

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA ANALOG KURKUMIN DENGAN
GUGUS FUNGSI 5'-bromo-2'-furanil TERHADAP BAKTERI RESISTEN DAN NON
RESISTEN *Proteus mirabilis* BESERTA MEKANISME KERJANYA**



Oleh:

**Sagita Rukmana Desy
19133735A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA ANALOG KURKUMIN DENGAN
GUGUS FUNGSI 5'-bromo-2'-furanil TERHADAP BAKTERI RESISTEN DAN NON
RESISTEN *Proteus mirabilis* BESERTA MEKANISME KERJANYA**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universita Setia Budi*

Oleh:

**Sagita Rukmana Desy
19133735A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul:

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA ANALOG KURKUMIN DENGAN
GUGUS FUNGSI 5'-bromo-2'-furanil TERHADAP BAKTERI RESISTEN DAN NON
RESISTEN *Proteus mirabilis* BESERTA MEKANISME KERJANYA**

Oleh:
Sagita Rukmana Desy
19133735A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 5 April 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R.A. Qetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,

Ismi Rahmawati, M.Si., Apt
Pembimbing Pendamping

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

Penguji :

1. Prof. Dr. M. Muchalal DEA
2. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt
3. Opstaria Saptarini, S.Farm.M.Sc., Apt
4. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

HALAMAN PERSEMBAHAN



“Sesungguhnya jika kamu bersyukur, Kami pasti akan menambah nikmat kepadamu, dan jika kamu mengingkari nikmat-Ku maka sesungguhnya adzab-Ku amatlah pedih”.

(Q.S. Ibrahim : 7)

“Banyak orang yang tau apa yang harus dilakukan untuk meraih impian, hanya saja mereka sering menunda dan tidak melaksanakannya. Segera “move on” dari kemalasan!”

(Edvan M. Kausar)

“PROSES TIDAK AKAN MENGKHIANATI HASIL”

“Ojo Gumunan, Ojo Getunan, Ojo Kagetan, Ojo Aleman”

(Jangan mudah terheran-heran, Jangan mudah menyesal, Jangan mudah terkejut, Jangan manja)

“If you want to live a happy life, tie it to a goal, not to people or objects”

~Albert Einstein~

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

- ♥ Allah SWT. Yang telah memberikan karunia-Nya, kemudahan semua urusan dan meridhoi segala usaha ku
- ♥ Bapak, Ibu dan Kakak dan seluruh keluarga besarku yang selalu memberikan perhatian, kasih sayang, support, do’a, pengorbanan dan motivasi untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
- ♥ Best partner ever, teman penelitian Afra Azizah Fatwanda atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.
- ♥ Sahabat kecilku Novita Pancawati yang selalu mendukung dan memberikan semangat selalu sampai terselesainya skripsi ini.

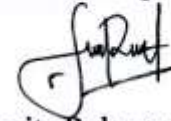
- ♥ Teman rasa saudaraku : Chanary Tri winarsih, Afra Azizah Fatwanda, Sulistiana, Dewi Mulyani, Rosa Omega Bella Kurniana, Devi Ardiyanti yang telah memberikan semangat kepadaku.
- ♥ Teman-teman seperjuangan teori 1 2013, FKK 1, teman-teman KKN dan teman-teman S1 Farmasi yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, serta semua pihak yang telah membantu kelancaran proses skripsi ini.
- ♥ For all of my best friend thank you for all the support given to me, "I LOVE YOU EVER AND EVER"

PERNYATAAN

Dengan ini saya nyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, April 2017



Sagita Rukmana Desy

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT atas semua berkat, kesempatan dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA ANALOG KURKUMIN DENGAN GUGUS FUNGSI 5'-bromo-2'-furanil TERHADAP BAKTERI RESISTEN DAN NON RESISTEN *Proteus mirabilis* BESERTA MEKANISME KERJANYA”**. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini penulis telah banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak, baik secara moril maupun materiil. Maka pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr.Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia budi Surakarta.
2. Ibu Prof. Dr. RA. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia budi Surakarta.
3. Ibu Ismi Rahmawati, M.Si., Apt selaku Pembimbing Utama dan Ibu Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt Pembimbing Pendamping yang telah berkenan meluangkan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis pada saat penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Tim penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan dalam skripsi ini.
5. Seluruh dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia budi Surakarta yang telah membantu.
6. Bapak (Suparno), Ibu (Tri Ismani), kakak (Bara Putra Parisman) dan seluruh keluarga besarku yang telah memberikan pengorbanan, nasehat, pengertian, dan dukungan moril maupun materiil, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari para pembaca.

Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Surakarta, April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Analog Kurkumin.....	7
B. <i>Proteus mirabilis</i>	8
1. Klasifikasi dan sistematika.....	8
2. Morfologi.....	8
3. Sifat biakan.....	8
4. Patogenesis	9
5. Resistensi.....	9
C. Uji Aktivitas Antibakteri	9
D. Media.....	10
E. Sterilisasi	10
F. Antibakteri.....	11
1. Mekanisme kerja antibakteri	11
1.1. Penghambatan metabolisme sel bakteri.....	11

1.2.	Penghambatan sintesis dinding sel.....	11
1.3.	Perubahan permeabilitas membran sel bakteri.	11
1.4.	Penghambatan sintesis protein sel bakteri.	12
G.	Siprofloksasin	12
H.	Landasan Teori	12
I.	Hipotesis	14
 BAB III METODE PENELITIAN.....		16
A.	Populasi dan Sampel.....	16
1.	Populasi	16
2.	Sampel	16
B.	Variabel Penelitian	16
1.	Identifikasi variabel utama	16
2.	Klasifikasi variabel utama	16
3.	Definisi operasional variabel.....	17
C.	Bahan dan Alat	18
1.	Bahan dan sampel.....	18
2.	Alat	19
D.	Jalannya Penelitian	19
1.	Pengambilan bahan.....	19
2.	Pembuatan larutan stok	19
3.	Pembuatan media	19
4.	Sterilisasi alat dan bahan	19
5.	Pembuatan suspensi bakteri uji	20
6.	Pembuatan suspensi metode McFarland 0,5 uji bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan bakteri <i>Proteus</i> <i>mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	20
7.	Identifikasi bakteri uji dengan pengecatan gram.....	20
8.	Identifikasi bakteri uji dengan medium selektif	20
9.	Identifikasi bakteri uji secara uji biokimia	21
10.	Identifikasi uji sensitivitas.....	22
11.	Pengujian aktivitas anti bakteri	22
12.	Analisis kebocoran membran sel.....	23
12.1	Analisis kebocoran asam nukleat dan protein.....	23
12.2	Analisis kebocoran ion logam.....	23
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		27
A.	Hasil Pembuatan Larutan Stok Analog Kurkumin.....	27
B.	Hasil Pembuatan Suspensi Bakteri Uji.....	27
C.	Hasil Identifikasi Bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	27
1.	Identifikasi bakteri uji dengan pewarnaan gram	27
2.	Identifikasi bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin dengan media selektif	28

3.	Identifikasi biokimia bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	29
D.	Hasil Uji Sensitivitas	31
E.	Hasil Uji Antibakteri Senyawa Analog Kurkumin Dengan Metode Dilusi	32
1.	Hasil uji dilusi senyawa D terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	32
2.	Hasil uji dilusi senyawa E terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	34
3.	Hasil uji dilusi senyawa F terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	35
4.	Hasil uji dilusi kurkumin.....	36
5.	Hasil uji dilusi antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975	38
F.	Hasil Analisis Kebocoran Membran	39
1.	Kebocoran protein dan asam nukleat	39
2.	Analisis kebocoran ion logam	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		43
A.	Kesimpulan.....	43
B.	Saran	44
DAFTAR PUSTAKA		44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Kurkumin	4
Gambar 2. Struktur senyawa analog kurkumin.....	4
Gambar 3. Skema identifikasi dengan medium selektif bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin secara goresan	24
Gambar 4. Skema identifikasi biokimia bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin secara biokimia.....	25
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri senyawa analog kurkumin dengan metode dilusi.....	26
Gambar 6. Pengecatan Gram bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 (a) dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin (b).....	28
Gambar 7. Identifikasi Bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 (a) dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin dengan media Mac Conkey Agar (b).....	29
Gambar 8. Hasil kebocoran asam nukleat (260 nm) dan protein (280 nm) dari bakteri <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	40
Gambar 9. Hasil kebocoran ion logam K ⁺ dan Na ⁺ dari bakteri <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil penimbangan senyawa analog kurkumin.	27
Tabel 2. Hasil identifikasi bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin	29
Tabel 3. Hasil uji sensitivitas bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	31
Tabel 4. Hasil uji dilusi senyawa D terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	33
Tabel 5. Hasil uji dilusi senyawa E terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	34
Tabel 6. Hasil Uji Dilusi Senyawa F terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	35
Tabel 7. Hasil Uji Dilusi Kurkumin	37
Tabel 8. Hasil Uji Dilusi antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan bakteri <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin.....	38
Tabel 9. Nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1.	Hasil penimbangan senyawa D, E, F dan kurkumin 49
Lampiran 2.	Perhitungan larutan stock antibiotik siprofloksasin 60
Lampiran 3.	Hasil pembuatan larutan stok analog kurkumin, kurkumin dan siprofloksasin 63
Lampiran 4.	Media BHI, MCA dan MHA..... 64
Lampiran 5.	Foto alat-alat yang digunakan 65
Lampiran 6.	Foto biakan bakteri <i>Proteus mirabilis</i> dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten terhadap siprofloksasin. 68
Lampiran 7.	Pembuatan suspensi bakteri <i>Proteus mirabilis</i> dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten terhadap siprofloksasin dalam media BHI 69
Lampiran 8.	Hasil uji biokimia bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin 70
Lampiran 9.	Hasil uji sensitifitas bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dan <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin 71
Lampiran 10.	Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa D terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dengan metode dilusi 72
Lampiran 11.	Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa D terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin dengan metode dilusi . 74
Lampiran 12.	Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa E terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC dengan metode dilusi 76
Lampiran 13.	Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa E terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin dengan metode dilusi . 78
Lampiran 14.	Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa F terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dengan metode dilusi 80
Lampiran 15.	Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa F terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> resisten Siprofloksasin dengan metode dilusi 82
Lampiran 16.	Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa kurkumin terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dengan metode dilusi... 84

Lampiran 17.	Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa kurkumin terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin dengan metode dilusi.....	86
Lampiran 18.	Gambar uji aktivitas antibakteri siprofloksasin terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975 dengan metode dilusi.....	88
Lampiran 19.	Gambar uji aktivitas antibakteri siprofloksasin terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin dengan metode dilusi .	90
Lampiran 20.	Larutan stok senyawa F terhadap bakteri <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin dan sampel uji kebocoran membran	92
Lampiran 21.	Hasil kurva kalibrasi ion logam K^+	93
Lampiran 22.	Hasil penetapan kadar ion logam K^+	94
Lampiran 23.	Hasil analisis kebocoran ion logam K^+	96
Lampiran 24.	Hasil kurva kalibrasi ion logam Na^+	97
Lampiran 25.	Hasil penetapan kadar ion logam Na^+	98
Lampiran 26.	Hasil analisis kebocoran ion logam Na^+	99
Lampiran 27.	Formulasi dan pembuatan media.....	100

DAFTAR SINGKATAN

ISK	: Infeksi Saluran Kemih
Senyawa D	: 2,6-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metilen)sikloheksanon
Senyawa E	: 2,5-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metilen)siklopentanon
Senyawa F	: 1,5-bis-(5'-Bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on
KBM	: Konsentrasi Bunuh Minimum
KHM	: Konsentrasi Hambat Minimum
BHI	: <i>Braint Heart Infusion</i>
MHA	: <i>Mueller Hinton Agar</i>
MCA	: Mac Conkey Agar
KIA	: <i>Kliger's Iron Agar</i>
LIA	: <i>Lysin Iron Agar</i>
SIM	: <i>Sulfida Indol Motility</i>
ADN	: Asam Deoksiribose Nukleat
BTB	: <i>Bromo Thymol Blue</i>
AAS	: <i>Atomic Absorption Spectroscopy</i>

INTISARI

DESY, S.R., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA ANALOG KURKUMIN DENGAN GUGUS FUNGSI 5'-bromo-2'-furanil TERHADAP BAKTERI RESISTEN DAN NON RESISTEN *Proteus mirabilis* BESERTA MEKANISME KERJANYA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA

Senyawa kurkumin merupakan senyawa golongan polifenol yang digunakan sebagai antibakteri. Penelitian senyawa analog kurkumin dengan adanya penambahan gugus bromo dapat memiliki aktivitas yang sama atau lebih baik sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas senyawa analog kurkumin 2,6-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metilen)sikloheksanon (senyawa D), 2,5-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metilen)siklopentanon (senyawa E), dan 1,5-bis-(5'-Bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on (senyawa F) terhadap bakteri *proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *proteus mirabilis* resisten siprofloksasin sebagai antibakteri dan mekanisme kerjanya.

Aktivitas antibakteri senyawa tersebut ditentukan dengan metode dilusi dengan pelarut aseton dengan konsentrasi 10.000 ppm untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap bakteri *proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Senyawa terefektif dibuat seri konsentrasi 0x, 1x dan 2x KBM untuk dilakukan analisis kebocoran sel (asam nukleat dan protein) dengan spektrofotometri UV-VIS, ion logam (K^+ dan Na^+) dengan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa F terhadap bakteri *proteus mirabilis* resisten siprofloksasin merupakan senyawa terefektif sebagai antibakteri dari ketiga senyawa uji dengan konsentrasi KBM 19,531 ppm. Senyawa F dapat merusak dinding sel dan mengubah permeabilitas membran sel yang ditandai dengan keluarnya asam nukleat, protein, ion K^+ dan Na^+ dari bakteri *proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

Kata kunci : Analog kurkumin, *Proteus mirabilis* ATCC 10975, *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin, dilusi, dinding sel

ABSTRACT

DESY, R. S., 2017, TEST ACTIVITIES ANTIBACTERIALS CURCUMIN ANALOG COMPOUND WITH THE FUNCTIONAL GROUP OF 5'-bromo-2'-furanyl TO THE RESISTANT AND NON RESISTANT BACTERIA *proteus mirabilis* AND THEIR MECHANISM OF ACTION, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

The compound curcumin is a compound of polyphenols which is used as antibacterial. The curcumin analogues compounds research with the adding of the bromo group has the same activity or better as antibacterials. The purpose of this study was to determine the activity of curcumin analogues compounds 2,6-bis-((5'-bromo-2'-furanyl)methylene)siklohexanone (compound D), 2,5-bis-((5'-bromo-2'-furanyl)methylene)siklopentanone (compound E), and 1,5-bis-(5'-bromo-2'-furanyl)-1,4-pentadien-3-on (compound F) to the bacteria *Proteus mirabilis* ATCC 10975 and *Proteus mirabilis* resistant siprofloksasin as an antibacteria and its mechanism of action.

Antibacterial activity of the compound was determined by dilution method with acetone with a concentration of 10.000 ppm to determine Minimum Bactericidal Concentration (MBC) to the bacteria *Proteus mirabilis* ATCC 10975 and *Proteus mirabilis* resistant siprofloksasin. The most effective compound was made concentration series 0x, 1x and 2x MBC for analysis of leakage of cells (nucleic acids and proteins) with the spectrophotometry UV-VIS, metal ions (K^+ dan Na^+) with *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS).

The results showed that the compound F to the *Proteus mirabilis* bacteria resistant siprofloksasin is the most effective compound as an antibacterial from the third test compounds with the concentration MBC 19,531 ppm. Compound F can damage the cell walls and cell membrane permeability change marked by the release of nucleic acids, proteins, ions K^+ dan Na^+ of *Proteus mirabilis* resistant siprofloksasin.

Key words: *curcumin analogues*, *Proteus mirabilis* ATCC 10975, *Proteus mirabilis* resistant siprofloksasin, dilution, cell wall

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan infeksi yang ditandai dengan pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri dalam saluran kemih, meliputi infeksi di parenkim ginjal sampai kandung kemih dengan jumlah bakteri urin tertentu (Zanetti *et al.* 2008). Tingkat infeksi saluran kemih yang tinggi karena infeksi nosokomial berhubungan dengan pemakaian kateter (*indwelling catheter*), trauma selama hubungan seksual dapat menyebabkan infeksi pada wanita (Gillespie & Bamford 2007).

Infeksi saluran kemih menduduki peringkat 7 di RSUD Dr. Moewardi tercatat pada tahun 2009 (Nofriaty 2010). Penelitian yang dilakukan oleh (Asmah 2014) berdasarkan jenis kelamin memperlihatkan bahwa, pasien infeksi saluran kemih pada kelompok umur 19-64 tahun mempunyai frekuensi tertinggi yaitu pada perempuan (40%) dan laki-laki (21%) diikuti oleh kelompok umur >65 tahun pada laki-laki dan perempuan masing-masing (12%) dan (15%). Kelompok umur 0-18 tahun mempunyai frekuensi terkecil yaitu pada laki-laki dan perempuan masing-masing (6%) di Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi. Peneliti lainnya juga menyatakan bahwa perempuan lebih tinggi terkena ISK sebesar 57,41% daripada laki-laki (42,59%) di RSUD Dr. Moewardi tahun 2014. Pasien ISK paling banyak terjadi pada usia lebih dari 60 tahun sebesar 38,89% (Imaniah 2015).

Bakteri penyebab ISK yang termasuk kelompok Gram negatif terutama merupakan family *Enterobacteriaceae* seperti *Proteus Sp.* Hasil penelitian dari (Endriani *et al.* 2010) memperlihatkan bahwa penyebab ISK yang paling banyak adalah Gram negatif sebesar (76%). Menurut Imaniah (2015) penyebab ISK dari bakteri Gram negatif yaitu *Proteus mirabilis* (6,25%).

Antibiotik yang paling banyak digunakan pada terapi infeksi saluran kemih di Instalasi Rawat Inap RSPA dr. S. Hardjolukito Yogyakarta tahun 2014 yaitu golongan flourokuinolon generasi ke 2 (siprofloksasin) sebanyak 31 pasien

(77,5%) dan golongan sefalosporin generasi ke 3 (seftriakson) sebanyak 9 pasien (22,5%). Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi saluran kemih karena antibiotik ini digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan karena Gram negatif (Puspitosari 2015). Antibiotik yang digunakan pada terapi infeksi saluran kemih berdasarkan penelitian di RSUD Undata Palu tahun 2012 adalah siprofloksasin 52,4%, seftriakson 37,8%, sefotaksim 3,7%, sefadroksil dengan 2,4%, klindamisin 1,2%, fosfomisin 1,2% dan kanamisin 1,2% (Febrianto *et al.* 2013).

Peningkatan penggunaan obat-obat antimikroba, khususnya pada pasien yang dirawat inap di Rumah Sakit menyebabkan tertekannya organisme yang sensitif terhadap obat tersebut dalam flora usus dan mendukung pertumbuhan serta menetapnya bakteri resisten obat termasuk *Proteus mirabilis* (Jawetz *et al.* 2013). Berdasarkan penelitian bahwa bakteri *Proteus mirabilis* sudah mengalami resistensi 100% terhadap antibiotik siprofloksasin terhadap pasien ISK di RSUD Dr. Moewardi Tahun 2014 (Imaniah 2015).

