

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



Oleh:

**Afra Azizah Fatwanda
19133725A**

**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
Staphylococcus aureus BESERTA
MEKANISME KERJANYA**

SKRIPSI

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

Oleh:

**Afra Azizah Fatwanda
19133725A**

**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
Staphylococcus aureus BESERTA
MEKANISME KERJANYA**

Oleh :
Afra Azizah Fatwanda
19133725A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 4 April 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing:

Ismi Rahmawati, M.Si., Apt
Pembimbing Pendamping,

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt
Penguji:

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si
2. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc
3. Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt
4. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Skripsi ini saya persembahkan:

*Kepada Allah SWT yang telah selalu memberikan jalan terbaik untuk saya.
Thankyou Allah, You always make beautiful pathway to me. Terimakasih atas
petunjuk dan kemudahan yang selalu Kau berikan*

*Untuk Ayah dan Ibu yang selalu memberikan dukungan semangat dan do'a
Untuk dosen pembimbing utama Bu Ismi Rahmawati, M.Si., Apt yang telah
banyak meluangkan waktu Beliau untuk membimbing pengerjaan skripsi saya
Untuk pembimbing pendamping Bu Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt yang juga
banyak membantu selama pengerjaan skripsi ini*

*Untuk kakak kakak ku tercinta yang tak lupa menanyakan kabar "skripsi
sampai mana, dek?"*

*Untuk Zain ^^ yang tak pernah tidak mengganggu saat pengerjaan skripsi ini
Untuk Sagita Rukaman yang telah menjadi partner in crime selama praktek
Untuk teman teman kos hayati Nopit, Rahma, Bundo yang selalu menemani
makan dan hidup selama 4 tahun ini*

*Untuk teman teman BAPER-RES Chanary, Dewi, Devi, Sagita, Sulis dan
Rosa yang telah menjadi sahabat selama 4 tahun ini*

*Untuk teman teman sepermainan juga Mami, Halmo, Hapsoo, Eonni yang juga
berjuang bersama untuk menempuh S. Farm., Apt*

Untuk teori 1 dan FKK 1 yang menjadi penyemangat untuk perkuliahan

Untuk teman sejawat seperjuangan Bundo, Nopit, Tara, Desi, Menok, Nia

Untuk teman teman SMA yang juga berjuang bersama melawan skripsi

*Dan untuk Ahgase tercinta yang juga telah menemani dan memberi semangat
selama pengerjaan skripsi ini*

*Dan tak lupa skripsi ini saya persembahkan untuk diri saya sendiri yang telah
berjuang selama hampir 1 tahun untuk pengerjaan praktek dan penulisan*

I DESERVE TO BE HAPPY

**“SEBERAPA KERAS HIDUPMU, SEBERAPA SUSAH WAKTUMU,
JANGAN LUPA SOAL IBADAH DAN KELUARGA”**

Afra, 1995

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana 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,.....



Afra Azizah Fatwanda

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim, puji syukur kehadirat Allah SWT, atas segala nikmat, karunia dan hidayah-Nya selama ini. Shalawat serta salam tak lupa diberikan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, semoga kita mendafat syafaatnya kelak di hari kiamat. Amin Ya Rabalalamin.

Alhamdulillahirobilalamin, dengan segala rahmat-Nya akhirnya 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 *Staphylococcus aureus* BESERTA MEKANISME KERJANYA** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan farmasi (S. Farm) di fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penulis sepenuhnya menyadari dengan segala keterbatasan dan tanpa dukungan, bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak bersangkutan, mungkin skripsi ini tidak dapat terselesaikan. Maka dari itu dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta.
3. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt, selaku pembimbing utama skripsi yang telah memberikan bimbingan, nasehat, waktu, dukungan, petunjuk dan masukan dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt, selaku pembimbing pendamping yang juga telah memberikan bimbingan, nasehat, waktu, dukungan, petunjuk dan masukan dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Dosen penguji selaku penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dalam penyempurnaan skripsi ini.
6. H. Misrom, S.IP, MM dan Hj. Sri Lestari, S.IP, selaku orang tua yang telah banyak memberikan masukan, dorongan, nasehat, semangat dan utamanya doa dalam penyelesaian skripsi ini.

7. Handika Mega Pradana, S.Farm., Apt dan Anita Ekawati, A.Md, selaku kakak kakak ku tercinta yang telah memberikan dukungan, semangat serta doa dalam penyelesaian skripsi ini.
8. Sagita Rukmana Desy, S.Farm, selaku teman satu tim dalam pelaksanaan praktek untuk menyelesaikan skripsi yang telah banyak membantu dan memberi masukan serta dukungan.
9. Chanary, Dewi, Devi, Sagita, Sulis dan Rosa, selaku sahabat selama 4 tahun ini yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan serta semangat.
10. Lilik, Rizka, Hapsari dan Yuni yang juga memberikan semangat serta dukungannya.
11. Dian, Novit dan Rahma, selaku teman kosan yang telah menemani selama 4 tahun ini bahkan di kesempatan yang ada, ditengah kesibukan mereka meluangkan waktu untuk hadir pada saat penulis ujian.
12. Dan pihak-pihak yang telah banyak membantu yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT membalas kebaikan segala yang telah kalian berikan kepada penulis. Akhir kata penulis berharap mudah-mudahan skripsi dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan pembaca.

Surakarta, April 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Kegunaan Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
B. Bakteri Uji	8
1. Klasifikasi dan sistematika bakteri.....	8
2. Morfologi dan fisiologi bakteri	8
3. Patogenesis	9
C. Uji Aktivitas Antibakteri	10
D. Antibakteri.....	10
1. Definisi	10
2. Mekanisme kerja antibakteri	11
E. Ciprofloxacin.....	12
F. Media Bakteri	12
G. Sterilisasi	13
H. Landasan Teori	14

I.	Hipotesis	16
BAB III	METODE PENELITIAN	17
1.	Populasi	17
2.	Sampel	17
B.	Variabel Penelitian	17
1.	Identifikasi variabel utama	17
2.	Klasifikasi variabel utama	17
3.	Definisi operasional variabel utama	18
C.	Bahan dan Alat	19
1.	Bahan	19
2.	Alat	19
D.	Jalannya Penelitian	19
1.	Pembuatan larutan stok senyawa	19
2.	Pembuatan medium	19
3.	Sterilisasi alat dan bahan	20
4.	Pembuatan suspensi bakteri	20
5.	Identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dan <i>Staphylococcus aureus</i> resisten ciprofloxacin	20
5.1.	Identifikasi bakteri pada media selektif	20
5.2.	Pewarnaan Gram	21
5.3.	Uji koagulase dan katalase	21
5.4.	Uji sensitivitas	21
6.	Pembuatan suspensi bakteri sesuai dengan Mc Farland 0,5	21
7.	Pengujian antibakteri	22
8.	Analisis kebocoran sel	22
8.1.	Analisis kebocoran asam nukleat dan protein	22
8.2.	Analisis kebocoran ion logam	23
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
1.	Hasil pembuatan larutan stok analog kurkumin	26
2.	Hasil Identifikasi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dan <i>Staphylococcus aureus</i> resisten ciprofloxacin	26
2.1	Hasil identifikasi bakteri uji pada media selektif	26
2.2	Hasil identifikasi bakteri uji dengan pewarnaan Gram	27
2.3	Hasil uji katalase dan koagulase	28
3.	Hasil pengujian antibakteri senyawa analog kurkumin dengan metode dilusi	29
3.1	Hasil dilusi senyawa D	30
3.2	Hasil dilusi senyawa E	32
3.3	Hasil dilusi senyawa F	33
3.4	Hasil dilusi kurkumin	36
3.5	Hasil dilusi antibiotik ciprofloxacin	37
4.	Hasil analisis kebocoran sel	39
4.1	Hasil analisis kebocoran asam nukleat dan protein	40
4.2	Hasil analisis kebocoran ion logam	41

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	45
A. Kesimpulan.....	45
B. Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur 3 senyawa analog kurkumin	4
Gambar 2. Gambar struktur kurkumin.....	5
Gambar 3. <i>Staphylococcus aureus</i>	8
Gambar 4. Skema kerja pembuatan suspensi bakteri sesuai standar Mc Farland	23
Gambar 5. Skema uji identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 atau <i>Staphylococcus aureus</i> resisten ciprofloxacin	24
Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri senyawa analog kurkumin dengan metode dilusi	24
Gambar 7. Skema analisis kebocoran sel	25
Gambar 8. Hasil absorbansi UV-Vis	40
Gambar 9. Hasil analisis kebocoran ion logam K ⁺	42
Gambar 10. Hasil analisis kebocoran ion logam Na ⁺	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil penimbangan senyawa analog kurkumin	26
Tabel 2. Hasil uji katalase dan koagulase	28
Tabel 3. Hasil uji sensitivitas bakteri uji	29
Tabel 4. Hasil uji dilusi senyawa D terhadap bakteri uji	30
Tabel 5. Hasil uji dilusi senyawa E terhadap bakteri uji	32
Tabel 6. Hasil uji dilusi senyawa F terhadap bakteri uji.....	34
Tabel 7. Hasil uji dilusi kurkumin terhadap bakteri uji	36
Tabel 8. Hasil uji dilusi antibiotik ciprofloxacin terhadap bakteri uji.....	38
Tabel 9. Hasil absorbansi UV-Vis pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan pembuatan larutan stok senyawa dan pengencerannya	49
Lampiran 2. Perhitungan pembuatan larutan stok antibiotik ciprofloxacin.....	60
Lampiran 3. Alat yang digunakan.....	61
Lampiran 4. Bahan yang digunakan	64
Lampiran 5. Hasil Identifikasi Bakteri Uji.....	66
Lampiran 6. Hasil pembuatan senyawa stok senyawa.....	69
Lampiran 7. Hasil uji dilusi senyawa D terhadap bakteri uji.....	69
Lampiran 8. Hasil uji dilusi senyawa E terhadap bakteri uji	75
Lampiran 9. Hasil uji dilusi senyawa F terhadap bakteri uji	80
Lampiran 10. Hasil uji dilusi kurkumin terhadap bakteri uji	88
Lampiran 11. Hasil uji dilusi antibiotik ciprofloxacin terhadap bakteri uji.....	91
Lampiran 12. Hasil pembuatan senyawa untuk uji kebocoran membran sel.....	94
Lampiran 13. Hasil analisis kebocoran sel.....	95
Lampiran 14. Formulasi dan pembuatan media.....	101

DAFTAR SINGKATAN

DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
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

INTISARI

FATWANDA, AA., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA ANALOG KURKUMIN DENGAN GUGUS FUNGSI 5'-bromo-2'-furanil TERHADAP BAKTERI RESISTEN DAN NON RESISTEN *Staphylococcus aureus* BESERTA MEKANISME KERJANYA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Kurkumin memiliki aktivitas antibakteri dengan merubah permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan kebocoran sel. Modifikasi struktur kurkumin menghasilkan analog yang diduga memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja yang sama. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa 2,6-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen)sikloheksanon (senyawa D); 2,5-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen)siklopentanon (senyawa E) dan senyawa 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on (senyawa F) serta bagaimana mekanisme kerjanya.

Penelitian menggunakan 3 senyawa analog yang dilarutkan dalam aseton. Metode uji dilusi digunakan untuk uji aktivitas dengan konsentrasi awal 10.000 ppm. Senyawa teraktif dibuat seri konsentrasi 0x, 1x dan 2x KBM. Kebocoran asam nukleat dan protein dianalisis dengan UV-Vis pada λ 260 nm dan 280 nm dan uji kebocoran ion logam K^+ dan Na^+ yang dianalisis menggunakan AAS.

Hasil penelitian diperoleh bahwa seluruh senyawa analog kurkumin yang diteliti memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Senyawa F merupakan senyawa teraktif dengan KBM 39,063 ppm pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan 78,125 ppm pada *Staphylococcus aureus* resisten siprofloksasin. Hasil analisis kebocoran sel diketahui bahwa senyawa teraktif masih memiliki mekanisme kerja yang sama seperti kurkumin, yaitu dengan merubah permeabilitas sel. Hasil ini ditandai dengan kenaikan asam nukleat, protein serta ion logam (K^+ dan Na^+).

Kata kunci : analog kurkumin, KBM, asam nukleat, protein, K^+ , Na^+ .

ABSTRACT

FATWANDA, AA., 2017, THE TEST OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ANALOGUES CURCUMIN WITH FUNCTIONAL GROUP 5'-bromo-2'-furanil AGAINST RESISTANT OR NOT RESISTANT BACTERIAL *Staphylococcus aureus* AND THE MECHANISM, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Curcumin has antibacterial activity that could modified the permeability of cell membrane. Structure modification of curcumin produced an analogue. The analogue could same mechanism as curcumin. The aim of this study was to find about antibacterial activity of 2,6-bis((5'-bromo-2'-furanil)methylene)cyclohexanone (compound D); 2,5-bis((5'-bromo-2'-furanil)metthylene)cyclopentanone (compound E); 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-one (compound F) and mechanism.

This study used 3 curcumin analogues that dissolved in acetone. The dilution method was used for screening antibacterial activity with 10.000 ppm initial concentration. The most active curcumin analogue were made 0x, 1x, and 2x of MBC concentration series. To find nucleic acid and protein that leaked was analyzed by UV-Vis at λ 260nm and 280nm and ion K^+ and Na^+ that leaked was analyzed using AAS.

The results showed that all of the curcumin analogues had antibacterial activity. Compound F was the most active compound with 39,063 ppm of MBC to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and 78,125 ppm to ciprofloxacin-resisted *Staphylococcus aureus*. The results of analyzed leaked cells was known that the most active compound still had same mechanism action with curcumin by changing the permeability of cells that confirmed by concentration increased of nucleic acid, protein, metal ion (K^+ and Na^+).

Keyword: curcumin analogue, MBC, nucleic acid, protein, K^+ , Na^+

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Mikroorganisme adalah organisme hidup yang berukuran kecil dan hanya dapat diamati menggunakan mikroskop. Mikroorganisme alami dalam tubuh disebut flora normal. Flora normal tidak bersifat patogen, tetapi dalam kondisi tertentu dapat bersifat patogen dan menimbulkan penyakit infeksi. Infeksi bakteri terjadi bila bakteri mampu melewati barier mukosa atau kulit dan menembus jaringan tubuh (Pratiwi 2008; PERMENKES 2011).

Staphylococcus merupakan flora normal yang terdapat pada kulit, mukosa pada saluran nafas, saluran cerna bagian atas dan saluran kemih. Beberapa tipe *Staphylococcus* berupa bakteri patogen yang dapat menimbulkan infeksi. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri patogen utama. Hampir semua orang pernah mengalami infeksi *Staphylococcus aureus* selama hidupnya dengan derajat keparahan yang beragam. Bakteri ini cepat menjadi resisten terhadap banyak obat antimikroba dan menyebabkan masalah terapi menjadi sulit (El-Jakee *et al.* 2008; Jawetz *et al.* 2008).

Rosalina *et al.* (2010) berhasil mengkultur bakteri penyebab infeksi sekunder penderita dermatosis vesikobulosa dan didapatkan 5 jenis bakteri dengan *Staphylococcus aureus* (42,1%) merupakan bakteri yang paling banyak ditemukan. Isolasi terhadap 53 spesimen pus yang dilakukan oleh Chudlori *et al.* (2012) diketahui bahwa *Staphylococcus aureus* (30,19%) juga paling banyak ditemukan. Hasil penelitian Parut (2015) menunjukkan bahwa dalam bakteriuria asimtomatik pada ibu hamil di RSUD DR Mohamad Soewandhie terdapat sebanyak 72% bakteri Gram positif dengan *Staphylococcus aureus* paling banyak ditemukan (36%). *Staphylococcus aureus* juga terdapat dalam infeksi nosokomial (Hayati *et al.* 2012; Baharutan *et al.* 2015), infeksi luka operasi (Sulistyaningrum 2016) dan pneumonia (Kurniawan *et al.* 2015).

Penyakit infeksi ini masih merupakan salah satu masalah kesehatan masyarakat yang penting, khususnya di negara berkembang. Antibiotik merupakan obat yang paling banyak digunakan pada infeksi yang disebabkan oleh bakteri, namun sayangnya penggunaan antibiotik di berbagai bagian rumah sakit ditemukan 30% sampai dengan 80% tidak didasarkan pada indikasi. Intensitas penggunaan antibiotik yang relatif tinggi menimbulkan berbagai permasalahan dan merupakan ancaman global bagi kesehatan terutama resistensi bakteri terhadap antibiotik (PERMENKES 2011).

Antibiotik yang sekarang beredar terdiri dari beberapa golongan, salah satunya adalah ciprofloxacin yang merupakan golongan kuinolon dan merupakan antibiotik spektrum luas yang dapat digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi akibat Gram negatif maupun Gram positif. Ciprofloxacin pada awalnya sangat sukses digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh Gram negatif maupun Gram positif dan angka resistensinya terbilang rendah. Banyaknya penggunaan dalam pengobatan berbagai kondisi klinis seperti pengobatan infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernapasan atas, dan sebagai profilaksis pasien neutropenia, resistensinya mulai diwaspadai (Ali *et al.* 2010).

Empat dari 16 sampel spesimen pus dalam penelitian Chudlari *et al.* (2012) mengalami resistensi terhadap ciprofloxacin. *Staphylococcus aureus* yang ditemukan dalam infeksi nosokomial dalam penelitian Hayati *et al.* (2012) juga mengalami resistensi terhadap ciprofloxacin dengan tingkat resistensi sebesar 57,14%. Ciprofloxacin juga memiliki resistensi sebesar 83,3% pada bakteri penyebab ulkus diabetik (Sulistyaningsih *et al.* 2014).

Resistensi yang semakin meningkat menimbulkan gagasan untuk mencari terapi alternatif lain seperti dengan melakukan modifikasi struktur dari suatu senyawa. Modifikasi struktur diharapkan mendapat analog senyawa yang memiliki potensi lebih baik. Kunyit, kunyit putih, temulawak dan temuireng mengandung senyawa aktif yaitu kurkumin yang merupakan senyawa polifenol yang berwarna kuning alami. Kurkumin dapat digunakan sebagai pewarna makanan dalam produk olahan sehari-hari, selain itu kurkumin memiliki banyak

potensi di bidang pengobatan seperti sebagai antitumor, antibakteri dan antioksidan (Pandiangan 2000; Joe 2004; Rezki *et al.* 2015).

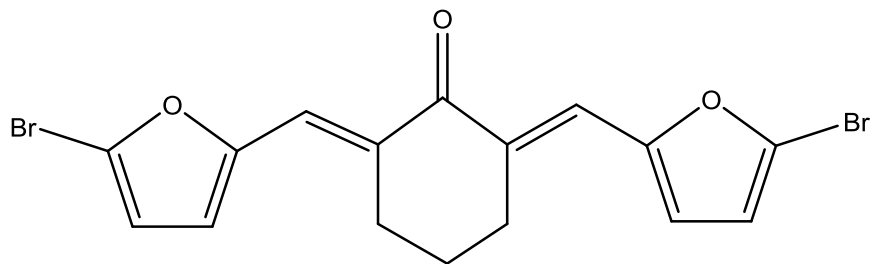
Kurkumin merupakan bahan yang aman digunakan sebagai pengobatan, namun belum begitu dikembangkan karena jumlahnya yang sangat sedikit, kelarutan yang kurang baik dalam air dan rendahnya bioavailabilitas. Penelitian tentang analog kurkumin masih banyak dilakukan untuk mencari super kurkumin tanpa masalah seperti pada kurkumin dan bahkan diharap memiliki efikasi yang lebih dari pada kurkumin itu sendiri (Anand *et al.* 2008; Ramdja 2009; Rezki *et al.* 2015).

Senyawa biokonjugat kurkumin yang disintesis dalam penelitian Pandey *et al.* (2011) memiliki aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* dan *Enterococcus faecium* bahkan beraktivitas lebih baik dibanding kurkumin sendiri pada bakteri *Klebsiella pneumonia* dan *Escherichia coli*. Thomachan & Sindhu (2013) juga melakukan modifikasi struktur pada kurkumin dengan penambahan gugus klor pada cincin fenil dan berhasil mendapatkan aktivitas antibakteri. Evaluasi senyawa analog kurkumin dalam penelitian Baldwin *et al.* (2015) terhadap bakteri penyebab tuberculosis didapat hasil diameter daya hambat yang lebih besar dibanding dengan kurkumin.

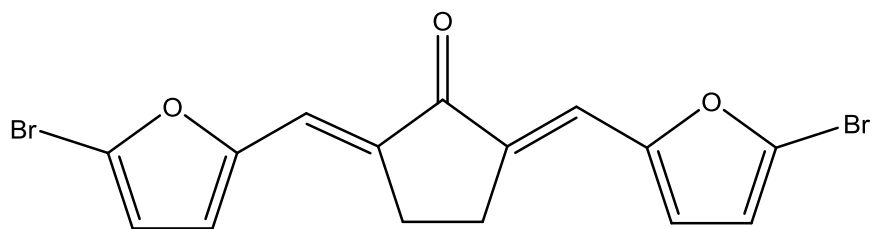
Penelitian oleh Rahmawati (2009) dan Lourentina (2015) tentang senyawa analog kurkumin 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon ; senyawa 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon dan senyawa 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on terhadap aktivitasnya sebagai antibakteri dilaporkan bahwa ketiganya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311, *Staphylococcus aureus* 25923, *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Kurkumin mampu mengubah permeabilitas membran sehingga akan menyebabkan kebocoran nutrisi pada sel bakteri dan berujung pada kematian. Senyawa analog merupakan senyawa hasil modifikasi struktur dari kurkumin, sehingga diduga memiliki mekanisme antibakteri yang sama, yaitu mendenaturasi protein membran (Mun *et al.* 2014).

