).

Klasifikasi tanaman kayu manis yang berasal dari Indonesia yang tertuang dalam buku Rismunandar dan Paimin (2001) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)

Divisi : Gymnospermae

Subdivisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledonae

Subkelas : Dialypetale

Ordo : Polycarpicae

Famili : Lauraceae

Genus : *Cinnamomum*

Spesies : *Cinnamomum burmannii*

b. Morfologi tanaman kayu manis

Tanaman kayu manis berbentuk pohon yang memiliki tinggi sekitar antara 5-15 m. Diameter batang dapat mencapai satu meter pada umur tanaman 10 tahun. Daun tanaman kayu manis memiliki warna merah pada ujung daun muda dan hijau tua saat tua, ukuran daun panjang antara 9-12 cm dan lebar 3,4-5,4 cm. Kulit batang dan ranting kayu manis memiliki aroma yang khas rasa pedas manis serta mengandung berbagai senyawa kimia minyak atsiri (Rismunandar, 2001).



Gambar 1. Tanaman Kayu Manis *Cinnamomum burmannii*
Sumber : Potter and Lee, 1998

Kulit kayu manis ditinjau dari sudut produksi dipanen dengan cara mengupas atau menguliti tanpa harus menebang pohon. Setelah pohon

mencapai umur lebih dari sepuluh tahun, panen dapat dilakukan dengan cara ditebang (Towaha dan Indriati, 2008).

Waktu pemanenan kayu manis pertama kali ketika tanaman kayu manis berumur 3 tahun, kemudian akan menutup kembali setelah 2 tahun sehingga dapat kembali dipanen secara berkelanjutan tanpa menebang pohon. Tanaman kayu manis memiliki masa hidup hingga 15 tahun untuk dapat terus memproduksi kulit kayu manis. Musim panen kayu manis yang tepat untuk mendapatkan kualitas terbaik dan mudah dikelupas pada saat awal musim penghujan (Yuliani dan Suyani, 2012).

Kulit batang harus dibersihkan dari berbagai kotoran, lapisan gabus, dan lumut, sebelum menguliti bagian atas dari batang dan cabang-cabang yang besar. Sehingga pada proses penjemuran, kulit sudah terbebas dari jamur-jamur kulit dan kotoran lainnya. Selanjutnya dibuat dua irisan horizontal melingkar batang dengan jarak tertentu yang merupakan panjang potongan kulit. Kemudian di antara dua irisan horizontal yang melingkar batang, selanjutnya dibuat dua buah irisan tegak lurus dengan jarak tertentu yang merupakan lebar potongan kulit dan seterusnya dikupas dari batang (Yuliani dan Suyani, 2012).

Kulit kayu manis hasil panen sebaiknya dilakukan pengeringan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari langsung dalam dua hingga tiga hari dengan cuaca yang sangat baik. Kadar air kulit kayu manis yang mencapai 14%, kulit kayu manis akan menggulung dengan sendirinya menyerupai pipa yang disebut *quill* yang siap untuk dipasarkan. Quill

dari cassiavera ini berwarna coklat kemerahan, tampak bergaris-garis halus, sedangkan bagian dalam berwarna coklat sedikit gelap serta tidak mengkilap (Muhammad, 1973).



Gambar 2. Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)
Sumber : Emelia, 2019

c. Kandungan kimia

Kulit kayu manis dalam keadaan kering mengandung berbagai senyawa kimia. Kandungan utama senyawa kimia dari kulit tanaman kayu manis dapat diperoleh dari hasil penyulingan yang berupa minyak atsiri (Ramadhani, 2017).

Tabel 2. Komposisi Kimia Kulit Kayu Manis

Kompenen	Kandungan
Kadar air	7,90 %
Minyak atsiri	3,40 %
Alkohol ekstrak	8,20 %
Abu	4,50 %
Abu larut dalam air	2,23 %
Abu tidak dapat larut	0,01 %
Serat kasar	29,10 %
Karbohidrat	23,30 %

Sumber : D.E. Gilliver (1971) dalam Rismunandar (1993)

Kulit kayu manis yang dihasilkan dari tanaman kayu manis memiliki bau aromatik, seperti sinamaldehyd dan eugenol. Rasa dari kulit kayu manis yaitu manis, membakar seperti rempah-rempah pada umumnya. Kandungan kulit kayu manis berupa tanin, musin, pati, kalsium oksalat 2,5-6,0 %, minyak atsiri dengan kandungan sinamaldehyd mencapai 65-75 % dan eugenol kurang dari 10 % (Stahl, 1985).

Minyak atsiri kayu manis yang dihasilkan dari penyulingan minimal menghasilkan 1 % rendeman minyak atsiri. Komponen utama penyusun minyak atsiri kayu manis yaitu *cinnamaldehyde* (60%–75%), *eugenol* (4–8%) dan *kumarin* (13,39%) (Paimin dan Rismunandar, 2001). Minyak atsiri dari kulit batang kayu manis yang mengandung senyawa organik berupa *cinnamaldehyde* berkhasiat sebagai antibakteri, fungisidal dan antioksidan (Bisset & Wichtl, 2001).

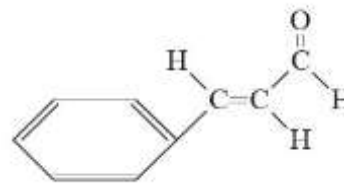
Tabel 3. Standar Mutu Minyak Kulit Kayu Manis SNI 06-3734-2006

Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
Warna	-	Kuning muda-coklat muda
Bau	-	Khas kayu manis
Bobot jenis	-	1.008-1.030
Indeks bias	-	1.559-1.595
Putaran optik	-	(-5°)s/d (0°)
Kelarutan dalam etanol 70%	-	1:3 larut dan jernih
Kadar sinamaldehyda	%	Min. 50

Sumber : SNI 06-3734-2006 dalam Pebrimadewi, 2011

1) *Cinnamaldehyde*

Cinnamaldehyde (*3-phenylacrolein*, *Sinamat Aldehyd*) adalah senyawa organik dengan rumus $C_6H_5CH=CHCHO$ yang secara alami terdapat dalam minyak atsiri kayu manis. Senyawa ini merupakan senyawa golongan fenil propanoid salah satu penyusun terbesar minyak atsiri. Rasa dan warna senyawa ini yaitu pedas dan berwarna kuning jernih (Gunawan dan Sri, 2004).