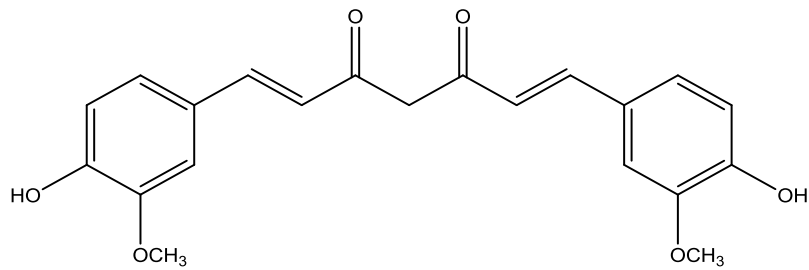
Kurkumin dapat diperoleh dari bahan alam, yaitu *Curcuma longa L*, *Curcuma domestica* maupun *Curcuma xanthorrhiza R*, senyawa analog kurkumin memiliki aktivitas seperti yang telah dimiliki oleh kurkumin, bahkan aktivitas analog kurkumin lebih poten. Senyawa-senyawa analog kurkumin yang sudah berhasil disintesis mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Sardjiman 2000). Menurut (BPTO 2006) kurkumin mempunyai aktivitas antibakteri berspektrum luas yaitu antibakteri yang aktif terhadap berbagai jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Hasil penelitian terdahulu berhasil mensintesis senyawa analog kurkumin yaitu senyawa yang berhasil disintesis oleh peneliti sebelumnya adalah senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon, 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon dan 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella thypi* ATCC 13311. Senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon memiliki aktivitas antibakteri tertinggi pada bakteri *Salmonella thypi* ATCC 13311 dengan KBM 185,19 ppm. Senyawa 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon memiliki aktivitas antibakteri

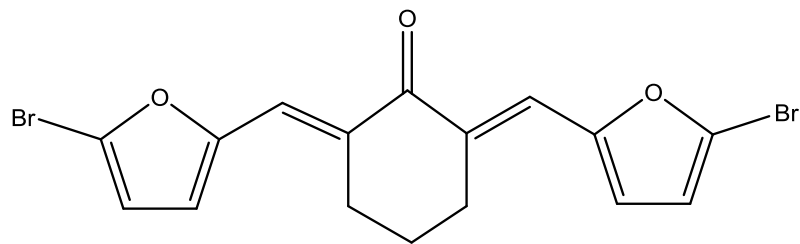
tertinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan KBM 6,68 ppm (Rahmawati 2009). Senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten, hasil sintesis memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter daya hambat rata-rata 27 mm (Rahmawati 2014). Penelitian lain yang dilakukan oleh (Lourentina 2015) menunjukkan hasil bahwa senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on mempunyai aktivitas antibakteri yang paling tinggi terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dengan diameter daya hambat rata-rata berurutan adalah 18,6 mm; 21,2 mm dan 19 mm, senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon merupakan senyawa paling tinggi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan diameter daya hambat rata-rata 20,4 mm.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terlihat bahwa analog kurkumin memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai senyawa obat baru. Turunan senyawa dengan perubahan struktur kimia yang berbeda dapat memberikan respons biologi yang sama karena aktivitas turunan tersebut tidak terganggu pada struktur kimia yang spesifik (Siswandono 2000). Perubahan struktur pada kurkumin yaitu dengan penambahan gugus bromo diharapkan dapat meningkatkan aktivitas dari analog kurkumin sebagai antibakteri yaitu senyawa 2,6-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metilen)sikloheksanon (senyawa D), 2,5-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metilen)siklopentanon (senyawa E), 1,5-bis-(5'-Bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on (senyawa F) sesuai pada gambar 2.

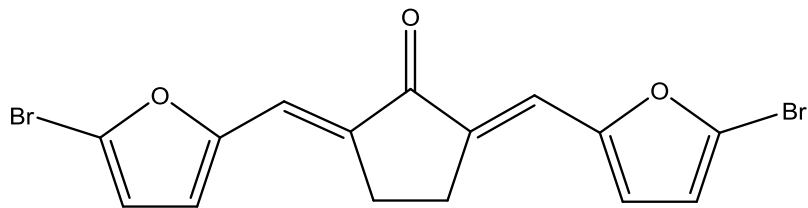
Hasil penelitian terdahulu yang telah dilakukan mendorong peneliti untuk melakukan penelitian lebih lanjut dari beberapa senyawa analog kurkumin yaitu senyawa D, E dan F mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Pemilihan bakteri berdasarkan penyebab infeksi yang paling sering menginfeksi masyarakat Indonesia.



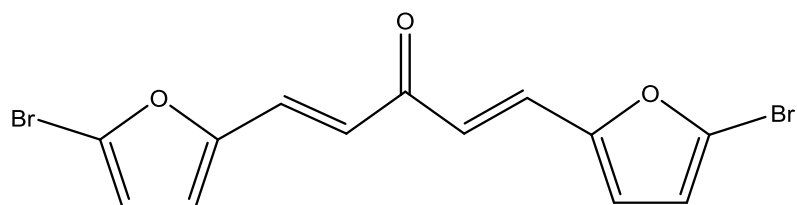
Gambar 1. Struktur Kurkumin.



2,6-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metylen)sikloheksanon (senyawa D)



2,5-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metylen)siklopentanon (senyawa E)



1,5-bis-(5'-Bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on (senyawa F)

Gambar 2. Struktur senyawa analog kurkumin.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan di atas dapat diambil suatu perumusan masalah yaitu :

Pertama, apakah senyawa 2,6-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metylen)sikloheksanon (senyawa D), 2,5-bis-((5'-bromo-2'-furanil)metylen)siklopentanon (senyawa E), 1,5-bis-(5'-Bromo-2'-furanil)-1,4-

pentadien-3-on (senyawa F) memiliki aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin ?

Kedua, berapakah Konsentrasi Bunuh Minimum dari senyawa D, E, dan F yang paling teraktif terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin ?

Ketiga, manakah dari senyawa D, E, dan F yang terefektif terhadap salah satu bakteri uji ?

Keempat, bagaimana mekanisme kebocoran membran senyawa terefektif terhadap salah satu bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan : Pertama, untuk mengetahui senyawa D, E dan F memiliki aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

Kedua, untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum dari senyawa D, E dan F yang paling teraktif terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

Ketiga, untuk mengetahui senyawa D, E dan F yang terefektif terhadap salah satu bakteri uji.

Keempat, untuk mengetahui mekanisme kebocoran membran senyawa terefektif terhadap salah satu bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mendorong penelitian selanjutnya kearah penelitian bakteri patogen untuk melihat potensi antibakteri serta dapat digunakan sebagai alternatif antibakteri. Mampu dijadikan dasar sebagai petunjuk awal pengembangan analog kurkumin sebagai antibakteri dengan penelitian yang lebih mendalam baik secara *in vitro* maupun *in vivo*, serta meningkatkan upaya-upaya pengembangan antibakteri dan pemeliharaan kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Analog Kurkumin

Kurkumin merupakan senyawa kuning utama dari rimpang *Curcuma longa* atau kunyit banyak digunakan sebagai obat tradisional secara luas di beberapa bagian Asia, telah ditemukan memiliki berbagai sifat biologis termasuk, antimikroba, aktivitas antitumor, anti inflamasi, antioksidan (Selvakumar & Venkataraman 2010). Kurkumin menunjukkan efek terhadap *Proteus mirabilis* dengan menghambat aktivitas urease-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme. Selain itu kurkumin meningkatkan waktu induksi dan menurunkan efisiensi pertumbuhan kristal yang akan menyebabkan pembentukan batu kemih jika dibandingkan tanpa pemberian kurkumin (Prywer & Torzewska 2012).

Senyawa analog kurkumin merupakan senyawa α , β tak jenuh yang dapat dihasilkan dari mekanisme dehidrasi suatu hidroksi karbonil melalui reaksi kondensasi aldol dengan menggunakan katalis basa maupun asam. Penggunaan katalis asam secara umum menghasilkan tingkat rendemen yang lebih memuaskan dibanding penggunaan katalis basa meskipun kurang reaktif (Fessenden 1999).

Analog kurkumin merupakan senyawa yang relatif berbeda dengan bentuk dasar kurkumin. Analog kurkumin dapat diperoleh dari penyederhanaan gugus beta diketo menjadi gugus monoketo. Analog kurkumin telah banyak disintesis dengan tujuan meningkatkan stabilitas, meningkatkan potensi dan selektivitas aktivitas biologisnya. Sintesis aktivitas antibakteri analog kurkumin terhadap Gram positif dan Gram negatif secara invitro menunjukkan bahwa heterosiklik atau rantai panjang substituen dapat meningkatkan aktivitas analog kurkumin (Liang 2008).

Senyawa yang berhasil disintesis oleh peneliti sebelumnya adalah senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon, 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon dan 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella thypi* ATCC 13311.

Senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon memiliki aktivitas antibakteri tertinggi pada bakteri *Salmonella thypi* ATCC 13311 dengan KBM 185,19 ppm. Senyawa 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan KBM 6,68 ppm (Rahmawati 2009).

B. *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis termasuk bakteri Gram negatif yang habitat alaminya dalam saluran usus manusia dan hewan. Kelompok *Proteus* ini bergerak sangat aktif dengan memakai flagel peritrika, yang mengakibatkan *swarming* (pertumbuhan menyebar pada permukaan membentuk pola menyerupai lingkaran tahun pada pohon) pada perbenihan padat kecuali kalau dihambat oleh zat kimia, misalnya feniletil alkohol atau perbenihan CLED (Cystine-lactose-electrolyte-deficient) (Jawetz *et al.* 2013).

1. Klasifikasi dan sistematika

Klasifikasi dari bakteri *Proteus mirabilis* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Prokariota
Division	: Protophyta
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Proteus</i>
Spesies	: <i>Proteus mirabilis</i> (Entjang 2003)

2. Morfologi

Proteus mirabilis setelah tumbuh selama 24-48 jam pada media padat, kebanyakan sel berbentuk batang, Gram negatif, tidak berspora, tidak berkapsul, flagel peritrik, kuman ini berukuran 0,5 x 3,0 μm (Karsinah *et al* 1994).

3. Sifat biakan

Proteus mirabilis merupakan bakteri aerob. *Proteus mirabilis* berwarna merah muda atau tidak berwarna, koloni sedang hingga besar dan *swarming* pada media. Penyebaran pertumbuhan *Proteus mirabilis* dapat dihambat dengan jalan menambahkan feniletil alkohol (Misnadiarly & Djajaningrat H 2014).

4. Patogenesis

Proteus mirabilis termasuk kuman patogen, menyebabkan infeksi saluran kemih atau kelainan bernanah seperti abses, infeksi luka. *Proteus mirabilis* ditemukan sebagai penyebab diare pada anak-anak dan menimbulkan infeksi pada manusia.

5. Resistensi

Enterik bakteri termasuk *Proteus mirabilis* yang mempunyai morfologi tidak berspora dan relatif lebih mudah dirusak oleh desinfektan seperti fenol, formaldehid dan senyawa halogen. Kontrol enterik pada makanan dapat digunakan dengan cara dimasak (Misnadiarly & Djajaningrat. H 2014).

C. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibiotik bertujuan untuk menetapkan potensi aktivitas antibakteri, konsentrasinya dalam cairan tubuh dan jaringan, dan kepekaan mikroorganisme terhadap agen antibakteri. Metode yang digunakan yaitu :

Metode dilusi. Metode dilusi ada dua macam yaitu dilusi cair dan dilusi padat pada prinsipnya metode ini dilakukan dengan mengencerkan zat akan diuji menjadi beberapa konsentrasi pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi di ubah suspensi bakteri dalam media, sedangkan dilusi padat tiap konsentrasi zat uji dicampur media agar, lalu ditanami bakteri, hasil yang didapatkan pada metode dilusi adalah Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi dilakukan dengan membuat seri konsentrasi yang terdiri atas beberapa tabung reaksi. Masing-masing tabung ditambah bahan uji yang diperiksa kecuali untuk tabung kontrol positif, kemudian ditambahkan bakteri yang telah diencerkan ke dalam tiap-tiap tabung reaksi kecuali kontrol negatif kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Koeswardono 1982).

Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah mikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2013), dan satu konsentrasi agen antimikroba yang di uji dapat digunakan

untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi 2008). Kekurangan metode dilusi yaitu sampel yang digunakan harus jernih karena jika keruh akan mempersulit pengamatan (Putra 2010).

D. Media

Media adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di dalamnya. Mikroorganisme sebagai makhluk hidup mempunyai kebutuhan dasar yang sama yaitu air, karbon, energi, mineral dan faktor tumbuh. Keasaman (pH) media yang sangat dipengaruhi oleh pH, sebagian besar bakteri tumbuh paling baik pada sekitar pH 7 (Suriawiria 1985). Fungsi media antara lain untuk menumbuhkan mikroba, untuk mengisolasi mikroba, memperbanyak mikroba, menguji sifat-sifat mikroba, menghitung jumlah mikroba, dan menyimpan mikroba. Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematik seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya. Bentuk media ada tiga jenis, yaitu media padat, media cair, dan media semi padat atau semi cair (Pratiwi 2008).

E. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan bahan atau peralatan yang digunakan di dalam bidang mikrobiologi, harus dalam keadaan steril. Artinya pada bahan atau peralatan yang akan digunakan tidak didapatkan mikroba yang merugikan, baik yang mengganggu atau merusak media maupun yang mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan.

Cara sterilisasi yang umum dilakukan yaitu meliputi sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar-gama, sinar-ultra-violet. Sterilisasi secara kimia yaitu dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin, larutan AMC (campuran klorida dengan garam Hg) dan sterilisasi secara mekanik yaitu dengan penggunaan saringan/filter untuk beberapa bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi akan mengalami perubahan atau penguraian, jenis filter yang digunakan

tergantung kepada tujuan penyaringan dan benda yang akan disaring (Suriawiria 1985).

F. Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu zat atau senyawa yang dapat menekan atau menghambat pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Senyawa atau zat digunakan untuk membunuh bakteri penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif. Antibakteri berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba (aktivitas bakteristatik) dan ada yang bersifat membunuh bakteri (aktivitas bakterisid) (Ganiswara 1995).

1. Mekanisme kerja antibakteri

1.1. Penghambatan metabolisme sel bakteri. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoate (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bila bersaing dengan PABA untuk diikuti sertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional, sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi hal ini bisa menyebabkan bakteri mati (Ganiswara 1995).

1.2. Penghambatan sintesis dinding sel. Dinding bakteri terdiri dari polipeptidoglikan. Polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer glikopeptida. Salah satu kerja antibakteri adalah menghambat sintesis dinding sel. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis (Ganiswara 1995).

1.3. Perubahan permeabilitas membran sel bakteri. Selaput sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Salah satu kerja antibakteri adalah mengubah tegangan permukaan sehingga merusak permeabilitas selektif dari membran sel mikroba. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Ganiswara 1995).

1.4. Penghambatan sintesis protein sel bakteri. Untuk kehidupannya, bakteri perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada waktu sintesis protein, akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan non fungsional bagi sel mikroba (Ganiswara 1995).

1.5. Penghambatan sintesis asam nukleat sel bakteri. DNA, RNA dan protein memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Salah satu kerja antibakteri yang lain adalah mekanisme berikatan dengan enzim polymerase RNA oleh enzim tersebut (Ganiswara 1995).

G. Siprofloksasin

Siprofloksasin adalah antimikroba turunan kuinolon yang digunakan sebagai anti infeksi yang relatif baru sebagai hasil pengembangan asam nalidiksate, suatu turunan 4-kuinolon yang efektif terhadap bakteri Gram negatif dan digunakan untuk infeksi saluran kemih. Turunan 4-kuinolon yang mempunyai mekanisme menghambat sintesis asam deoksiribose nukleat (ADN) bakteri pada topoisomerase II (AND-girase). ADN-girase merupakan enzim yang penting untuk replikasi ADN. Golongan turunan 4-kuinolon ini adalah asam oksolinat, siprofloksasin, levofloksasin, slinafloksasin, lomefloksasin, norfloksasin, ofloksasin, dan pefloksasin dan lain-lain (Siswandono 2000).

Siprofloksasin merupakan turunan antibiotik flourokuinolon generasi kedua yang memiliki aktivitas antibakterial yang lebih besar serta toksisitas yang lebih rendah, serta mencapai kadar yang lebih bermanfaat secara klinis di dalam darah dan jaringan. Antibiotik golongan flouroquinolon dapat menghambat banyak jenis bakteri, meskipun spektrum aktivitasnya bervariasi dari satu obat ke obat lain (Jawetz *et al.* 2013).

H. Landasan Teori

Kurkumin adalah senyawa yang mempunyai aktivitas biologis sebagai antibakteri, antioksidan, antikanker dan anti-HIV. Zat warna kuning yang terkandung dalam *Curcuma longa*, *Curcuma domestika Val* maupun *Curcuma*

xanthorrhiza Roxb. Senyawa kurkumin dari beberapa tumbuhan bersifat bioaktif sebagai antimikroba, adanya kandungan senyawa kurkumin dalam kunyit putih (*C. mangga Val*) maka dimungkinkan kunyit putih juga memiliki sifat antibakteri. Stabilitas kurkumin dipengaruhi oleh pH lingkungan dan cahaya karena ada gugus metilen aktif pada β -keton. Modifikasi gugus β -keton menjadi monoketon digunakan untuk menghilangkan gugus metilen aktif sehingga dapat meningkatkan stabilitas dari analog kurkumin. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bahwa kurkumin mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, beberapa penelitian menguji aktivitas antibakteri dengan sedikit perubahan struktur kurkumin menjadi analog kurkumin yaitu senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten, hasil sintesis memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter daya hambat rata-rata 27 mm (Rahmawati 2014).

Hasil sintesis analog kurkumin lainnya yaitu 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon, 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon dan 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Salmonella thypi* ATCC 13311. Senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon memiliki aktivitas antibakteri tertinggi pada bakteri *Salmonella thypi* ATCC 13311 dengan KBM 185,19. Senyawa 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon memiliki aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan KBM 6,68 ppm (Rahmawati 2009).

Hasil penelitian dari Lourentina 2015 yaitu senyawa 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on mempunyai aktivitas antibakteri yang paling tinggi terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dengan diameter daya hambat rata-rata berurutan adalah 18,6 mm; 21,2 mm dan 19 mm. Senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon merupakan senyawa paling tinggi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan diameter daya hambat rata-rata 20,4 mm. Senyawa antibakteri 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on memiliki mekanisme kerja dengan merusak dinding sel pada

bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Dwiningsih *et al* 2016). Berdasarkan penelitian terhadap analog kurkumin tersebut bahwa senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon, 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon dan 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terutama terhadap antibakteri Gram negatif, sehingga senyawa D, E dan F diharapkan minimal dapat memiliki aktivitas sama atau lebih terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 maupun bakteri *Proteus mirabilis* yang resisten.

Kurkumin dan analog kurkumin termasuk dalam golongan senyawa polifenol, oleh karena itu diduga memiliki mekanisme antibakteri yang sama yaitu mendenaturasi protein membran. Denaturasi atau rusaknya protein membran pada bakteri akan mengubah permeabilitas membran dan menyebabkan kebocoran nutrisi pada sel bakteri sehingga dapat menyebabkan kematian sel (Madigan 2005).

Metode dilusi adalah suatu uji aktivitas antibakteri yang dilakukan dengan membuat seri konsentrasi yang terdiri atas beberapa tabung reaksi. Masing-masing tabung ditambah bahan uji yang diperiksa kecuali untuk tabung kontrol positif, kemudian ditambahkan bakteri yang telah diencerkan ke dalam tiap-tiap tabung reaksi kecuali kontrol negatif kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih, kemudian tiap konsentrasi zat uji dicampur media agar, lalu ditanami bakteri, hasil yang didapatkan pada metode dilusi adalah Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Bonang & Koeswardono 1982).

I. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, disusun suatu hipotesis dalam penelitian yaitu:

Pertama, senyawa D, E, dan F memiliki aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

Kedua, dapat menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum dari, Senyawa D, E, dan F terefektif membunuh bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin di tentukan dari hasil penelitian.

Ketiga, salah satu dari ketiga senyawa analog kurkumin D, E dan F terdapat salah satu senyawa terefektif terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

Keempat, salah satu dari senyawa analog kurkumin tersebut dapat menyebabkan kebocoran membran senyawa terefektif terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa 2,6-bis ((5'-bromo-2'-furanil)metilen) sikloheksanon; 2,5-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen) siklopentanon dan 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on yang telah berhasil disintesis dan dinyatakan murni oleh Ismi Rahmawati .

2. Sampel

Sampel merupakan bagian dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa 2,6-bis ((5'-bromo-2'-furanil)metilen) sikloheksanon; 2,5-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen) siklopentanon dan 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on yang diambil secara acak dari Laboratorium Kimia Organik Universitas Setia Budi Surakarta.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang membuat identifikasi dari semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama penelitian ini adalah senyawa analog kurkumin yang murni hasil sintesis Ismi Rahmawati terdiri dari senyawa D, E dan F.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri dari senyawa D, E dan F terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung berkaitan dengan perubahan-perubahan. Variabel bebas yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah senyawa analog kurkumin yaitu senyawa senyawa D, E dan F yang digunakan sebagai uji antibakteri terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara cepat dan tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin, kondisi laboratorium (meliputi kondisi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril), serta media yang digunakan dalam penelitian.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin di media uji dengan metode dilusi, yang dipengaruhi oleh senyawa analog kurkumin yaitu senyawa D, E dan F.

3. Definisi operasional variabel

Pertama, senyawa D, E dan F adalah senyawa analog kurkumin yang telah disintesis dan dimurnikan oleh Ismi Rahmawati diambil dari Laboratorium Kimia Organik Universitas Setia Budi Surakarta yang dibuat larutan dalam pelarut aseton dengan konsentrasi awal 10.000 ppm.

Kedua, bakteri *Proteus mirabilis* resisten adalah bakteri *Proteus mirabilis* yang resisten terhadap siprofloksasin yang diperoleh dari hasil biakan murni di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.

Ketiga, bakteri *Proteus mirabilis* non resisten adalah bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 yang diperoleh dari hasil biakan murni di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Keempat, uji aktivitas antibakteri adalah uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi dengan melihat taraf kekeruhan dalam media. Konsentrasi satu seri

pengenceran yaitu konsentrasi awal 10.000 ppm. Kontrol positif adalah suspensi bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dan kontrol negatif adalah senyawa D, E, dan F.

Kelima, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah sediaan yang menghambat bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin melihat kekeruhan medium dalam tabung.

Keenam, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri dengan melihat bakteri pada medium pada goresan dalam cawan petri.

Ketujuh, Mekanisme kerja antibakteri adalah cara antibakteri untuk membunuh bakteri dilihat dari kebocoran asam nukleat dengan pengamatan kerusakan sel bakteri adanya kebocoran protein dan asam nukleat dari sel bakteri dengan pembacaan absorbansi pada spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 260 dan 280 nm.

Kedelapan, kebocoran ion logam adalah kebocoran sel yang dianalisis menggunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) dinyatakan dengan terukurnya ion-ion bakteri uji setelah kontak dengan senyawa.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan dan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa analog kurkumin hasil sintesis. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Proteus mirabilis* ATCC 10975 yang diperoleh dari Universitas Setia Budi Surakarta dan bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Media yang digunakan dalam penelitian adalah *Braint Heart Infusion* (BHI), *Mac Conkey Agar* (MCA), KIA, LIA, SIM, sitrat, *Mueller Hinton Agar* (MHA). Bahan kimia yang digunakan adalah aquades, NaSO₄ anhidrat, larutan standar McFarland 0,5, H₂O₂, aseton, alkohol 70%, reagen Gram A, Gram B, Gram C, dan Gram D.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi, rak tabung reaksi, Beaker glass, obyek glass, cawan petri, ose platina, inkas, timbangan, pipet tetes, pipet volume, inkubator, pinset, kapas, oven, autoklaf, mikroskop, lampu spiritus, korek, kompor, panci, penggaris, spidol permanen, micro pipet (5-50 μ l dan 100-1000 μ l), sentrifuge, spektrofotometer UV-Vis, AAS.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini diambil dari hasil sintesis dan dinyatakan murni oleh Ismi Rahmawati yaitu senyawa analog kurkumin 2,6-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen) sikloheksanon; 2,5-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen) siklopentanon dan 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on. Gambar terdapat pada lampiran 1.

2. Pembuatan larutan stok

Bahan yang digunakan ditimbang, kemudian masing-masing bahan dilarutkan dalam aseton hingga didapatkan konsentrasi kurang lebih 10.000 ppm. Gambar terdapat pada lampiran 2.

3. Pembuatan media

Media ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass, menambahkan aquadest 1 liter, dimasukkan ke dalam panci lalu di masak hingga mendidih, setelah mendidih media diangkat dan dituangkan ke dalam tabung reaksi, setelah itu ditutup dengan kapas steril, lalu diikat menjadi 1 dengan karet gelang, disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dimasukkan media ke dalam lemari pendingin. Gambar terdapat pada lampiran 4.

4. Sterilisasi alat dan bahan

Media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, karena uap panasnya efektif untuk sterilisasi media. Alat-alat dengan gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan

menggunakan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam. Alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung (Suriawiria 1989). Gambar terdapat pada lampiran 5.

5. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dalam biakan murni pada media NA yang telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Satu ose bakteri uji dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi dengan media BHI lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 5-8 jam. Gambar terdapat pada lampiran 6.

6. Pembuatan suspensi metode McFarland 0,5 uji bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

Biakan murni *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin, bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose steril kurang lebih 2 ose kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infuction* (BHI), diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, hasil inkubasi di pipet 0,1 ml kemudian diencerkan dengan BHI 10 ml untuk menyamakan kekeruhan dengan standar McFarland 0,5 dengan jumlah koloni $1,5 \times 10^8$ CFU/mL, kemudian suspensi diencerkan sebanyak 1:1000 untuk pengujian dilusi. Gambar terdapat pada lampiran 7.

7. Identifikasi bakteri uji dengan pengecatan gram

Pewarnaan Gram negatif bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan menggunakan cat Gram A (cat kristal violet) sebagai cat utama, cat Gram B (lugol iodine) sebagai penguat, cat Gram C (etanol:aseton = 1 : 1) sebagai peluntur dan cat Gram D (cat safranin sebagai penutup). Hasil pewarnaan bakteri Gram negatif *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin berwarna merah di bawah mikroskop.

8. Identifikasi bakteri uji dengan medium selektif

Suspensi bakteri *Proteus mirabilis* dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin disiapkan untuk ditanam pada media *Mac Conkey Agar*. Ose dipanaskan untuk mensterilkan ose, kemudian ose dimasukkan ke dalam suspensi

Proteus mirabilis ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin, ose yang telah dimasukkan pada suspensi *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin lalu diinokulasi pada media MCA dengan membentuk zig-zag, kemudian menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

9. Identifikasi bakteri uji secara uji biokimia

Identifikasi bakteri berdasarkan uji biokimia dilakukan pada media SIM, KIA, LIA, citrat.

Pertama uji biokimia *Sulfida Indol Motility* (SIM), biakan bakteri pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi SIM ini bertujuan untuk menguji adanya sulfida, indol, dan motilitas. Uji sulfida positif bila medium berwarna hitam, uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah penambahan Erlich A dan B, uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan bakteri pada seluruh media.

Kedua uji *Klinger's Iron Agar* (KIA), menginokulasi biakan bakteri pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan, kemudian menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat dan sulfida. Selanjutnya mengamati pada bagian lereng, dasar, ada tidaknya gas dan terbentuk warna hitam. Uji positif bila pada bagian lereng akan berwarna merah (K), bagian dasar kuning (A), adanya gas ditandai dengan pecahnya media (G+), sulfida positif terbentuk warna hitam (S+), sebaliknya warna media yang tidak berubah warna hitam menunjukkan uji sulfida negatif.

Ketiga uji *Lysin Iron Agar* (LIA), menginokulasi biakan bakteri pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui adanya deaminasi lisin dan sulfida. Selanjutnya diamati pada bagian lereng serta terbentuknya warna hitam. Uji sulfida dikatakan positif jika terdapat adanya perubahan warna merah, coklat, ungu atau kuning pada bagian lereng dan dasar media.

Keempat uji sitrat, menginokulasi biakan bakteri pada media dengan cara inokulasi goresan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan citrat sebagai karbon tunggal, uji positif bila media berwarna biru. Gambar terdapat pada lampiran 8.

10. Identifikasi uji sensitivitas

Uji sensitivitas dilakukan dengan cara memasukkan pengulas berbungkus kapas steril ke dalam koloni bakteri yang sudah disuspensikan dalam media steril. Pengulas kapas digunakan untuk menginokulasi permukaan media agar dalam cawan petri. Kertas-kertas kecil yang sudah diresapi antibiotik atau meletakkan disk antibiotik di atas permukaan cawan yang telah diinokulasi sebelumnya. Cawan petri diinkubasi dan biakan dilihat ada tidaknya zona penghambatan disekitar disk antibiotik tersebut.

11. Pengujian aktivitas anti bakteri

Hasil aktivitas anti bakteri senyawa analog kurkumin yang telah didapat diuji secara mikrobiologis dengan bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Metode yang digunakan adalah metode dilusi.

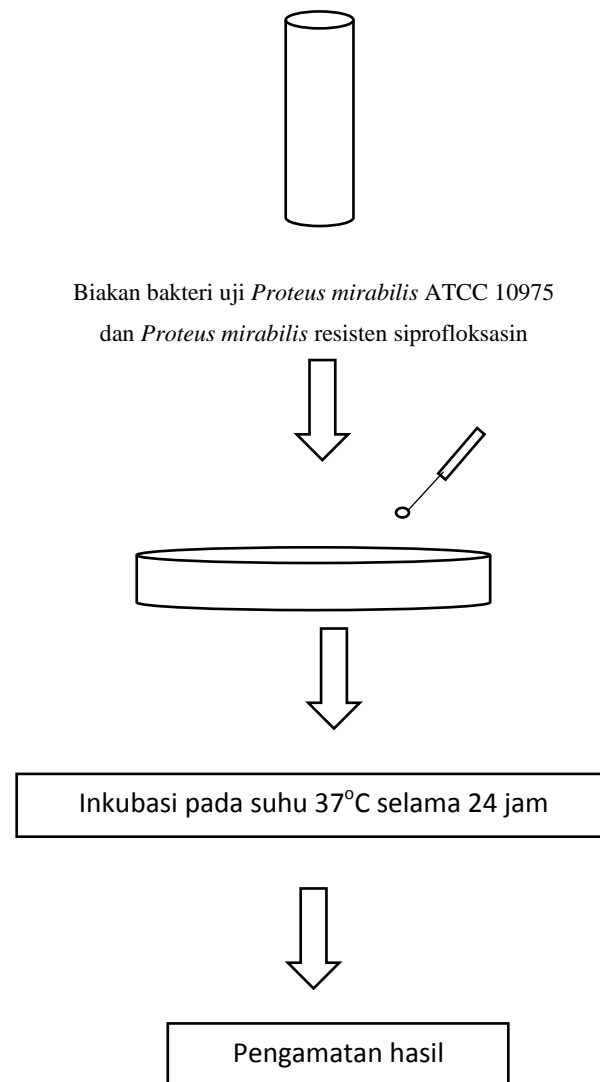
Metode dilusi menggunakan deretan tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi tersebut mempunyai beberapa konsentrasi yang berbeda dengan interval pengenceran 2 kali. Kontrol positif adalah suspensi bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dan kontrol negatif adalah senyawa D, E dan F. Secara aseptik suspensi bakteri dimasukkan ke dalam media BHI ke dalam masing-masing tabung uji, kecuali tabung 1. Larutan stok senyawa D, E dan F ditambahkan pada tabung 1 dan 2 dengan konsentrasi 10.000 ppm. Tabung 2 dikocok, dari tabung 2 diambil 50µl dimasukkan pada tabung 3, tabung 3 dikocok diambil 50µl kemudian dimasukkan pada tabung 4 begitu seterusnya sampai pada tabung akhir yang diinginkan. Suspensi bakteri yang telah di encerkan 1:1000 ditambahkan dengan volume yang sama keseluruhan tabung. Konsentrasi akhir berasal dari konsentrasi tabung 2 yaitu 10.000 ppm, tabung 3

yaitu 5000 ppm, tabung 4 yaitu 2500 ppm seterusnya sampai pada tabung yang diinginkan. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu mengamati kekeruhannya atau penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan cara menginokulasi masing-masing tabung secara goresan pada media selektif. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Mengamati ada tidaknya koloni yang tumbuh pada permukaan media lempeng. KBM ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media Mac Conkey Agar yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.

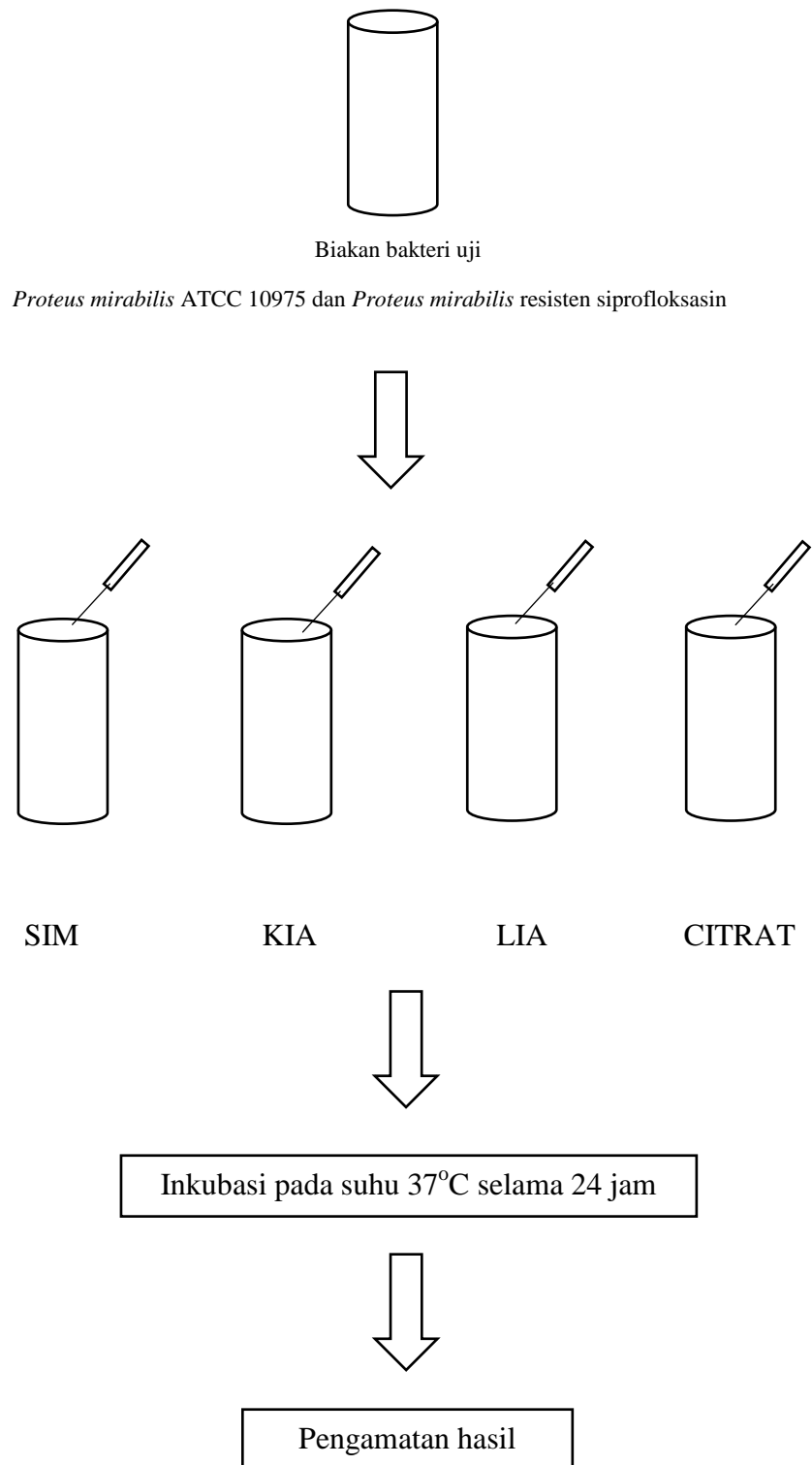
12. Analisis kebocoran membran sel

12.1 Analisis kebocoran asam nukleat dan protein. Suspensi bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin ditambahkan dengan senyawa uji yaitu senyawa D, E dan F dengan konsentrasi 0 (kontrol), 1 dan 2 x KBM. Larutan uji diinkubasi dan di sentrifuge kemudian dipisahkan supernatan dari endapan sel. Supernatan diukur absorbansi dengan spektrofotometer UV/VIS pada panjang gelombang 260 dan 280 nm (Azrifitria *et al* 2010).

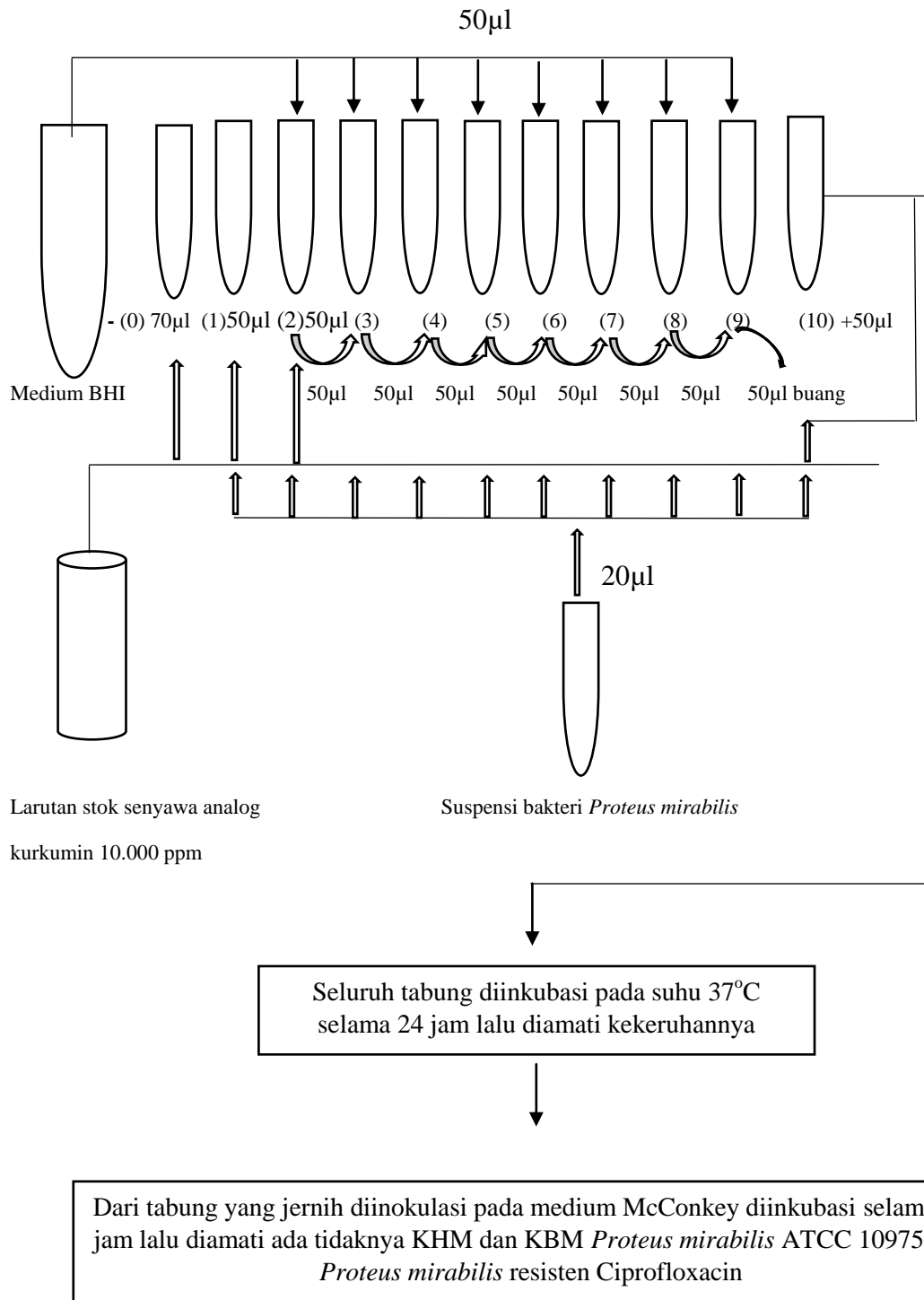
12.2 Analisis kebocoran ion logam. Kebocoran ion yang diukur dalam bentuk ion K⁺ dan Na⁺ yang keluar dari sel bakteri akibat perlakuan dengan salah satu senyawa D, E dan F yang terefektif. Sampel untuk analisis kebocoran ion logam berupa supernatan yang berasal dari perlakuan analisis kebocoran asam nukleat dan protein. Supernatan dianalisis dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) (Azrifitria *et al* 2010).