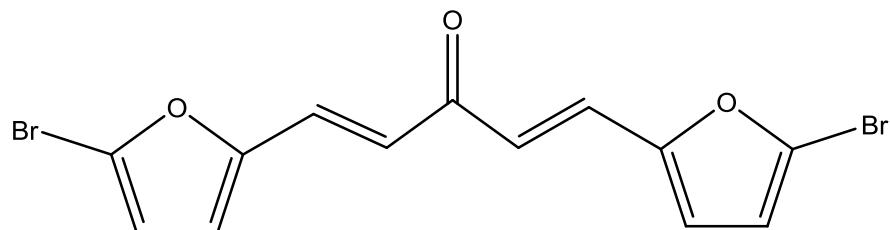
Keberhasilan penelitian tentang kurkumin dan analognya sebagai antibakteri tersebut, maka diharap senyawa analog kurkumin 2,6-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen)sikloheksanon yang disebut senyawa D; 2,5-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen)siklopentanon sebagai senyawa E dan senyawa 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on selanjutnya disebut senyawa F (struktur dapat dilihat pada gambar 1) juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin serta dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel bakteri uji. Senyawa D, E dan F ini bahkan diharap memiliki aktivitas yang lebih baik dibanding dengan kurkumin itu sendiri.



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

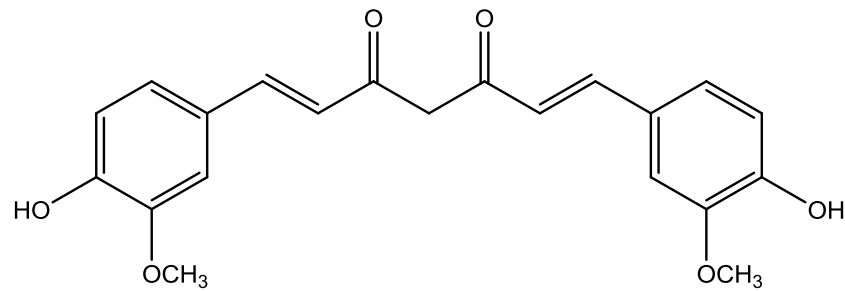


2,5-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen)siklopentanon (senyawa E)



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

Gambar 1. Struktur 3 senyawa analog kurkumin



Gambar 2. Gambar struktur kurkumin

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini meliputi:

Pertama, apakah senyawa D, E dan F memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji?

Kedua, manakah diantara senyawa D, E dan F tersebut yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif terhadap bakteri uji?

Ketiga, bagaimana mekanisme kebocoran membran sel senyawa teraktif terhadap bakteri uji?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah pertama, mengetahui ada tidaknya aktivitas antibakteri pada senyawa D, E dan F terhadap bakteri uji.

Kedua, mengetahui manakah yang paling aktif dari senyawa D, E dan F terhadap bakteri uji.

Ketiga, mengetahui bagaimana mekanisme kebocoran membran sel senyawa teraktif terhadap bakteri uji.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharap dapat memberikan informasi mengenai adanya aktivitas antibakteri senyawa analog kurkumin yang dapat digunakan sebagai alternatif antibiotik dari modifikasi struktur bahan alam serta memberikan landasan ilmiah kepada peneliti selanjutnya. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan info tentang mekanisme kerja senyawa penyebab kebocoran protein

dan asam nukleat serta kebocoran ion – ion logam yang dapat digunakan untuk acuan penelitian dan pengembangan obat baru berikutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Senyawa Analog Kurkumin

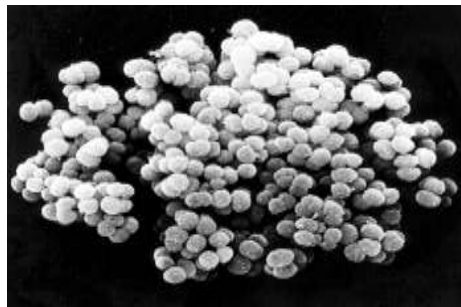
Kunyit dan senyawanya yaitu kurkumin, telah banyak dijadikan subyek penelitian. Kurkumin merupakan senyawa fenolik yang terdapat dalam rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) dengan aktivitas biologi sebagai antioksidan, antiinflamasi, kemopreventif dan kemoterapi. Kurkumin juga memiliki aktivitas sebagai antikanker, antimutagenik, antikoagulan, antifertilitas, antidiabetes, antibakteri, antijamur, antiprotozoa, antivirus, dan antifibrosis. Aktivitas antibakteri pada kurkumin berspektrum luas yaitu antibakteri yang aktif terhadap berbagai jenis bakteri Gram positif dan Gram negatif (BPTO 2006; Chattopadhyay *et al.* 2004).

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

Analog kurkumin telah banyak disintesis untuk tujuan peningkatan stabilitas, peningkatan potensi dan selektivitas aktivitas biologisnya (Da'i 2011). Peneliti sebelumnya telah berhasil mensintesis senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon; 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon dan senyawa 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on yang ketiganya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 dan *Staphylococcus aureus* 25923. Ketiga senyawa tersebut juga sangat aktif terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan rata-rata diameter hambat secara berturut-turut sebesar 20,4mm, 19,2mm dan 21,2mm. Senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon merupakan senyawa yang berpotensi paling tinggi terhadap bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311 dengan nilai KBM 185,19 ppm, sedangkan senyawa 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon merupakan senyawa yang paling berpotensi terhadap *Staphylococcus aureus* 25923 dengan nilai KBM 6,86

ppm. Senyawa 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on dapat membunuh *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada konsentrasi bunuh minimum 187,5 ppm (Dwiningsih *et al.* 2016; Lourentina 2015; Rahmawati 2009). Modifikasi struktur telah dilakukan pada ketiga senyawa analog kurkumin tersebut dengan penambahan bromo pada gugus fungsi 5 sehingga didapat senyawa 2,6-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen)sikloheksanon ; senyawa 2,5-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen)siklopentanon; dan senyawa 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on yang dinyatakan murni oleh Ismi Rahmawati pada tahun 2015.

B. Bakteri Uji



Gambar 3. *Staphylococcus aureus* (Wistreich GA 2006)

1. Klasifikasi dan sistematika bakteri

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* menurut Rosenbach (1884) yaitu:

Domain	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan fisiologi bakteri

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0.8-1 μ m tersusun dalam kelompok–kelompok tidak teratur. Beberapa strain membentuk kapsul, dinding selnya tersusun atas 3 komponen utama, yaitu

peptidoglikan, asam teikoat dan protein-A. Peptidoglikan (50%) akan membuat bakteri mampu bertahan pada tekanan osmotik internal yang tinggi, sedangkan asam teikoik (40%) berperan dalam akuisisi dan lokalisasi ion logam, dan kegiatan enzim autolitik (Harris 2002).

Kokus *Staphylococcus aureus* tidak motil dan tidak membentuk spora. Pengaruh zat-zat tertentu (misalnya penisilin) akan menyebabkan bakteri ini dilisiskan. Bakteri ini bersifat koagulase positif, berwarna kuning, bersifat hemolisa positif dan meragikan manitol. Media agar Vogel-Johnson akan menumbuhkan koloni-koloni hitam yang dikelilingi oleh lingkaran kuning pada *Staphylococcus aureus*, bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C. Diameter koloni *S. aureus* ini memiliki ukuran 1-3 mm, dan dapat mencapai 10 mm setelah diinkubasi 5 hari (Jawetz *et al.* 2008; Budiyanto 2002).

Hasil uji katalase terdapat adanya gelembung yang menandakan hasil uji katalase positif. Gelembung terjadi karena *Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen. Hasil katalase positif ini yang membedakan dengan *Streptococcus* sp. *Staphylococcus aureus* juga dapat memproduksi koagulase, suatu protein mirip enzim yang dapat menggumpalkan plasma yang mengandung oksalat atau sitrat (Jawetz *et al.* 2008; K. Plata *et al.* 2009).

3. Patogenesis

Infeksi lokal dari *Staphylococcus* tampak sebagai jerawat, infeksi folikel rambut, atau abses. Biasanya terjadi reaksi radang yang berlangsung hebat, terlokalisasi, dan nyeri. Infeksi *Staphylococcus aureus* juga terjadi akibat kontaminasi langsung pada luka, misalnya infeksi pada luka pasca operasi. Endokarditis, meningitis atau infeksi paru dapat terjadi jika *Staphylococcus aureus* menyebar luas dan terjadi bakteremia. Infeksi lain akibat dari *Staphylococcus aureus* antara lain infeksi pada saluran nafas bagian bawah, dapat menyebabkan infeksi saluran kemih lewat adanya bakteri pada kateter, infeksi aliran darah, infeksi jaringan lunak, dan pneumonia di hampir semua wilayah (Diekema *et al.* 2001; Jawetz *et al.* 2008; Schito 2006).

C. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap suatu senyawa ditentukan dengan penentuan kadar senyawa terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *in vitro*. Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri antara lain metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi atau cara cakram adalah cara yang paling banyak dipakai untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam senyawa. Kertas cakram yang telah diberi senyawa atau obat dengan kekuatan tertentu, diletakkan diatas lempeng agar yang telah ditanami bakteri. Hasil dibaca setelah pengeraman selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hambatan akan terlihat sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan kuman disekitar cakram. Lebar daerah hambatan ini tergantung pada daya resap senyawa atau obat ke dalam agar, sifat medium, kemampuan difusi, ukuran molekuler dan kepekaan bakteri terhadap obat tersebut (Bonang G *et al.* 1982; Jawetz *et al.* 2008).

Metode dilusi merupakan prosedur uji untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang lebih tepat. Metode dilusi digunakan ketika sejumlah senyawa tertentu dilarutkan dalam suspensi bakteri yang terstandarisasi dengan volume kecil yang terukur. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi terendah senyawa yang tetap jernih, yaitu bebas dari pertumbuhan mikroba. Sementara efek bakterisidal, yaitu Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan menggores larutan dari sejumlah tabung pada medium selektif untuk kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri (Jawetz *et al.* 2008).

D. Antibakteri

1. Definisi

Senyawa antibakteri atau antibiotik adalah semua substansi yang tidak hanya susbtansi yang berasal dari mikroorganisme, melainkan semua substansi yang diketahui memiliki kemampuan untuk menghalangi pertumbuhan mikroorganisme lain. Strain mikroorganisme yang berguna untuk menghasilkan antibiotik harus mampu menghasilkan metabolit yang menghambat pertumbuhan

mikroorganisme patogen. Bila suspensi mikroorganisme uji dipaparkan pada permukaan media agar dalam cawan petri, daerah yang terhambat di sekeliling koloni mikroorganisme uji mengindikasikan bahwa koloni mikroorganisme uji tersebut memproduksi suatu antibiotik (Pratiwi 2008).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Antibiotik diklasifikasikan menjadi lima kelompok berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu:

Pertama, antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel. Antibiotik ini adalah antibiotik yang merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri Gram negatif maupun Gram positif, misalnya penisilin, sefalosporin, monobaktam, carbapenem, vankomisin (Pratiwi 2008).

Kedua, antibiotik yang merusak membran plasma. Membran plasma bersifat semipermeabel dan mengendalikan transport berbagai metabolit ke dalam atau ke luar sel. Adanya gangguan atau kerusakan struktur pada membran plasma dapat menghambat atau merusak kemampuan membran plasma sebagai penghalang dan mengganggu sejumlah proses biosintesis yang diperlukan dalam membran. Antibiotik yang bersifat merusak membran plasma terdapat pada antibiotik golongan peptida bekerja dengan mengubah permeabilitas membran plasma bakteri, contohnya adalah polimiksin B (Pratiwi 2008).

Ketiga, antibiotik yang menghambat sintesis protein. Antibiotik jenis ini akan mempengaruhi fungsi subunit ribosom 30S atau 50S sehingga menyebabkan penghambatan sintesis protein yang reversibel. Contoh obat bakteriostatik ini adalah kloramfenikol, golongan tetrasiklin, eritromisin, klindamisin dan pristinamisin (Goodman & Gilman 2003).

Keempat, antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA). Penghambatan pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mikroorganisme. Antibiotik yang termasuk dalam penghambat sintesis asam nukleat ini adalah golongan kuinolon dan rifampisin (Pratiwi 2008).

Kelima, Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial. Penghambatan sintesis metabolit esensial antara lain dengan adanya competitor

berupa antimetabolit, yaitu substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substansi normal bagi enzim metabolisme. Contohnya adalah trimethoprim dan sulfonamide (Goodman & Gilman 2003; Pratiwi 2008).

E. Ciprofloxacin

Antibiotik yang telah beredar memiliki beberapa mekanisme kerja tersendiri terhadap bakteri. Salah satunya dengan cara menghambat sintesis DNA seperti pada antibiotik golongan kuinolon. Ciprofloxacin adalah antibiotik kuinolon generasi kedua (florokuinolon) yang berkhasiat lebih luas dan kuat dibanding nalidiksilat dan pipemidinat. Penggunaan sistemisnya lebih luas, meliputi infeksi saluran kemih (ISK), infeksi saluran nafas bila disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*, infeksi saluran cerna, jaringan lunak, kulit dan gonore (Tjay & Rahardja 2013).

Ciprofloxacin diekskresikan melalui urin (55%) dan feces (39%). Plasma- $t_{1/2}$ nya 3-5 jam dan bisa mencapai kira – kira 8 jam untuk pasien dengan gangguan fungsi ginjal berat. Efek samping dari ciprofloxacin sendiri seperti sakit perut, mual, muntah, diare, anoreksia dan jarang timbul sejenis radang usus besar. Pemberian ciprofloxacin pada penderita ISK diberikan secara peroral 2 kali sehari dengan dosis 125-250 mg atau melalui intavena 2 kali sehari dengan dosis 100 mg. Infeksi lain diberikan secara peroral 2 kali sehari dengan dosis 500 mg (Tjay & Rahardja 2013).

F. Media Bakteri

Media bakteri adalah media pembenihan atau media nutrisi yang disiapkan untuk menumbuhkan bakteri. Media pembenihan harus steril dan tidak mengandung mikroorganisme lain. Nutrisi pada medium pertumbuhan harus mengandung semua unsur yang diperlukan untuk sintesis organisme. Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan organisme antara lain zat makanan, pH, temperatur. Agar dapat ditambahkan ke dalam media pertumbuhan jika ingin

menumbuhkan bakteri pada media padat. Agar akan mencair pada suhu sekitar 100°C dan tetap cair sampai suhu 40°C (Jawetz *et al.* 2008; Radji 2009).

Media yang mengandung agar disiapkan dengan cara melarutkan masing-masing bahan yang dibutuhkan atau lebih mudah lagi dengan cara menambahkan air pada suatu produk komersial berbentuk medium bubuk yang sudah mengandung semua nutrient yang dibutuhkan. Penyiapan media bakteriologis dilakukan dengan cara medium dilarutkan dalam air suling dengan volume yang sesuai. Medium tersebut dituang ke dalam wadah yang sesuai seperti tabung, labu atau botol dan ditutup dengan kapas atau tutup plastik atau logam sebelum disterilisasi. Medium disterilkan, biasanya dengan autoklaf menggunakan panas di bawah tekanan uap (Pelczar & Chan 1986).

G. Sterilisasi

Sterilisasi adalah suatu usaha yang dijalankan untuk menghilangkan atau membunuh mikroorganisme yang ada pada atau didalam alat-alat atau bahan-bahan agar disteril. Keadaan steril ini memungkinkan bakteri tumbuh dengan baik karena tidak ada pengganggunya. Sterilisasi dikenal ada dua cara yaitu cara kimia dengan menggunakan bahan-bahan kimia sebagai desinfektan, misalnya dengan menggunakan alkohol. Mekanisme kerja alkohol biasanya dengan mendenaturasi protein, mengganggu membran dan melarutkan lemak. Sterilisasi juga bisa dilakukan secara mekanis dengan pemanasan langsung untuk alat-alat yang tidak rusak oleh pemanasan, misalnya pisau, pinset, ose. Alat disteril dengan pemanasan langsung melalui api spiritus atau bunsen hingga memijar, atau bisa dilakukan dengan merebus sampai 100°C selama 15 menit atau lebih. Pemanasan juga bisa dilakukan dengan pemanasan kering yang membutuhkan suhu 160-180°C selama 2 jam. Cara mekanis lain yang umum digunakan adalah dengan menggunakan uap air dan tekanan atau dengan autoklaf. Hasil sterilisasi yang lebih memuaskan bisa didapatkan dengan menggunakan autoklaf yang dapat mencapai suhu lebih dari 100°C, begitu pula tekanan udara dapat lebih dari 2 atm. Sterilisasi dilakukan pada suhu 110-120°C dengan tekanan 1-2 atm selama 15-20 menit (Soemarno 1983; Radji 2009).

H. Landasan Teori

Kurkumin adalah senyawa yang memiliki warna kuning alami dan merupakan kelompok senyawa polifenol. Kurkumin mampu mengubah permeabilitas membran sehingga akan menyebabkan kebocoran nutrisi pada sel bakteri. Senyawa fenolik ini memiliki aktivitas sebagai antikanker, antimutagenik, antikoagulan, antifertilitas, antidiabetes, antibakteri, antijamur, antiprotozoa, antivirus, dan antifibrosis (Chattopadhyay *et al.* 2004).

Penggunaan kurkumin sebagai obat tradisional seringkali masih disertai senyawa lain yang menyulitkan dalam pemisahan. Penelitian yang dilakukan oleh Rezki *et al.* (2015) dalam melakukan ekstraksi kurkumin dari kunyit membutuhkan 2 tahap proses ekstraksi dengan waktu ekstraksi yang terbilang lama serta didapat jumlah rendemen yang sedikit, yaitu 180 menit untuk mendapatkan rendemen ekstrak 12%. Ramdja (2009) juga melakukan ekstraksi kurkumin dari temulawak dan menyimpulkan bahwa dengan pelarutan 50 gram temulawak halus dalam 100 ml etanol 80% serta diberi pengadukan 100 rpm dalam waktu 4 jam akan diperoleh ekstrak kurkumin sebanyak 2,69 gram. Jumlah yang sedikit ini membutuhkan waktu yang terbilang lama. Hal tersebut memacu gagasan untuk mensintesis senyawa kurkumin dan melakukan modifikasi serta variasi gugus-gugus fungsionalnya untuk mendapatkan senyawa analog kurkumin yang memiliki berbagai aktivitas bahkan lebih baik dibanding kurkumin itu sendiri.

Rahman (2009) melakukan biotransformasi senyawa kurkumin dan didapat hasil bahwa biotransformasi kurkumin memiliki aktivitas antibakteri dua kali lebih tinggi daripada kurkumin dengan konsentrasi yang sama yaitu 50 mg/mL terhadap *Escherichia coli*, *Ralstonia solanacearum*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Rahmawati (2009) berhasil mensintesis senyawa analog kurkumin 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 yang ketiganya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 dan *Staphylococcus aureus* 25923. Senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen) sikloheksanon merupakan senyawa yang berpotensi paling

tinggi terhadap bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311 dengan nilai KBM 185,19 ppm, sementara senyawa 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon merupakan senyawa yang paling berpotensi terhadap *Staphylococcus aureus* 25923 dengan nilai KBM 6,86 ppm.

Lourentina (2015) juga melakukan uji aktivitas antibakteri pada senyawa analog kurkumin 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 yang telah berhasil disintesis oleh peneliti sebelumnya dan ketiga analog tersebut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031, *Shigella dysenteriae* ATCC 9361, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Ketiga senyawa tersebut paling aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan rata-rata diameter daya hambat sebesar 20,4 mm pada senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon, serta 19,2 mm dan 21,2 mm pada senyawa 2,5-bis-(2'-furanilmetilen) siklopentanon dan 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on.

Kurkumin mampu mengubah permeabilitas membran sehingga akan menyebabkan kebocoran nutrisi pada sel bakteri dan berujung pada kematian. Senyawa analog kurkumin merupakan senyawa hasil perubahan struktur dari kurkumin, sehingga diduga memiliki mekanisme antibakteri yang sama, yaitu mendenaturasi protein membran. Dwiningsih *et al* (2016) telah membuktikan bahwa senyawa analog kurkumin yaitu 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on dapat menyebabkan kebocoran membran sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yaitu dengan merusak pada bagian dinding selnya pada KBM 187,5 ppm (Dwiningsih *et al.* 2016; Mun *et al.* 2014).

Penelitian terhadap senyawa analog kurkumin 2,6-bis-(2-furilidin) sikloheksanon; 2,5-bis-(2'-furanilmetilen)siklopentanon dan 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on sebagai antibakteri menunjukkan keberhasilan. Modifikasi struktur dilakukan pada ketiga senyawa tersebut dengan penambahan gugus Bromo, sehingga didapat senyawa 2,6-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen) sikloheksanon yang disebut senyawa D; 2,5-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen) siklopentanon sebagai senyawa E; dan senyawa 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-

pentadien-3-on selanjutnya disebut senyawa F yang dinyatakan murni oleh Ismi Rahmawati pada tahun 2015. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa D, E dan F tersebut diharap mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin serta dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel bakteri uji. Senyawa D, E dan F ini bahkan diharap memiliki aktivitas yang lebih baik dibanding dengan kurkumin itu sendiri.

I. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun hipotesis dalam penelitian yaitu

Pertama, senyawa D, E, dan F memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin.

Kedua, dari ketiga senyawa tersebut terdapat salah satu senyawa yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 atau *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin.

Ketiga, dari senyawa yang paling aktif tersebut dapat mengakibatkan adanya kebocoran pada membran sel.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa analog kurkumin D, E dan F yang dinyatakan murni oleh Ismi Rahmawati.

2. Sampel

Sampel merupakan bagian dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa analog kurkumin D, E, F yang dinyatakan murni oleh Ismi Rahmawati dan didapat secara acak dari Laboratorium Kimia Organik Universitas Setia Budi Surakarta.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa analog kurkumin D, E dan F yang sudah dinyatakan murni oleh Ismi Rahmawati. Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas bakteri dari senyawa analog kurkumin D, E, dan F terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi kemudian diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung. Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen (terikat). Variabel bebas yang digunakan adalah senyawa analog kurkumin D, E, dan F yang digunakan sebagai uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin dalam berbagai konsentrasi.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh dapat diulang

oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin, jenis pelarut senyawa, kondisi peneliti, kondisi laboratorium seperti sterilitas ruangan, alat dan bahan, media yang digunakan.

Variabel terikat adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin pada media uji yang dipengaruhi oleh senyawa analog kurkumin dan kajian mekanisme kerjanya.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, senyawa D, E, dan F adalah senyawa analog kurkumin yang dinyatakan murni oleh Ismi Rahmawati dan didapat dari Laboratorium Kimia Organik Universitas Setia Budi Surakarta.