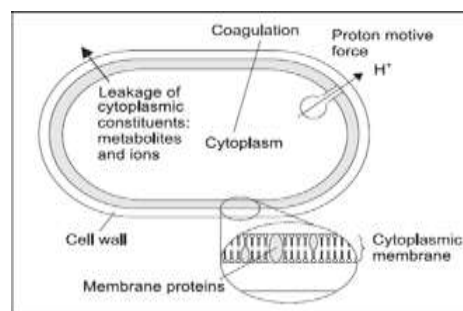
Gambar 3. Struktur *Cinnamaldehyde*

Sumber : Nainggolan, 2008

Minyak kayu manis bersifat hidrofobik (tidak suka air) sehingga mampu memisahkan lemak pada membran sel bakteri, merusak struktur sel dan membuat bakteri menjadi lebih permeabel (Kwon, 2003). Disamping itu, terjadinya interaksi antara *cinnamaldehyde* dengan membran sel yang menyebabkan gangguan yang cukup untuk mendispersi gerakan proton dengan keluarnya ion-ion penting dari dalam sel bakteri. Kerusakan sel bakteri yang luas serta hilangnya molekul-molekul dan ion-ion penting dari bakteri, dengan demikian dapat menyebabkan kematian sel (Purbo, 2014).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan pemindaian secara mikroskop elektron yang menunjukkan bahwa sel bakteri dirusak

oleh *cinnamalaldeyde* dengan adanya perubahan morfologis, hal itu dapat diketahui dari peningkatan asam nukelat dan kadar protein berlipat ganda dalam suspensi sel. Sehingga menurunkan potensi membran dan mempengaruhi aktivitas metabolisme yaitu terganggunya aktivitas glikolisis yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Firmino, 2018).



Gambar 4. Mekanisme kerja dan daerah target minyak esensial pada sel mikroba

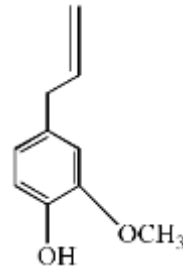
Sumber : Ashakirin dan Minaketan, 2017

2) *Eugenol*

Eugenol merupakan komponen pada minyak atsiri kayu manis selain *Cinnamaldehyde*. Senyawa ini dapat diperoleh dengan metode penyulingan uap. Kadar *Eugenol* dalam minyak atsiri kayu manis berkisar antara (4–8%) (Rismunandar, 2001).

Eugenol memiliki rumus molekul $C_{10}H_{12}O_2$ dengan nama IUPAC 4-alil-2-metoksifenol. *Eugenol* juga memiliki nama lain, seperti 4-alilguaikol, 1-allil-4-hidroksi-3-metoksibenzena, asam kariofilik, 4-hidroksi-3-metoksialilbenzena, 2-metoksi-4-alilfenol (Harista, 2018). *Eugenol* bersifat mudah menguap dan sedikit asam

serta larut dalam pelarut organik, seperti kloroform, eter, alkohol dan sedikit larut dalam air (Harista, 2018).



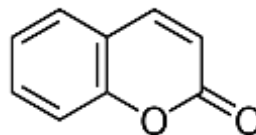
Gambar 5. Struktur *Eugenol*
Sumber : Ngadiwiyana, 2005

Eugenol telah banyak dilakukan penelitian terhadap kemampuan menghambat perkembangbiakan bakteri dan sifat farmakologinya. Hal ini karena, *eugenol* memiliki sifat lipofilik yang dapat menyebabkan membran sel bakteri mengalami adhesi dan mengakibatkan respirasi bakteri terhambat. Disamping itu, menimbulkan terganggunya transport ion pada sel bakteri sehingga mengalami kematian. Selain itu, gugus fenol yang terdapat dalam *eugenol* jika menempel pada sel bakteri akan membuat bakteri mengalami lisis, kemudian mati (Kumala & Indriani, 2008). *Eugenol* juga memiliki aktivitas biologis antioksidan, antikanker, dan antiseptik sehingga sangat berguna bagi industri farmasi (Harista, 2018)

3) *Kumarin*

Kumarin atau 1,2-benzopyrone merupakan zat kimia yang sering ditemukan dalam bermacam-macam tanaman. Senyawa *coumarin* telah menunjukkan spektrum yang luas dari tumbuhan

obat yang digunakan sejak dahulu dan hingga saat ini sudah ditemukan sekitar 1300 senyawa lain yang berhasil diidentifikasi. Kumarin dapat ditemukan pada bagian tumbuhan daun, ranting, kulit kayu, dan akar (Renardi P, 2015).



Gambar 6. Struktur Senyawa Kumarin
Sumber : Renardi P, 2015

Kumarin merupakan Salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan. Senyawa ini merupakan senyawa toksik yang moderat untuk hepar dan ginjal, yaitu LD₅₀ 275mg/kg, tingkat toksisitas yang rendah dibandingkan dengan senyawa yang memiliki hubungan dengan *coumarin* lainnya (Renardi P, 2015). Senyawa kumarin dan turunannya banyak memiliki aktivitas biologis diantaranya sebagai anti koagulan darah, antibiotik dan ada juga yang menunjukkan aktivitas menghambat efek karsinogenik. Selain itu kumarin juga digunakan sebagai bahan dasar pembuatan parfum dan sebagai bahan fluoresensi pada industri tekstil dan kertas (Murray, 1982).

d. Manfaat

Tanaman kayu manis terutama bagian kulit batangnya oleh masyarakat umumnya digunakan sebagai bumbu menambah cita rasa masakan. Disamping itu dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk menghilangkan masuk angin, menambah nafsu makan dan penyakit

yang berhubungan dengan gangguan saluran pencernaan seperti peluruh kentut (Ramadhani, 2017).

Minyak kayu manis banyak digunakan dalam bidang industri makanan, minuman, farmasi, rokok dan kosmetika sebagai pemberi rasa dan aroma (Gunawan dan Sri, 2004). Minyak ini juga bersifat antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai bahan pengawet alami pada makanan. Kayu manis juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang sangat baik (Bisset & Wichtl, 2001).

2. *Staphylococcus epidermidis*

a. Definisi dan Klasifikasi

Staphylococcus epidermidis adalah bakteri kelompok *cocci* Gram positif. Bakteri ini hampir sebagian besar merupakan flora normal pada manusia, terutama permukaan kulit, permukaan mukosa, pada saluran pernapasan di hidung dan saluran pencernaan. Udara dan lingkungan sekitar kita seperti, pakaian, tempat tidur, seprei dan barang yang terpapar oleh bakteri ini mudah kita jumpai. Terkadang bakteri ini dapat menyebabkan infeksi dan dianggap sebagai mikroorganisme oportunistik. Infeksi yang terjadi sering berkaitan dengan penggunaan alat-alat implan, protesis sendi, kateter intravaskuler dan *shunts* SSP pada pasien yang memiliki imun lemah (Jawetz dkk, 2010).