Gambar 3. Skema identifikasi dengan medium selektif bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin secara goresan.



Gambar 4. Skema identifikasi biokimia bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin secara biokimia.



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri senyawa analog kurkumin dengan metode dilusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pembuatan Larutan Stok Analog Kurkumin

Sampel yang digunakan telah berhasil disintesis dan dinyatakan murni oleh Ismi Rahmawati yang diambil secara acak dari Laboratorium Kimia Organik Universitas Setia Budi Surakarta. Masing-masing bahan yang ditimbang dilarutkan dalam aseton hingga didapatkan konsentrasi kurang lebih 10.000 ppm. Hasil penimbangan senyawa analog kurkumin yang digunakan dapat dilihat pada tabel 1. Perhitungan penimbangan dapat dilihat pada lampiran 1.

Tabel 1. Hasil penimbangan senyawa analog kurkumin

Senyawa	Berat senyawa (gram)	Volume aseton (ml)	Konsentrasi (ppm)
D	0,0503	5	10.060
E	0,0504	5	10.080
F	0,0510	5	10.200

Hasil penimbangan yang diperoleh senyawa D sebesar 0,0503 gram, senyawa E sebesar 0,0504 gram dan senyawa F sebesar 0,0510 gram. Masing-masing senyawa kemudian dilarutkan dalam 5 ml aseton untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan.

B. Hasil Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dari biakan murni, diambil beberapa ose steril dan ditanam dalam tabung yang berisi 10 ml media *Brain Heart Infusion* (BHI) yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standart McFarland 0,5 ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (CLSI 2012). Hasil dapat dilihat pada lampiran 7.

C. Hasil Identifikasi Bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten Siprofloksasin

1. Identifikasi bakteri uji dengan pewarnaan gram

Bakteri *Proteus mirabilis* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek, warna merah muda atau tidak berwarna, berkelompok. Pewarnaan

Gram berguna untuk dapat meyakinkan bahwa *Proteus mirabilis* merupakan Gram negatif. Pewarnaan Gram dimulai dengan pemberian zat warna dasar, Kristal violet (Gram A). Larutan Iodin (Gram B) diberikan selanjutnya, seluruh bakteri akan terwarnai ungu pada tahap ini dalam proses pewarnaan. Kemudian sel diberikan alkohol (Gram C). Sel Gram positif akan tetap mempertahankan kompleks Kristal violet-iodin sehingga tetap berwarna ungu, sel Gram negatif kehilangan warna oleh alkohol. Sebagai langkah akhir, zat warna lawan, safranin (pewarna merah (Gram D)) diberikan sehingga sel-sel Gram negatif yang tidak berwarna akan berwarna merah sedangkan sel Gram positif akan tetap berwarna ungu (Jawetz *et al.* 2013). Hasil pengamatan *Proteus mirabilis* di bawah mikroskop sesuai dengan pustaka bahwa bakteri *Proteus mirabilis* berbentuk batang dan berwarna merah yang merupakan bakteri Gram negatif. Hasil pengecatan Gram dapat dilihat pada gambar 6 di bawah ini.

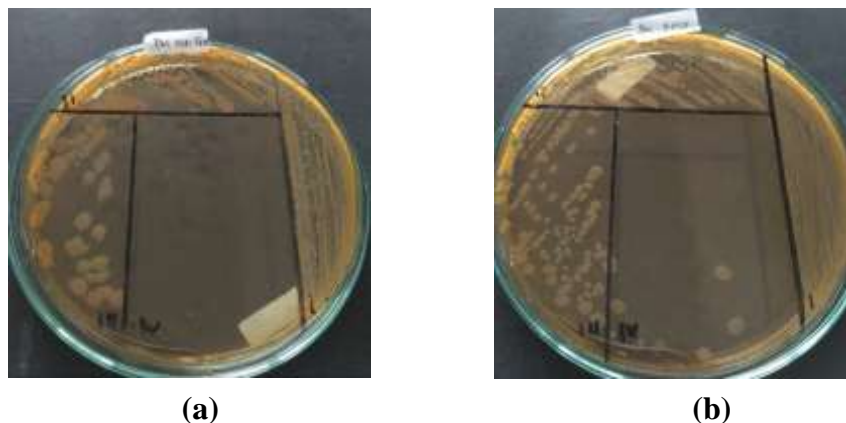


Gambar 6. Pengecatan Gram bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 (a) dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin (b).

2. Identifikasi bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan media selektif

Bakteri *Proteus mirabilis* dari suspensi biakan digoreskan pada media BHI di atas media *Mac Conkey Agar* (MCA), menginkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengamatan goresan pada media MCA didapat warna koloni sedang hingga besar, berwarna merah muda dan *swarming* pada media MCA. Hasil identifikasi bakteri uji dengan media selektif ini sesuai dengan pustaka

(Misnadiarly & Djajaningrat H 2014). Hasil identifikasi bakteri *Proteus mirabilis* dengan media selektif MCA digunakan untuk pertumbuhan ciri khas terutama untuk membedakan dengan spesies lain yang termasuk dalam enterobacter, sehingga bakteri yang digunakan adalah bakteri *Proteus mirabilis*. Hasil dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Identifikasi bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 (a) dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan media Mac Conkey Agar (b).

3. Identifikasi biokimia bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

Bakteri ditanam dalam media SIM, KIA, LIA, Citrat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil identifikasi uji biokimia *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dapat dilihat pada tabel 2 dan pada lampiran 8.

Tabel 2. Hasil identifikasi bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

Media	Cara inokulasi	Hasil	Pustaka (Mikoleit ML 2010)
KIA	Ditusuk dan digores pada media	K/AG ^S ⁺	K/AGS ⁺
SIM	Ditusuk pada media	+++	+++
LIA	Ditusuk dan digores pada media	R/A	R/A
Citrat	Digoreskan pada media	+	+

Keterangan :

KIA	= Kliger Iron Agar	R	= warna merah
SIM	= Sulfid Indol motility	A	= Acid (asam)
LIA	= Lysin Iron Agar	K	= Alkali (basa)
Citrat	= Simmons Citrat Agar (SCA)	G	= Gas
-	= Reaksi negatif	S	= Sulfida
+	= Reaksi positif		

Identifikasi secara biokimia menggunakan KIA, SIM, LIA dan Citrat menunjukkan hasil yang sesuai dengan pustaka, sehingga dapat diketahui bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Proteus mirabilis*. Hasil identifikasi secara biokimia digunakan untuk membedakan bakteri enterobacter dengan spesies yang lain. Hasil pada media KIA menunjukkan K/A S⁺, pada media KIA tegak berubah warna dari merah menjadi kuning (A) dan bagian miring warna tetap merah (K) karena bakteri menghasilkan asam karena dapat memfermentasi glukosa dan tidak memfermentasi laktosa. G negatif artinya tidak terbentuk gas karena media tidak terangkat, S positif artinya bakteri tersebut mampu membentuk S yang diikat sebagai ferri sulfide dan mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga terlihat warna hitam pada media (Volk & Wheller 1988).

Hasil identifikasi secara biokimia pada media SIM diperoleh hasil (+++) yaitu sulfida positif ditandai dengan adanya warna hitam pada media artinya bakteri tersebut mampu membentuk S yang diikat sebagai ferri sulfida dan dapat memproduksi hidrogen sulfida yang akan terlihat warna hitam. Indol negatif karena tidak terbentuk cincin warna merah setelah ditambah reagen Erlich. Pada permukaan biakan tidak terbentuk lapisan cincin berwarna merah, artinya bakteri ini tidak membentuk indol dari triptophan sebagai sumber karbon (Cowan 2004) dan motilitas positif artinya terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi. Hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berarti bahwa bakteri *Proteus mirabilis* memiliki flagel (Burns *et al.* 2004).

Hasil identifikasi secara biokimia pada media LIA bagian tegak berubah warna dari merah menjadi kuning, bagian miring berwarna merah yang artinya mendeaminasi lisin dan memfermentasi glukosa. Sulfida negatif artinya uji H₂S negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya warna hitam pada media LIA karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S dan H₂S tidak akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media sehingga tidak terlihat warna hitam pada media (Volk & Wheller 1988).

Hasil identifikasi biokimia pada media citrat diperoleh hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna biru pada media, artinya menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Indikator BTB (*Bromo Thymol Blue*) yang ada pada media citrat, penggunaan citrat akan membentuk CO_3^{2-} dan HCO_3^- yang mempengaruhi pH, jika pH naik akan berubah menjadi biru. Hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi biru pada slent media. *Proteus mirabilis* mampu menggunakan citrat, maka asam akan dihilangkan dari media biakan, sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna media dari hijau menjadi biru pada media. Hasil identifikasi bakteri uji secara biokimia dapat dilihat pada lampiran 8.

D. Hasil Uji Sensitivitas

Uji sensitivitas bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dilakukan dengan metode difusi menggunakan beberapa cakram antibiotik yaitu gentamisin 10 μg (CN), siprofloksasin 5 μg (Cip), ampicillin 10 μg (Amp), sulfometoxazole 1,25 μg (Sxt) dan vancomycin 30 μg (Va). Hasil uji sensitivitas dilihat berdasarkan zona hambat disekitar kertas cakram yang terdapat pada tabel 3 dan dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 3. Hasil uji sensitivitas bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

Cakram Antibiotik	Resisten (mm)	Diameter zona hambat (mm) <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975	Keterangan	Diameter zona hambat (mm) <i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin	Keterangan
Gentamisin	≤ 12	17	Tidak resisten	15	Tidak Resisten
Siprofloksasin	≤ 15	31	Tidak resisten	9	Resiten
Ampicillin	≤ 13	14	Tidak Resisten	12	Resiten
Sulfometoxazole	≤ 10	27	Tidak resisten	11	Tidak resisten
Vancomycin	≤ 9	9	Resiten	9	Resiten

Sumber : CLSI 2007, 2014

Berdasarkan hasil uji sensitivitas dapat disimpulkan bahwa bakteri uji yang digunakan adalah benar bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

E. Hasil Uji Antibakteri Senyawa Analog Kurkumin Dengan Metode Dilusi

Hasil sintesis senyawa analog kurkumin yang telah diperoleh, selanjutnya melakukan pengujian terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan metode dilusi. Uji aktivitas dengan konsentrasi stok yang digunakan senyawa D yaitu 10.060 ppm, senyawa E yaitu 10.080 ppm dan senyawa F yaitu 10.200 ppm. Konsentrasi yang digunakan dianggap setara dengan konsentrasi 10.000 ppm.

Uji sensitifitas dengan metode dilusi digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang dapat dilihat dengan ada tidaknya kekeruhan dan tingkat kekeruhan pada tabung percobaan yang kemudian ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). KHM merupakan konsentrasi terendah dari senyawa analog kurkumin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Nilai KHM bebanding terbalik dengan nilai sensitifitas bakteri, semakin rendah nilai KHM maka nilai sensitifitas bakteri semakin tinggi. Penelitian ini diketahui bahwa larutan senyawa yang digunakan merupakan larutan yang berwarna (tidak jernih) sehingga kekeruhan tabung uji sulit untuk ditentukan. Hasil pada tabung yang jernih hingga keruh dilakukan inokulasi pada media MCA untuk ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

KBM dalam penelitian ini dapat diketahui dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media setelah bakteri hasil uji digoreskan pada media. Pembuktian keseluruhan tabung diinokulasi secara goresan pada media selektif MCA, hasil positif yang tampak pada media terlihat adanya pertumbuhan koloni *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin yang bercirikan warna koloni berwarna merah muda dan *swarming* pada media MCA.

1. Hasil uji dilusi senyawa D terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

Pengujian dilusi senyawa D terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan sederet tabung dimulai dengan konsentrasi menunjukkan konsentrasi 10.000 ppm sampai dengan 0,305 ppm. Hasil dilusi

senyawa D menunjukkan konsentrasi 39,063 ppm diperoleh hasil tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Hasil dapat dilihat pada tabel 4 dan lampiran 10 serta 11.

Tabel 4. Hasil uji dilusi senyawa D terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

No	Konsentrasi (ppm)	Replikasi					
		<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975			<i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin		
		1	2	3	1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-
2	10.000	-	-	-	-	-	-
3	5000	-	-	-	-	-	-
4	2500	-	-	-	-	-	-
5	1250	-	-	-	-	-	-
6	625	-	-	-	-	-	-
7	312,5	-	-	-	-	-	-
8	156,25	-	-	-	-	-	-
9	78,125	-	-	-	-	-	-
10	39,063	-	-	-	-	-	-
11	19,531	+	+	+	+	+	+
12	9,766	+	+	+	+	+	+
13	4,883	+	+	+	+	+	+
14	2,441	+	+	+	+	+	+
15	1,221	+	+	+	+	+	+
16	0,610	+	+	+	+	+	+
17	0,305	+	+	+	+	+	+
18	Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

- (+) = Keruh (ada pertumbuhan bakteri)
- (-) = Jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)
- Kontrol (-) = senyawa D
- Kontrol (+) = suspensi bakteri

Hasil uji dilusi senyawa D pada tabel 4 menunjukkan bahwa senyawa D mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Senyawa D mempunyai aktivitas antibakteri yang sama pada kedua bakteri uji dengan konsentrasi KBM masing-masing 39,063 ppm. Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan Rahmawati (2009) dengan bakteri *Salmonella thypi* ATCC 13311 diperoleh konsentrasi KBM 185,19 ppm. Hal ini dapat dibandingkan aktivitasnya bahwa sama-sama menggunakan bakteri Gram negatif dan dengan penambahan gugus bromo, senyawa D mempunyai aktivitas antibakteri lebih baik terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin daripada

senyawa sebelumnya tanpa penambahan gugus bromo. Penambahan halogen seperti bromo diketahui bahwa telah mempunyai aktivitas biologis yang baik seperti antibakteri (Prasad *et al.* 2006).

2. Hasil uji dilusi senyawa E terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

Pengujian dilusi senyawa E terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan sederet tabung dimulai dengan konsentrasi menunjukkan konsentrasi 10.000 ppm sampai dengan 39,063 ppm. Hasil dilusi senyawa E menunjukkan konsentrasi 2500 ppm diperoleh hasil tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975. Hasil dapat dilihat pada tabel 5 dan lampiran 12 serta 13.

Tabel 5. Hasil uji dilusi senyawa E terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

No	Konsentrasi (ppm)	Replikasi					
		<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975			<i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin		
		1	2	3	1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-
2	10.000	-	-	-	-	-	-
3	5000	-	-	-	-	-	-
4	2500	-	-	-	-	-	-
5	1250	+	+	+	-	-	-
6	625	+	+	+	-	-	-
7	312,5	+	+	+	-	-	-
8	156,25	+	+	+	-	-	-
9	78,125	+	+	+	-	-	-
10	39,063	+	+	+	-	-	-
11	19,531				+	+	+
12	9,766				+	+	+
13	4,883				+	+	+
14	2,441				+	+	+
15	1,221				+	+	+
16	0,610				+	+	+
17	0,305				+	+	+
18	Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

- (+) = Keruh (ada pertumbuhan bakteri)
- (-) = Jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)
- Kontrol (-) = senyawa E
- Kontrol (+) = suspensi bakteri

Hasil uji dilusi senyawa E pada tabel 5 menunjukkan bahwa senyawa E mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan konsentrasi KBM 2500 ppm dan bakteri *Proteus mirabilis* resisten

siprofloksasin dengan konsentrasi 39,063 ppm. Hasil tersebut terlihat bahwa pemberian senyawa E terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin mempunyai aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975. Hasil dari kedua senyawa D dan E, senyawa E terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin mempunyai aktivitas yang sama dengan senyawa D (tabel 4), tetapi berbeda pada bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 senyawa D jauh lebih baik aktivitasnya.

3. Hasil uji dilusi senyawa F terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

Pengujian dilusi senyawa F terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan sederet tabung dimulai dengan konsentrasi menunjukkan konsentrasi 10.000 ppm sampai dengan 0,305 ppm. Hasil dapat dilihat pada tabel 6 dan lampiran 14 serta 15.

Tabel 6. Hasil uji dilusi senyawa F terhadap bakteri *proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

No.	Konsentrasi (ppm)	Replikasi					
		<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975			<i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin		
		1	2	3	1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-
2	10.000	-	-	-	-	-	-
3	5000	-	-	-	-	-	-
4	2500	-	-	-	-	-	-
5	1250	-	-	-	-	-	-
6	625	-	-	-	-	-	-
7	312,5	-	-	-	-	-	-
8	156,25	-	-	-	-	-	-
9	78,125	-	-	-	-	-	-
10	39,063	+	+	+	-	-	-
11	19,531	+	+	+	-	-	-
12	9,766	+	+	+	+	+	+
13	4,883	+	+	+	+	+	+
14	2,441	+	+	+	+	+	+
15	1,221	+	+	+	+	+	+
16	0,610	+	+	+	+	+	+
17	0,305	+	+	+	+	+	+
18	Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

- (+) = Keruh (ada pertumbuhan bakteri)
- (-) = Jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)
- Kontrol (-) = senyawa F
- Kontrol (+) = suspensi bakteri

Hasil uji dilusi senyawa F menunjukkan bahwa senyawa F mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Senyawa F terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan konsentrasi KBM 78,125 ppm dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan konsentrasi KBM 19,531 ppm (tabel 6).