Kedua, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah bakteri yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Ketiga, uji aktivitas antibakteri metode dilusi adalah metode pengenceran bertingkat dengan pengujian yang dilihat dari tingkat kekeruhan senyawa analog kurkumin, senyawa kurkumin dan ciprofloxacin pada konsentrasi kurang lebih 10.000 ppm sampai 0.610 ppm.

Keempat, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah dari senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin.

Kelima, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi terendah senyawa dapat membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin.

Keenam, kebocoran asam nukleat adalah kerusakan sel yang diamati dengan adanya kebocoran protein dan asam nukleat dari sel bakteri menggunakan

pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 260nm dan 280nm.

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

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain senyawa analog D, E dan F, kurkumin, medium bakteri seperti *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI), dan *Mueller Hinton Agar* (MHA), aseton, alkohol 70%, plasma sitrat, H₂O₂, kalium telurit, pewarna gram A, gram B, gram C, gram D, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta dan bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta, kertas cakram.

2. Alat

Tabung reaksi besar, tabung reaksi kecil, cawan petri besar, cawan petri kecil, autoklaf, alat sentrifugasi, kompor, inkubator, oven, pipet volume, mikropipet 1000 mikroliter, mikropipet 50 mikroliter, spiritus dan lampu pembakar, *handscoon*, masker, kapas steril, jarum ose, vortex, timbangan analitik, lemari pendingin, mikroskop, objek glass, aluminium foil, kapas, tissue, kain lap, UV-Vis, AAS.

D. Jalannya Penelitian

1. Pembuatan larutan stok senyawa

Melarutkan senyawa analog kurkumin dengan pelarut aseton hingga larut pada konsentrasi kurang lebih 10.000 ppm.

2. Pembuatan medium

Menimbang medium, kemudian memasukkan ke dalam beker glass, menambahkan sejumlah aquadest yang sesuai. Memasak medium hingga

mendidih dan menuangkan ke dalam tabung-tabung reaksi. Menutup tabung-tabung reaksi tersebut dengan kapas. Mensterilkan tabung-tabung reaksi yang berisi media tersebut di dalam autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Memasukkan media tersebut ke dalam lemari pendingin sampai saatnya digunakan.

3. Sterilisasi alat dan bahan

Mensterilisasi kapas steril, peralatan gelas seperti tabung reaksi, labu, botol, pipet volume dan sebagainya dengan di oven pada suhu 170°C-180°C selama 2 jam. Mensterilkan alat-alat seperti jarum ose dengan pemanas api langsung. Mensterilkan alat-alat dari plastik seperti mikrotip dengan menggunakan larutan alkohol 70%.

4. Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta dan *Staphylococcus aureus* resisten terhadap ciprofloxacin dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Kedua bakteri uji berada dalam media miring. Memindahkan satu ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten terhadap ciprofloxacin ke dalam tabung berbeda yang berisi media BHI lalu menginkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

5. Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin.

5.1. Identifikasi bakteri pada media selektif. Mencairkan medium *Vogel and Johnson Agar* (VJA) steril, kemudian menuang ke dalam cawan petri steril dan membiarkan menjadi padat. Menggoreskan kawat gelang penginokulasi yang penuh dengan biakan bakteri di atas permukaan agar. Meletakkan sebagian besar organisme pada goresan pertama. Menggerakkan kawat penginokulasi dari satu bagian ke bagian lain dari petri hingga didapat bakteri yang tertinggal dikawat semakin berkurang. Jika dilakukan secara sempurna, goresan akhir akan didapat bakteri yang terpisah satu sama lain, sehingga koloni yang berasal dari bakteri individual akan benar-benar terpisah satu sama lain. Tahap terakhir dilakukan dengan menginkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

5.2. Pewarnaan Gram. Meletakkan satu ose biakan bakteri keatas obyek glass yang sudah dibersihkan dengan spiritus dan telah dikering anginkan. Sebelum diberi warna, memfiksasi bakteri terlebih dahulu dengan cara pemanasan. Memberi warna dengan kristal violet dan membiarkan selama 30 detik, kemudian membilas dengan air mengalir, selanjutnya meneteskan larutan iodium dan membiarkan selama 30 detik lalu mencuci kembali dengan air mengalir. Warna dihilangkan dengan menambahkan alkohol selama 10-20 detik dan membilas dengan air mengalir. Mewarnai kembali dengan safranin selama 30 detik dan membilas lagi dengan air mengalir. Kelebihan air dihilangkan dengan kertas saring. Organisme yang tidak dapat menahan zat pewarna primer setelah dicuci dengan alkohol 95% disebut organisme Gram negatif. Sementara organisme yang dapat menahan zat pewarna disebut Gram positif.

5.3. Uji koagulase dan katalase. Melakukan uji katalase dengan meneteskan larutan H_2O_2 di gelas objek, dan meletakkan sedikit pertumbuhan bakteri di dalam larutan tersebut. Terbentuknya gelembung menandakan uji yang positif. Melakukan uji koagulase dengan menggunakan plasma manusia yang mengandung sitrat. Mencampurkan plasma dengan biakan kaldu dengan volume yang sama dalam tabung steril dan diinkubasi selama 1-4 jam pada suhu $37^{\circ}C$. Jika terbentuk bekuan atau gumpalan, tes ini positif.

5.4. Uji sensitivitas. Uji kerentanan suatu bakteri terhadap antibiotik atau uji sensitivitas dilakukan dengan cara memasukkan pengulas berbungkus kapas ke dalam koloni bakteri yang sudah disuspensikan dalam medium steril. Kapas digunakan untuk menginokulasi permukaan medium agar dalam cawan petri. Meletakkan kertas-kertas kecil yang telah diresapi antibiotik ampisillin, ciprofloxacin, gentamicin, tetrasiklin dan vancomycin di atas permukaan cawan yang telah diinokulasi tadi. Menginkubasi cawan selama 24 jam pada suhu $37^{\circ}C$ dan mengamati biakan ada tidaknya zona penghambatan di sekitar piringan-piringan antibiotik tersebut.

6. Pembuatan suspensi bakteri sesuai dengan Mc Farland 0,5

Mengambil bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin diambil dari suatu biakan murni pada medium NA kurang lebih 2 ose dan membuat suspensi dalam media Brain

Heart Infusion (BHI) kemudian menginkubasi pada suhu 37°C selama 5-8 jam hingga keruh dan kekeruhannya disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 yang menunjukkan jumlah sel bakteri setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

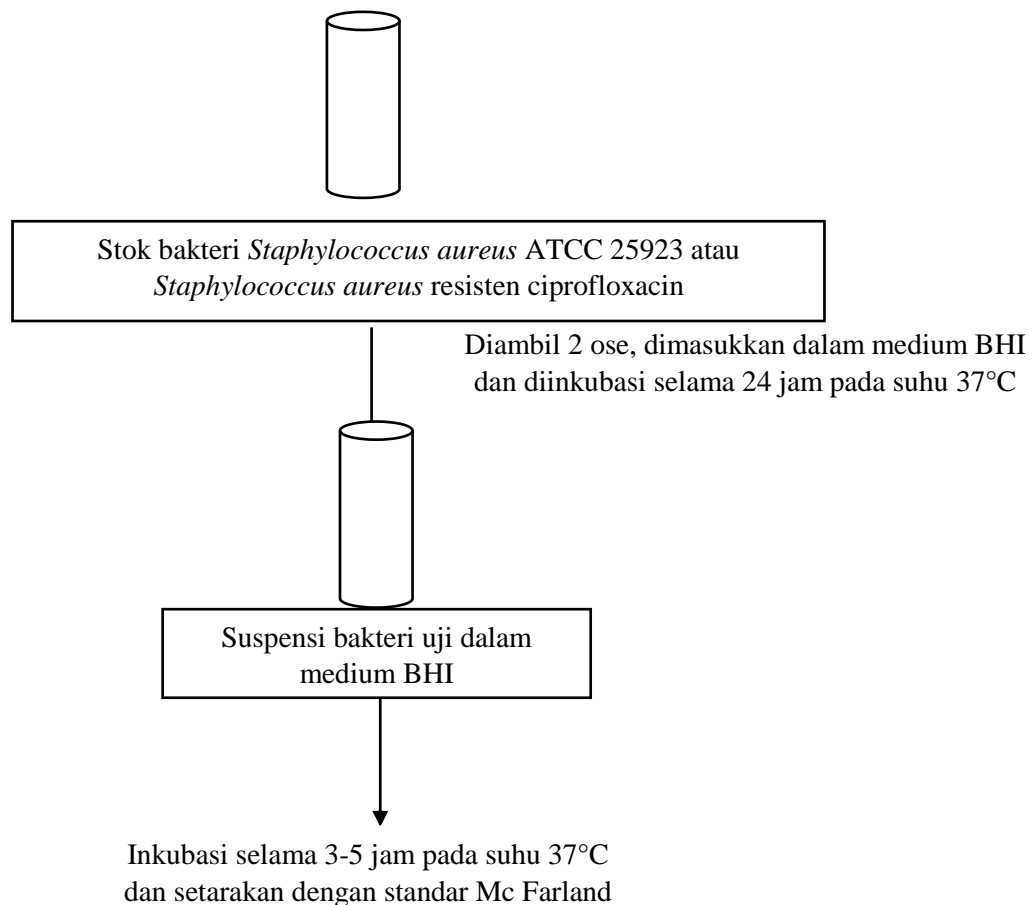
7. Pengujian antibakteri

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan metode dilusi. Tes dilakukan dengan mempergunakan 1 deret tabung reaksi steril dengan interval pengenceran 2 kali. Secara aseptik memasukkan 50 µl BHI ke dalam tiap tabung, kecuali tabung 1. Menambahkan ke dalam tabung 1 dan 2 larutan stok senyawa D, E atau F dengan konsentrasi kurang lebih 10.000 ppm. Mengocok tabung dan memindahkan 50 µl dari tabung 2 ke tabung 3. Mengerjakan cara pengenceran yang sama pada tabung-tabung berikutnya hingga sederet tabung yang diinginkan. Menambahkan biakan bakteri yang akan diperiksa yang telah diencerkan 1:1000 dengan volume yang sama ke seluruh tabung. Tabung terakhir berlaku sebagai kontrol biakan atau kontrol positif. Konsentrasi akhir dari senyawa berasal dari 10.000 ppm kemudian menjadi 5000 ppm pada tabung kedua, 2500 ppm pada tabung ketiga dan seterusnya. Menginkubasi tabung-tabung selama 24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah pengenceran tertinggi dari obat yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan secara makroskopis. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan menggores larutan dari sejumlah tabung pada medium selektif untuk kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri.

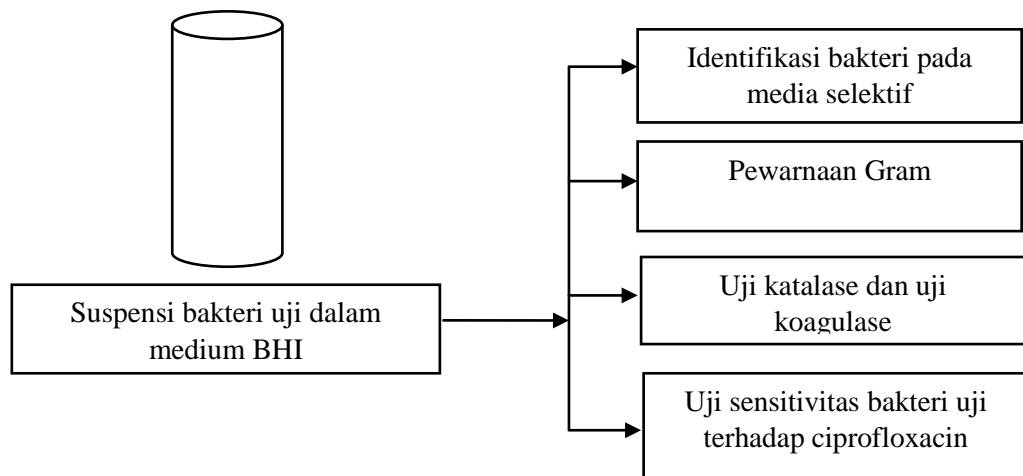
8. Analisis kebocoran sel

8.1. Analisis kebocoran asam nukleat dan protein. Membuat deret konsentrasi 0 (kontrol), 1 dan 2 x KBM kemudian menambahkan salah satu suspensi bakteri antara *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin yang paling aktif terhadap salah satu senyawa analog kurkumin ke dalam senyawa tersebut dan menginkubasi larutan uji pada suhu 37 °C selama 24 jam, kemudian mensentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit, dan memisahkan supernatan dari endapan sel. Mengukur absorbansi dari supernatan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 260 dan 280 nm.

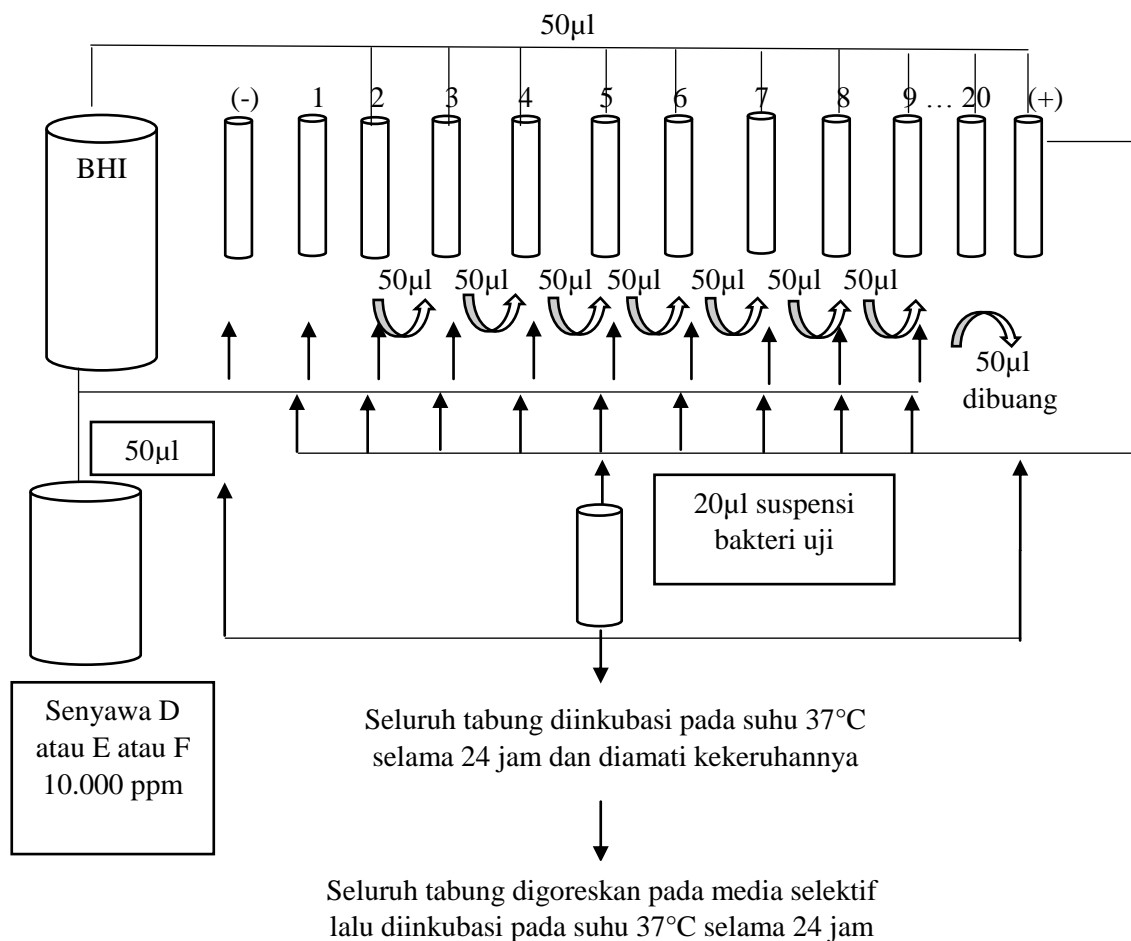
8.2. Analisis kebocoran ion logam. Analisis kebocoran ion yang diukur adalah dalam bentuk ion K^+ dan Na^+ yang keluar dari sel bakteri akibat perlakuan dengan salah satu senyawa analog kurkumin yang paling poten. Sampel untuk analisis kebocoran ion logam K^+ berupa supernatan yang berasal dari perlakuan analisis kebocoran asam nukleat dan protein. Menganalisis supernatan dengan menggunakan *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS). Menganalisis ion logam Na^+ juga menggunakan AAS dengan cara yang sama seperti analisis pada logam K^+ .



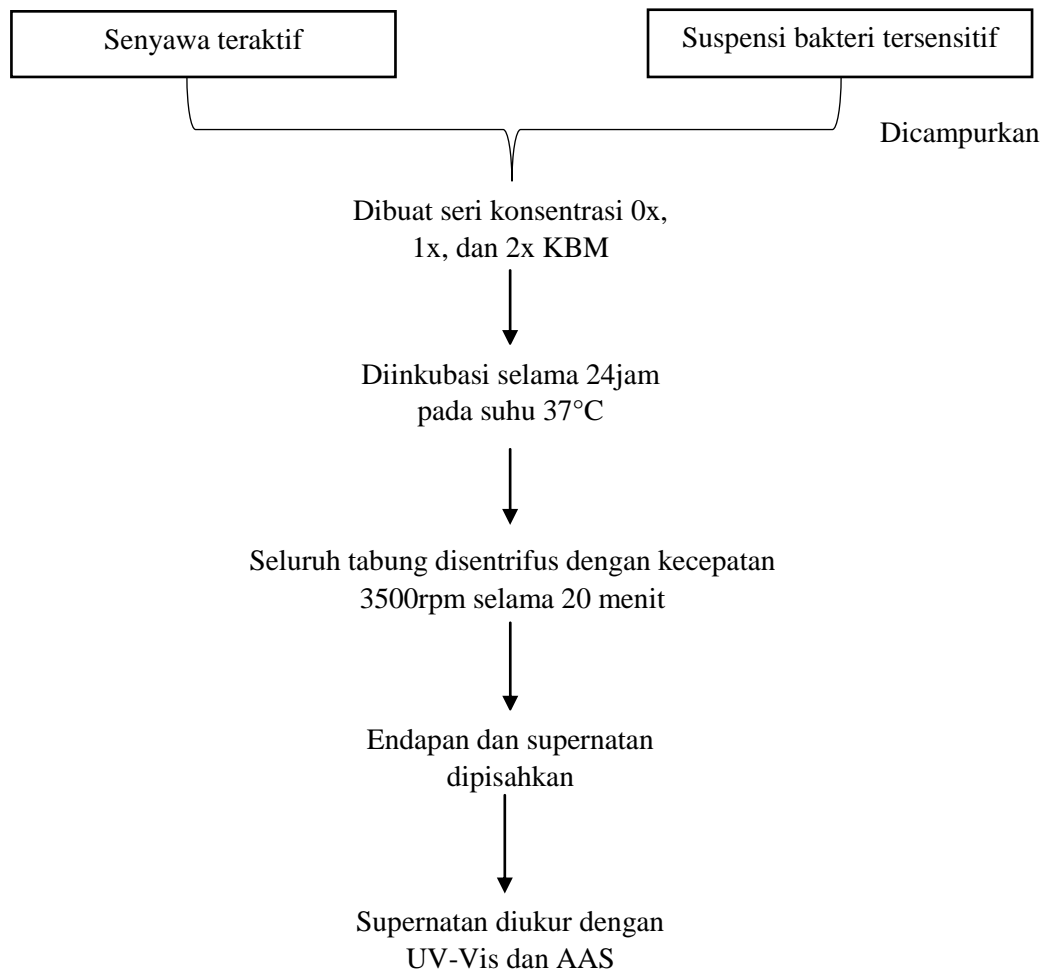
Gambar 4. Skema kerja pembuatan suspensi bakteri sesuai standar Mc Farland



Gambar 5. Skema uji identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 atau *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin



Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri senyawa analog kurkumin dengan metode dilusi



Gambar 7. Skema analisis kebocoran sel

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil pembuatan larutan stok analog kurkumin

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

Tabel 1. Hasil penimbangan senyawa analog kurkumin

Senyawa	Berat senyawa (gram)	Volume aseton (ml)	Konsentrasi (ppm)	Keterangan
D	0,0503	5	10.060	~10.000 ppm
E	0,0504	5	10.080	~10.000 ppm
F	0,0510	5	10.200	~10.000 ppm

Keterangan : ~ = setara dengan

Hasil pada tabel 1 diperoleh penimbangan senyawa D sebesar 0,0503 gram, senyawa E 0,0504 gram dan senyawa F sebesar 0,0510 gram. Senyawa kemudian ditambahkan aseton hingga 5 ml untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan.

2. Hasil Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin

2.1 Hasil identifikasi bakteri uji pada media selektif. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin dari biakan dalam medium BHI digoreskan di atas medium *Vogel-Johnson Agar* (VJA) yang sudah diberi kalium telurit 3%. Goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengamatan goresan kedua bakteri uji pada medium VJA dapat terlihat koloni hitam dengan sekeliling koloni berwarna kuning. Koloni hitam pada bakteri ini disebabkan karena kemampuan *Staphylococcus aureus* dalam mereduksi kalium telurit. Warna kuning di sekitar koloni disebabkan oleh

kemampuan bakteri dalam memfermentasi manitol (Jawetz *et al.* 2008). Hasil uji dapat dilihat pada lampiran 5.

2.2 Hasil identifikasi bakteri uji dengan pewarnaan Gram. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin dengan pengecatan Gram membuktikan bahwa bakteri uji merupakan bakteri Gram positif. Hasil pengecatan Gram berdasarkan pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan bahwa olesan bakteri berwarna ungu. Bakteri terlihat berbentuk bulat yang tersusun secara berkelompok-kelompok tidak teratur atau seperti buah anggur. Tujuan dari pengecatan Gram adalah untuk menampilkan perbedaan diantara sel-sel bakteri dengan menggunakan zat warna lebih dari satu. Bakteri yang terwarnai dengan metode Gram ini dibagi menjadi dua kelompok, yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif (Pelczar & Chan. 1986).