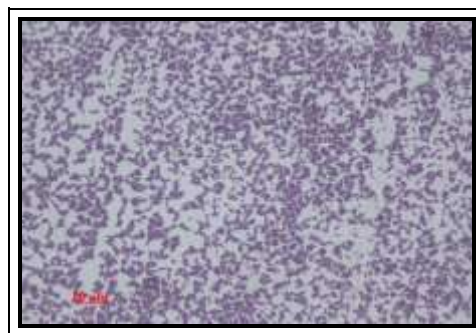
Klasifikasi ilmiah bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang tertuang di buku Soedarto (2014) adalah sebagai berikut:

Domain : Bacteria

Kingdom : Eubacteria
Phylum : Firmicutes
Class : Bacilli
Ordo : Bacillales
Famili : Staphylococcaceae
Genus : *Staphylococcus*
Species : *Staphylococcus epidermidis*

b. Morfologi

Staphylococcus epidermidis ialah kelompok bakteri Gram positif, motilitas negatif, dan tidak menghasilkan spora. Bakteri ini merupakan sel sferis tersusun dalam kelompok tidak beraturan dan berdiameter satu mikrometer. Bentuk bakteri ini dapat berupa coccus tunggal, berpasangan, berhimpit, dan beregerombol seperti anggur. Pada pewarnaan gram, *Coccus* muda memiliki warna ungu yang sangat kuat dan ketika berkembang menjadi tua banyak sel yang berwarna ungu muda (gram negatif) (Jawetz dkk, 2010). Bentuk morfologi bakteri ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Morfologi Mikroskopis *Staphylococcus epidermidis*
Sumber : Darojah, 2019

Kultur *Staphylococcus epidermidis* pada media padat koloni berdiameter 1-2 mm yang berbentuk halus, bulat, menonjol, berkilau, konsistensinya lunak, tidak berpigmen, berwarna abu-abu hingga putih porselen sehingga *Staphylococcus epidermidis* juga disebut *Staphylococcus albus*. Suhu optimum pertumbuhan bakteri ini pada suhu 30-37°C dan sangat baik tumbuh pada NaCl konsentrasi 1-7% dengan pH optimum 7,4. Kondisi terbaik tumbuh dalam keadaan anaerob fakultatif dengan respirasi aerobik atau dengan fermentasi (Staf Pengajar Mikrobiologi UI, 2004). Morfologi koloni bakteri yang tumbuh di media agar darah ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Koloni *Staphylococcus epidermidis* media Blood Agar
Sumber : Darojah, 2019

Staphylococcus epidermidis pada dinding selnya tidak memiliki protein A dan bersifat koagulase negatif. *Staphylococcus epidermidis* mampu menfermentasi glukosa, fruktosa, sukrosa, dan laktosa untuk membentuk produk asam laktat secara aerobik, tetapi tidak menghasilkan dan dalam keadaan anaerob tidak memfermentasi manitol, hal ini yang membedakan dengan bakteri *Staphylococcus*

aureus. Selain itu, bakteri *Staphylococcus epidermidis* sensitif terhadap novobiosin, oleh karena itu tes ini dapat membedakan dengan *Staphylococcus saprophyticus*, yang juga koagulase negatif, tetapi resisten novobiosin (Staf Pengajar Mikrobiologi UI, 2004).

c. Patogenenitas

Staphylococcus epidermidis merupakan resevoir flora normal kulit, begitu juga flora normal pada membran mukosa saluran pernapasan dan saluran pencernaan. Pada umumnya flora normal tidak menyebabkan infeksi pada orang sehat. Akan tetapi bakteri ini kini menjadi patogen oportunistik yang menyebabkan infeksi nosokomial pada persendian, endokarditis, dan pembuluh darah. Patogenitas yang timbul disebabkan oleh berbagai macam hasil metabolit (Staf Pengajar Mikrobiologi UI, 2004).

Bakteri *Staphylococcus epidermidis* menghasilkan berbagai zat seperti zat ekstraseluler berupa enzim dan toksin. Bakteri ini juga mampu mengakumulasi hasil metabolisme yang terdapat dalam zat ekstraseluler berupa lendir yang memiliki kemampuan untuk melekatkan diri ke permukaan pada alat-alat yang berbahan dasar plastik maupun kaca. Lendir ini bertugas untuk melindungi bakteri terhadap mekanisme antibodi imun pada hospes dan senyawa antimikrobia. Selain itu, lendir tersebut dapat mengurangi permeabilitas, mengurangi pembekahan sel dan juga sintesis protein. Oleh karena itu, *Staphylococcus epidermidis*

dapat bertahan terhadap aktivitas fagosit dan tingkat resisten yang tinggi terhadap antimikroba tertentu (Darajah, 2019).

d. Temuan Klinis

Infeksi stafilokokus terlokalisasi, biasanya terdapat reaksi inflamasi hebat yang nyeri, terlokalisasi, mengalami supurasi sentral, dan sembuh dengan cepat jika pus didrainase. Dinding fibrin dan sel di sekeliling pusat abses cenderung mencegah penyebaran organisme dan sebaiknya tidak didrainase dengan manipulasi atau trauma. Adapun penyakit yang disebabkan oleh *Staphylococcus epidermidis* adalah :

1) Jerawat

Jerawat adalah penyakit peradangan menahun folikel pilosebaceus yang disebabkan karena adanya peningkatan produksi sebum, penyumbatan keratin di saluran pilosebaceus, abnormalitas mikroorganisme di saluran pilosebaceus, serta adanya proses inflamasi yang disebabkan oleh bakteri. Salah satu agent bakteri penyebab jerawat adalah *Staphylococcus epidermidis* (Aqmarina, 2016).

2) Keratitis mata dan endoftalmitis lensa kontak yang terkontaminasi oleh paparan bakteri *Staphylococcus epidermidis* (Namvar dkk, 2014).

3) Infeksi nosokomial

Infeksi noskomial adalah infeksi yang diperoleh dirumah sakit yang disebabkan oleh agent penyakit yang berasal dari rumah sakit.

Infeksi nosokomial paling sering disebabkan oleh virus, jamur, parasit dan bakteri. Faktor yang menjadi agen infeksi nosokomial dipengaruhi oleh patogenitasnya, dosis infeksi, invasinya, dan virulensinya (Tim Mikrobiologi UB, 2003). Infeksi Luka operasi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus epidermidis* ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Infeksi Luka Operasi
Sumber : Paul, 2017

Menurut Darojah (2019) prevalensi infeksi nosokomial pada luka operasi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebesar 40%. Infeksi ini terjadi apabila luka paska operasi terkontaminasi oleh bakteri ini sehingga berkembang biak secara leluasa tanpa hambatan, populasi menjadi besar mengakibatkan peningkatan jumlah yang hidup di dalam tubuh pasien dengan lemah imun. Oleh sebab itu, *Staphylococcus epidermidis* dapat menimbulkan kerusakan pada bagian organ jaringan (Darojah, 2019).