Senyawa F pada struktur sebelumnya yang telah terbukti mempunyai aktivitas antibakteri dan pada penelitian ini dilakukan penambahan gugus bromo dapat menyebabkan perubahan aktivitas sebagai antibakteri, uji dilusi dari ketiga senyawa, senyawa F terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin mempunyai aktivitas antibakteri yang terefektif dibandingkan dengan senyawa D dan E. Senyawa D, E dan F memiliki aktivitas yang baik terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin disebabkan karena dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran dibagian luar lapisan peptidoglikan sehingga dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap suatu bahan antibakteri (Hariyanti *et al.* 2014).

Resistensi terhadap suatu obat antibakteri terdapat beberapa mekanisme yang menyebabkan terjadinya resistensi pada mikroorganisme. Senyawa uji merupakan senyawa baru dan bakteri belum membentuk mekanisme resistensi terhadap analog kurkumin, sehingga bakteri *Proteus mirabilis* yang sudah resisten terhadap siprofloksasin lebih mudah dibunuh oleh senyawa analog kurkumin karena bakteri salah mengenali zat asing yang masuk (Jawetz 2013). Hasil uji dilusi senyawa yang terefektif selanjutnya akan dilakukan untuk uji kebocoran asam nukleat dan protein serta kebocoran ion logam K^+ dan Na^+ .

4. Hasil uji dilusi kurkumin

Pengujian dilusi senyawa kurkumin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan sederet tabung dimulai dengan konsentrasi 10.000 ppm sampai dengan 39,063 ppm. Resistensi terhadap siprofloksasin dapat berkembang melalui mutasi dalam gen kromosom bakteri yang mengode DNA girase atau topoisomerase IV (Goodman & Gilman 2002). Senyawa kurkumin

yang digunakan sebagai antibakteri diduga dapat merusak sintesis dinding sel bakteri. Hasil dilusi senyawa kurkumin menunjukkan konsentrasi 1250 ppm diperoleh hasil tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan konsentrasi 10.000 ppm terhadap *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Hasil dapat dilihat pada tabel 7 dan lampiran 16 serta 17.

Tabel 7. Hasil uji dilusi kurkumin

No.	Konsentrasi (ppm)	Replikasi					
		<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975			<i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin		
		1	2	3	1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-
2	10.000	-	-	-	-	-	-
3	5000	-	-	-	+	+	+
4	2500	-	-	-	+	+	+
5	1250	-	-	-	+	+	+
6	625	+	+	+	+	+	+
7	312,5	+	+	+	+	+	+
8	156,25	+	+	+	+	+	+
9	78,125	+	+	+	+	+	+
10	39,063	+	+	+	+	+	+
11	Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

- (+) = Keruh (ada pertumbuhan bakteri)
- (-) = Jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)
- Kontrol (-) = senyawa kurkumin
- Kontrol (+) = suspensi bakteri

Hasil uji dilusi senyawa kurkumin pada tabel 7 menunjukkan bahwa senyawa kurkumin mempunyai aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Senyawa kurkumin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan konsentrasi KBM 1250 ppm dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan konsentrasi KBM 10.000 ppm. Hasil dilusi tersebut sudah membuktikan bahwa kurkumin mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, sehingga terbuktinya kurkumin dapat digunakan sebagai antibakteri pada penelitian ini dilakukan sedikit perubahan struktur dengan penambahan gugus bromo (senyawa D, E dan F) akan mampu mengubah aktivitasnya sebagai antibakteri. dimana penambahan halogen seperti bromo diketahui bahwa telah mempunyai aktivitas biologis yang baik seperti antibakteri (Prasad *et al.* 2006).

5. Hasil uji dilusi antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975

Pengujian dilusi antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan sederet tabung dimulai dengan konsentrasi 10.000 ppm sampai dengan 0,610 ppm. Hasil dilusi antibiotik siprofloksasin menunjukkan konsentrasi 4,883 ppm diperoleh hasil tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan konsentrasi 19,531 ppm diperoleh hasil tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Hasil dapat dilihat pada tabel 8 dan lampiran 18 serta 19.

Tabel 8. Hasil uji dilusi antibiotik siprofloksasin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

No	Konsentrasi (ppm)	Replikasi					
		<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 10975			<i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin		
		1	2	3	1	2	3
1	Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-
2	10.000	-	-	-	-	-	-
3	5000	-	-	-	-	-	-
4	2500	-	-	-	-	-	-
5	1250	-	-	-	-	-	-
6	625	-	-	-	-	-	-
7	312,5	-	-	-	-	-	-
8	156,25	-	-	-	-	-	-
9	78,125	-	-	-	-	-	-
10	39,063	-	-	-	-	-	-
11	19,531	-	-	-	-	-	-
12	9,766	-	-	-	+	+	+
13	4,883	-	-	-	+	+	+
14	2,441	+	+	+	+	+	+
15	1,221	+	+	+	+	+	+
16	0,610	+	+	+	+	+	+
17	Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

- (+) = Keruh (ada pertumbuhan bakteri)
- (-) = Jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)
- Kontrol (-) = Antibiotik siprofloksasin
- Kontrol (+) = Suspensi bakteri

Pengujian menggunakan antibiotik siprofloksasin dalam larutan sebagai pembanding pengujian efek antibakteri. Siprofloksasin merupakan turunan kuinolon yang mekanisme kerjanya menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (ADN) bakteri dengan memblokir sub unit enzim ADN-girase, suatu tipe II topoisomerase. ADN-girase adalah enzim yang penting untuk

replikasi ADN, bersifat unik dan berfungsi untuk memelihara kromosom pada keadaan *supercoiled* dan memperbaiki *single strand* ADN yang pecah selama proses replikasi ADN bakteri. Hambatan reproduksi ADN akan menyebabkan kematian bakteri (Siswandono & Soekardjo 2000).

Senyawa F memiliki aktivitas terefektif terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Senyawa F dilihat berdasarkan hasil dilusi (Tabel 6) memiliki aktivitas sebanding dengan siprofloksasin terhadap *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin karena memiliki nilai KBM yang sama yaitu 19,531 ppm. Aktivitas senyawa F dibandingkan dengan siprofloksasin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 masih memiliki aktivitas yang lebih rendah dengan nilai KBM 78,125 ppm. Siprofloksasin memiliki aktivitas yang lebih baik daripada senyawa F terhadap *Proteus mirabilis* ATCC 10975. Penggunaan antibiotik siprofloksasin masih dapat digunakan untuk terapi infeksi bakteri *Proteus mirabilis* untuk bakteri yang belum resisten. Senyawa F memiliki aktivitas yang setara dengan siprofloksasin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin. Peningkatan aktivitas senyawa F masih dapat dikembangkan dengan modifikasi struktur dengan gugus fungsi halogen yang lain untuk meningkatkan aktivitasnya sebagai antibakteri.

F. Hasil Analisis Kebocoran Membran

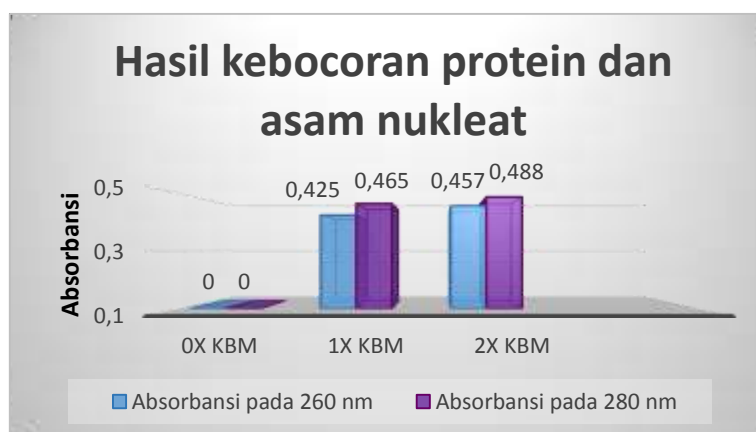
1. Kebocoran protein dan asam nukleat

Mekanisme kerja senyawa kurkumin dan analog kurkumin termasuk ke dalam golongan polifenol sebagai antibakteri mirip dengan senyawa fenolik yaitu menghambat metabolisme bakteri dengan merusak protein sel yang dapat menyebabkan kebocoran nutrien dari sel sehingga sel bakteri terhambat pertumbuhannya atau mati (Cahyaningsih 2014). Mekanisme kerja kurkumin tersebut menjadi acuan bahwa senyawa analog kurkumin juga diduga memiliki mekanisme antibakteri yang sama, sehingga dapat diamati adanya kerusakan membran sel melalui analisis kebocoran membran sel mikroba uji. Pemberian senyawa analog kurkumin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin diduga dapat menyebabkan kebocoran

sel yang berakibat pada kematian bakteri. Kebocoran sel akibat rusaknya sel dapat dideteksi dengan spektrofotometri ultraviolet, sehingga dilakukan analisis kebocoran asam nukleat melalui pengamatan pada panjang gelombang 260 nm dan analisis kebocoran protein pada panjang gelombang 280 nm (Wu 2008). Bakteri yang memiliki nilai Konsentrasi Bunuh Minimum tertinggi pada senyawa analog kurkumin inilah yang akan digunakan untuk penelitian kebocoran membran.

Tabel 9. Nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm

Panjang gelombang (nm)	<i>Proteus mirabilis</i> resisten siprofloksasin			
		Absorbansi (nm)		
260	0x KBM	0	0	0
	Rata-rata		0	
	1x KBM	0,431	0,431	0,414
	Rata-rata		0,425	
	2x KBM	0,453	0,467	0,474
	Rata-rata		0,465	
280	0x KBM	0	0	0
	Rata-rata		0	
	1x KBM	0,448	0,475	0,448
	Rata-rata		0,457	
	2x KBM	0,477	0,492	0,495
	Rata-rata		0,488	



Gambar 8. Hasil kebocoran asam nukleat (260 nm) dan protein (280 nm) dari bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

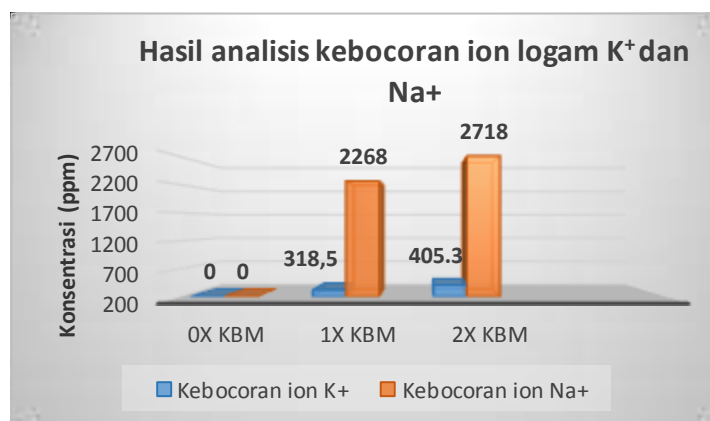
Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 9 menunjukkan bahwa dengan meningkatnya dosis KBM, nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm maupun pada panjang gelombang 280 nm dapat meningkatkan kebocoran

membran sel bakteri. Hasil dapat dilihat pada gambar 8. Konsentrasi 0x KBM diberikan perlakuan yang sama dengan konsentrasi 1x dan 2x KBM sehingga absorbansi asam nukleat dan protein tidak terdeteksi pada pembacaan pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm yang digunakan sebagai baseline adanya kenaikan kebocoran seiring dengan peningkatan KBM.

Konsentrasi 0x KBM sebagai kontrol berisi bakteri uji dan dapat diketahui bahwa nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm konsentrasi 1x KBM absorbansinya mengalami peningkatan dari 0,425 menjadi 0,457 pada 2x KBM, hal ini menunjukkan dengan penambahan senyawa analog kurkumin akan dapat mempengaruhi nilai konsentrasi kebocoran sel bakteri uji. Absorbansi untuk protein yaitu panjang gelombang 280 nm, dibandingkan dengan absorbansi untuk asam nukleat maka peningkatan untuk protein lebih tinggi. Pada panjang gelombang 280 nm, absorbansi konsentrasi 1x KBM mengalami peningkatan dari 0,465 menjadi 0,488 pada 2x KBM .

Senyawa-senyawa yang memberikan serapan pada panjang gelombang 260 nm adalah DNA dan RNA, sedangkan pada panjang gelombang 280 nm diidentifikasi sebagai protein (Wu 2008). Terdeteksinya asam nukleat dan protein diluar sel bakteri (gambar 8) menunjukkan bahwa sel bakteri telah mengalami kebocoran akibat rusaknya dinding sel dan atau perubahan pada permeabilitas membran sel sehingga menyebabkan bakteri mati.

2. Analisis kebocoran ion logam



Gambar 9. Hasil kebocoran ion logam K⁺ dan Na⁺ dari bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

Ion K^+ merupakan kation utama yang terkandung dalam sitoplasma pada sel bakteri, sedangkan ion Na^+ berperan untuk memfasilitasi katalisis enzimatik dan untuk mempertahankan gradien kimia antara kedua sisi membran mikroba (Jawetz *et al.* 2010). Pemberian senyawa analog kurkumin pada konsentrasi KBM dapat mengakibatkan terjadinya keluarnya ion logam dari sel bakteri, khususnya ion kalium (K^+) dan Natrium (Na^+). Hasil pengukuran ion-ion logam (K^+ dan Na^+) yang ditunjukkan pada (gambar 9) tidak jauh berbeda dengan pengukuran asam nukleat dan protein yang menunjukkan peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi KBM larutan uji. Pada gambar 9, terjadi peningkatan konsentrasi 1x KBM ion K^+ dari 318,5 menjadi 405,3 ppm pada 2x KBM dan konsentrasi 1x KBM Na^+ dari 2268 menjadi 2718 ppm. Meningkatnya ion-ion K^+ dan Na^+ yang keluar dari sel bakteri menunjukkan bahwa telah terjadi penambahan kerusakan pada bagian dinding sel dan membran sitoplasma. Hasil pada 0x digunakan sebagai kontrol berisi pelarut senyawa yaitu aseton dengan perlakuan sama dengan ion K^+ dan Na^+ . Hasil dapat dilihat pada lampiran 24 dan 26.

Keluarnya ion logam dari sel *Proteus mirabilis* (gambar 9), disebabkan senyawa F telah mempengaruhi permeabilitas membran dan dinding sel bakteri. Indikasi adanya kerusakan membran sitoplasma adalah terjadinya kebocoran ion K^+ , dan peningkatan K^+ diluar sel merupakan tanda kerusakan permeabilitas membran (Cox *et al.* 2001). Ion logam Na^+ merupakan salah satu ion yang berada dalam cairan sitoplasma, ion logam Na^+ lebih banyak terdapat pada ekstrasel dibandingkan pada intra sel. Ekstrasel merupakan media pembenihan. Ion K^+ merupakan komponen utama sitoplasma yang juga terdapat pada ekstrasel tetapi jumlahnya tidak sebesar ion Na^+ (Yatim 2003), sehingga pustaka tersebut membuktikan bahwa hasil analisis kebocoran ion logam Na^+ lebih banyak terdeteksi dibandingkan ion logam K^+ . Hasil analisis kebocoran asam nukleat dan protein serta kebocoran ion logam secara keseluruhan dapat merusak dinding sel dan mempengaruhi permeabilitas membran sel dikarenakan adanya senyawa aktif antibakteri dalam senyawa analog kurkumin.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, senyawa 2,6-bis ((5'-bromo-2'-furanil)metilen)sikloheksanon (senyawa D), 2,5-bis ((5'-bromo-2'-furanil)metilen)siklopentanon (senyawa E) dan 1,5-bis (5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on (senyawa F) memiliki aktivitas terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

Kedua, senyawa D memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan masing-masing konsentrasi KBM sebesar 39,063 ppm. Senyawa E memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan konsentrasi KBM 2500 ppm dan terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan konsentrasi KBM 39,063 ppm. Senyawa F memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan konsentrasi KBM 78,125 ppm dan terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan konsentrasi KBM 19,531 ppm.

Ketiga, senyawa F terhadap *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin merupakan senyawa yang terefektif dari ketiga senyawa uji karena memiliki aktivitas yang paling tinggi dengan konsentrasi KBM 19,531 ppm.

Keempat, senyawa F dapat merusak dinding sel dan mempengaruhi permeabilitas membran sel *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin yang ditandai dengan keluarnya asam nukleat, protein dan ion logam K^+ dan Na^+ dari sel dan menyebabkan terjadinya kebocoran membran sel *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap toksisitas senyawa F dikarenakan untuk antibakteri harus memiliki toksisitas selektif.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan bakteri-bakteri lain.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme bakteri dengan melihat melalui SEM.
4. Perlu dikembangkan lagi modifikasi struktur turunan analog kurkumin, sehingga memiliki aktivitas antibakteri yang lebih poten lagi maupun dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Asmah, U. 2014. Kemih berdasarkan Evidence Based Medicine (EBM) di Rumah Sakit “x” periode Januari – Juni 2013. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Azrifitria, Aziz S, Chairul. 2010. Aktivitas antibakteri ekstrak etanolik daun dan umbi *Crinum asiaticum l.* terhadap bakteri penyebab jerawat. *Majalah Farmasi Indonesia* 21: 236– 241.
- BPTO. 2006. Mengatasi demam berdarah dengan tanaman obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 28: 6-8.
- Bonang, Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: PT Gramedia.
- Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C, editor. 2010. *Disorders of Connective Tissue. Rook's Textbook of Dermatology*. Eighth edition. Wiley-Blackwell: 45.54-6.
- Cahyaningsih. 2014. Pengaruh daya antibakteri jus anggur (*Vitis vinifera* L.) dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50% dan 100% terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara *in vitro* [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2007. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement. *Clinical and Laboratory Standard Institute*. Pennsylvania 27:36.
- Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. *Clinical and Laboratory Standard Institute*. Pennsylvania 32:15.
- Clinical and Laboratory Standards Insitute (CLSI), 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement: M100-S24, *Clinical and Laboratory Standards Institute*, Pennsylvania 34:50-57.
- Cowan ST. 2004. *Manual for the Identification of Medical Fungi*. London: Cambridge University Press.
- Cox SD, Mann CM, Markham, Gustafson JL, Warmington JE, Wyllie SG. 2001. Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. *Molecules* 6: 87-91.