Pemberian pewarna Kristal ungu dan larutan lugol akan membentuk senyawa kompleks yang berwarna ungu. Tahap selanjutnya menggunakan alkohol 96%, pada tahap ini beberapa kelompok bakteri akan melepas zat warna ungu dengan mudah. Kelompok lain akan tetap mempertahankan zat warna ungu tersebut. Bakteri yang tidak mempertahankan zat warna ungu merupakan bakteri Gram negatif. Kelompok bakteri yang mempertahankan warna ungu merupakan bakteri Gram positif (Radji 2011).

Perbedaan ini terjadi karena bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang mengandung kadar lipid tinggi. Lipid dapat larut pada tahap pencucian dengan alkohol 96% sehingga pori-pori pada dinding sel membesar dan zat warna yang telah diserap keluar kembali. Pengaruh alkohol 96% pada bakteri Gram positif akan menyebabkan protein pada dinding sel mengalami denaturasi sehingga pori-pori akan mengecil dan kompleks ungu tetap terperangkap dalam dinding sel. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel dengan lapisan peptidoglikan yang tebal. Hal ini berdampak pada sifat permeabilitas dinding sel Gram positif kurang sehingga kompleks Kristal ungu tidak dapat keluar dari dinding sel. Lapisan peptidoglikan bakteri Gram negatif sangat tipis sehingga

permeabilitas dinding selnya lebih besar dan memungkinkan keluarnya kompleks Kristal ungu dari dinding sel (Radji 2011).

Tahap terakhir dengan pemberian safranin bertujuan untuk mewarnai bakteri yang tidak terwarnai sebelumnya. Safranin akan menyebabkan bakteri Gram negatif berwarna merah. Warna ungu pada bakteri Gram positif yang tidak luntur oleh alkohol 96% menyebabkan pemberian safranin tidak menimbulkan pengaruh dan bakteri tetap berwarna ungu (Radji 2011). Identifikasi bakteri uji menunjukkan hasil bakteri uji adalah bakteri Gram positif. Hasil pengecatan dapat dilihat pada lampiran 5.

2.3 Hasil uji katalase dan koagulase. Uji katalase baik pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 maupun *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin dilakukan di atas gelas obyek. Uji positif ditandai dengan terbentuknya gelembung pada permukaan obyek glass. *Staphylococcus aureus* mampu mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Oksigen ini yang menyebabkan terbentuknya gelembung pada uji katalase. Uji ini dilakukan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus* lainnya (Jawetz *et al.* 2008).

Staphylococcus aureus menghasilkan koagulase, suatu protein mirip enzim yang menggumpalkan plasma yang mengandung sitrat. Uji koagulase dilakukan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dan spesies lainnya. Uji koagulase dilakukan dengan mencampurkan plasma sitrat dan biakan kaldu kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-4 jam. Hasil menunjukkan koagulase positif yang ditandai dengan adanya gumpalan atau bekuan pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2008). Uji katalase dan koagulase pada bakteri uji menghasilkan hasil positif. Hasil dapat dilihat pada tabel 2. Gambar hasil uji katalase dan koagulase dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 2. Hasil uji katalase dan koagulase

Jenis uji	Hasil	Pustaka	Keterangan
Katalase	Terbentuk gelembung gas	Terbentuk gelembung gas	(+)
Koagulase	Terbentuk bekuan	Terbentuk bekuan	(+)
Keterangan :	(+) = positif <i>Staphylococcus aureus</i>		
	(-) = negatif <i>Staphylococcus aureus</i>		

2.4 Hasil uji sensitivitas. Uji sensitivitas dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang digunakan masih memiliki kepekaan terhadap ciprofloxacin atau bakteri telah mengalami resistensi. Uji ini dilakukan secara difusi pada bakteri uji menggunakan cakram antibiotik. Cakram antibiotik yang digunakan antara lain ciprofloxacin, vankomisin, gentamisin, ampisilin dan tetrasiklin. Pengamatan dilihat berdasarkan zona hambat disekitar kertas cakram. Hasil dapat dilihat pada tabel 3. Gambar dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 3. Hasil uji sensitivitas bakteri uji

Cakram antibiotik	Resisten (mm)	Diameter zona hambat (mm) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Keterangan	Diameter zona hambat (mm) <i>Staphylococcus aureus</i> resisten ciprofloxacin	Keterangan
Ciprofloxacin	≤ 15	42	Tidak resisten	0	Resisten
Vankomisin	≤ 9	16	Tidak resisten	20	Tidak resisten
Gentamisin	≤ 12	32	Tidak resisten	0	Resisten
Ampisilin	≤ 28	10	Resisten	0	Resisten
Tetrasiklin	≤ 14	28	Tidak resisten	12	Resisten

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri uji yang digunakan benar-benar *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin.

3. Hasil pengujian antibakteri senyawa analog kurkumin dengan metode dilusi

Hasil sintesis 3 senyawa analog kurkumin yang telah diperoleh kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode dilusi. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dengan keruh tidaknya tabung dan tingkat kekeruhan pada tabung percobaan yang kemudian ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM). KHM merupakan konsentrasi terendah senyawa analog kurkumin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil KHM senyawa analog kurkumin tidak dapat ditentukan karena tertutupi oleh kekeruhan dari senyawa.

Seluruh tabung diinokulasikan pada medium selektif VJA untuk menentukan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM). KBM merupakan

konsentrasi minimum senyawa analog kurkumin yang dapat membunuh bakteri uji. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) menunjukkan adanya daya antibakteri senyawa terhadap bakteri uji dengan dilihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri uji pada media VJA setelah hasil uji pada seluruh tabung diinokulasikan. Ciri-ciri koloni yang tumbuh pada media VJA yaitu adanya koloni berwarna hitam dan di sekitarnya berwarna kuning.

3.1 Hasil dilusi senyawa D. Senyawa D yang telah diperoleh kemudian ditimbang dan dilarutkan dalam sejumlah aseton. Dilusi dilakukan dengan pengenceran bertingkat menggunakan sederet tabung dimulai dengan konsentrasi 10.000 ppm hingga konsentrasi 0,610 ppm. Seluruh tabung yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian diinokulasikan diatas media VJA. Analisis data dilakukan dengan pengamatan ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri setelah tabung dilusi diinokulasikan di atas media selektif. Hasil dilusi dapat dilihat pada tabel 4. Gambar dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 4. Hasil uji dilusi senyawa D terhadap bakteri uji

Tabung	Konsentrasi (ppm)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			<i>Staphylococcus aureus</i> resisten ciprofloxacin		
		I	II	III	I	II	III
1	10.000	-	-	-	-	-	-
2	5.000	-	-	-	-	-	-
3	2.500	-	-	-	-	-	-
4	1.250	-	-	-	-	-	-
5	625	-	-	-	-	-	-
6	312,5	-	-	-	-	-	-
7	156,25	-	-	-	-	-	-
8	78,125	-	-	-	-	-	-
9	39,063	+	+	+	+	+	+
10	19,531	+	+	+	+	+	+
11	9,766	+	+	+	+	+	+
12	4,883	+	+	+	+	+	+
13	2,441	+	+	+	+	+	+
14	1,221	+	+	+	+	+	+
15	0,610	+	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) = keruh (ada pertumbuhan bakteri)
 (-) = jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)

Penelitian senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen)sikloheksanon yang merupakan senyawa dasar sebelum terdapat penambahan bromo, menunjukkan

adanya aktivitas antibakteri baik terhadap Gram negatif maupun Gram positif. Hasil penelitian yang dilakukan terhadap bakteri Gram negatif (*Salmonella typhi* ATCC 13311) diperoleh KBM sebesar 185,19 ppm. Aktivitas antibakteri pada Gram positif dibuktikan dengan adanya daya hambat sebesar 27,00 mm dan 26,33 mm pada *MRSA* dan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Rahmawati 2009, 2014).

Penambahan bromo pada senyawa 2,6-bis-(2'-furanilmetilen) sikloheksanon sehingga menjadi 2,6-bis((5'-bromo-2'-furanil)metilen) sikloheksanon (senyawa D) diketahui bahwa senyawa tidak kehilangan aktivitasnya sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri senyawa D dibuktikan dengan diperolehnya nilai KBM sebesar 78,125 ppm pada kedua bakteri uji.

Gugus halogen seperti F, Cl, Br dan I diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Seperti iodin yang secara langsung dapat menyebabkan inaktivasi protein enzim tertentu sehingga bakteri mengalami kematian. Klorin dan senyawa terklorinasi akan berubah menjadi hipoklorit yang dapat mengikatkan Cl pada bagian protein. Akibatnya protein dan enzim tidak dapat berfungsi secara normal dan bakteri mengalami kematian. Penambahan gugus fluorin akan meningkatkan aktivitas antibiotik kuinolon terhadap bakteri Gram negatif termasuk *Pseudomonas aeruginosa* dan juga aktif terhadap beberapa bakteri Gram positif (Siswandono & Soekardjo 2000).

Senyawa D yang terjadi penambahan halogen bromo juga memiliki aktivitas yang baik. Aktivitas antibakteri tidak hanya pada Gram negatif saja tetapi terdapat aktivitas pada Gram positif juga. KBM senyawa D terhadap bakteri Gram positif bahkan lebih kecil dibandingkan KBM senyawa sebelumnya terhadap bakteri Gram negatif. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Prasad (2006).

Prasad (2006) melakukan sintesis beberapa senyawa kalkon. Hasil penelitiannya menyatakan bahwa dengan penambahan gugus halogen seperti Cl dan Br akan menghasilkan senyawa dengan aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa yang tidak terdapat gugus halogen didalamnya. Penelitiannya juga menunjukkan senyawa dengan dua gugus halogen memiliki

aktivitas yang lebih baik dibandingkan senyawa yang hanya memiliki satu jenis gugus halogen.

Sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Prasad (2006), semakin baiknya aktivitas senyawa D disebabkan adanya penambahan gugus bromo pada rantai samping senyawa. Penambahan gugus bromo akan menyebabkan aktivitas suatu senyawa menjadi meningkat (Prasad 2006).

3.2 Hasil dilusi senyawa E. Dilusi dilakukan sama dengan senyawa D yaitu menggunakan sederet tabung dengan konsentrasi awal 10.000 ppm hingga 0,610 ppm. Hasil dapat dilihat pada tabel 5. Gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 5. Hasil uji dilusi senyawa E terhadap bakteri uji

Tabung	Konsentrasi (ppm)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			<i>Staphylococcus aureus</i> resisten ciprofloxacin		
		I	II	III	I	II	III
1	10.000	-	-	-	-	-	-
2	5.000	-	-	-	-	-	-
3	2.500	-	-	-	-	-	-
4	1.250	-	-	-	-	-	-
5	625	-	-	-	-	-	-
6	312,5	-	-	-	-	-	-
7	156,25	-	-	-	-	-	-
8	78,125	-	-	-	-	-	-
9	39,063	+	+	+	+	+	+
10	19,531	+	+	+	+	+	+
11	9,766	+	+	+	+	+	+
12	4,883	+	+	+	+	+	+
13	2,441	+	+	+	+	+	+
14	1,221	+	+	+	+	+	+
15	0,610	+	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) = keruh (ada pertumbuhan bakteri)
 (-) = jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)

Penelitian pada senyawa analog kurkumin 2,5-bis-(2'-furanilmetilen) siklopentanon yang merupakan senyawa dasar sebelum terdapat penambahan bromo, diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri. Uji aktivitas yang dilakukan pada *Staphylococcus aureus* 25923 diperoleh nilai KBM sebesar 6,86 ppm . Senyawa tersebut juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram negatif. Senyawa paling aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan hasil diameter sebesar 21,2 mm (Rahmawati 2009; Lourentina 2015).

Modifikasi dilakukan pada senyawa tersebut dengan penambahan gugus bromo sehingga didapat senyawa E yang diketahui masih memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri dibuktikan dengan diperolehnya nilai KBM senyawa E pada bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 maupun *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin adalah sebesar 78,125 ppm.

Penambahan gugus halogen tidak selalu menunjukkan adanya peningkatan aktivitas suatu senyawa. Hal ini sejalan dengan literatur yang menyebutkan bahwa perubahan struktur kimia suatu senyawa dapat menyebabkan perubahan aktivitas biologis baik dapat meningkatkan maupun menurunkan aktivitas (Harmita *et al.* 2008). Penurunan aktivitas antibakteri suatu senyawa setelah terdapat perubahan struktur terbukti dalam penelitian terhadap senyawa E ini.

Hasil menunjukkan terjadinya penurunan nilai KBM setelah ada penambahan gugus Br. Sebelum terdapat gugus Br, KBM pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 6,86 ppm. Setelah ditambah dengan Br sehingga didapat senyawa E, KBM pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 78,125 ppm. Senyawa dengan unit struktur kimia sama belum tentu menunjukkan aktivitas biologi sama, sebaliknya aktivitas biologis yang sama sering diperlihatkan oleh senyawa-senyawa dengan struktur kimia yang berbeda (Siswandoro & Soekardjo 2000).

3.3 Hasil dilusi senyawa F. Uji dilusi juga dilakukan menggunakan sederet tabung dengan konsentrasi mulai dari 10.000 ppm hingga 0,610 ppm. Sama dengan dua senyawa lainnya, uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menginokulasikan seluruh tabung yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian diatas media VJA.

Analisis data juga dilakukan dengan pengamatan ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri setelah tabung dilusi diinokulasikan di atas media selektif. Hasil dilusi dapat dilihat pada tabel 6 dan gambar hasil dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 6. Hasil uji dilusi senyawa F terhadap bakteri uji

Tabung	Konsentrasi (ppm)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			<i>Staphylococcus aureus</i> resisten ciprofloxacin		
		I	II	III	I	II	III
1	10.000	-	-	-	-	-	-
2	5.000	-	-	-	-	-	-
3	2.500	-	-	-	-	-	-
4	1.250	-	-	-	-	-	-
5	625	-	-	-	-	-	-
6	312,5	-	-	-	-	-	-
7	156,25	-	-	-	-	-	-
8	78,125	-	-	-	-	-	-
9	39,063	-	-	-	+	+	+
10	19,531	+	+	+	+	+	+
11	9,766	+	+	+	+	+	+
12	4,883	+	+	+	+	+	+
13	2,441	+	+	+	+	+	+
14	1,221	+	+	+	+	+	+
15	0,610	+	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) = keruh (ada pertumbuhan bakteri)
(-) = jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)

Tiga analog kurkumin awal, yaitu sebelum ada penambahan gugus bromo (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) diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi dibandingkan kedua senyawa lain. Senyawa tersebut paling aktif terhadap *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan KBM sebesar 187,5 ppm (Lorentina 2015; Dwiningsih 2016).

Penambahan gugus bromo pada senyawa 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on sehingga didapat senyawa F (1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on) yang juga memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa F merupakan senyawa teraktif dibandingkan dengan senyawa D dan E. KBM senyawa F lebih kecil pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 namun KBM pada bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin tidak berbeda dengan dua senyawa sebelumnya.

KBM pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 39,063 ppm dan pada *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin sebesar 78,125 ppm. Perbedaan hasil ini mungkin disebabkan karena pada bakteri *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin telah mengalami banyak mekanisme. Mekanisme yang biasa terjadi pada *Staphylococcus aureus* misalnya dengan memproduksi β -laktamase atau bisa juga dengan adanya perubahan pada dinding sel bakteri. Mekanisme-mekanisme ini mungkin yang menyebabkan berkurangnya kepekaan bakteri terhadap suatu senyawa (Jawetz 2008).

Gugus halogen dikenal memiliki aktivitas antibakteri. Seperti klorin dan iodin yang dikenal sebagai desinfektan dan antiseptik. Pemasukan gugus halogen, seperti Cl dan Br ke inti fenol akan meningkatkan aktivitas antiseptik. Aktivitas akan semakin meningkat bila jumlah halogen yang dimasukkan bertambah (Siswandono & Soekardjo 2000).

Gugus halogen Cl dan Br diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang cukup baik (Prasad 2006). Penelitian yang dilakukan Thomchan & Sindhu (2015) membuktikan perubahan kurkumin menjadi analognya dan ditambah dengan memasukkan gugus Cl menjadikan aktivitas senyawa semakin meningkat. Hasilnya menunjukkan penambahan Cl menjadikan senyawa memiliki aktivitas yang baik terhadap *E.coli*.

Penelitian terhadap aktivitas senyawa 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on (sebelum ada penambahan Br) yang dilakukan oleh Lourentina (2015) diketahui memiliki aktivitas yang paling baik dibandingkan senyawa lainnya. Menurut Brahmana (2015), jenis substituen yang terikat pada cincin aromatik senyawa mempengaruhi sifat antibakteri suatu senyawa. Penambahan Br sehingga dihasilkan senyawa F, diketahui senyawa memiliki aktivitas lebih baik dibandingkan senyawa sebelumnya. Senyawa F juga memiliki aktivitas paling baik diantara 2 senyawa lainnya. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Thomchan & Sindhu (2015) tersebut, diketahui bahwa penambahan Br pada senyawa F menghasilkan senyawa yang beraktivitas semakin baik. Senyawa F tidak hanya berefek pada Gram negatif saja namun berefek juga terhadap Gram

positif. KBM yang dihasilkan senyawa F pada bakteri Gram positif bahkan lebih kecil dibandingkan dengan senyawa sebelumnya pada Gram negatif.

3.4 Hasil dilusi kurkumin. Uji dilusi dilakukan dengan sederet tabung reaksi dengan konsentrasi awal 10.000 ppm hingga konsentrasi akhir 39,063 ppm. Hasil uji dilusi kurkumin adapat dilihat pada tabel 7 dan gambar dapat dilihat dilampiran 10.

Tabel 7. Hasil uji dilusi kurkumin terhadap bakteri uji

Tabung	Konsentrasi (ppm)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			<i>Staphylococcus aureus</i> resisten ciprofloxacin		
		I	II	III	I	II	III
1	10.000	-	-	-	-	-	-
2	5.000	-	-	-	-	-	-
3	2.500	-	-	-	+	+	+
4	1.250	+	+	+	+	+	+
5	625	+	+	+	+	+	+
6	312,5	+	+	+	+	+	+
7	156,25	+	+	+	+	+	+
8	78,125	+	+	+	+	+	+
9	39,063	+	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) = keruh (ada pertumbuhan bakteri)
 (-) = jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)

KBM dari uji dilusi kurkumin pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin adalah sebesar 2.500 dan 5.000 ppm. Nilai KBM pada kurkumin lebih besar dibanding dengan ke tiga senyawa analog. Hasil ini menandakan bahwa aktivitas senyawa analog lebih baik dibanding kurkumin.

Kurkumin diketahui memiliki kelemahan pada sifat kelarutannya. Kelemahan ini terjadi karena adanya cincin fenolik yang menjadikan kurkumin bersifat hidrofobik. Sifat hidrofobik atau lipofilik ini akan mengurangi kemampuan masuknya senyawa ke dalam sel. Hal ini merupakan salah satu alasan kenapa analog kurkumin memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan kurkumin (Pouliquen 2014).

Pembahasan sebelumnya dikatakan bahwa perubahan sedikit saja pada struktur suatu antibakteri dapat mempengaruhi aktivitas yang dihasilkan (Harmita *et al.* 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Pandey (2011) dengan merubah gugus

fenolik kurkumin menunjukkan hasil biokonjugat memiliki lipofilisitas yang lebih baik dibandingkan dengan kurkumin itu sendiri. Perubahan struktur ini mengakibatkan sifat lipofilik kurkumin berubah sehingga senyawa lebih mudah masuk ke dalam sel dan meningkatkan aktivitasnya sebagai antibakteri.

Senyawa D, E dan F juga mengalami perubahan struktur pada bagian gugus fenolnya. Perubahan pada gugus fenolik menyebabkan senyawa analog kurkumin ini juga terjadi perubahan lipofilisitasnya, sehingga senyawa D, E dan F lebih mudah masuk ke dalam sel. Senyawa D, E dan F selain terjadi perubahan struktur juga terdapat penambahan gugus halogen yaitu bromo. Gugus Bromo diketahui memiliki aktivitas cukup baik sebagai antibakteri (Prasad 2006).

Pembahasan pada senyawa D, E dan F sebelumnya menyatakan bahwa perubahan struktur dapat merubah aktivitas suatu senyawa. Baik menaikkan maupun menurunkan aktivitas. Hasil ini juga membuktikan bahwa setelah terjadi perubahan struktur kurkumin dan ditambah dengan pemasukan gugus bromo pada ketiga senyawa tersebut, aktivitas yang dihasilkan lebih baik dibandingkan dengan kurkumin.

3.5 Hasil dilusi antibiotik ciprofloxacin. Antibiotik pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah ciprofloxacin. Uji dilusi juga dilakukan menggunakan sederet tabung dengan konsentrasi mulai dari 10.000 ppm hingga 0,610 ppm. Sama dengan dua senyawa lainnya, uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menginokulasikan seluruh tabung yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian diatas media VJA.

Ciprofloxacin merupakan salah satu obat golongan kuinolon (florokuinolon) yang memiliki aktivitas antibakteri lebih baik dibanding dengan asam nalidiksat. Kuinolon dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif maupun Gram positif. Ciprofloxacin memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat DNA *gyrase* dan topoisomerase IV pada bakteri (Katzung 2004). Hasil uji dilusi dapat dilihat pada tabel 8 dan gambar dapat dilihat pada lampiran 11.