Infeksi luka operasi paling sering terjadi 5 – 6 hari setelah operasi tetapi mungkin saja berkembang lebih cepat atau lebih lambat dari pada itu. Sekitar 80% - 90% dari semua infeksi post-operasi yang terjadi dalam 30 hari setelah dilakukan operasi. Dengan bertambahnya pasien operasi rawat jalan dan mengurangi lamanya rawat inap, 30% sampai 40% menunjukkan berkurangnya luka infeksi setelah keluar dari rumah sakit (Kulaylat dan Dayton, 2008).

Infeksi luka operasi insisi superfisial dan insisi dalam ditandai oleh eritema, tenderness, edema, dan terkadang ada pengeringan (*drains*). Luka sering halus dan tidak rata pada sisi yang terinfeksi. Pasien juga dapat mengalami leukositosis dan demam ringan. Menurut *The Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations*, luka bedah disebut terinfeksi bila menemukan kriteria berikut :

- a) Keluar material purulen yang jelas terlihat dari luka
- b) Luka terbuka secara spontan dan keluar cairan yang purulen
- c) Luka mengalirkan cairan dimana hasil kultur bakteri positif dan pewarnaan gram positif.
- d) Ahli bedah mencatat adanya eritema dan pengeringan (*drainage*) dan membuka luka setelah menganggap terinfeksi (Kulaylat dan Dayton, 2008).

3. Uji Daya Antibakteri

Antibakteri adalah suatu senyawa kompleks aktif baik alami atau sintesis yang memiliki efektivitas menghentikan atau menekan suatu proses biokimia di dalam suatu organisme terutama yang merugikan. Pengendalian pertumbuhan bakteri bertujuan untuk mencegah penyebaran infeksi dan penyakit (Tenover, 2006). Mekanisme kerja obat antibakteri dikelompokkan ke dalam 4 hal utama yaitu penghambatan terhadap sintesis dinding sel, fungsi membran sel, sintesis protein dan sintesis asam nukleat (Jawetz dkk, 2005).

a. Pengertian

Uji daya antibakteri adalah pengujian kemampuan suatu senyawa antibakteri terhadap sensitivitas suatu bakteri sehingga dapat mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang merugikan (Tim mikrobiologi UB, 2003).

Berdasarkan tingkat toksisitas selektif menurut Madigan (2000) yaitu :

- 1) Bakteriostatik yaitu memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak dapat membunuh, senyawa hanya dapat mengikat ribosom atau menghentikan sintesis protein.
- 2) Bakteriosidal yaitu memberikan efek membunuh bakteri tanpa melisiskan sel bakteri.
- 3) Bakteriolitik yaitu menyebabkan terjadinya lisis pada sel bakteri sehingga menunjukkan jumlah bakteri yang menurun.

b. Metode uji daya antibakteri

Uji daya kepekaan bakteri terhadap antibakteri pada dasarnya memiliki 2 metode yaitu :

1) Metode dilusi

Tujuan menggunakan metode ini adalah untuk mengetahui dan menentukan KHM (kadar hambat minimal) dan KBM (kadar bunuh minimal) dari suatu senyawa antibakteri. Prinsip pemeriksaan ini yaitu suatu rangkain pengenceran seri dari zat antibakteri sehingga diperoleh berbagai tingkat kosentrasi. Keunggulan dari metode ini yaitu hasil yang diperoleh data kuantitatif dan lebih akurat (Pratiwi, 2008).

a) Dilusi cair

Prinsip dari dilusi cair berupa media bakteri cair yang ditambahkan sejumlah bakteri dan antibakteri kemudian dilakukan pengenceran serial. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pertumbuhan jumlah bakteri ditunjukkan dengan adanya kekeruhan pada media cair tersebut (Pratiwi, 2008).

b) Dilusi padat

Senyawa antibakteri yang dibuat berbagai konsentrasi kemudian dicampur dalam media agar dan diinokulasi bakteri. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian diamati koloni bakteri yang tumbuh dan dianalisis

kemampuan daya antibakteri menghambat dan membunuh bakteri (Pratiwi, 2008).

2) Metode difusi

a) Kertas cakram

Prinsip dari difusi kertas cakram yaitu zat senyawa antibakteri dituangkan ke dalam kertas saring dengan kerapatan yang baik (kertas cakram). Kertas cakram yang mengandung antibakteri ditanam pada media lempeng agar yang telah diinokulasikan bakteri tertentu. Selanjutnya, diinkubasi selama 18-24 jam. Zona jernih yang terbentuk disekitar cakram menunjukkan tidak ada aktivitas pertumbuhan bakteri (Tim Mikrobiologi UB, 2003).

b) Sumuran

Metode sumuran tidak jauh berbeda dengan difusi kertas cakram. Media lempeng agar dibuat lubang sumuran sebagai tempat zat antibakteri yang diuji (Tim Mikrobiologi UB, 2003).

c) Pembacaan hasil pengujian metode difusi yaitu :

(1) Zona radikal

Zona radikal adalah zona jernih yang terbentuk di sekitar kertas cakram ataupun sumuran, sebagai zona yang tidak ditumbuhi oleh suatu organisme bakteri. Hal ini karena bakteri sensitif terhadap zat aktif yang terkandung dalam senyawa antibakteri tersebut (Pratiwi, 2008).

(2) Zona irradikal

Zona irradikal adalah zona yang terbentuk disekitar kertas cakram atau sumuran ditumbuhi bakteri tetapi kurang subur daripada daerah diluar pengaruh zat antibakteri dan menunjukkan adanya zat antibakteri hanya menghambat pertumbuhan dan tidak mematikan sel bakteri (Pelzar dan Chan, 1998).

4. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Bakteri

a. Pengertian

Pertumbuhan ialah penambahan secara bertahap semua komponen suatu organisme. Pertambahan ukuran yang disebabkan oleh bertambahnya kapasitas air atau karena deposit lipid bukan merupakan pertumbuhan sejati. Multiplikasi sel merupakan konsekuensi adanya pertumbuhan. Organisme bersel satu bermultiplikasi menghasilkan pertambahan jumlah organisme yang membentuk populasi kultur (Jawetz dkk, 2005).

Pertumbuhan mikroorganisme ditunjukkan dengan peningkatan jumlah mikroorganisme dan bukan peningkatan ukuran suatu mikroorganisme. Pertumbuhan dibagi menjadi 2 tipe diantaranya, pembelahan inti tanpa penambahan pembelahan sel sehingga ada peningkatan ukuran sel dan pembelahan inti yang diikuti dengan pembelahan sel dengan demikian dihasilkan peningkatan jumlah sel dan juga ukuran sel (Ariesta, 2013).