- Dwiningsih, Nopiyanti V, Rahmawati I, Wibowo MS, Tjahjono DH. 2016. Uji mekanisme kerja antibakteri senyawa 1,5-difuril-1,4-pentadien-3-on analog kurkumin terhadap beberapa bakteri. *Biomedika* 9: 32-36.
- Endriani R, Andriani F, Alfina D. 2010. Pola resistensi bakteri penyebab Infeksi Saluran Kemih (ISK) Terhadap Antibakteri di Pekanbaru. *Jurnal Natur Indonesia* 12: 130-135.
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat*. Jakarta: PT. Citra Aditya Bakti.
- Febrianto *et al.* 2013. Rasionalitas penggunaan antibiotik pasien Infeksi Saluran Kemih (ISK) di Instalasi Rawat Inap RSUD Undata Palu Tahun 2012. *Online Journal of Natural Science* 2: 20-29.
- Fessenden RJ, Fessenden JS, Pujaatmaka AH, editor. 1999. *Kimia Organik*. Edisi ke-3. Jakarta: Erlangga.
- Ganiswara SE. 1995. *Farmakologi dan terapi*. Edisi ke-4. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gillespie S, Bamford K. 2007. *Medical Microbiology and Infection at a Glance*. Stella TH, Penerjemah; Rina A, Amalia S, editor. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Imaniah BA. 2015. Peta kuman dan resistensinya terhadap antibiotika pada penderita Infeksi Saluran Kemih (ISK) di RSUD Dr. Moewardi Tahun 2014 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Ke 23. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Ke 25. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Karsinah, Lucky HM, Suharto, Mardiasuti HW. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara. hlm 155.
- Liang G *et al.* 2008. Synthesis, Structure, and Bioevaluation of 2,5 bis(arylmethenyl)cyclopentanones. *J Asian Nat Prod Res.* 10: 957-65.
- Lourentina. 2015. Uji aktivitas antibakteri beberapa senyawa analog kurkumin terhadap *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

- Madigan M. 2005. *Brock Biology of Microorganisms*. London: Prentice-Hall.
- Miftakh NR. 2009. Aktivitas antibakteri senyawa hasil biotransformasi kurkumin oleh mikrob endofit asal kunyit [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Mikoleit ML. 2010. Laboratory Protocol: Biochemical Identification of Salmonella and Shigella using an Abbreviated Panel of Test. *WHO global Foodboorne Infections Network*. 29-30
- Misnadiarly, Djajaningrat H. 2014. *Mikrobiologi untuk Klinik dan Laboratorium*. Jakarta: Rineka Cipta. hlm 46.
- Nofriaty R. 2010. Evaluasi penggunaan antibiotik pada pasien Infeksi Saluran Kemih di Instalasi Rawat Inap Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Moewardi Surakarta Tahun 2009 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Puspitosari E. 2015. Evaluasi penggunaan antibiotik pada pasien Infeksi Saluran Kemih Di Instalasi Rawat Inap RSPAU dr. S. Hardjolukito Yogyakarta Tahun 2014 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Prasad YR, Kumar PR, Deepti CA, Ramana MV. 2006. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Novel Chalcones of 2-hydroxy-1-acetonaphthone and 3-acetyl coumarin. *E-Journal of Chemistry*. 3: 236-241.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Prywer J, Torzewska A. 2012. Unique Surface and Internal Structure of Struvite Crystals Formed by *Proteus mirabilis*. *Urol Res* 40:699-707.
- Rahman M. 2009. Aktivitas antibakteri senyawa hasil biotransformasi kurkumin oleh mikrob endofit asal kunyit [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Rahmawati I, Iswandi, Sardjiman. 2014. Uji aktivitas antibakteri senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanonterhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten. *J. Sains Dasar* 2014 3:174–182.
- Rahmawati I. 2009. Sintesis dan uji aktivitas antibakteri senyawa senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon, senyawa 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon dan senyawa 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-

on [Tesis]. Program Pascasarjana (S-2) Ilmu Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

Sardjiman. 2000. Synthesis of Some New Series of Curcumin Anogues, Antioxidative, Antiinflamantory, Antibacterial Activities and Qualitative Structure-Activity Relantionship [Dissertation]. Yogyakarta: Department of Pharmaceutical, Gadjah Mada University.

Selvakumar B, Venkataraman R. 2010. Synthesis and Biological Evaluation of Some Curcumin Analogs and Their Derivatives. *Rjc* 3: 260-265.

Siswandono, 2008. *Kimia Medisinal Ed 2*. Surabaya: Airlangga University Press.

Suriawiria SD. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Penerbit Angkasa.

Volk, Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima Jilid I. Jakarta: Penerbit Erlangga..

Wu VCH. 2008. A Review of Microbial Injury and Recovery Methods in Food. *Food Microbiology* 25:735 – 744.

Zanetti G *et al.* 2008. Infections and Urolithiasis: Current clinical evidence in prophylaxis and antibiotic therapy. *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia* 80: 5-12.

Lampiran 1. Hasil penimbangan senyawa D, E, F dan kurkumin

1. Penimbangan Senyawa D

$$\begin{array}{r} 0,0503 \text{ gram} \\ \underline{0,0000 \text{ gram}^*} \\ 0,0503 \text{ gram} \end{array} +$$

Masukkan ke dalam botol vial dan dilarutkan dengan aceton ad 5 ml.

2. Penimbangan Senyawa E

$$\begin{array}{r} 0,0504 \text{ gram} \\ \underline{0,0000 \text{ gram}^*} \\ 0,0504 \text{ gram} \end{array} +$$

Masukkan ke dalam botol vial dan dilarutkan dengan aceton 5 ml.

3. Penimbangan Senyawa F

$$\begin{array}{r} 0,0510 \text{ gram} \\ \underline{0,0000 \text{ gram}^*} \\ 0,0510 \text{ gram} \end{array} +$$

Masukkan ke dalam botol vial dan dilarutkan dengan aceton ad 5 ml.

4. Penimbangan kurkumin

$$\begin{array}{r} 0,1030 \text{ gram} \\ \underline{0,0000 \text{ gram}^*} \\ 0,1030 \text{ gram} \end{array} +$$

Masukkan ke dalam botol vial dan dilarutkan dengan aceton ad 10 ml.

Keterangan *: Kertas timbang

Lampiran 2. Konsentrasi senyawa analog kurkumin untuk dilusi

1. Senyawa D

Larutan stock = 0,0503 gram

Ditimbang 0,0503 gram senyawa D kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan aseton ad 5 ml.

Tabung pertama sebagai kontrol negatif (-) yang berisi senyawa D 70 µl.

Tabung terakhir sebagai kontrol positif (+) yang berisi bakteri 70 µl.

1.1. Konsentrasi 10.060 ppm

$$\frac{0,0503 \text{ gram} \times 1000}{0,005} = 10.060 \text{ ppm}$$

1.2. Konsentrasi 5030 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 10.060 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 5030 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.3. Konsentrasi 2515 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 5030 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 2515 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.4. Konsentrasi 1257,5 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 2515 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 1257,5 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.5. Konsentrasi 628,75 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 1257,5 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 628,75 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.6. Konsentrasi 314,375 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 628,75 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 314,375 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.7. Konsentrasi 157,188 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 314,375 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 157,188 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.8. Konsentrasi 78,594 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 157,188 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 78,594 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.9. Konsentrasi 39,297 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 78,594 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 39,297 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.10. Konsentrasi 19,648 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 39,297 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 19,648 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.11. Konsentrasi 9,824 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 19,648 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 9,824 \text{ ppm} \end{aligned}$$

1.12. Konsentrasi 4,912 ppm

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 9,824 = 100 \mu\text{l} \cdot C_2$$

$$C_2 = 4,912 \text{ ppm}$$

1.13. Konsentrasi 2,456 ppm

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 4,912 = 100 \mu\text{l} \cdot C_2$$

$$C_2 = 2,456 \text{ ppm}$$

1.14. Konsentrasi 1,228 ppm

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 2,456 = 100 \mu\text{l} \cdot C_2$$

$$C_2 = 1,228 \text{ ppm}$$

1.15. Konsentrasi 0,614 ppm

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 1,228 = 100 \mu\text{l} \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,614 \text{ ppm}$$

1.16. Konsentrasi 0,307 ppm

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 0,614 = 100 \mu\text{l} \cdot C_2$$

$$C_2 = 0,307 \text{ ppm}$$

2. Senyawa E

Larutan stock = 0,0504 gram

Ditimbang 0,0504 gram senyawa E kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan aseton ad 5 ml.

Tabung pertama sebagai kontrol negatif (-) yang berisi senyawa E 70 μl .

Tabung terakhir sebagai kontrol positif (+) yang berisi bakteri 70 μl .

2.1. Konsentrasi 10.080 ppm

$$\frac{0,0504 \text{ gram} \times 1000}{0,005} = 10.080 \text{ ppm}$$

2.2. Konsentrasi 5040 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 10.080 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 5040 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2.3. Konsentrasi 2520 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 5040 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 2520 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2.4. Konsentrasi 1260 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 2520 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 1260 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2.5. Konsentrasi 630 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 1260 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 630 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2.6. Konsentrasi 315 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 630 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 315 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2.7. Konsentrasi 157,5 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 315 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 157,5 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2.8. Konsentrasi 78,75 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 157,5 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 78,75 \text{ ppm} \end{aligned}$$

2.9. Konsentrasi 39,375 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 78,75 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 39,375 \text{ ppm} \end{aligned}$$

2.10. Konsentrasi 19,687 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 39,375 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 19,687 \text{ ppm} \end{aligned}$$

2.11. Konsentrasi 9,844 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 19,687 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 9,844 \text{ ppm} \end{aligned}$$

2.12. Konsentrasi 4,922 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 9,844 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 4,922 \text{ ppm} \end{aligned}$$

2.13. Konsentrasi 2,461 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 4,922 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\ C_2 &= 2,461 \text{ ppm} \end{aligned}$$

2.14. Konsentrasi 1,230 ppm

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 2,461 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 1,230 \text{ ppm}$$

2.15. Konsentrasi 0,615 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 1,230 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 0,615 \text{ ppm}$$

2.16. Konsentrasi 0,307 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 0,615 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 0,307 \text{ ppm}$$

3. Senyawa F

Larutan stock = 0,0510 gram

Ditimbang 0,0510 gram senyawa F kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan aseton ad 5 ml.

Tabung pertama sebagai kontrol negatif (-) yang berisi senyawa F 70 μl .

Tabung terakhir sebagai kontrol positif (+) yang berisi bakteri 70 μl .

3.1. Konsentrasi 10.200 ppm

$$\frac{0,0504 \text{ gram} \times 1000}{0,005} = 10.200 \text{ ppm}$$

3.2. Konsentrasi 5100 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 10.200 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 5100 \text{ ppm}$$

3.3. Konsentrasi 2550 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 5100 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 2550 \text{ ppm}$$

3.4. Konsentrasi 1275 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 2550 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 1275 \text{ ppm} \end{aligned}$$

3.5. Konsentrasi 637,5 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 1275 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 637,5 \text{ ppm} \end{aligned}$$

3.6. Konsentrasi 318,75 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 637,5 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 318,75 \text{ ppm} \end{aligned}$$

3.7. Konsentrasi 159,375 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 318,75 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 159,375 \text{ ppm} \end{aligned}$$

3.8. Konsentrasi 79,688 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 159,375 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 79,688 \text{ ppm} \end{aligned}$$

3.9. Konsentrasi 39,844 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 78,688 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 39,844 \text{ ppm} \end{aligned}$$

3.10. Konsentrasi 19,922 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 39,844 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 19,922 \text{ ppm}$$

3.11. Konsentrasi 9,961 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 19,922 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 9,961 \text{ ppm}$$

3.12. Konsentrasi 4,980 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 9,961 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 4,980 \text{ ppm}$$

3.13. Konsentrasi 2,490 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 4,980 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 2,490 \text{ ppm}$$

3.14. Konsentrasi 1,245 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 2,490 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 1,245 \text{ ppm}$$

3.15. Konsentrasi 0,622 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 1,245 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 0,622 \text{ ppm}$$

3.16. Konsentrasi 0,311 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$50 \mu\text{l} \cdot 0,622 = 100 \mu\text{l} \cdot C2$$

$$C2 = 0,311 \text{ ppm}$$

4. Senyawa kurkumin

Larutan stock = 0,1030 gram

Ditimbang 0,1030 gram senyawa kurkumin kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan aseton ad 10 ml.

Tabung pertama sebagai kontrol negatif (-) yang berisi senyawa E 70 μl .

Tabung terakhir sebagai kontrol positif (+) yang berisi bakteri 70 μl .

4.1. Konsentrasi 10.300 ppm

$$\frac{0,1030 \text{ gram} \times 1000}{0,010} = 10.300 \text{ ppm}$$

4.2. Konsentrasi 5150 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 10.300 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 5150 \text{ ppm} \end{aligned}$$

4.3. Konsentrasi 2750 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 5150 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 2750 \text{ ppm} \end{aligned}$$

4.4. Konsentrasi 1287,5 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 2750 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 1287,5 \text{ ppm} \end{aligned}$$

4.5. Konsentrasi 643,75 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 1287,5 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 643,75 \text{ ppm} \end{aligned}$$

4.6. Konsentrasi 312,875 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 643,75 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 312,875 \text{ ppm}\end{aligned}$$

4.7. Konsentrasi 160,938 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 312,875 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 160,938 \text{ ppm}\end{aligned}$$

4.8. Konsentrasi 80,469 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 160,938 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 80,469 \text{ ppm}\end{aligned}$$

4.9. Konsentrasi 40,234 ppm

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50 \mu\text{l} \cdot 80,469 &= 100 \mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 40,234 \text{ ppm}\end{aligned}$$

Lampiran 2. Perhitungan larutan stock antibiotik siprofloksasin

Siprofloksasin memiliki kelarutan dalam air sekitar 36mg/ml pada suhu 25°C.

Kandungan tablet = 1 tablet mengandung 500mg siprofloksasin

Berat tablet = 0,644 gram

Berat serbuk = 0,642 gram

$$\frac{500\text{mg}}{36\text{mg}} = 13,889 \text{ ml} \sim 14 \text{ ml}$$

500mg siprofloksasin larut dalam 14 ml air pada suhu 25°C

$$\text{Konsentrasi siprofloksasin} = \frac{500\text{mg}}{0,014 \text{ L}} = 35,714 \text{ ppm}$$

$$1. \quad 14 \text{ ml} \cdot 35.714 = X \cdot 10.000$$

$$X = 49,98 \sim 50 \text{ ml}$$

2. Konsentrasi 5000 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 10.000 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 5000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

3. Konsentrasi 2500 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 5000 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 2500 \text{ ppm} \end{aligned}$$

4. Konsentrasi 1250 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 2500 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 1250 \text{ ppm} \end{aligned}$$

5. Konsentrasi 625 ppm

$$V1 \cdot C1 = V2 \cdot C2$$

$$\begin{aligned} 50 \mu\text{l} \cdot 1250 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 625 \text{ ppm} \end{aligned}$$

6. Konsentrasi 312,5 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 625 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 312,5 \text{ ppm} \end{aligned}$$

7. Konsentrasi 156,25 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 312,5 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 156,25 \text{ ppm} \end{aligned}$$

8. Konsentrasi 78,125 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 157,5 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 78,125 \text{ ppm} \end{aligned}$$

9. Konsentrasi 39,063 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 78,125 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 39,063 \text{ ppm} \end{aligned}$$

10. Konsentrasi 19,531 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \text{ ml} \cdot 39,063 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 19,531 \text{ ppm} \end{aligned}$$

11. Konsentrasi 9,766 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 9,766 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 9,766 \text{ ppm} \end{aligned}$$

12. Konsentrasi 4,883 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 9,766 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 4,883 \text{ ppm} \end{aligned}$$

13. Konsentrasi 2,441 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 4,883 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 2,441 \text{ ppm} \end{aligned}$$

14. Konsentrasi 1,221 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 2,441 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 1,221 \text{ ppm} \end{aligned}$$

15. Konsentrasi 0,601 ppm

$$\begin{aligned} V1 \cdot C1 &= V2 \cdot C2 \\ 50 \mu\text{l} \cdot 1,221 &= 100 \mu\text{l} \cdot C2 \\ C2 &= 0,601 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Lampiran 3. Hasil pembuatan larutan stok analog kurkumin, kurkumin dan siprofloksasin



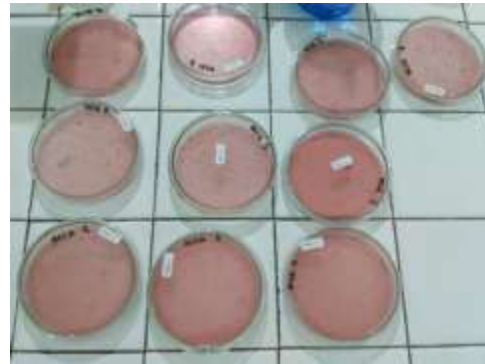
Senyawa D, E dan F



Senyawa kurkumin



Antibiotik siprofloksasin

Lampiran 4. Media BHI, MCA dan MHA**BHI****MCA****MHA**

Lampiran 5. Foto alat-alat yang digunakan

a. Kompor



b. Kulkas



c. Incubator



d. Timbangan



e. Autoclave



f. oven



g. Mikroskopis



h. spectrophotometer UV-VIS



i. Centrifuge

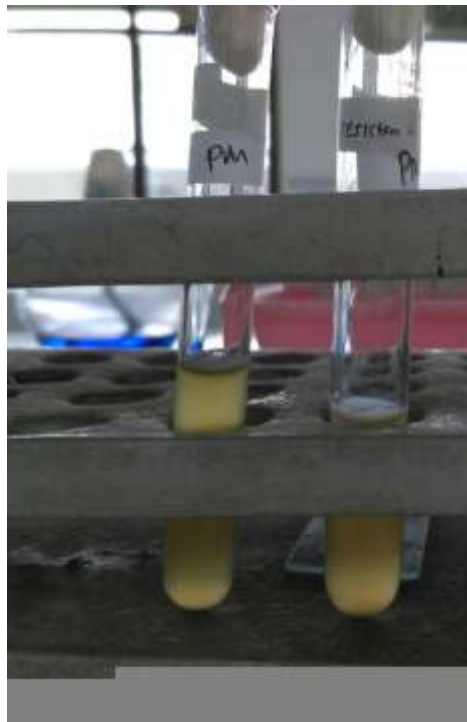


j. AAS



k. Mikroskopis

Lampiran 6. Foto biakan bakteri *Proteus mirabilis* dan *Proteus mirabilis* resisten terhadap siprofloksasin.