Tabel 8. Hasil uji dilusi antibiotik ciprofloxacin terhadap bakteri uji

Tabung	Konsentrasi (ppm)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			<i>Staphylococcus aureus</i> resisten ciprofloxacin		
		I	II	III	I	II	III
1	10.000	-	-	-	-	-	-
2	5.000	-	-	-	-	-	-
3	2.500	-	-	-	-	-	-
4	1.250	-	-	-	+	+	+
5	625	-	-	-	+	+	+
6	312,5	-	-	-	+	+	+
7	156,25	+	+	+	+	+	+
8	78,125	+	+	+	+	+	+
9	39,063	+	+	+	+	+	+
10	19,531	+	+	+	+	+	+
11	9,766	+	+	+	+	+	+
12	4,883	+	+	+	+	+	+
13	2,441	+	+	+	+	+	+
14	1,221	+	+	+	+	+	+
15	0,610	+	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) = keruh (ada pertumbuhan bakteri)
(-) = jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)

Hasil uji dilusi antibiotik ciprofloxacin didapat nilai KBM pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 312,5 ppm dan 2.500 ppm pada *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin. KBM ciprofloxacin yang berbeda antara bakteri resisten dan non resisten bisa disebabkan karena pada *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin mengalami mutasi kromosomal pada topoisomerase IV. Mutasi ini menyebabkan bakteri kebal terhadap ciprofloxacin. Bakteri bisa juga mendapatkan gen resistensi ekstrakromosomal melalui proses transformasi, transduksi atau melalui pemindahan fragmen DNA lainnya. Bakteri juga dapat mengalami perubahan pada permeabilitas membran eksternal yang menyebabkan berkurangnya akumulasi obat dalam bakteri (Jawetz 2008; Katzung 2004; Radji 2010). Perubahan-perubahan pada bakteri ini menyebabkan kepekaan *Staphylococcus aureus* terhadap ciprofloxacin berkurang dan timbul resistensi.

Hasil dilusi diketahui bahwa ciprofloxacin memiliki aktivitas antibakteri yang masih lebih baik jika dibandingkan dengan kurkumin pada kedua bakteri uji.

Hal ini menandakan bahwa kurkumin belum bisa dijadikan alternatif antibakteri. Perlu penelitian lebih lanjut pada kurkumin tentang fungsinya sebagai antibakteri.

Perbandingan ketiga senyawa analog kurkumin dengan ciprofloxacin menunjukkan hasil yang berbeda dari kurkumin. Ketiga senyawa analog kurkumin tersebut lebih aktif dibandingkan dengan ciprofloxacin pada kedua bakteri uji. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa analog kurkumin dapat dipertimbangkan sebagai alternatif antibakteri. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap ketiga senyawa ini sebelum dikembangkan menjadi antibiotik guna mencapai keamanan pada penggunaannya.

Lebih aktifnya senyawa analog kurkumin dibandingkan dengan ciprofloxacin mungkin disebabkan karena aktivitas senyawa yang sangat kuat. Hal ini menyebabkan hasil KBM yang didapat lebih kecil dibandingkan dengan ciprofloxacin. Florokuinolon memiliki aktivitas yang terbatas terhadap bakteri Gram positif. Ciprofloxacin memiliki aktivitas yang bagus terhadap bakteri Gram negatif dan aktivitas yang sedang hingga baik terhadap bakteri Gram positif (Katzung 2004).

Efek tersebut terjadi karena ciprofloxacin bekerja dengan menghambat enzim DNA-girase, dan aktivitas enzimatik dari suatu bakteri ditentukan oleh jumlah lipid dan lipoprotein yang dikandung oleh bakteri tersebut. Bakteri Gram negatif memiliki komposisi lipid 11–22%, sementara bakteri Gram positif hanya memiliki komposisi lipid 1–4%, sehingga ciprofloxacin lebih efektif dalam membunuh bakteri Gram negatif (Kumala & Amelia 2009). Alasan ini bisa juga mendasari kenapa senyawa analog kurkumin lebih aktif dibanding ciprofloxacin.

4. Hasil analisis kebocoran sel

Penelitian lebih lanjut terhadap pengaruh yang diberikan senyawa analog kurkumin pada bakteri dilakukan dengan menganalisis kebocoran sel. Analisis kebocoran sel dilakukan senyawa F terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pemilihan senyawa dan bakteri ini karena senyawa F merupakan senyawa teraktif dibandingkan dengan dua senyawa lainnya.

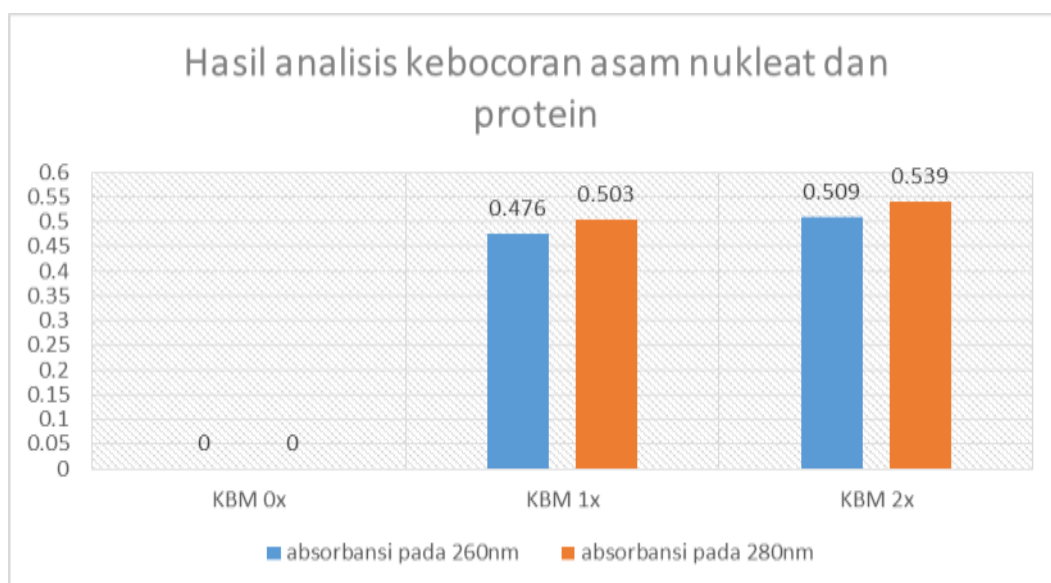
Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa senyawa F paling aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibandingkan pada

Staphylococcus aureus resisten ciprofloxacin. Hasil ini dibuktikan dengan nilai KBM pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 lebih kecil dibanding pada *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin. Alasan tersebut mendasari pemilihan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebagai bakteri uji kebocoran membran.

4.1 Hasil analisis kebocoran asam nukleat dan protein. Analisa kebocoran asam nukleat dan protein dilakukan dengan menggunakan UV-Vis. Pengamatan dilakukan dengan mengamati adanya peningkatan nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm. Hasil dapat dilihat pada tabel 9 dan gambar 8. Lampiran dapat dilihat pada lampiran 13.

Tabel 9. Hasil absorbansi UV-Vis pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

λ (nm)	Absorbansi KBM 0x	Absorbansi KBM 1x	Absorbansi KBM 2x
260	0	0,476	0,509
280	0	0,503	0,539



Gambar 8. Hasil absorbansi UV-Vis

Kurkumin mampu mengubah permeabilitas membran sehingga akan menyebabkan kebocoran nutrisi pada sel bakteri dan menyebabkan bakteri mati. Senyawa analog kurkumin yang merupakan hasil dari modifikasi struktur

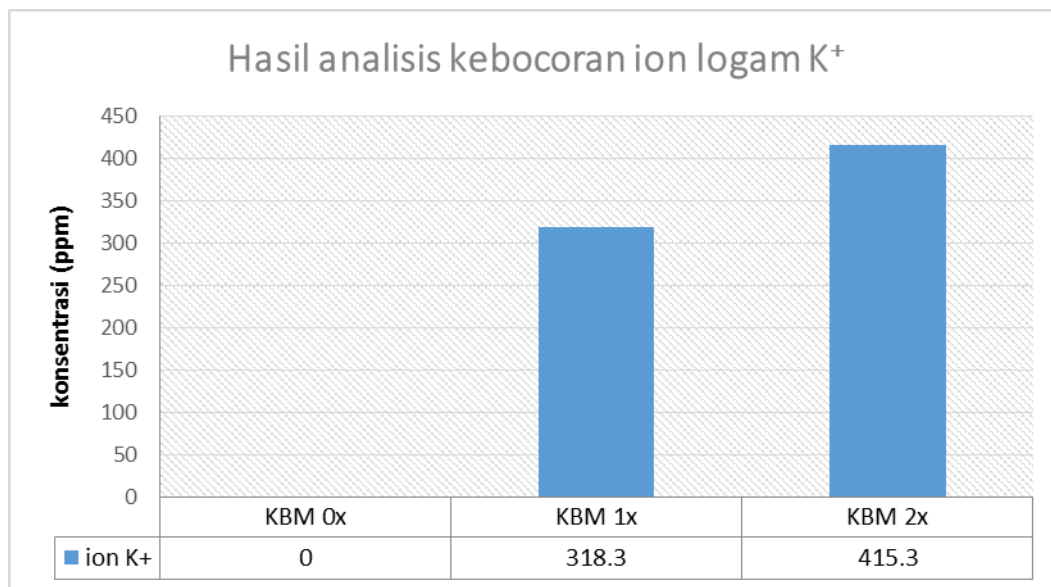
kurkumin diduga memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja yang sama yaitu merubah permeabilitas membran (Mun *et al.* 2014).

Hasil analisis kebocoran asam nukleat dan protein (gambar 8) diketahui hasil absorbansi pada kedua panjang gelombang mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan KBM senyawa F. Nilai absorbansi pada panjang gelombang 260 nm meningkat dari 0,476 pada KBM 1x menjadi 0,509 pada KBM 2x. Peningkatan juga terjadi pada panjang gelombang 280 nm yaitu dari 0,503 menjadi 0,539. Peningkatan ini menunjukkan semakin tingginya KBM senyawa F, semakin banyak juga jumlah sel yang bocor. Kebocoran sel ditandai dengan keluarnya material sel seperti asam nukleat dan protein yang terdeteksi pada panjang gelombang 260 nm dan 280 nm sebagai nilai absorbansi (Asriani 2007). Absorbansi pada 260 nm menandakan terdeteksinya asam nukleat sementara absorbansi pada 280 nm menandakan terdeteksi adanya protein akibat bocornya membran sel (Wu 2008).

Kebocoran sel terjadi karena terdapatnya interaksi antara senyawa F dengan komponen membran luar sel terutama komponen fosfolipid yang membentuk pori pada membran sel bakteri. Interaksi ini menyebabkan perubahan fosfolipid sehingga terjadi pembesaran pori pada sel. Hal ini akan berdampak molekul yang berukuran lebih besar dapat keluar dari membran sel atau sifat permeabilitas membran sel mengalami perubahan. Gangguan permeabilitas ini menyebabkan terjadinya kebocoran protein dan asam nukleat (Asriani 2007; Jawetz 2008).

Terdapatnya nilai absorbansi menandakan senyawa F mampu menyebabkan keluarnya asam nukleat dan protein dari dalam sel. Hal ini berarti senyawa analog kurkumin masih memiliki mekanisme yang sama dengan kurkumin yaitu dengan merubah permeabilitas sel bakteri.

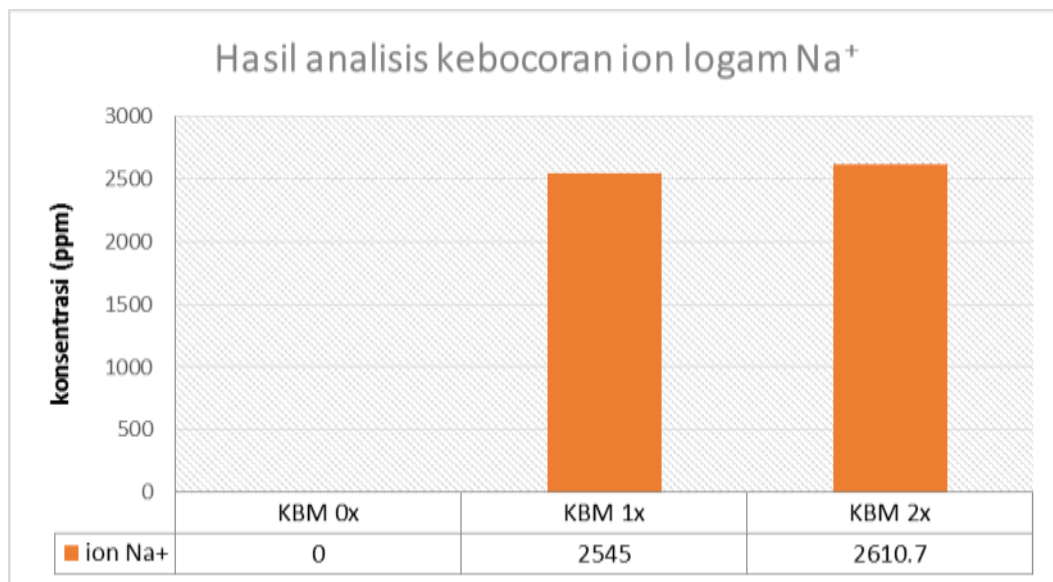
4.2 Hasil analisis kebocoran ion logam. Analisis dilakukan dengan pengamatan keluarnya ion logam K^+ dan Na^+ menggunakan AAS. Terdeteksinya ion logam K^+ dan Na^+ menandakan sel mengalami kebocoran. Hasil pengukuran ion logam, terutama ion K^+ dan Na^+ pada konsentrasi 0, 1 dan 2x KBM dapat dilihat pada gambar 9 dan 10. Lampiran dapat dilihat pada lampiran 13.



Gambar 9. Hasil analisis kebocoran ion logam K⁺

Hasil analisis ion logam K⁺ mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya nilai KBM, yaitu dari 318,3 ppm pada KBM 1x menjadi 415,3 ppm pada KBM 2x. Hasil menunjukkan semakin tinggi KBM senyawa F, semakin banyak ion logam K⁺ yang keluar. Hal ini menandakan semakin banyak jumlah sel yang bocor. Ion K⁺ merupakan ion logam yang berada dalam sitoplasma sel. Ion K⁺ juga memiliki peran dalam sistem transport bersama dengan ion Na⁺. (Yatim 2003). Menurut Jawetz (2008) ion K⁺ memiliki peran penting dalam kesatuan ribosom.

Perubahan permeabilitas membran sel akibat kontak senyawa F dengan membran sitoplasma atau membran sel menyebabkan keluarnya material sel. Indikasi kerusakan membran sitoplasma yaitu dengan terjadinya kebocoran kandungan sitoplasma seperti ion K⁺. Peningkatan jumlah ion K⁺ diluar sel merupakan tanda kerusakan permeabilitas membran sel (Asriani 2007; Cox *et al.* 2001; Yatim 2003).



Gambar 10. Hasil analisis kebocoran ion logam Na⁺

Hasil analisis kebocoran ion logam Na⁺ juga menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi pada KBM 1x dan KBM 2x. Hasil ini juga menandakan semakin besar konsentrasi senyawa F yang diberikan, semakin banyak ion logam Na⁺ yang keluar maka semakin banyak jumlah sel yang bocor akibat pemberian senyawa F.

Membran sitoplasma merupakan lapisan tipis yang berada di dalam dinding sel yang melapisi sitoplasma. Membran sitoplasma membentuk sawar hidrofilik yang impermeabel terhadap sebagian besar molekul hidrofilik. Sel hidup memerlukan mekanisme (sistem transport) yang memungkinkan sel melakukan transport nutrient ke dalam sel dan membuang produk sampah ke luar sel. Ion Na⁺ merupakan salah satu ion logam penting dalam sel yang berperan dalam sistem transport sebagai pembawa umum. Ion Na⁺ juga berperan dalam mengatur keseimbangan asam basa dan menjaga tekanan osmosis (Yatim 2003; Radji 2011; Jawetz 2014).

Sitoplasma mengandung protein, enzim, karbohidrat, lipid, ion-ion anorganik dan lainnya. Selain ion K⁺, dalam sitoplasma juga terdapat adanya ion Na⁺ (Yatim 2003). Kebocoran sel bakteri menyebabkan penyusutan sitoplasma keluar termasuk ion logam Na⁺. Peningkatan jumlah ion Na⁺ diluar sel merupakan tanda kerusakan permeabilitas membran sel (Cox *et al.* 2001).

Senyawa kurkumin diketahui dapat merubah permeabilitas membran bakteri. Kurkumin juga mampu berikatan dengan peptidoglikan dinding sel bakteri dan mengganggu integritasnya, sehingga nutrisi sel menurun dan berdampak kematian sel (Mun *et al.* 2014). Keseluruhan hasil analisis kebocoran sel menunjukkan bahwa senyawa analog kurkumin dapat mempengaruhi permeabilitas membran sel bakteri. Perubahan permeabilitas ini berdampak pada kebocoran nutrisi bakteri sehingga bakteri akan mati. Asriani (2007) menyebutkan kebocoran sel mikroba ditandai dengan keluarnya berbagai komponen seperti protein, asam nukleat, maupun ion-ion logam yang berperan penting dalam metabolisme sel. Sejalan dengan penelitian tersebut, senyawa analog kurkumin diketahui juga dapat menyebabkan kebocoran pada sel. Hal ini ditandai dengan keluarnya asam nukleat, protein dan ion logam K^+ dan Na^+ .

Perubahan struktur pada kurkumin sehingga dihasilkan senyawa analog kurkumin D, E dan F menunjukkan hasil senyawa analog kurkumin masih memiliki aktivitas antibakteri. Ketiga senyawa bahkan beraktivitas lebih baik dibandingkan dengan kurkumin itu sendiri. Senyawa analog kurkumin merupakan senyawa hasil dari modifikasi struktur kurkumin sehingga memiliki mekanisme yang sama dengan kurkumin (Dwiningsih 2016). Hasil analisis kebocoran sel menunjukkan dengan adanya perubahan struktur dan penambahan gugus bromo diketahui tidak merubah mekanisme kerjanya sebagai antibakteri. Senyawa analog kurkumin masih memiliki mekanisme yang sama dengan kurkumin yaitu dengan merubah permeabilitas membran sel.

Penelitian ini juga menunjukkan bahwa mekanisme kerja antibakteri senyawa analog kurkumin berbeda dengan ciprofloxacin. Ciprofloxacin yang digunakan sebagai kontrol memiliki mekanisme kerja dengan cara menghambat sintesis DNA (Tjay & Rahardja 2013). Senyawa F memiliki mekanisme antibakteri yang sama dengan kurkumin yaitu dengan merubah permeabilitas membran sel sehingga berdampak pada bocornya isi sel. Kebocoran isi sel bakteri ditandai dengan keluarnya komponen seperti asam nukleat, protein serta keluarnya ion logam K^+ dan Na^+ pada analisis kebocoran sel dengan UV-Vis dan AAS.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil dari penelitian ini 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 senyawa 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on (senyawa F) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin.

Kedua, senyawa 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on (senyawa F) merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri teraktif terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, senyawa 1,5-bis(5'-bromo-2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on (senyawa F) dapat menyebabkan kebocoran pada membran sel bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan bakteri Gram negatif atau Gram positif lainnya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan bakteri resisten lainnya.
3. Perlu dilakukan analisis kebocoran sel dengan ion logam lainnya.
4. Perlu dilakukan uji SEM untuk mengetahui bentuk kerusakan pada permukaan sel bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali Syeda Q, Zehra A, Naqvi Baquar S, Shah S, Byshra R. 2010. Resistance Pattern of Ciproflxacin Against Diffrent Pathogens. *Oman Medical Journal* 25.
- Anand P *et al.* 2008. Biological Activities of Curcumin and Its Analogues(Congeners) Made by Man and Mother Nature. India.
- Asriani, Laksmi BS, Yasni S, Sudirman I. 2007. Mekanisme Antibakteri Metabolit Lb.platinum kik dan Monoasilgliserol Minyak Kelapa terhadap Bakteri Patogen Pangan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 18(2):126-133.
- Azrifitrial, Aziz S, Chairul. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Daun dan Umbi Crinum asiaticum L. terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(4),236– 241
- Baharutan A, Rares FES, Soeliogan S. 2015. Pola Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial pada Ruang Perawatan Intensif Anak di Blu Rsup Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 3.
- Bonang G & Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Gramedia: Jakarta.
- BPTO. 2006. Mengatasi Demam Berdarah dengan Tanaman Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* 28: 6-8.
- Brahmana EM. 2015. Sintesis dan Uji Antibakteri Senyawa (E)-1-(2-klorofenil)-3-P-tolilprop-2-en-1-on. *Jurnal Ilmiah Edu Reseacrh* 4: 103-108.
- Budyanto MAK. 2002. *Mikrobiologi Terapan*. UMM Press: Malang. Hal: 86.
- Chattopdhyay I, Biswas K, Bandyopdhyay U, Banerje KR. 2004. Turmeric and Curcumin: Biological Actions And Medicinal Applications. *Current Science* 87: 44-53.
- Cox SD, Mann CM, Markham JL, Gustafson JE, Warmington JR, Wyllie SG. 2001. Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. *Molecules*, 6: 87-91.
- Da'i. 2011. Perkembangan Riset Kurkumin: Sintesis dan Uji Aktivasnya, Seminar Nasional Kunyit (Curcuma longa): Tinjauan Filosofi dan Ilmiah. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, Beach M. 2001. Survey of infections due to Staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, the Western Pacifi region

- for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 1997–1999 [Abstrak]. *Clin Infect Dis* 32 (Suppl 2): S114–S132.
- Dwiningsih, Nopiyanti V, Rahmawati I, Wibowo MS, Tjahjono DH. 2016. Uji Mekanisme Kerja Antibakteri Senyawa 1,5-di(2'-furanil)-1,4-pentadien-3-on ANALOG Kurkumin terhadap Beberapa Bakteri. *Biomedika* 9: 32-36.
- El-Jakee J, Nagawa AS, Bakry M, Zouelfakar Sahar A, Elgabry E, Gad El-Said WA. 2008. Characteristics of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Human and Animal Sources. *American-Eurasian J. Agric. & Environ* 4: 221-229.
- Fessenden Ralph J, Fessenden Joan S. 1999. *Kimia Organik, Vol 1*. Edisi 3. Translated by A. Handyana Pujatmaka. Erlangga: Jakarta.
- Harris LG, Foster SJ, Richards RG. 2002. An Introduction to *Staphylococcus aureus*, and Techniques for Identifying and Quantifying *S. aureus* Adhesins in Relation to Adhesion to Biomaterials. *European Cells and Materials* 4: 39-60.
- Hayati Z, Azwar, Puspita I. 2012. Pola dan Sensitivitas Antibiotik Bakteri yang Berpotensi Sebagai Penyebab Infeksi Nosokomial di Ruang Rawat Bedah RSUDZA Banda Aceh. *Jurnal Kedokteran Yasri* 20: 158-166.
- Hermita AA.Kd, Hayun, Harahap Y. 2011. *Buku Ajar Kimia Medisinal*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. 2014. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 25*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Joe. 2004. *Senyawa kimia yang terdapat pada rempah–rempah*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Katzung BG. 2004. *Farmakologi: Dasar dan Klinik Edisi 3*. Penerbit Salemba Empat: Jakarta.
- Kumala S dan Amalia. 2009. Efek Pasca Antibiotik Ciprofloxacin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Ilmu Kefarmasian* 7(2): 99-103.
- Kurniawan J, Erly, Semiarty R. 2015. Pola Kepekaan Bakteri Penyebab Penumonia terhadap Antibiotik di Laboratorium Mikrobiologi RSUP Dr. M. Djamil Padang Periode Januari sampai Desember 2011. *Jurnal Kesehatan Andalas* 4(2):562-566.