Perkembangbiakan bakteri dilakukan dengan cara reproduksi pembelahan biner (*binary fussion*), hasil pembelahan dari 1 sel bakteri dapat menjadi 2 sel bakteri anakan yang sama besar. Bila sel tunggal bakteri bereproduski dengan pembelahan biner maka didapat interval jumlah populasi secara geometri dengan waktu interval generasi tertentu dan ketersediaan nutrisi yang cukup (Ariesta, 2013).

$$1 \rightarrow 2 \rightarrow 2^2 \rightarrow 2^3 \rightarrow 2^4 \dots 2^n$$

b. Faktor-faktor pertumbuhan bakteri

1) Nutrien

Nutrien dalam media pembenihan harus mengandung seluruh elemen yang dibutuhkan oleh bakteri. Nutrisi ini berperan dalam proses metabolisme bakteri. Proses metabolisme ini ialah fermentasi, respirasi, dan fotosintesis. Elemen nutrien berupa unsur C, H, O₂, N, S, P, Fe dan sejumlah kecil logam lainnya. Jumlah nutrien mempengaruhi pertumbuhan mikrobial, kondisi tidak bersih dan higienis pada lingkungan juga menyediakan sumber nutrien bagi pertumbuhan (Jawetz dkk, 2005).

2) Konsentrasi ion Hidrogen (pH)

Bakteri memiliki kemampuan dalam mengatur pH secara empirik dan pH optimal oleh tiap-tiap spesies bakteri. Bakteri mengatur pH internalnya melebihi kisaran pH eksternal. pH internal diatur oleh sistem transport elektron proton yang ada didalam membran sitoplasma, yaitu *ATP-driver proton pump* dan

pertukaran ion Na^+/H^+ . Sistem pertukaran ion tersebut yang diduga berperan penting dalam pengaturan pH internal pada *Neutrophilic* (Jawetz dkk, 2005). Penggolongan Bakteri berdasarkan pH dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Penggolongan Bakteri Berdasarkan pH

Golongan	pH	pH Optimum
<i>Acidophilic</i>	1,0-5,0	6,5
<i>Neutrophilic</i>	6,0-8,0	7,5
<i>Alkalophilic</i>	9,0-11,0	9,5

Sumber : Jawetz dkk, 2005

3) Temperatur

Spesies bakteri memiliki beragam kisaran suhu pertumbuhan. Bakteri memiliki batas kisaran temperatur yang dapat ditoleransi dengan stabilitas panas keseluruhan protein spesies yang terukur dalam ekstrak sel. Hal ini disebabkan oleh protein *heat-shock-protein* (respon terhadap panas) ketika terdapat paparan kenaikan suhu secara drastis yang mampu menstabilkan dalam sel bakteri. Temperature sangat mempengaruhi laju pertumbuhan sel. Selain itu, suhu yang ekstrim dapat membunuh sel bakteri. Sehingga pada suhu ekstrim dapat digunakan sebagai media untuk pembebasan terhadap adanya bakteri atau disebut sterilisasi (Jawetz dkk, 2005).

Tabel 5. Penggolongan Bakteri Berdasarkan Suhu

Golongan	Suhu	Suhu Optimum
<i>Psychrophilic</i> <i>Cold loving bacteria</i>	0-20°C	15-20°C
<i>Mesophilic</i> <i>Moderat temperature loving bacteria</i>	25-40°C	30-37°C
<i>Thermophilic</i> <i>Heat loving bacteria</i>	50-60°C	55-60°C

Sumber : Tim Mikrobiologi UB, 2003

4) Aerasi (oksigen)

Oksigen menjadi kebutuhan mendasarkan untuk pertumbuhan bakteri. Oksigen berperan penting dalam melakukan metabolisme biokimiawi didalam sel bakteri. Oksigen juga berfungsi sebagai penerima hidrogen (Jawetz dkk, 2005).

Berdasarkan kebutuhan akan ketersediaan O₂, bakteri dibedakan menjadi empat golongan, yaitu :

- a. Aerobic : hanya tumbuh bila ada O₂
- b. An aerob : pertumbuhan bakteri tanpa tersedianya O₂
- c. Aerob : dapat tumbuh tanpa O₂ atau pun dengan O₂
Fakultatif
- d. Mikroaerofilik : dapat tumbuh bila terdapat O₂ dalam jumlah kecil

5) Tekanan osmotik dan kekuatan ionik

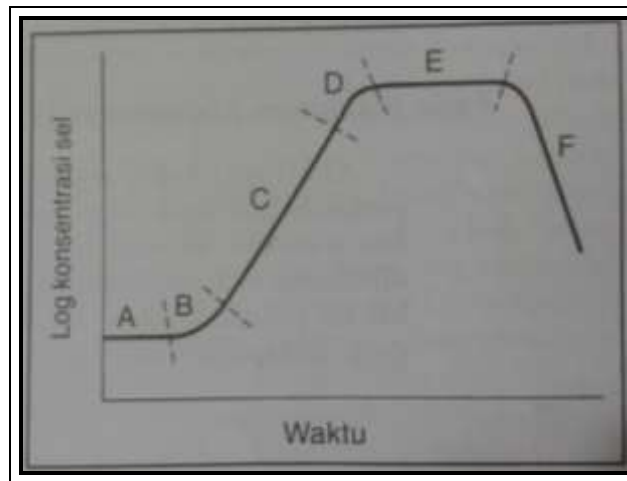
Bakteri tesusun dari 80-90% air. Pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh tekanan osmotik dan kosnentrasi garam yang harus dikontrol. Sehingga sangat perlu untuk keberlangsungan kehidupan bakteri. Beberapa bakteri memiliki toleransi terhadap

lingkungan yang memiliki kadar garam tinggi yang disebut halofilik. Selain itu juga ada beberapa bakteri yang memiliki toleransi terhadap tekanan osmotik tinggi yang disebut osmofilik (Jawetz dkk, 2005).

Sel bakteri yang berada di lingkungan seperti laut memiliki ketahanan terhadap kadar garam hingga 30% yang disebut *extreme halophiles*. Bakteri yang memiliki ketahanan kadar garam berkisar 10-15% disebut *facultative halophilies*. Pada umumnya bakteri hanya tahan pada kadar garam berkisar antara 1-2% (Tim Mikrobiologi UB, 2003).

c. Kurva pertumbuhan bakteri

Kurva pertumbuhan bakteri merupakan kurva yang diperoleh dari aktivitas perkembangan sel-sel bakteri. Sel-sel bakteri diinokulasikan ke dalam media cair dari kultur yang sebelumnya telah tumbuh sampai jenuh. Kemudian jumlah sel yang dapat hidup per mililiter yang ditentukan secara berkala sehingga diperoleh 6 fase yang diplot ke dalam kurva (Jawetz dkk, 2005).