Lampiran 7. Pembuatan suspensi bakteri *Proteus mirabilis* dan *Proteus mirabilis* resisten terhadap siprofloksasin dalam media BHI



Lampiran 8. Hasil uji biokimia bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin

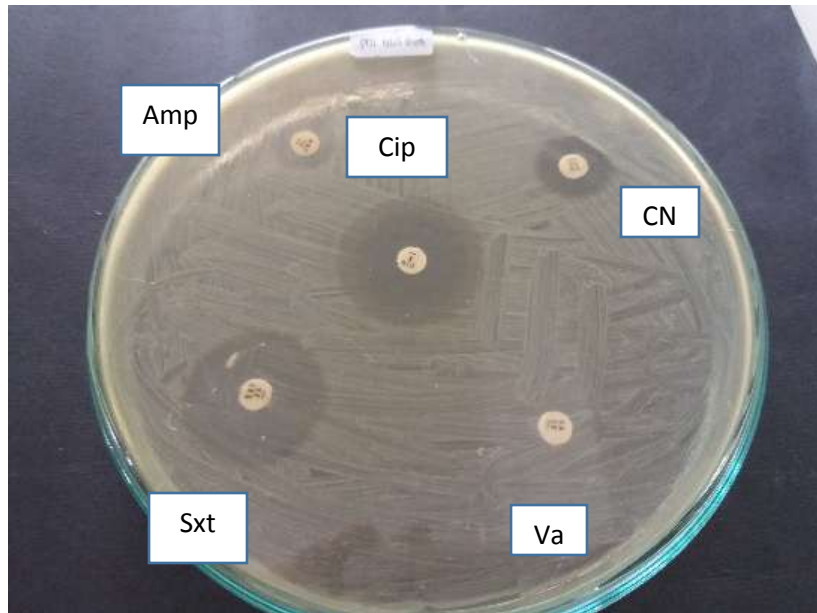


Proteus mirabilis ATCC 10975

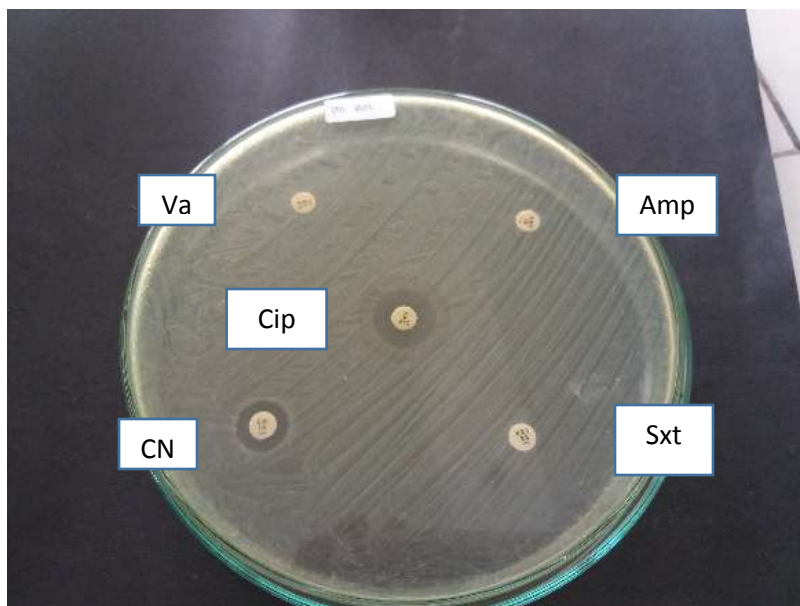


Proteus mirabilis resisten siprofloksasin

Lampiran 9. Hasil uji sensitifitas bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dan *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin



***Proteus mirabilis* ATCC 10975**



***Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin**

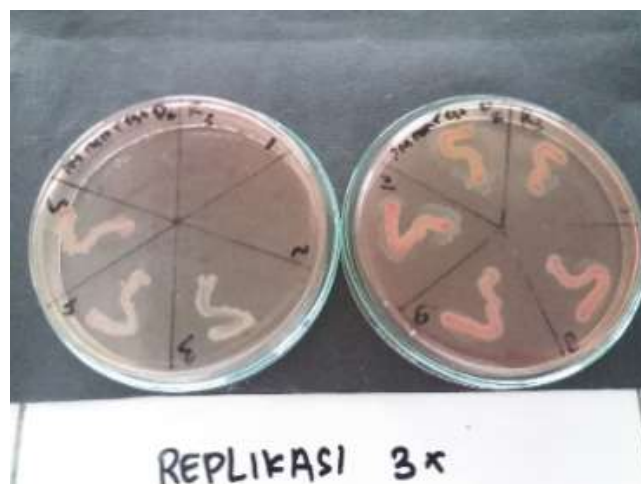
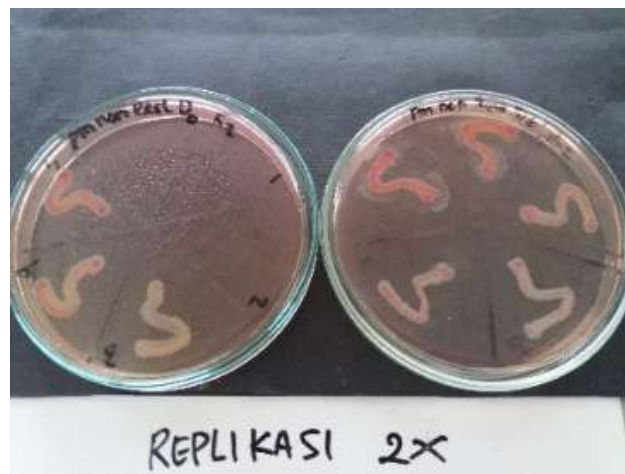
Lampiran 10. Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa D terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan metode dilusi



Kontrol (-)



Hasil inokulasi senyawa D terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975

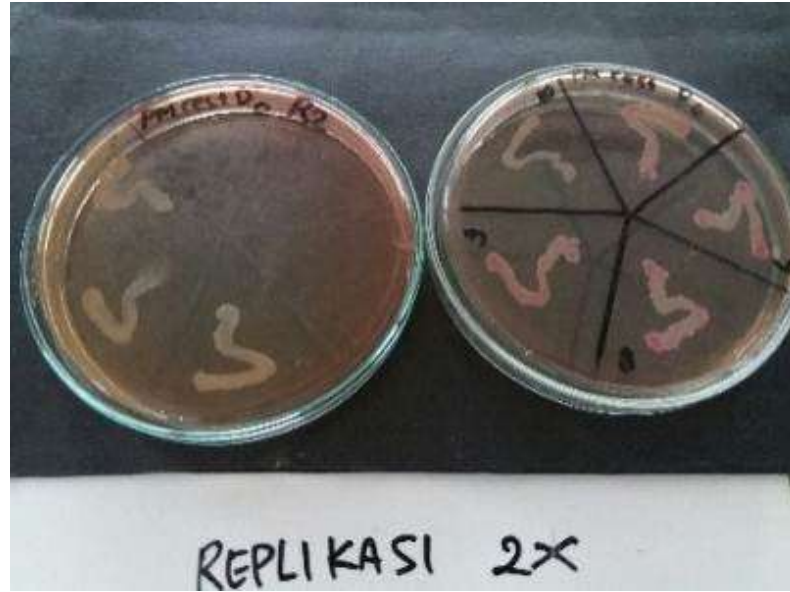


Lampiran 11. Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa D terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan metode dilusi



Hasil inokulasi senyawa D terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin





Lampiran 12. Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa E terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC dengan metode dilusi



Kontrol (-)



Hasil inokulasi senyawa E terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975



Lampiran 13. Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa E terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan metode dilusi



Hasil inokulasi senyawa E terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin





Lampiran 14. Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa F terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan metode dilusi



Kontrol (-)



Hasil inokulasi senyawa E terhadap Bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975



Lampiran 15. Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa F terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten Siprofloksasin dengan metode dilusi



Hasil inokulasi senyawa F terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten Siprofloksasin





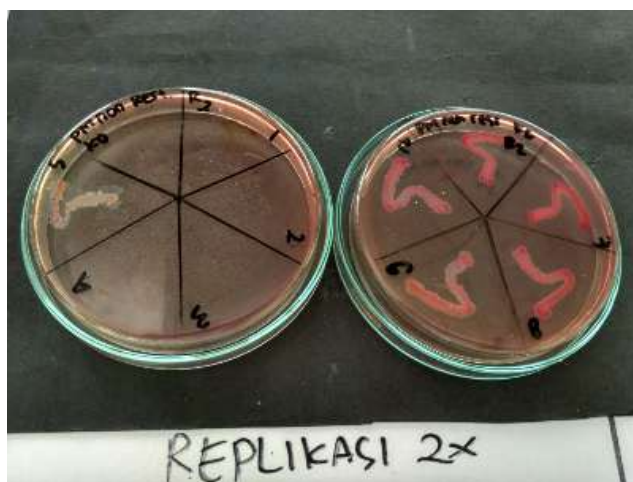
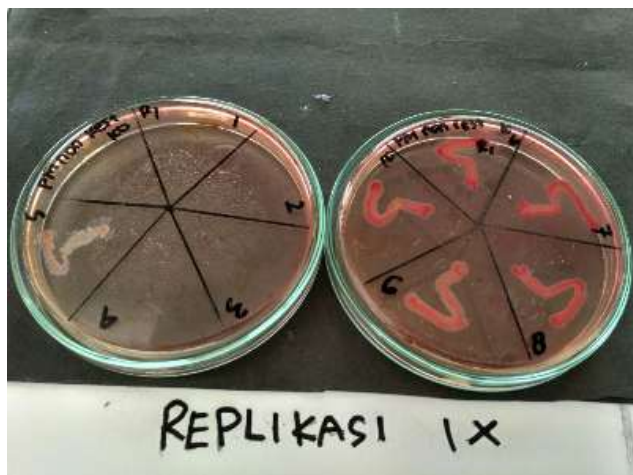
Lampiran 16. Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa kurkumin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan metode dilusi



kontrol (-)



Hasil inokulasi senyawa kurkumin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975

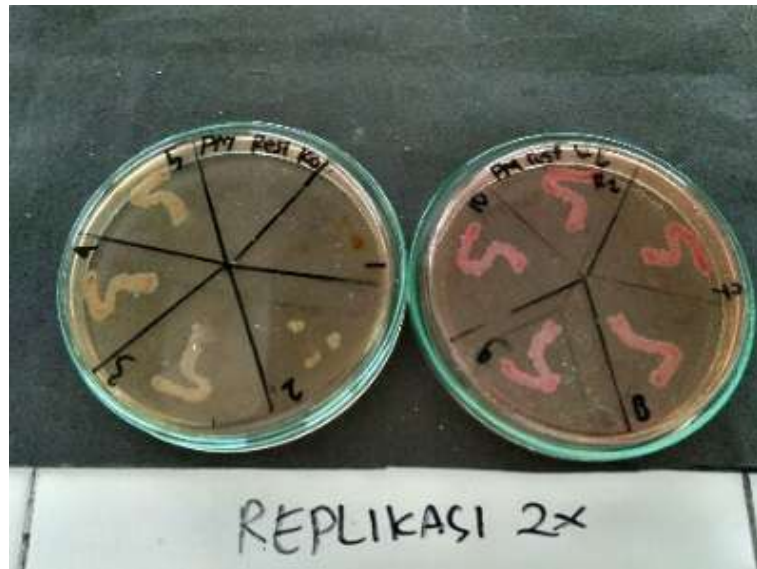


Lampiran 17. Gambar uji aktivitas antibakteri senyawa kurkumin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan metode dilusi



Hasil inokulasi senyawa kurkumin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin





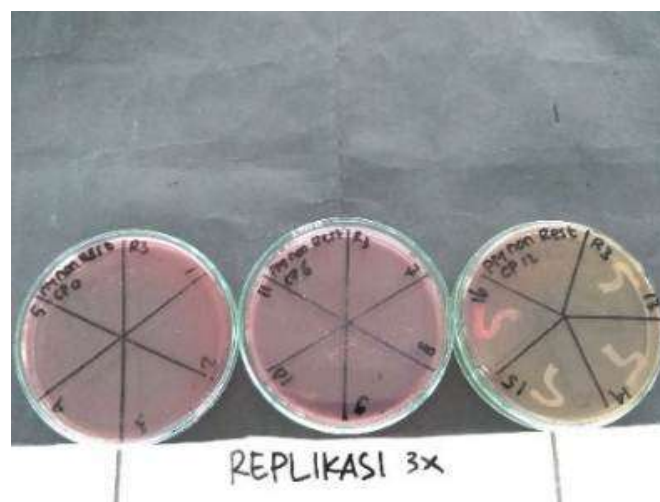
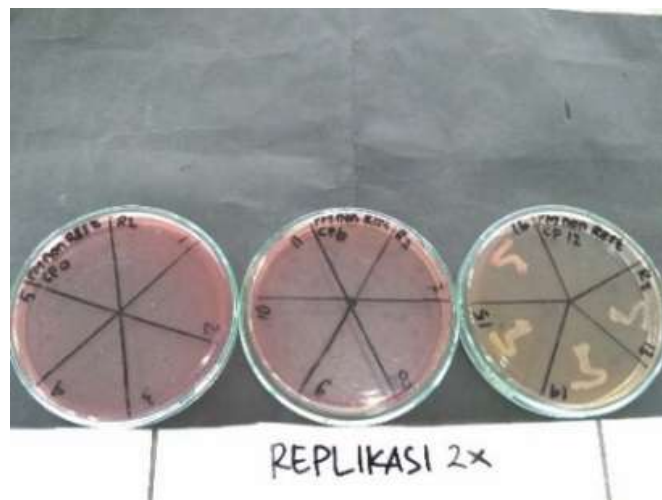
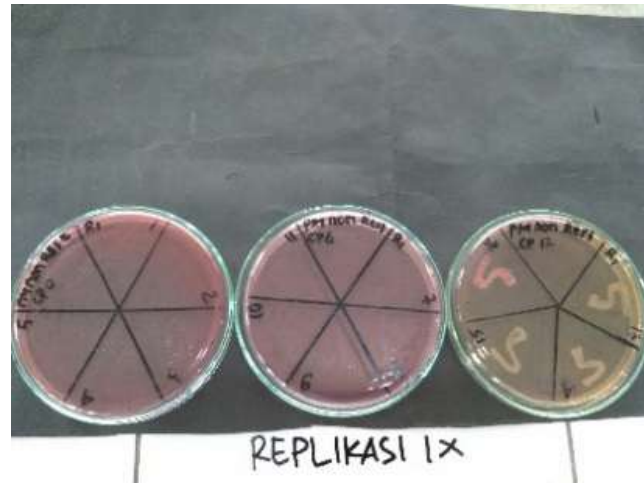
Lampiran 18. Gambar uji aktivitas antibakteri siprofloksasin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975 dengan metode dilusi



Kontrol (-)



Hasil inokulasi siprofloksasin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* ATCC 10975

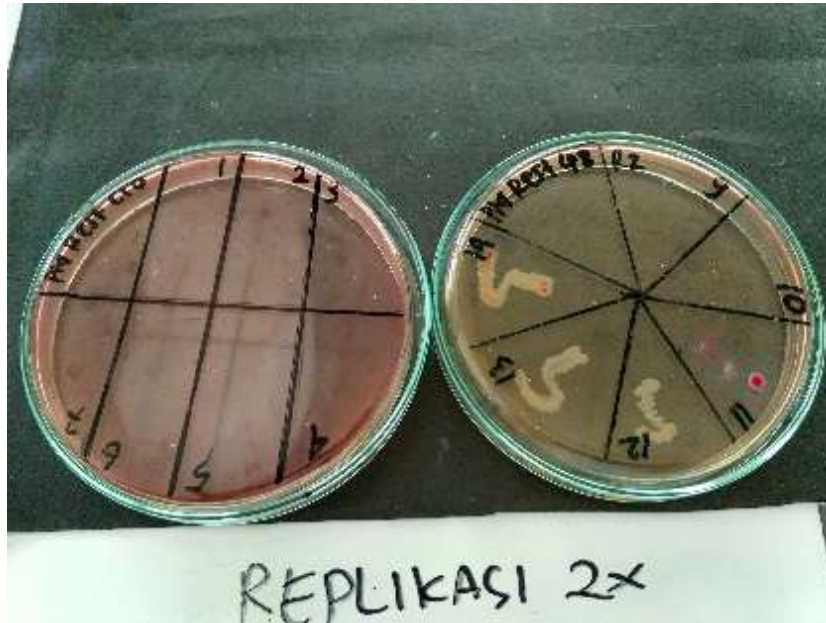


Lampiran 19. Gambar uji aktivitas antibakteri siprofloksasin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dengan metode dilusi



Hasil inokulasi siprofloksasin terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin





Lampiran 20. Larutan stok senyawa F terhadap bakteri *Proteus mirabilis* resisten siprofloksasin dan sampel uji kebocoran membran



a. Konsentrasi 1x KBM



b. konsentrasi 2x KBM

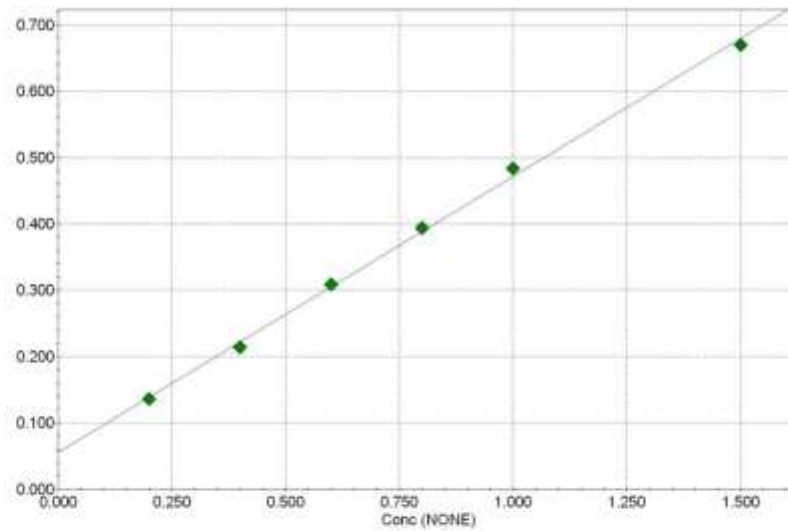


b. Sampel uji kebocoran membran

Lampiran 21. Hasil kurva kalibrasi ion logam K⁺

Wednesday, March 01, 2017

Calibration Curve (Element:K:FlameCont C#:01)



$$\text{Abs}=0.41612\text{Conc}+0.055376 \quad r=0.9990$$

CONC	ABS
0.4000	0.2135
0.6000	0.3088
0.8000	0.3936
1.0000	0.4834
0.2000	0.1356
1.5000	0.6699

Lampiran 22. Hasil penetapan kadar ion logam K⁺

K

Tuesday, February 07, 2017

Action	Sample ID	True Value (NONE)	Conc. (NONE)	Abs.	%RSD	SD
1 BLK-1				0.0014		
2 BLK-2				0.0028		
3 BLK-3				0.0024		
4 BLK-AV				0.0022	32.78	0.0007
5 STD-1		0.2000	0.1606	0.1222		
6 STD-2		0.2000	0.2192	0.1466		
7 STD-3		0.2000	0.2272	0.1499		
8 STD-AV		0.2000				
9 STD-1		0.4000	0.3762	0.2119		
10 STD-2		0.4000	0.3802	0.2136		
11 STD-3		0.4000	0.3838	0.2151		
12 STD-AV		0.4000	0.3800	0.2135	0.75	0.0016
13 STD-1		0.6000	0.6138	0.3108		
14 STD-2		0.6000	0.6081	0.3084		
15 STD-3		0.6000	0.6054	0.3073		
16 STD-AV		0.6000	0.6090	0.3088	0.58	0.0018
17 STD-1		0.8000	0.8205	0.3968		
18 STD-2		0.8000	0.8075	0.3914		
19 STD-3		0.8000	0.8106	0.3927		
20 STD-AV		0.8000	0.8128	0.3936	0.72	0.0028
21 STD-1		1.0000	1.0298	0.4839		
22 STD-2		1.0000	1.0298	0.4839		
23 STD-3		1.0000	1.0264	0.4825		
24 STD-AV		1.0000	1.0286	0.4834	0.17	0.0008
25 UNK1-1	STD 1		0.2108	0.1431		
26 UNK1-2	STD 1		0.2096	0.1426		
27 UNK1-3	STD 1		0.2173	0.1458		
28 UNK1-AV	STD 1		0.2125	0.1438	1.20	0.0017
29 STD-1		0.2000	0.1921	0.1353		
30 STD-2		0.2000	0.1916	0.1351		
31 STD-3		0.2000	0.1950	0.1365		
32 STD-AV		0.2000	0.1928	0.1356	0.56	0.0008
33 UNK2-1	A SA KBM 1-1 DF 250		1.2228	0.5642		
34 UNK2-2	A SA KBM 1-1 DF 250		1.2204	0.5632		
35 UNK2-3	A SA KBM 1-1 DF 250		1.2747	0.5858		
36 UNK2-AV	A SA KBM 1-1 DF 250		1.2394	0.5711	2.24	0.0128
37 UNK3-1	A SA KBM 1-2 DF 250		1.2576	0.5787		
38 UNK3-2	A SA KBM 1-2 DF 250		1.2689	0.5834		
39 UNK3-3	A SA KBM 1-2 DF 250		1.2334	0.5686		
40 UNK3-AV	A SA KBM 1-2 DF 250		1.2533	0.5769	1.31	0.0076
41 UNK4-1	A SA KBM 1-3 DF 250		1.3139	0.6021		
42 UNK4-2	A SA KBM 1-3 DF 250		1.3369	0.6117		
43 UNK4-3	A SA KBM 1-3 DF 250		1.3307	0.6091		
44 UNK4-AV	A SA KBM 1-3 DF 250		1.3271	0.6076	0.82	0.0050
45 UNK5-1	A SA KBM 2-1DF 250		1.6719	0.7511		
46 UNK5-2	A SA KBM 2-1DF 250		1.7116	0.7676		
47 UNK5-3	A SA KBM 2-1DF 250		1.6866	0.7572		
48 UNK5-AV	A SA KBM 2-1DF 250		1.6900	0.7586	1.10	0.0083
49 UNK6-1	A SA KBM 2-2DF 250		1.6243	0.7313		
50 UNK6-2	A SA KBM 2-2DF 250		1.6642	0.7479		
51 UNK6-3	A SA KBM 2-2DF 250		1.6517	0.7427		
52 UNK6-AV	A SA KBM 2-2DF 250		1.6467	0.7406	1.15	0.0085
53 UNK7-1	A SA KBM 2-3DF 250		1.6825	0.7555		
54 UNK7-2	A SA KBM 2-3DF 250		1.6395	0.7376		
55 UNK7-3	A SA KBM 2-3DF 250		1.6191	0.7291		
56 UNK7-AV	A SA KBM 2-3DF 250		1.6469	0.7407	1.82	0.0135
57 UNK8-1	STD 1		0.1810	0.1307		
58 UNK8-2	STD 1		0.1764	0.1288		
59 UNK8-3	STD 1		0.1736	0.1276		
60 UNK8-AV	STD 1		0.1769	0.1290	1.21	0.0016
61 UNK9-1	A PM KBM 1-1		1.2194	0.5628		
62 UNK9-2	A PM KBM 1-1		1.2432	0.5727		
63 UNK9-3	A PM KBM 1-1		1.3259	0.6071		