- Lourentina SN. 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.
- Mun SH, Kim SB, Kong R. 2014. Curcumin Reverse Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Molecules* 19: 18283-18295.
- Pandiangan M. 2008. *Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kunyit (Curcuma domestica val) Terhadap Bakteri Patogen*. Media Unika: Medan.
- Pandey A, Gupta RK, Bhargava A, Agrawal B. 2011. Antibacterial Activities of Curcumin Bioconjugates. *International Journal of Pharmacology* 7: 874-879.
- Parut AA. 2015. Resistensi Antibiotik pada Ibu Hamil dengan Bakteriuria Asimptomatik. *Jurnal Ners LENTERA* 3(1): 51-57.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 1986. *Dasar – dasar Mikrobiologi Jilid I*. UI-Press: Jakarta. Hal: 134-138.
- Plata K, Rosato AE, Wegrzyn G. 2009. *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. USA.
- Pouliquen DL. 2014. *Curcumin: Synthesis, Emerging Role in Pain Management and Health*. Nova Science: New York.
- 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(13): 236-241.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- PERMENKES. 2011. *Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik*. Jakarta.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
- Rahmawati I. 2009. Sintesis dan Uji Aktivitas Antibakteri 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.
- Rahmawati I, Iswandi, Sardjiman. 2014. Uji aktivitas antibakteri senyawa 2,6-bis-(2-furilidin) sikloheksanon terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten. *J. Sains Dasar* 3: 174 – 182.

- Rahman MN. 2009. Aktivitas Antibakteri Senyawa Hasil Biotransformasi Kurkumin oleh Mikrob Endofit Asal Kunyit. *Departemen biokimia fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam institut pertanian bogor*: Bogor.
- Ramdja AF, Aulia RMA, Mulya P. 2009. Ekstraksi kurkumin dari temulawak dengan menggunakan etanol. *Jurnal Teknik Kimia* 16.
- Robinson TP, Ehler T, Hubbard RB, BaiX, Arbiser JL, Goldsmith DJ, dan Bowen JP. 2003. Design, Synthesis and Biological Evaluation of Aromatic Enones Related to Curcumin. *Bioorg. Med. Chem. Let.*13, 115-117.
- Rosenbach F., Weisdaben, Bergman JF. 1884. *Journal of Bacteriology*. 31 (6): 611-624.
- Rezki RS, Anggoro D, MZ Siswarni. 2015. Ekstraksi multi tahap kurkumin dari kunyit (*curcuma domestica valet*) menggunakan pelarut etanol. *Jurnal Teknik Kimia USU* 29.
- Schito GC. 2006. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 12: 3–8.
- Siswandono dan Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal Edisi 2*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Staff. 2014. *Performance Standard for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI* 34 : 68-75.
- Sulistyaningrum NF. 2016. Pola Kuman dan Uji Sensitivitasnya terhadap Antibiotik pada Penderita Infeksi Luka Operasi (ILO) di Rsud Dr Moewardi Periode Januari – Juli 2015 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Sulistyaningsih, Runtuboi DYP, Waworuntu LV. 2014. Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri yang Diisolasi dari Ulkus Diabetika di RSUD Abepura, Kota Jayapura. *Jurnal Biologi Papua* 6.
- Tjay TH, Rahardja K. 2013. *Obat-obat Penting*. Elex Media Komputindo: Jakarta. Hal: 146-149.
- Thomchan S, Sindhu S. 2015. Antibacterial and Antifungal Activities of Curcuminoid Analogue with Chloro Substituted Phenyl Ring and the Transition Metal Chelates. *International Journal of Science and Research* 4: 1676-1680.
- Wu VCH. 2008. A Review of Microbial Injury and Recovery Methods in Food. *Food Mircobiology* 25: 735-744.
- Yatim W. 2003. *Biologi Modern Biologi Sel*. Tarsit: Bandung.

Lampiran 1. Perhitungan pembuatan larutan stok senyawa dan pengencerannya

Senyawa D

$$\text{Senyawa D} = \frac{0,0503\text{g} \times 1000}{0,005\text{L}} = 10.060 \text{ ppm setara dengan } 10.000 \text{ ppm}$$

$$\text{Tabung 1} = 10.060 \text{ ppm}$$

Tabung 2

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 10.060\text{ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 5030 \text{ ppm}$$

Tabung 3

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 5030 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 2515 \text{ ppm}$$

Tabung 4

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 2515 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 1257,5 \text{ ppm}$$

Tabung 5

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 1257,5 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 628,75 \text{ ppm}$$

Tabung 6

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 628,75 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$
$$C_2 = 314,375 \text{ ppm}$$

Tabung 7

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$
$$50\mu\text{l. } 314,375 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$
$$C_2 = 157,188 \text{ ppm}$$

Tabung 8

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$
$$50\mu\text{l. } 157,188 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$
$$C_2 = 78,594 \text{ ppm}$$

Tabung 9

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$
$$50\mu\text{l. } 78,594 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$
$$C_2 = 39,297 \text{ ppm}$$

Tabung 10

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$
$$50\mu\text{l. } 39,297 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$
$$C_2 = 19,648 \text{ ppm}$$

Tabung 11

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$
$$50\mu\text{l. } 19,648 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$
$$C_2 = 9,824 \text{ ppm}$$

Tabung 12

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

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

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

Tabung 13

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

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

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

Tabung 14

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

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

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

Tabung 15

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

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

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

Senyawa E

$$\text{Senyawa E} = \frac{0,0504\text{g} \times 1000}{0,005\text{L}} = 10.080 \text{ ppm setara dengan } 10.000 \text{ ppm}$$

$$\text{Tabung 1} = 10.080 \text{ ppm}$$

Tabung 2

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 10.080\text{ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 5040 \text{ ppm}$$

Tabung 3

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 5040 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 2520 \text{ ppm}$$

Tabung 4

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 2520 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 1260 \text{ ppm}$$

Tabung 5

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 1260 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 630 \text{ ppm}$$

Tabung 6

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 630 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 315 \text{ ppm}$$

Tabung 7

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 315 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 157,5 \text{ ppm}$$

Tabung 8

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

Tabung 9

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

Tabung 10

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50\mu\text{l} \cdot 39,375 \text{ ppm} &= 100\mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 19,688 \text{ ppm}\end{aligned}$$

Tabung 11

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50\mu\text{l} \cdot 19,688 \text{ ppm} &= 100\mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 9,844 \text{ ppm}\end{aligned}$$

Tabung 12

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

Tabung 13

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

$$C_2 = 2,461 \text{ ppm}$$

Tabung 14

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 2,461 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

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

Tabung 15

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 1,230 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 0,615 \text{ ppm}$$

Senyawa F

$$\text{Senyawa F} = \frac{0,0510\text{g} \times 1000}{0,005\text{L}} = 10.200 \text{ ppm setara dengan } 10.000 \text{ ppm}$$

$$\text{Tabung 1} = 10.200 \text{ ppm}$$

Tabung 2

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 10.200\text{ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 5100 \text{ ppm}$$

Tabung 3

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 5100 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 2550 \text{ ppm}$$

Tabung 4

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50\mu\text{l} \cdot 2550 \text{ ppm} &= 100\mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 1275 \text{ ppm}\end{aligned}$$

Tabung 5

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50\mu\text{l} \cdot 1275 \text{ ppm} &= 100\mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 637,5 \text{ ppm}\end{aligned}$$

Tabung 6

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50\mu\text{l} \cdot 637,5 \text{ ppm} &= 100\mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 318,75 \text{ ppm}\end{aligned}$$

Tabung 7

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50\mu\text{l} \cdot 318,75 \text{ ppm} &= 100\mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 159,375 \text{ ppm}\end{aligned}$$

Tabung 8

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50\mu\text{l} \cdot 159,375 \text{ ppm} &= 100\mu\text{l} \cdot C_2 \\C_2 &= 79,688 \text{ ppm}\end{aligned}$$

Tabung 9

$$\begin{aligned}V_1 \cdot C_1 &= V_2 \cdot C_2 \\50\mu\text{l} \cdot 79,688 \text{ ppm} &= 100\mu\text{l} \cdot C_2\end{aligned}$$

$$C_2 = 39,845 \text{ ppm}$$

Tabung 10

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 39,845 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 19,922 \text{ ppm}$$

Tabung 11

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 19,922 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 9,961 \text{ ppm}$$

Tabung 12

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 9,961 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 4,980 \text{ ppm}$$

Tabung 13

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 4,980 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 2,490 \text{ ppm}$$

Tabung 14

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 2,490 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 1,245 \text{ ppm}$$

Tabung 15

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 1,245 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 0,623 \text{ ppm}$$

Kurkumin

$$\text{Kurkumin} = \frac{0,1030 \text{ g} \times 1000}{0,01\text{L}} = 10.300 \text{ ppm setara dengan } 10.000 \text{ ppm}$$

$$\text{Tabung 1} = 10.300 \text{ ppm}$$

Tabung 2

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 10.300\text{ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 5150 \text{ ppm}$$

Tabung 3

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 5150 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 2575 \text{ ppm}$$

Tabung 4

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 2575 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 1287,5 \text{ ppm}$$

Tabung 5

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l. } 1287,5 \text{ ppm} = 100\mu\text{l. } C_2$$

$$C_2 = 643,75 \text{ ppm}$$

Tabung 6

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 643,75 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 321,875 \text{ ppm}$$

Tabung 7

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 321,875 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 160,938 \text{ ppm}$$

Tabung 8

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 160,938 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 80,469 \text{ ppm}$$

Tabung 9

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$50\mu\text{l}. 80,469 \text{ ppm} = 100\mu\text{l}. C_2$$

$$C_2 = 40,234 \text{ ppm}$$

Lampiran 2. Perhitungan pembuatan larutan stok antibiotik ciprofloxacin

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

Berat tablet = 0,664 gram

Berat serbuk = 0,642 gram

Kandungan tablet = 1 tablet mengandung 500mg ciprofloxacin

$$\frac{500\text{mg}}{36\text{mg}} = 13,888 \text{ ml} \sim 14\text{ml}$$

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


$$\text{Konsentrasi ciprofloxacin} = \frac{500\text{mg}}{0,014\text{L}} = 35.714 \text{ ppm}$$


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




$$14\text{ml} \cdot 35.714 \text{ ppm} = V_2 \cdot 10.000 \text{ ppm}$$

$$V_2 = 49,9996 \text{ ml} \sim 50\text{ml}$$





Lampiran 3. Alat yang digunakan






Nomer	Nama alat	Gambar
1	Mikroskop	
2	Autoklaf	
3	Kompur	
4	Almari pendingin	

5	Oven	
6	Inkubator	
7	Timbangan	
8	Sentrifuge	

9	Uv-Vis	
10	AAS	
11	Mikropipet	

Lampiran 4. Bahan yang digunakan

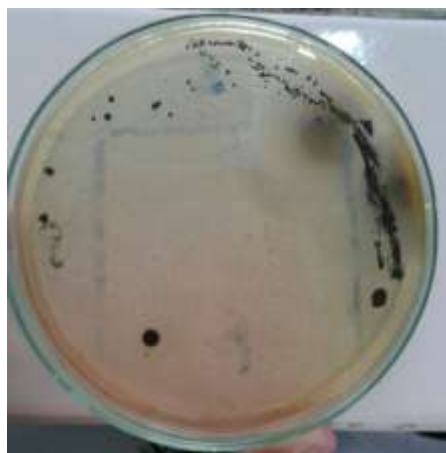
Nomer	Nama alat	Gambar
1	Plasma sitrat	
2	Hidrogen peroksida	
3	Kalium telurit	
4	Media	

5	Biakan bakteri dalam media BHI	
6	Aseton	
7	Senyawa uji	
8	Ciprofloxacin	
9	Kurkumin	

Lampiran 5. Hasil Identifikasi Bakteri Uji



A. Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin pada Na miring

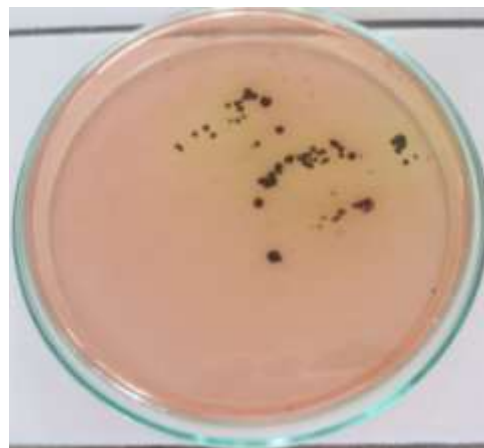


Resisten

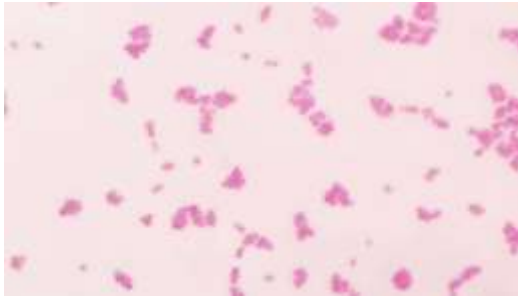


ATCC 25923

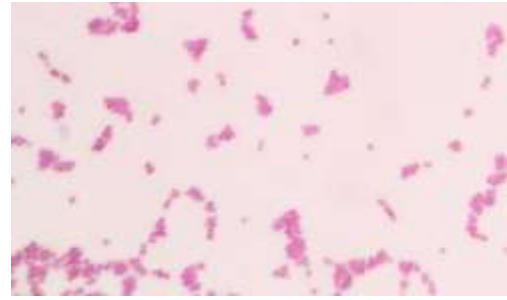
B. Hasil uji identifikasi bakteri uji pada media selektif



C. Hasil uji pada media selektif dengan penambahan kalium telurit



Staphylococcus aureus resisten



Staphylococcus aureus ATCC 25923

D. Hasil uji pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin



Resisten



ATCC 25923

E. Hasil uji koagulase

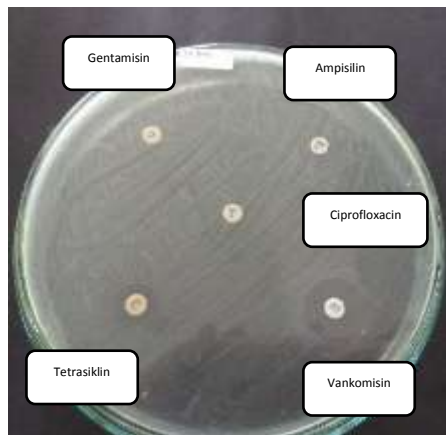


Staphylococcus aureus resisten



Staphylococcus aureus ATCC 25923

F. Hasil uji katalase



Staphylococcus aureus resisten



Staphylococcus aureus ATCC 25923

G. Hasil uji sensitivitas



Staphylococcus aureus resisten



Staphylococcus aureus ATCC 25923

H. Hasil suspensi bakteri sesuai dengan Mc Farland 0,5

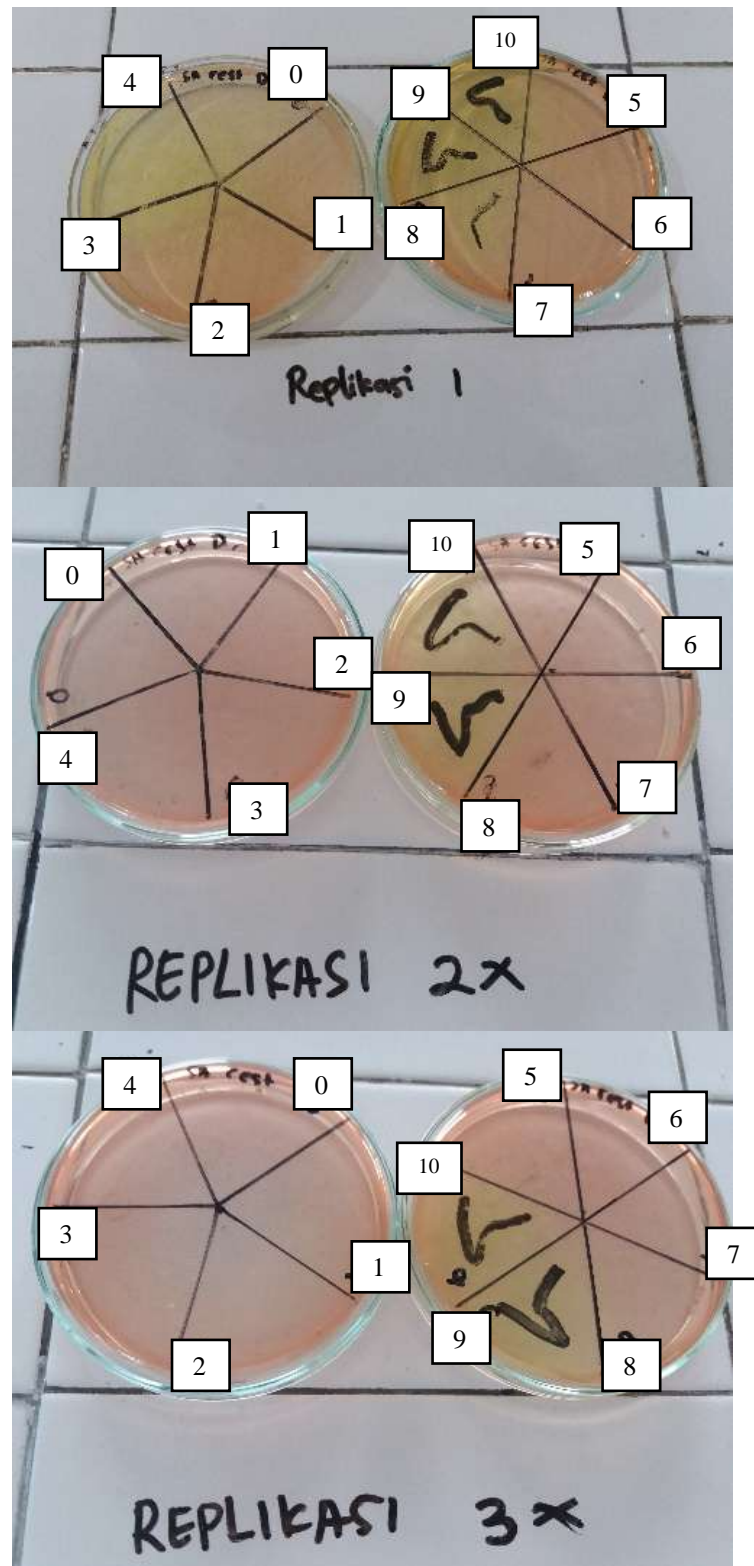
Lampiran 6. Hasil pembuatan senyawa stok senyawa**Senyawa stok****Lampiran 7. Hasil uji dilusi senyawa D terhadap bakteri uji****A. Kontrol negatif senyawa D**



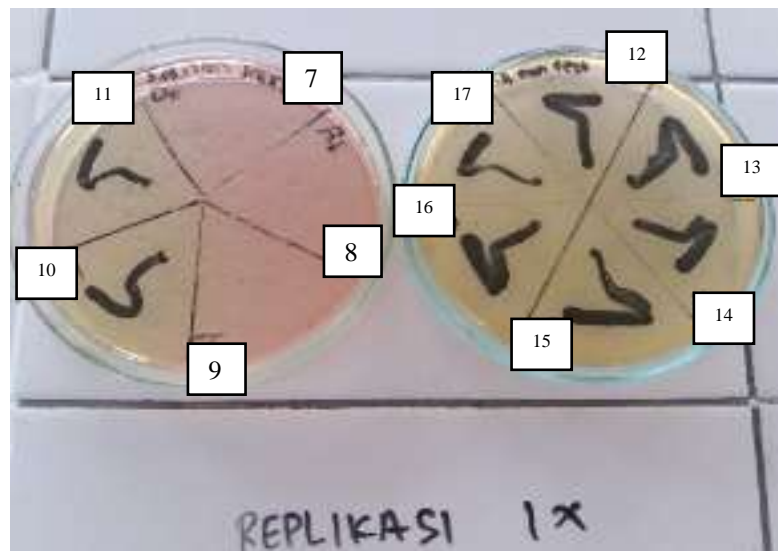
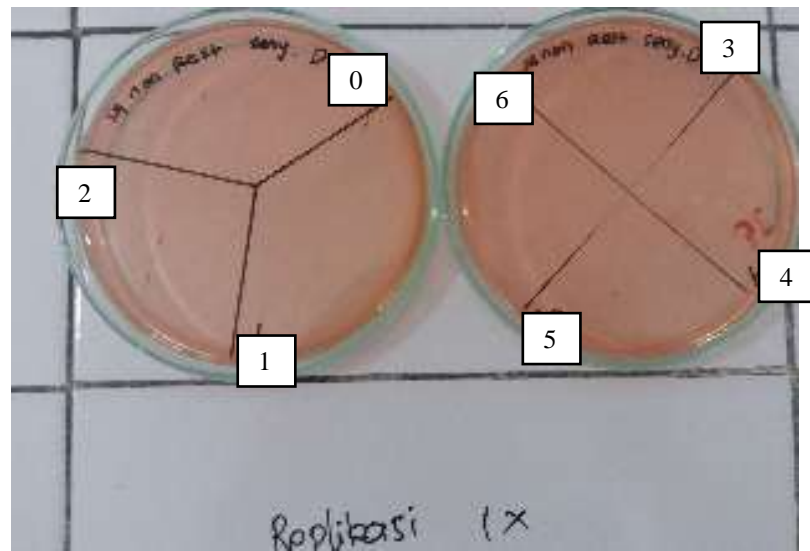
B. Hasil pengamatan KHM senyawa D terhadap *Staphylococcus aureus* resisten