Gambar 10. Kurva Pertumbuhan Sel Bakteri
Sumber : Jawetz dkk, 2005

Tabel 6. Fase Kurva Pertumbuhan Bakteri

Bagian	Fase	Tingkat pertumbuhan
A	<i>Lag</i>	Nol
B	<i>Acceleration</i>	Meningkat
C	<i>Eksponential</i>	Tetap
D	<i>Retardation</i>	Menurun
E	<i>Maximum stationary</i>	Nol
F	<i>Decline</i>	Negatif (kematian)

Sumber : Jawetz dkk, 2005

1) Fase Lag (A)

Fase *lag* merupakan fase adaptasi yang dilakukan oleh bakteri terhadap lingkungan sekitar yang baru. Adaptasi diperlukan karena dari lingkungan yang lama akibat dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan yang dipertahankan pada kondisi lingkungan yang baru sehingga siap untuk melakukan pertumbuhan. Fase *lag* dipengaruhi oleh individu sel bakteri itu sendiri atas kemampuan dalam beradaptasi terhadap lingkungan yang baru dan juga media pembedihan. Pada beberapa kasus bakteri lag yang terjadi sangat panjang begitu pula lag yang tidak lama (Jawetz dkk, 2005).

2) Fase *Eksponensial* (C)

Fase *eksponensial* merupakan fase perbanyak diri sel bakteri dengan cara pembelahan. Waktu yang diperlukan untuk perkembangbiakan ini sangat cepat dan maksimum. Peningkatan jumlah bakteri secara eksponensial. Hal ini dipengaruhi oleh sifat-sifat alamiah bakteri dan kondisi lingkungan. Puncak dari fase eksponensial ketika nutrisi dalam media pembenihan sudah habis dan menghasilkan metabolit toksin. Pada fase ini bakteri sangat peka terhadap bahan antimikroba maupun radiasi (Tim Mikrobiologi UB, 2003).

3) Fase *Maximum Stationary* (E)

Fase *Maximum Stationary* adalah fase dimana nutrisi yang sudah sangat menipis dan terjadi akumulasi hasil metabolit toksik bakteri. Kecepatan pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri pada titik terendah atau berhenti. Dengan demikian jumlah bakteri secara keseluruhan tampak konstan. Hal ini karena keseimbangan antara pertumbuhan bakteri dan kematian sel bakteri (Jawetz dkk, 2005).

4) Fase penurunan (kematian F)

Fase penurunan juga disebut dengan fase kematian. Fase ini kecepatan kematian begitu meningkat sampai mencapai tingkat yang tetap. Oleh sebab itu, sejumlah kecil sel bakteri yang masih hidup akan tetap bertahan selama beberapa bulan atau tahun dengan

menggunakan bahan yang diekresikan oleh sel bakteri yang mati (Jawetz dkk, 2005).

5. Minyak atsiri

a. Pengertian

Minyak atsiri adalah salah satu senyawa organik yang banyak ditemukan di alam yang berasal dari jaringan tanaman. Minyak ini adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang sangat mudah menguap dan bukan merupakan senyawa murni melainkan sudah terkandung berbagai komponen yang berasal dari golongan terpenoid (Guenther, 2006).

Minyak atsiri juga dikenal sebagai Minyak essensial. Hal ini dikarenakan mewakili karakter khas bau tumbuhan asalnya. Minyak atsiri memiliki warna yang jernih tidak berwarna dalam keadaan murni dan segar. Tetapi minyak atsiri mudah teroksidasi dan membentuk resin apabila penyimpanan jangka panjang dan warna berubah menjadi lebih gelap. Sehingga perlu adanya penanganan khusus yaitu disimpan dalam wadah yang gelap berkaca bertutup rapat diisi penuh maka dapat terhindar dari paparan sinar matahari langsung dan oksigen udara serta disimpan ditempat yang sejuk dan kering (Gunawan dan Sri, 2004).

b. Metode isolasi

Penyulingan adalah suatu proses pemisahan dari beberapa komponen penyusun suatu campuran yang terdiri dari 2 cairan atau lebih didasarkan pada perbedaan titik didih dan tekanan uap dari

komponen-komponen senyawa tersebut. Isolasi penyulingan minyak atsiri dengan menggunakan uap yang menembus jaringan tanaman dan meguapkan seluruh komponen senyawa yang mudah menguap (Sastrohamidjojo, 2004). Metode proses penyulingan sebagai berikut :

1) Penyulingan dengan uap dan air

Metode penyulingan uap dan air merupakan sistem penyulingan uap tak langsung. Alat yang digunakan pada metode ini ialah ketel suling uap yang memiliki penyekat berlubang dari lempeng besi yang berfungsi sebagai pemisah antara air dan bahan kayu, alat ini seperti dandang nasi (Yuliani dan Suyani, 2012).

Tahapan metode penyulingan uap dan air yaitu, volume air yang dimasukkan kedalam dasar ketel sebanyak 1/3 bagian. Bahan baku sebaiknya diletakkan diatas lempeng penyekat berlubang tidak terlalu padat supaya uap air dapat menembus bahan baku. Kemudian ketel ditutup rapat dan dipanaskan. Uap air akan melewati lubang-lubang penyekat dan celah bahan, minyak atsiri yang terdapat dalam bahan ikut terbawa oleh uap panas melalui pipa kodensor. Lalu uap air dan minyak atsiri akan mengembun dan ditampung dalam tangki pemisah. Kemudian pemisahan didasarkan perbedaan berat jenis (Yuliani dan Suyani, 2012).

Metode penyulingan uap dan air memiliki kelebihan yaitu, alat yang digunakan murah, hasil rendeman minyak lebih banyak dari metode penyulingan air, suhu dapat dipertahankan pada suhu yang

mencapai 100°C dan terdapat penetrasi uap yang jenuh sehingga merata ke dalam jaringan bahan (Yuliani dan Suyani, 2012).

2) Penyulingan dengan air

Metode penyulingan dengan air merupakan metode paling sederhana dalam proses pemisahan komponen senyawa. Proses penyulingan air tidak jauh berbeda dengan perebusan. Alat-alat yang digunakan yaitu peralatan penyulingan yang dihubungkan dengan ketel dan kondensor (pendingin) (Yuliani dan Suyani, 2012).

Tahapan pertama proses penyulingan yaitu dipastikan air telah mengalir ke kondensor, bahan dimasukan ke dalam air mendidih didalam ketel suling dengan air yang didihkan diatas api langsung. Perbandingan antara berat bahan dan volume air yaitu 1:3. Kemudian, ketel ditutup rapat agar tidak ada yang keluar. Minyak dan air akan mengalir melalui pipa dalam kondensor selanjutnya keluar dan ditampung dalam tangki pemisah. Pemisahan didasarkan atas perbedaan berat jenis suatu senyawa (Yuliani dan Suyani, 2012).