	Action	Sample ID	True Value (NONE)	Conc. (NONE)	Abs.	%RSD	SD
64	UNK9-AV	A PM KBM 1-1		1.2629	0.5809	4.00	0.0233
65	UNK10-1	A PM KBM 1-2		1.2516	0.5762		
66	UNK10-2	A PM KBM 1-2		1.2451	0.5735		
67	UNK10-3	A PM KBM 1-2		1.2968	0.5950		
68	UNK10-AV	A PM KBM 1-2		1.2646	0.5816	2.01	0.0117
69	UNK11-1	A PM KBM 1-3		1.3122	0.6014		
70	UNK11-2	A PM KBM 1-3		1.3030	0.5976		
71	UNK11-3	A PM KBM 1-3		1.2575	0.5628		
72	UNK11-AV	A PM KBM 1-3		1.2942	0.5939	1.65	0.0098
73	UNK12-1	A PM KBM 2-1		1.6544	0.7438		
74	UNK12-2	A PM KBM 2-1		1.6419	0.7386		
75	UNK12-3	A PM KBM 2-1		1.6349	0.7357		
76	UNK12-AV	A PM KBM 2-1		1.6438	0.7394	0.96	0.0041
77	UNK13-1	A PM KBM 2-2		1.5486	0.6998		
78	UNK13-2	A PM KBM 2-2		1.6306	0.7339		
79	UNK13-3	A PM KBM 2-2		1.5631	0.7058		
80	UNK13-AV	A PM KBM 2-2		1.5808	0.7132	2.55	0.0182
81	UNK14-1	A PM KBM 2-3		1.6123	0.7263		
82	UNK14-2	A PM KBM 2-3		1.6416	0.7385		
83	UNK14-3	A PM KBM 2-3		1.6623	0.7471		
84	UNK14-AV	A PM KBM 2-3		1.6388	0.7373	1.42	0.0105
85	UNK15-1	STD 1		0.2031	0.1399		
86	UNK15-2	STD 1		0.1990	0.1382		
87	UNK15-3	STD 1		0.2099	0.1427		
88	UNK15-AV	STD 1		0.2041	0.1403	1.62	0.0023
89	UNK16-1	B SA KBM 1-1 DF 500		0.2920	0.1769		
90	UNK16-2	B SA KBM 1-1 DF 500		0.3225	0.1896		
91	UNK16-3	B SA KBM 1-1 DF 500		0.3101	0.1844		
92	UNK16-AV	B SA KBM 1-1 DF 500		0.3081	0.1836	3.48	0.0064
93	UNK17-1	B SA KBM 1-2 DF 500		0.3312	0.1932		
94	UNK17-2	B SA KBM 1-2 DF 500		0.3692	0.2090		
95	UNK17-3	B SA KBM 1-2 DF 500		0.3384	0.1962		
96	UNK17-AV	B SA KBM 1-2 DF 500		0.3464	0.1995	4.21	0.0084
97	UNK18-1	B SA KBM 1-3 DF 500		0.3218	0.1893		
98	UNK18-2	B SA KBM 1-3 DF 500		0.3223	0.1895		
99	UNK18-3	B SA KBM 1-3 DF 500		0.2937	0.1776		
100	UNK18-AV	B SA KBM 1-3 DF 500		0.3127	0.1855	3.67	0.0068
101	UNK19-1	B SA KBM 2-1 DF 250		0.7208	0.3553		
102	UNK19-2	B SA KBM 2-1 DF 250		0.7833	0.3730		
103	UNK19-3	B SA KBM 2-1 DF 250		0.7811	0.3804		
104	UNK19-AV	B SA KBM 2-1 DF 250		0.7551	0.3696	3.49	0.0129
105	UNK20-1	B SA KBM 2-2 DF 250		0.7859	0.3824		
106	UNK20-2	B SA KBM 2-2 DF 250		0.7715	0.3764		
107	UNK20-3	B SA KBM 2-2 DF 250		0.7885	0.3835		
108	UNK20-AV	B SA KBM 2-2 DF 250		0.7820	0.3808	1.00	0.0038
109	UNK21-1	B SA KBM 2-3 DF 250		0.8178	0.3957		
110	UNK21-2	B SA KBM 2-3 DF 250		0.7854	0.3822		
111	UNK21-3	B SA KBM 2-3 DF 250		0.7981	0.3875		
112	UNK21-AV	B SA KBM 2-3 DF 250		0.8005	0.3885	1.75	0.0068
113	UNK22-1	STD 1		0.2048	0.1406		
114	UNK22-2	STD 1		0.1986	0.1380		
115	UNK22-3	STD 1		0.1959	0.1369		
116	UNK22-AV	STD 1		0.1998	0.1385	1.37	0.0019
117	UNK23-1	B PM KBM 1-1 DF 250		0.6309	0.3179		
118	UNK23-2	B PM KBM 1-1 DF 250		0.6181	0.3126		
119	UNK23-3	B PM KBM 1-1 DF 250		0.6503	0.3260		
120	UNK23-AV	B PM KBM 1-1 DF 250		0.6330	0.3188	2.12	0.0067
121	UNK24-1	B PM KBM 1-2 DF 250		0.6902	0.3426		
122	UNK24-2	B PM KBM 1-2 DF 250		0.6744	0.3360		
123	UNK24-3	B PM KBM 1-2 DF 250		0.6482	0.3251		
124	UNK24-AV	B PM KBM 1-2 DF 250		0.6710	0.3346	2.64	0.0088
125	UNK25-1	B PM KBM 1-3 DF 250		0.5314	0.2765		
126	UNK25-2	B PM KBM 1-3 DF 250		0.5100	0.2676		

Lampiran 23. Hasil analisis kebocoran ion logam K⁺

Logam K

No	Nama Sampel	Konsentrasi Pengenceran 250	Kons sampel (ppm)
1	SA Non rest KBM 1x A	1,2394	318,3
		1,2533	
		1,3271	
2	SA Non rest KBM 2x A	1,6900	415,3
		1,6467	
		1,6469	
3	PM Rest KBM 1x A	1,2629	318,5
		1,2646	
		1,2942	
4	PM Rest KBM 2x A	1,6438	405,3
		1,5808	
		1,6388	
5	SA Non rest KBM 1x B	0,5816	150,5
		0,5970	
		0,6268	
6	SA Non rest KBM 2x B	0,7551	194,8
		0,7820	
		0,8005	
7	PM Rest KBM 1x B	0,6330	151,8
		0,6710	
		0,5177	
8	PM Rest KBM 2x B	0,9846	234,9
		0,9392	
		0,8952	

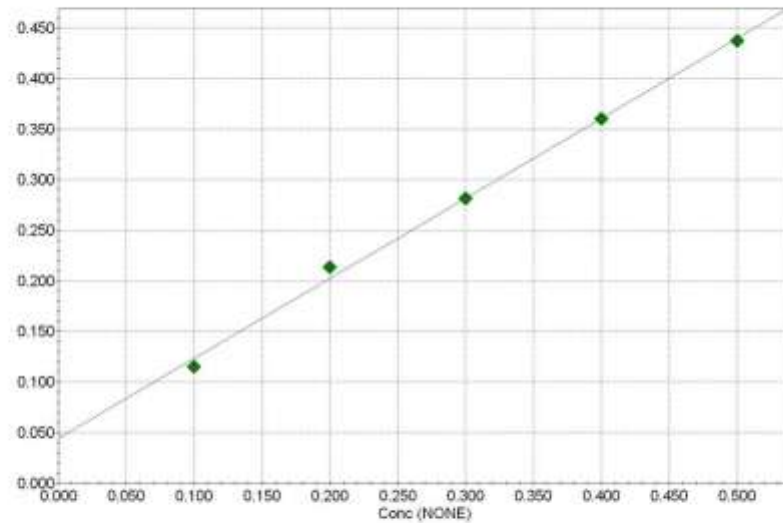
Linearity (r^2)

0,9990

Lampiran 24. Hasil kurva kalibrasi ion logam Na⁺

Wednesday, March 01, 2017

Calibration Curve (Element:Na:FlameCont C#:01)



$$\text{Abs}=0.79110\text{Conc}+0.044270$$

$$r=0.9985$$

CONC	ABS
0.1000	0.1153
0.2000	0.2134
0.3000	0.2815
0.4000	0.3605
0.5000	0.4373

Lampiran 25. Hasil penetapan kabar ion logam Na⁺

Na Wednesday, March 01, 2017

Action	Sample ID	True Value (NONE)	Conc. (NONE)	Abs.	%RSD	SD
1	BLK-1			-0.0005		
2	BLK-2			-0.0009		
3	BLK-3			-0.0010		
4	BLK-AV			-0.0008	33.07	0.0003
5	STD-1	0.1000	0.0917	0.1168		
6	STD-2	0.1000	0.0896	0.1144		
7	STD-3	0.1000	0.0889	0.1146		
8	STD-AV	0.1000	0.0898	0.1153	1.16	0.0013
9	STD-1	0.2000	0.2144	0.2139		
10	STD-2	0.2000	0.2130	0.2128		
11	STD-3	0.2000	0.2138	0.2134		
12	STD-AV	0.2000	0.2138	0.2134	0.26	0.0006
13	STD-1	0.3000	0.3021	0.2833		
14	STD-2	0.3000	0.3004	0.2819		
15	STD-3	0.3000	0.2970	0.2792		
16	STD-AV	0.3000	0.2999	0.2815	0.74	0.0021
17	STD-1	0.4000	0.3717	0.3383		
18	STD-2	0.4000	0.3698	0.3368		
19	STD-3	0.4000	0.3698	0.3368		
20	STD-AV	0.4000				
21	STD-1	0.5000	0.4731	0.4185		
22	STD-2	0.5000	0.4713	0.4171		
23	STD-3	0.5000	0.4741	0.4193		
24	STD-AV	0.5000				
25	UNK1-1	kontrol DF 10000	0.3123	0.2913		
26	UNK1-2	kontrol DF 10000	0.2909	0.2744		
27	UNK1-3	kontrol DF 10000	0.2827	0.2679		
28	UNK1-AV	kontrol DF 10000	0.2953	0.2779	4.35	0.0121
29	UNK2-1	PM rest A 1x	0.2305	0.2266		
30	UNK2-2	PM rest A 1x	0.2228	0.2205		
31	UNK2-3	PM rest A 1x	0.2271	0.2239		
32	UNK2-AV	PM rest A 1x	0.2268	0.2237	1.37	0.0031
33	UNK3-1	PM rest A 2x	0.2858	0.2704		
34	UNK3-2	PM rest A 2x	0.2703	0.2581		
35	UNK3-3	PM rest A 2x	0.2593	0.2494		
36	UNK3-AV	PM rest A 2x	0.2718	0.2593	4.07	0.0106
37	UNK4-1	SA NON REst 1x	0.2778	0.2640		
38	UNK4-2	SA NON REst 1x	0.2503	0.2423		
39	UNK4-3	SA NON REst 1x	0.2354	0.2305		
40	UNK4-AV	SA NON REst 1x	0.2545	0.2456	6.92	0.0170
41	UNK5-1	SA NON REst 2x	0.2707	0.2584		
42	UNK5-2	SA NON REst 2x	0.2561	0.2469		
43	UNK5-3	SA NON REst 2x	0.2564	0.2471		
44	UNK5-AV	SA NON REst 2x	0.2611	0.2508	2.62	0.0066
45	UNK6-1	Pm rest B 1x 10000	0.0736	0.1025		
46	UNK6-2	Pm rest B 1x 10000	0.0730	0.1020		
47	UNK6-3	Pm rest B 1x 10000	0.0746	0.1033		
48	UNK6-AV	Pm rest B 1x 10000	0.0737	0.1026	0.64	0.0007
49	UNK7-1	PM rest B 2x 10000	0.0703	0.0999		
50	UNK7-2	PM rest B 2x 10000	0.0716	0.1009		
51	UNK7-3	PM rest B 2x 10000	0.0713	0.1007		
52	UNK7-AV	PM rest B 2x 10000	0.0711	0.1005	0.53	0.0005
53	UNK8-1	Sa rest B 1x 10000	0.0531	0.0863		
54	UNK8-2	Sa rest B 1x 10000	0.0550	0.0878		
55	UNK8-3	Sa rest B 1x 10000	0.0538	0.0868		
56	UNK8-AV	Sa rest B 1x 10000	0.0540	0.0870	0.88	0.0008
57	UNK9-1	SA rest B 2x 10000	0.1521	0.1646		
58	UNK9-2	SA rest B 2x 10000	0.1567	0.1682		
59	UNK9-3	SA rest B 2x 10000	0.1537	0.1659		
60	UNK9-AV	SA rest B 2x 10000	0.1541	0.1662	1.10	0.0018
61	UNK10-1	PM REST B 1X 5000X	0.2480	0.2381		
62	UNK10-2	PM REST B 1X 5000X	0.2196	0.2180		
63	UNK10-3	PM REST B 1X 5000X	0.2094	0.2099		

Lampiran 26. Hasil analisis kebocoran ion logam Na⁺

Logam Na

No	Nama Sampel	Konsentrasi Pengenceran	Kons sampel (ppm)
1	SA Non rest KBM 1x A Pengenceran 10000x	0,2778	2545,0
		0,2503	
		0,2354	
2	SA Non rest KBM 2x A Pengenceran 10000x	0,2707	2610,7
		0,2561	
		0,2564	
3	PM Rest KBM 1x A Pengenceran 10000x	0,2305	2268,0
		0,2228	
		0,2271	
4	PM Rest KBM 2x A Pengenceran 10000x	0,2858	2718,0
		0,2703	
		0,2593	
5	SA Non rest KBM 1x B Pengenceran 5000x	0,2549	1280,7
		0,2553	
		0,2582	
6	SA Non rest KBM 2x B Pengenceran 10000x	0,1521	1541,7
		0,1567	
		0,1537	
7	PM Rest KBM 1x B Pengenceran 5000x	0,2450	1123,3
		0,2196	
		0,2094	
8	PM Rest KBM 2x B Pengenceran 10000x	0,39	1933,2
		0,3891	
		0,3808	

Linearity (r^2)

0,9985

Lampiran 27. Formulasi dan pembuatan media

a. Formulasi dan pembuatan media BHI

Brain infision	12,5gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram
aquadest ad	1000 ml

Timbang 37 gram Media BHI, masukkan dalam beker glass. Dipanaskan dengan stering hotplate sampai mendidih, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10ml, ditutup dengan kapas, setiap 10 tabung diikat dengan karet gelang, lalu ditutup dengan kertas, kemudian di steril dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Formulasi dan pembuatan Media MCA

Bacto pepton	17 gram
Proteosa pepton	3 gram
Bacto laktosa	10 gram
Bacto garam-garam empedu no.3	1,5 gram
Natrium khlorida	5 gram
Bacto agar	13,5 gram
Bacto merah-netral	0,03 gram
Bacto ungu Kristal	0,001 gram
Air suling	1000 ml pH 7,1

Timbang 50 gram Media MCA, masukkan dalam beker glass. Dipanaskan dengan stering hotplate sampai mendidih, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10ml, ditutup dengan kapas, setiap 10 tabung diikat dengan karet gelang, lalu ditutup dengan kertas, kemudian di steril dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Formulasi dan pembuatan media MHA

Sari daging sapi	2 gram
Bacto asam kasamino	17,5 gram
Kanji	1,5 gram
Bacto agar	17 gram
Air suling	1000 ml pH 7,4

Timbang 38 gram Media MHA, masukkan dalam beker glass. Dipanaskan dengan stering hotplate sampai mendidih, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10ml, ditutup dengan kapas, setiap 10 tabung diikat dengan karet gelang, lalu ditutup dengan kertas, kemudian di steril dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Formulasi dan pembuatan media SIM

Pepton from casein	20 gram
Pepton from meat	6 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,2 gram
Sodium thiosulfate	0,2 gram
Agar-agar	0,2 gram
Aquadest ad	1000 ml pH = 7,4

Timbang 30 gram Media SIM, masukkan dalam beker glass. Dipanaskan dengan stering hotplate sampai mendidih, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10ml, ditutup dengan kapas, setiap 10 tabung diikat dengan karet gelang, lalu ditutup dengan kertas, kemudian di steril dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

e. Formulasi dan pembuatan media KIA

Pepton from casein	15 gram
Pepton from meat	5 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 gram

Meat extract	3 gram
Yeast extract	3 gram
Sodium chloride	5 gram
Laktosa	10 gram
Glukosa	1 gram
Sodium thiosulfate	0,5 gram
Phenol red	0,24 gram
Agar-agar	12 gram
Aquadest ad	1000 ml pH = 7,4

Timbang 55 gram Media KIA, masukkan dalam beker glass. Dipanaskan dengan stering hotplate sampai mendidih, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10ml, ditutup dengan kapas, setiap 10 tabung diikat dengan karet gelang, lalu ditutup dengan kertas, kemudian di steril dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

f. Formulasi dan pembuatan media LIA

Pepton from casein	5 gram
Ammonium Iron (II) citrate	0,5 gram
Yeast extract	3 gram
Glukosa	1 gram
Lysine monohydrochlorid	10 gram
Sodium thiosulfate	0,04 gram
Bromo cresol purple	0,02 gram
Agar-agar	12,5 gram
Aquadest ad	1000 ml pH = 7,4

Timbang 32 gram Media LIA, masukkan dalam beker glass. Dipanaskan dengan stering hotplate sampai mendidih, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10ml, ditutup dengan kapas, setiap 10 tabung diikat dengan karet

gelang, lalu ditutup dengan kertas, kemudian di steril dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

g. Formulasi dan pembuatan media Sitrat

Ammonium hydrogen fosfat	1 gram
Di-postassium hydrogen fosfate	1 gram
Sodium chloride	5 gram
Magnesium sulfat	0,2 gram
Bromo thymol blue	0,08 gram
Agar-agar	12 gram
Aquadest ad	1000 ml pH = 7,4

Timbang 23 gram Media Sitrat, masukkan dalam beker glass. Dipanaskan dengan stering hotplate sampai mendidih, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10ml, ditutup dengan kapas, setiap 10 tabung diikat dengan karet gelang, lalu ditutup dengan kertas, kemudian di steril dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.