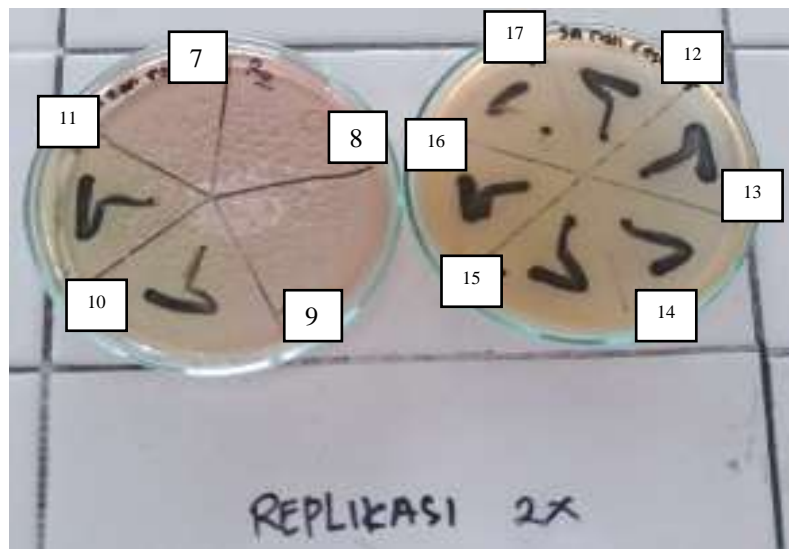
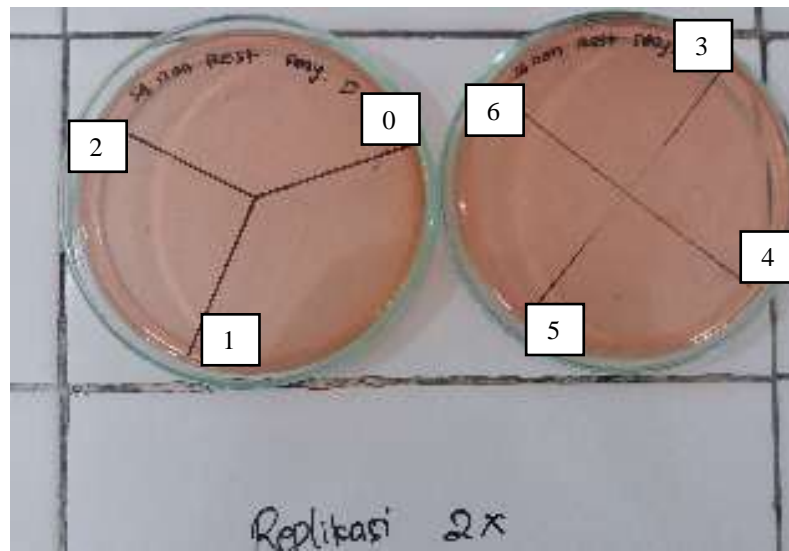


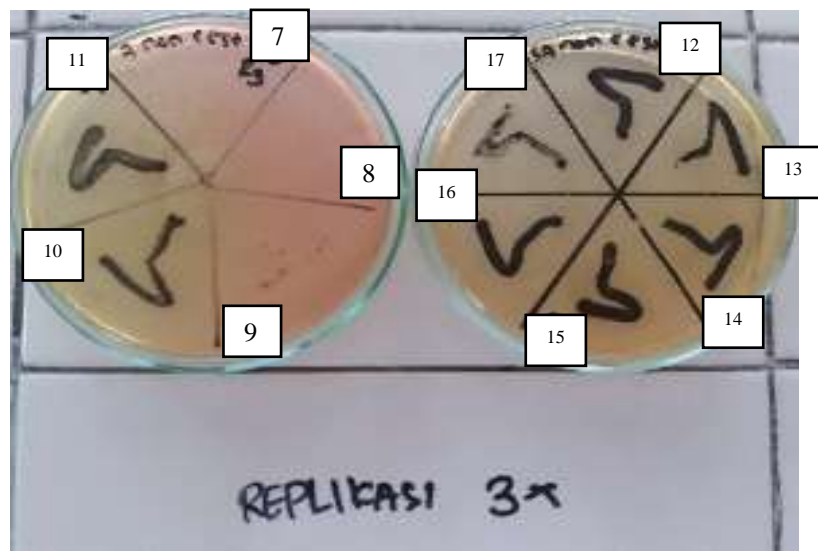
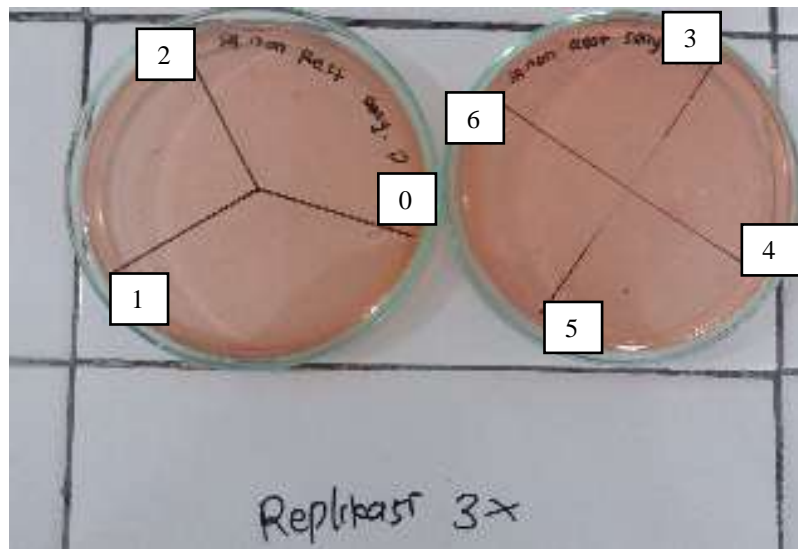
C. Hasil pengamatan KHM senyawa D terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



D. Hasil pengamatan KBM senyawa D terhadap *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin







E. Hasil pengamatan KKM senyawa D terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lampiran 8. Hasil uji dilusi senyawa E terhadap bakteri uji



A. Kontrol negatif senyawa E

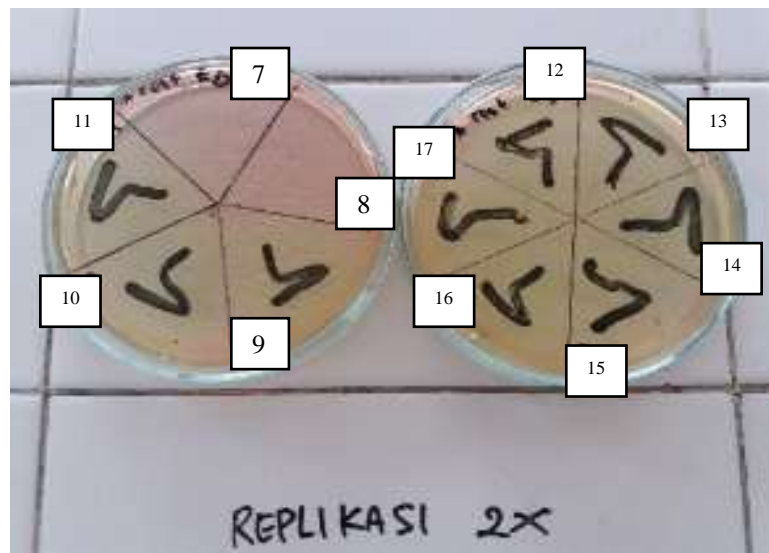
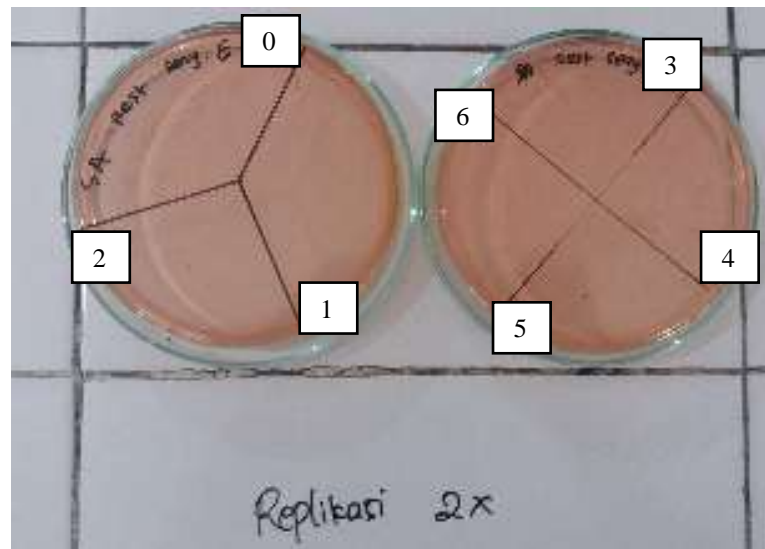


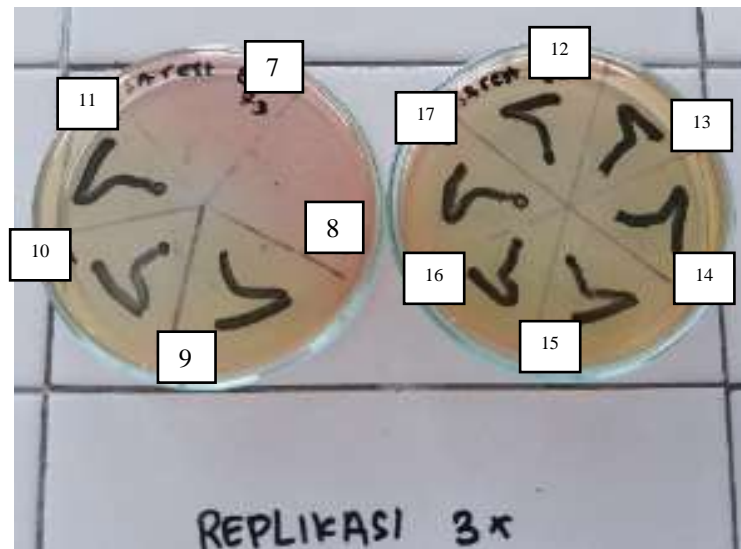
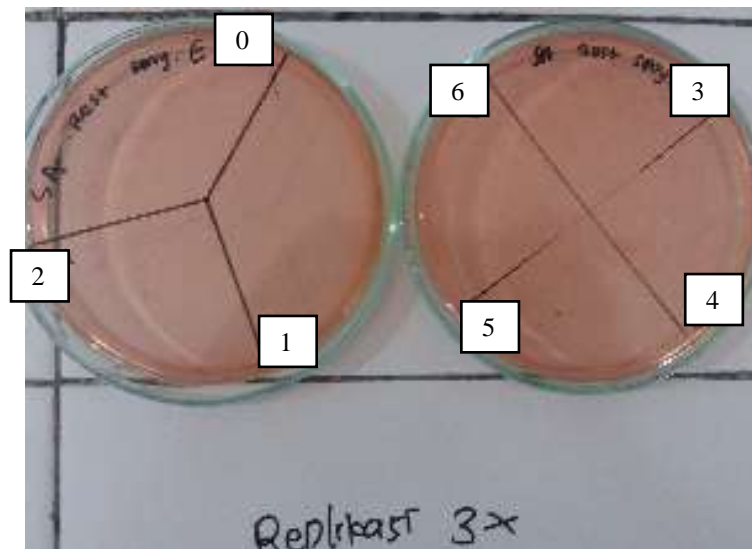
B. Hasil pengamatan KHM senyawa E terhadap *Staphylococcus aureus* resisten



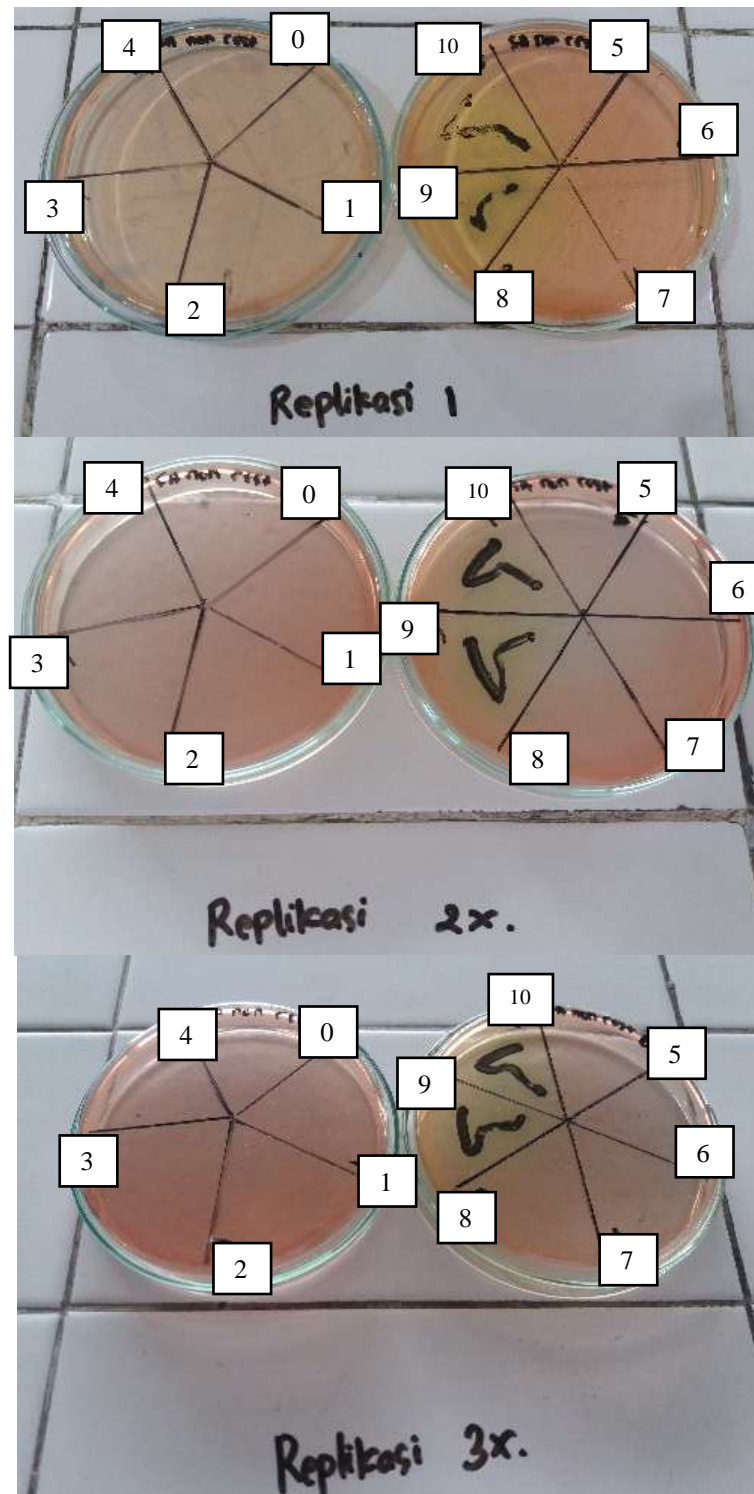
C. Hasil pengamatan KHM senyawa E terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923







D. Hasil pengamatan KBM senyawa E terhadap *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin



E. Hasil pengamatan KBM senyawa E terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lampiran 9. Hasil uji dilusi senyawa F terhadap bakteri uji



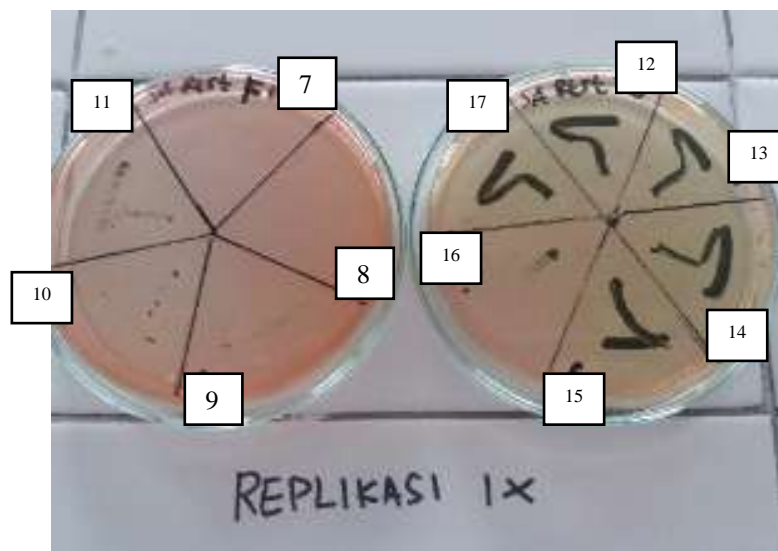
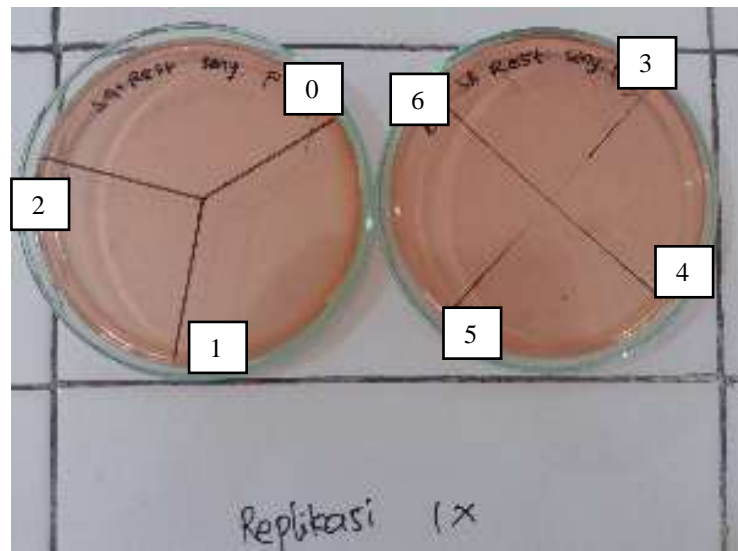
A. Kontrol negatif senyawa F

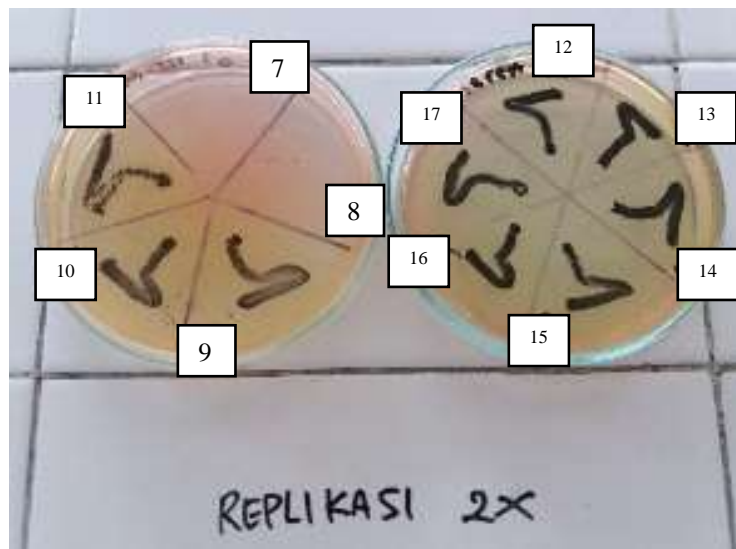
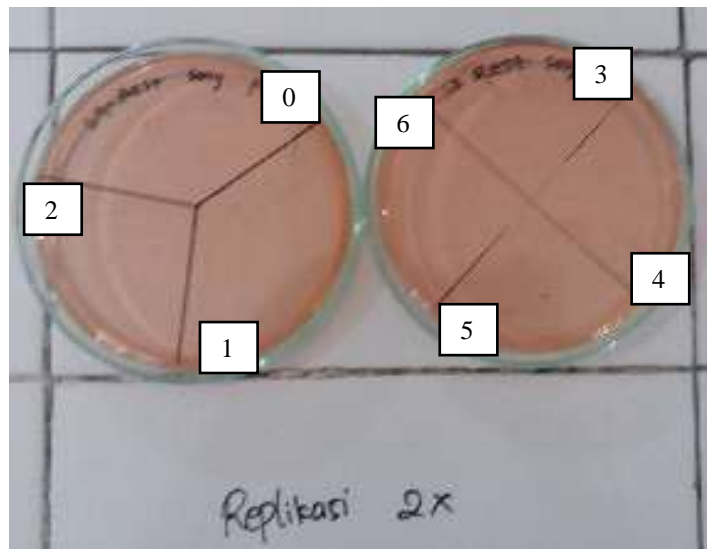