Penyulingan dengan air memiliki kelebihan alat yang sederhana dan proses yang sangat mudah. Sedangkan kelemahannya yaitu hanya tepat untuk bahan baku dengan jumlah sedikit, dan tidak tepat untuk bahan-bahan yang larut dalam air serta bunga atau serbuk yang sangat halus karena terjadi

penggumpalan sehingga uap tidak dapat tembus (Sastrohamidjojo, 2004).

3) Penyulingan dengan uap langsung

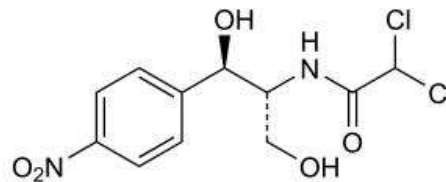
Metode penyulingan uap langsung yaitu penyulingan yang tidak menggunakan air dibagian bawah, akan tetapi perangkat alat yang digunakan tidak jauh berbeda dengan metode penyulingan air maupun penyulingan uap air. Uap yang digunakan dalam metode ini memiliki tekanan yang jauh lebih besar daripada tekana di luar (atmosfer) (Sastrohamidjojo, 2004).

Tahapan proses penyulingan uap langsung yaitu sebaiknya dilakukan dari tekanan uap kecil berkisar 0,5-1 bar. Selanjutnya, secara bertahap tekanan di dalam boiler dinaikkan hingga suhu uap mencapai 50°C dan tekanan hingga 5 bar. Uap akan menembus sel-sel dari bahan-bahan dan mengangkut uap minyak atsiri mengalir melalalui kondensor. Uap minyak akan mengembun didalam kondensor menjadi cairan yang kemudian ditampung di talam tangki pemisah (Yuliani dan Suyani, 2012).

Metode ini yang sangat perlu diperhatikan mengenai tekanan uap pada boiler yang tetap diawasi dan terus dikontrol. Ketel penyulingan harus mengatur suhu sekitar 110-120°C dan juga tekanan yang disesuaikan dengan ketebalan ketel (Yuliani dan Suyani, 2012).

6. Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah salah satu jenis senyawa antibiotik yang efektif pada berbagai pemakaian. Kloramfenikol dapat diperoleh dari suatu bakteri *Streptomyces venezuela* dan sekarang diproduksi secara sintesis karena struktur yang sangat sederhana. Kloramfenikol bersifat bakteriostatik yang memiliki spektrum luas, stabil, cepat diabsorpsi di membran mukosa saluran cerna, dan distribusinya luas hingga cairan serebrospinalis. Jalur ekskresi utama melalui urin dan 90% dalam bentuk yang sudah tidak aktif. Kloramfenikol digunakan terutama untuk infeksi-infeksi anaerobik, meningitis yang disebabkan oleh *Haemophilus influenza* dan infeksi yang timbulkan oleh *Salmonella typhi* seperti demam tifoid (Jawetz dkk, 2005).



Gambar 11. Rumus Bangun Kloramfenikol
Sumber: Jawetz, 2005

Kloramfenikol memiliki ukuran yang relatif kecil sehingga dapat berdifusi dengan mudah ke dalam tubuh. Akan tetapi, antibiotik ini memiliki efek samping negatif yaitu mampu menekan pembentukan sel darah merah, peningkatan besi dalam serum dan anemia apabila dosis lebih dari 3 gram/hari secara teratur. Mekanisme antibiotik ini dengan cara bereaksi pada sub unit 50S ribosom dan menghambat aktivitas enzim *peptidyl transferase*. Enzim ini bertugas untuk membentuk ikatan peptida antara asam

amino yang melekat pada tRNA dengan asam amino terakhir yang sedang berkembang, oleh sebab itu sintesis protein akan terhenti (Pratiwi, 2008).

7. *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) ialah media terbaik untuk pemeriksaan uji kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik dengan metode Kirby-Baurer pada bakteri nonfastidious baik aerob dan anaerob. Media ini dapat mengidentifikasi strain yang tahan terhadap *sulfonamide* dan responsif strain gonokokus. Disamping itu, media ini sudah ditetapkan sebagai media standar pengujian sensitivitas antimikroba. Pada penelitian sebelumnya lempeng media MHA dengan cara difusi mampu membentuk zona difusi antimiroba yang lebih baik daripada kebanyakan lempeng lainnya (Rizki, 2017).

Menurut atmojo 2016 media MHA digunakan sebagai tes sensitivitas karena, semua bakteri dapat tumbuh dengan subur pada media ini yang bukan merupakan media diferensial serta selektif. *Sulfonamide*, *trimethoprim* dan *tetracycline inhibitors* di dalam media ini memiliki kandungan yang rendah. Bakteri non-fastidius yang patogen dapat sangat mudah tumbuh (Atmojo, 2016). Berikut komposisi Media MHA disajikan dalam Tabel 7.

Tabel 7. Komposisi *Media Mueller Hinton Agar* (MHA)

Bahan	Jumlah
<i>Beef Extract</i>	2 gram
<i>Acid Hydrolysate of Casein</i>	17,5 gram
<i>Starch</i>	1,5 gram
<i>Agar</i>	17 gram
<i>Aquadest</i>	1 liter
pH akhir pada media <i>Mueller Hinton Agar</i>	7,3 ±0,1 suhu 25°C

Sumber : Atmojo, 2016

Mueller Hinton Agar mengandung ekstrak daging sapi, asam hydrolyzate dari casein, *starch* dan agar. Ekstrak daging sapi dan hydrolyzate asam dari casein menyediakan nitrogen, vitamin, karbon, asam amino, sulfur dan nutrisi penting lainnya. Pati ditambahkan untuk menyerap metabolit toksik yang diproduksi oleh bakteri sehingga tidak mengganggu aktivitas antibiotik.. Hidrolisis pati menghasilkan dekstrosa, yang berfungsi sebagai sumber energi. Agar adalah agen penguat. Selain itu agar ini adalah agar yang longgar. Sehingga memungkinkan difusi antibiotik yang lebih baik daripada kebanyakan lempeng lainnya. Difusi yang lebih baik mengarah ke zona penghambatan yang lebih benar. (Atmojo, 2016).

8. *Dymetil sulfoxidase* (DMSO)

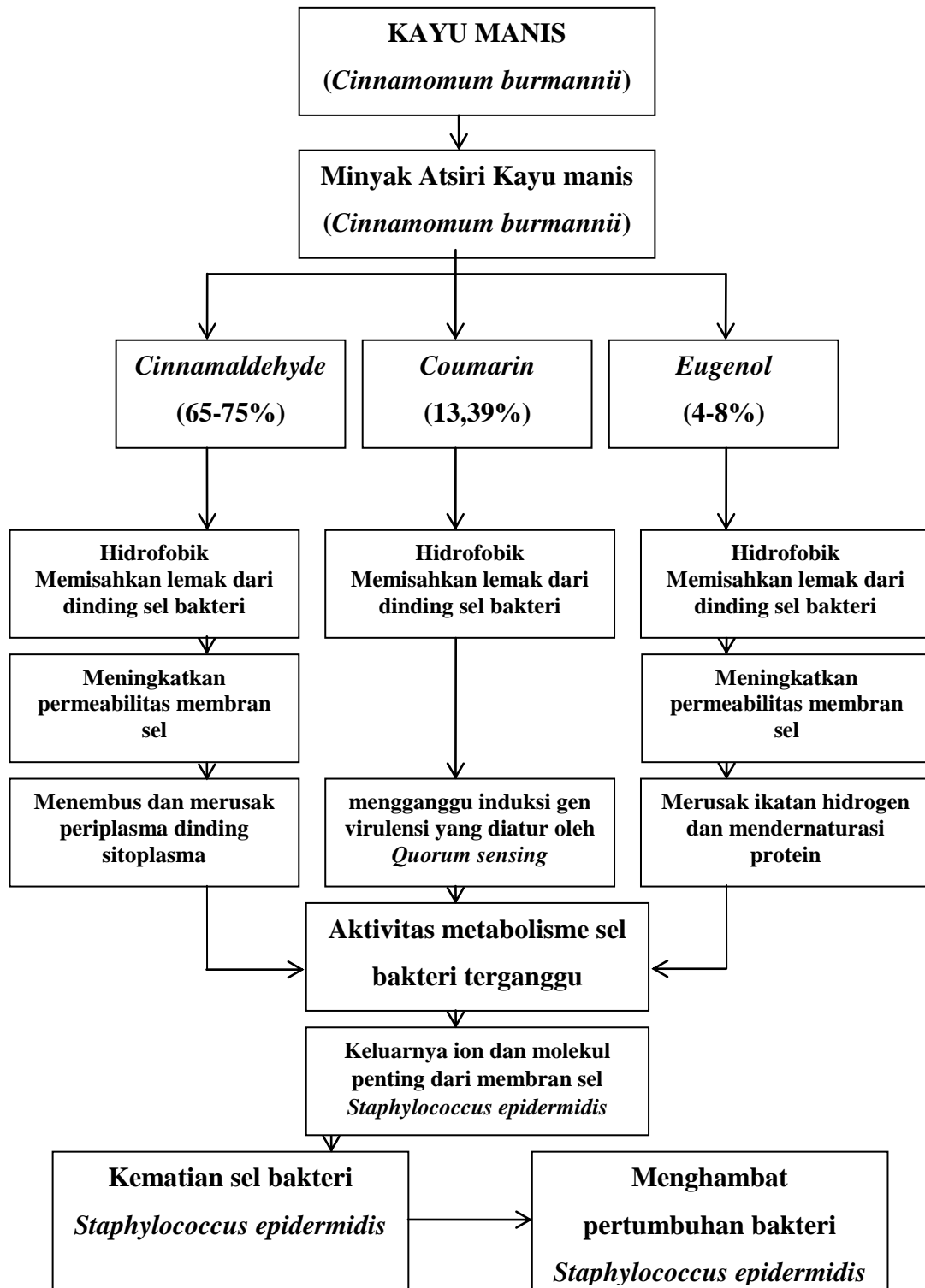
Dymetil sulfoxidase (DMSO) senyawa yang merupakan organosulfur pada atom pusatnya dengan rumus kimia $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$. Senyawa ini memiliki berat molekul 78,129 g/mol yang digunakan secara luas sebagai pelarut kimia. Larutan ini merupakan pelarut organik paling kuat yang dapat melarutkan senyawa polar dan non polar serta larut dalam pelarut

organik maupun air. Pelarut DMSO yang memiliki ciri-ciri cairan tidak berwarna, tidak berbau, sedikit hidroskopik (Rini, 2017).

Dymetil sulfoxidase (DMSO) juga merupakan surfaktan yang dapat berperan sebagai interface antara air dan minyak. *Dymetil sulfoxidase* tidak bersifat asam atau basa yang tergolong sebagai aprotik. Oleh karena itu DMSO bersifat netral. Penggunaan DMSO sangat populer sebagai pelarut uji antimikroba ekstrak tanaman. Karena kemampuannya menembus membran biologi, digunakan sebagai media aplikasi dari berbagai obat-obatan (Octaviani, 2016).

B. Kerangka Teori

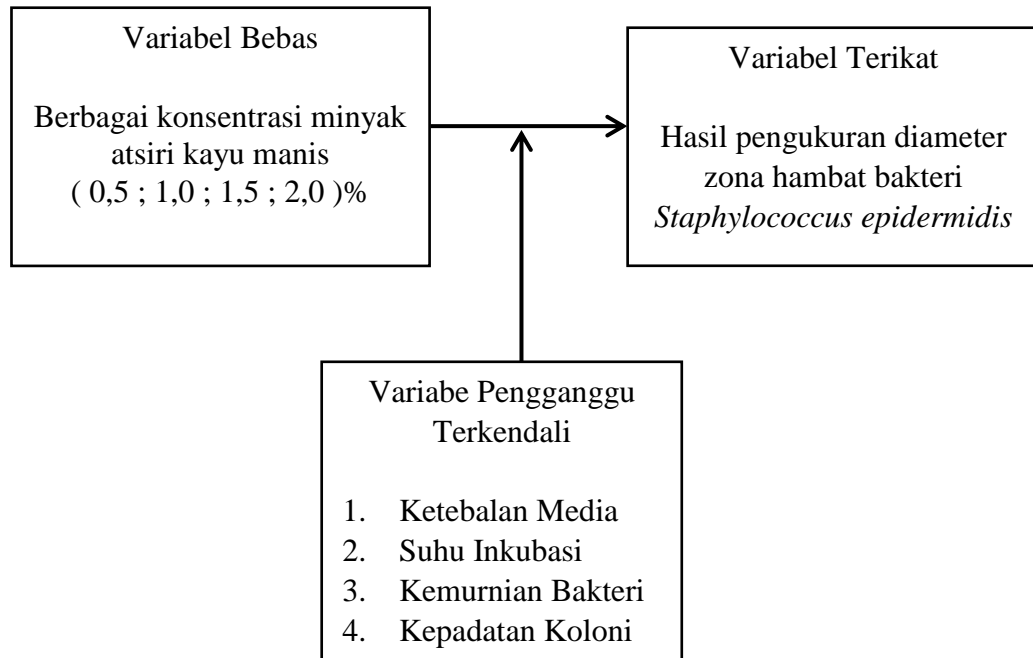
Kerangka teori penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 12.



Gambar 12. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian ini ditunjukkan pada Gambar 13.



Gambar 13. Kerangka Konsep

D. Pertanyaan Peneliti

Semakin tinggi pemberian konsentrasi minyak atsiri kayu manis (0,5-1,0-1,5-2,0%) berpengaruh semakin luas pembentukan diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.