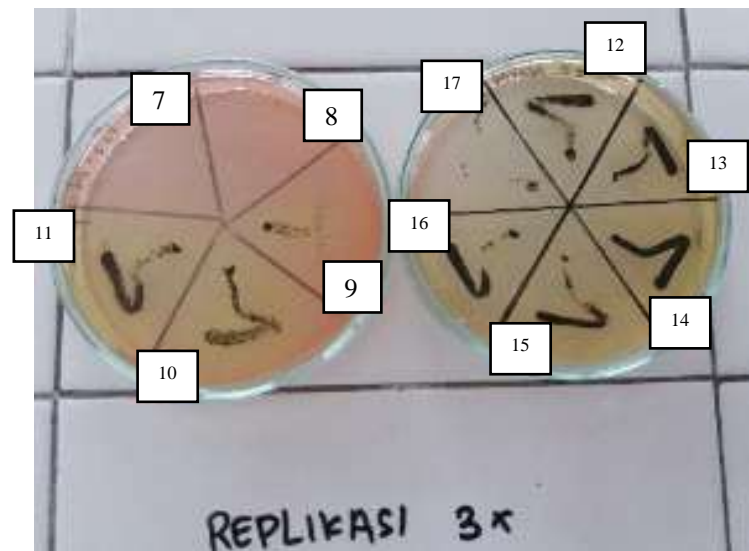
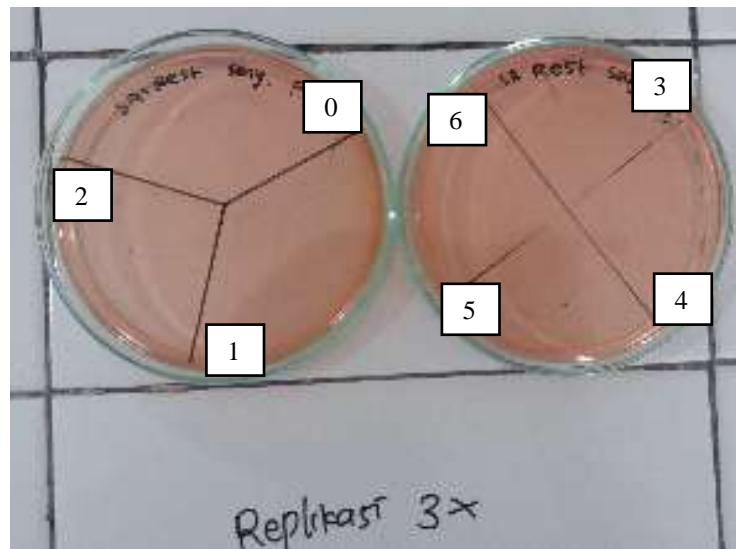
B. Hasil pengamatan KHM senyawa F terhadap *Staphylococcus aureus* resisten



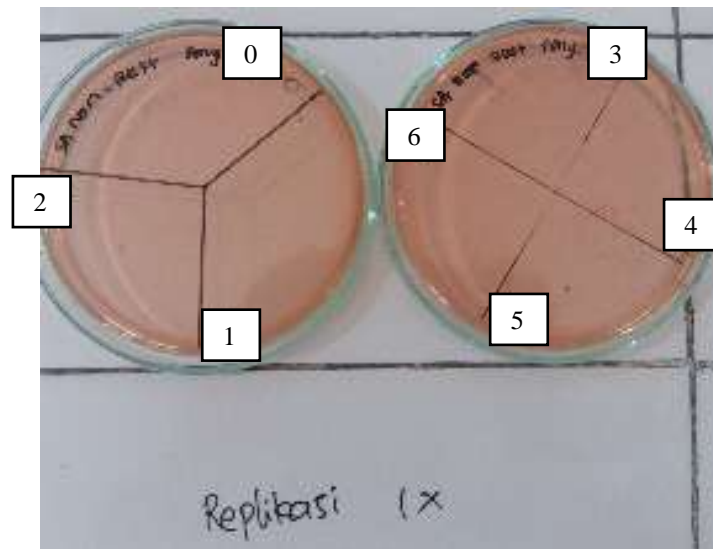
C. Hasil pengamatan KHM senyawa F terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

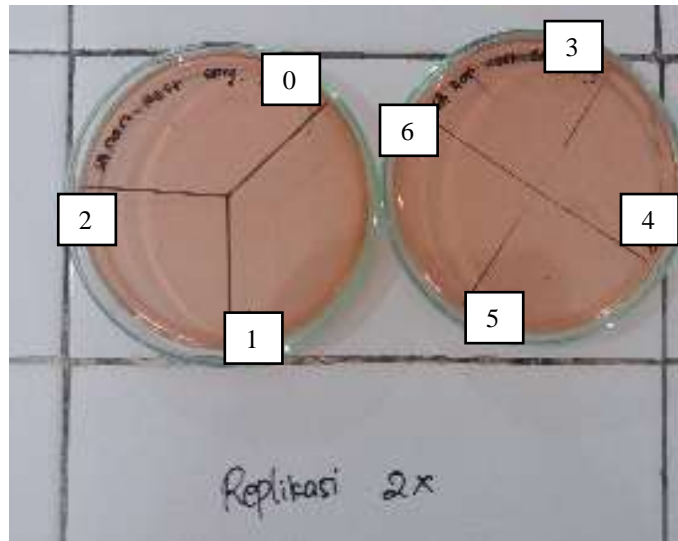


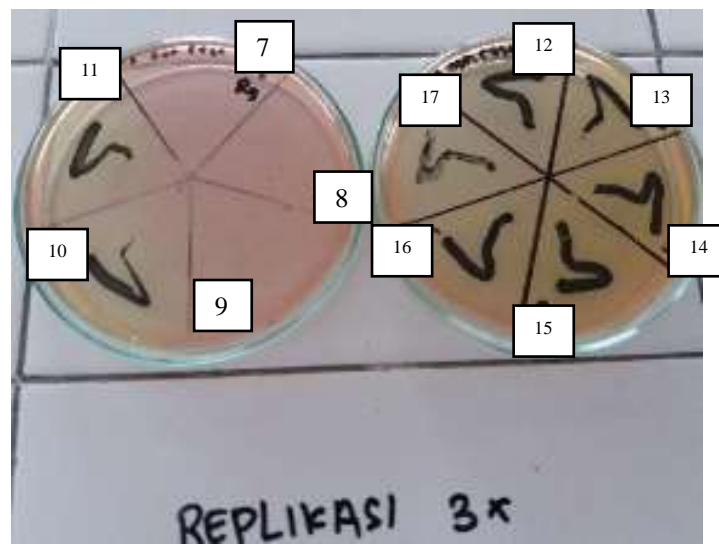
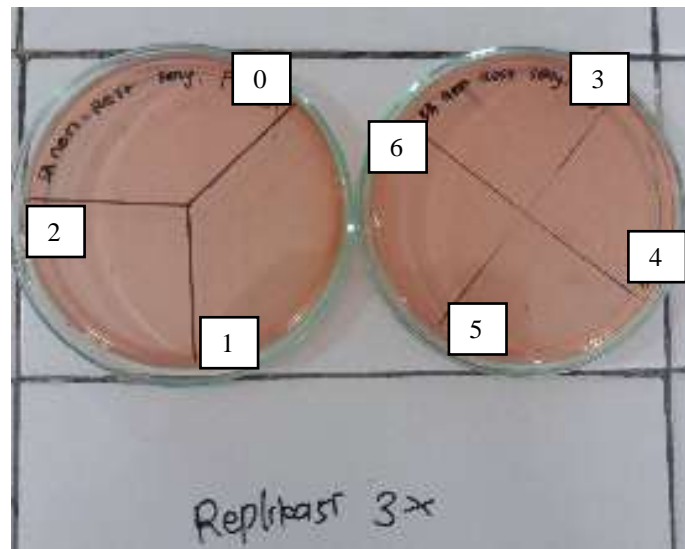




D. Hasil pengamatan KBM senyawa F terhadap *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin







E. Hasil pengamatan KKM senyawa F terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lampiran 10. Hasil uji dilusi kurkumin terhadap bakteri uji



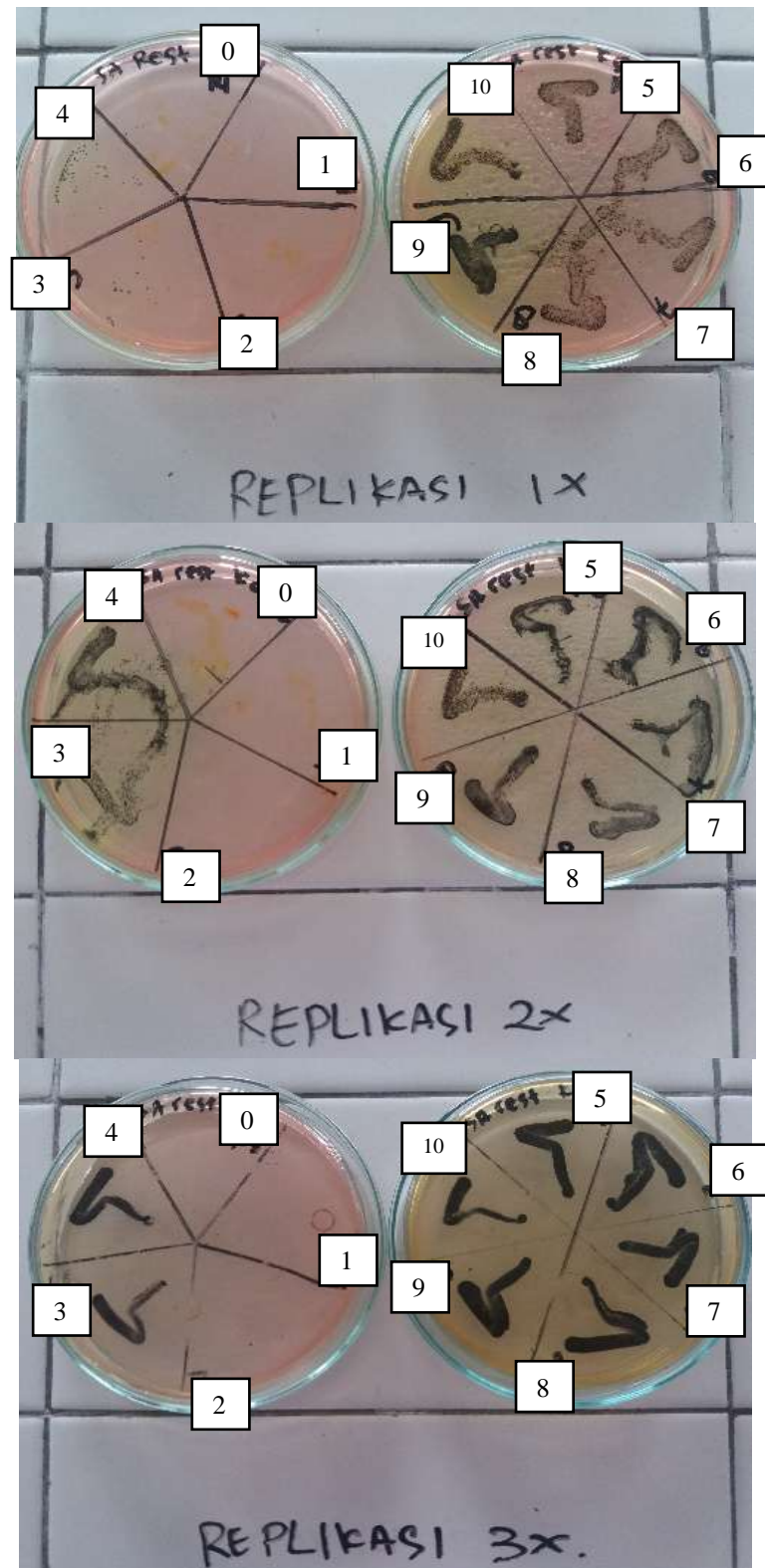
A. Kontrol negatif kurkumin



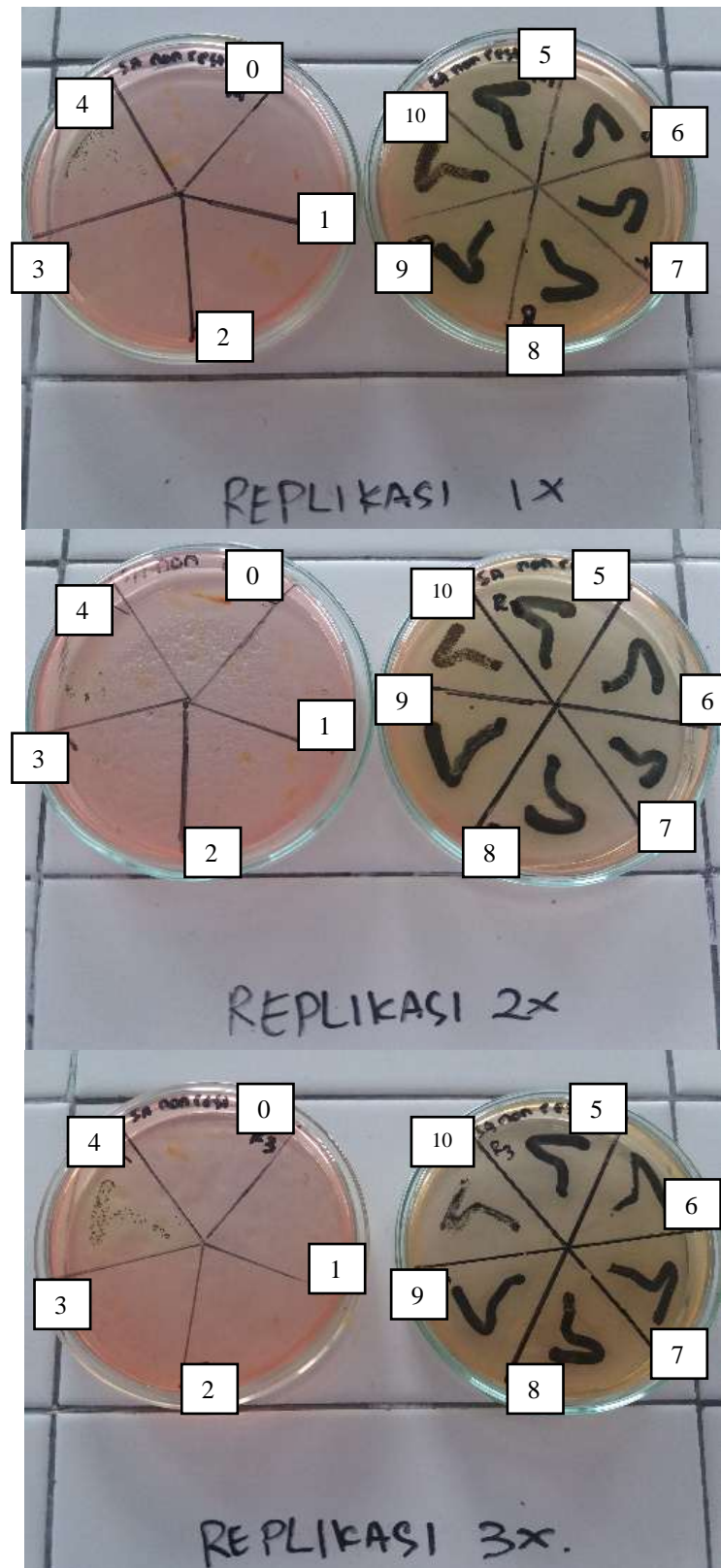
B. Hasil pengamatan KHM senyawa kurkumin terhadap *Staphylococcus aureus* resisten



C. Hasil pengamatan KHM senyawa kurkumin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



D. Hasil pengamatan KBM senyawa kurkumin terhadap *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin



E. Hasil pengamatan KBM senyawa kurkumin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lampiran 11. Hasil uji dilusi antibiotik ciprofloxacin terhadap bakteri uji



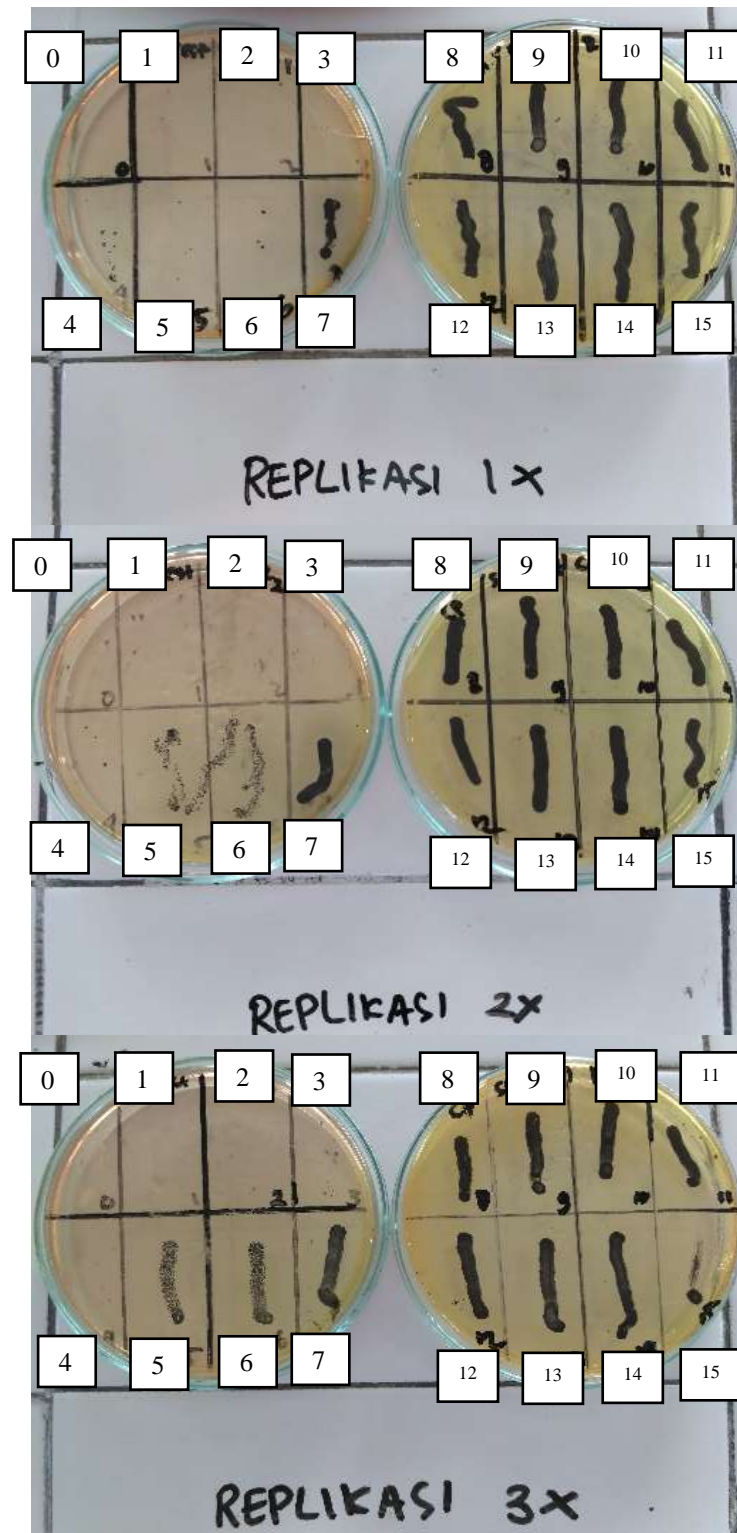
A. Kontrol negatif ciprofloxacin



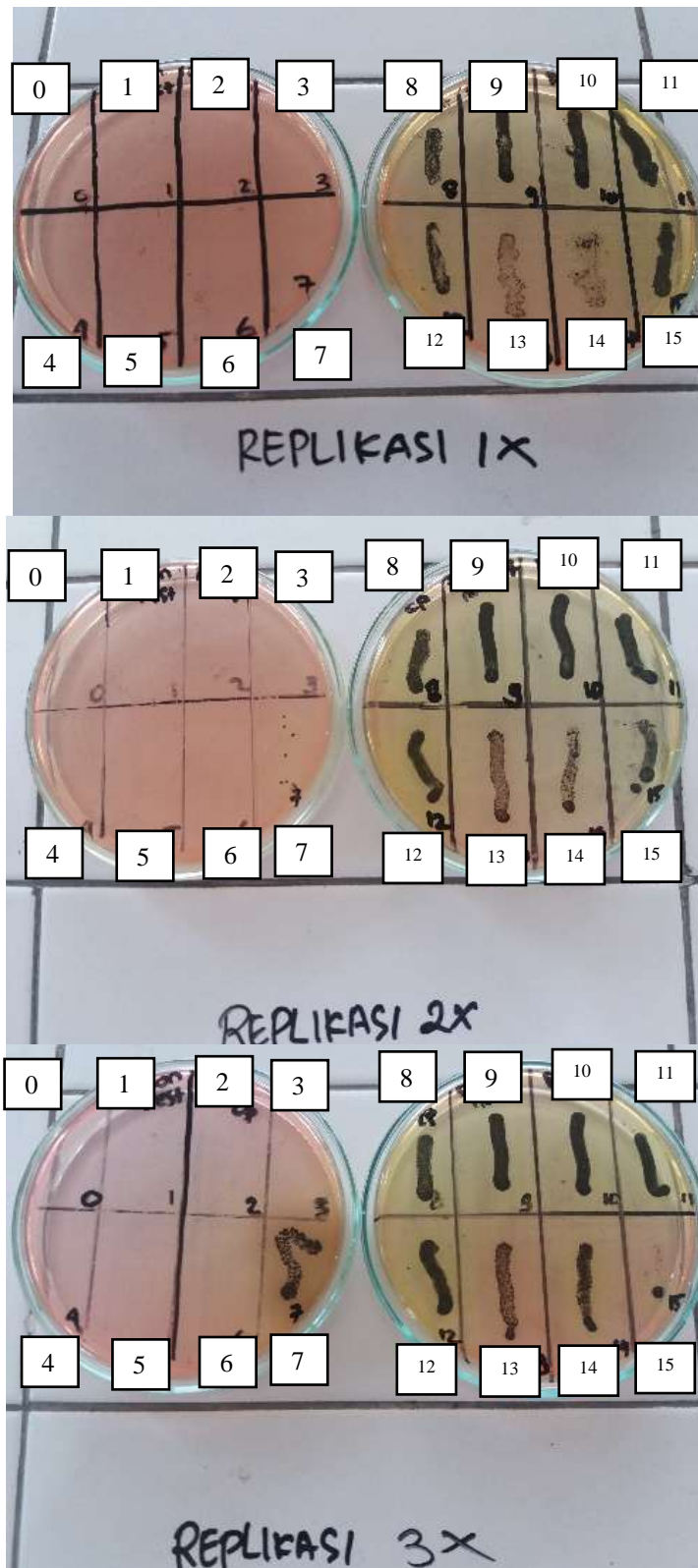
B. Hasil pengamatan KHM antibiotik ciprofloxacin *Staphylococcus aureus* resisten



C. Hasil pengamatan KHM antibiotik ciprofloxacin *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



D. Hasil pengamatan KBM antibiotik ciprofloxacin terhadap *Staphylococcus aureus* resisten ciprofloxacin



E. Hasil pengamatan KBM antibiotik ciprofloxacin terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lampiran 12. Hasil pembuatan senyawa untuk uji kebocoran membran sel



A. Hasil 0x, 1x dan 2x KBM senyawa F pada *Staphylococcus aureus* non resisten

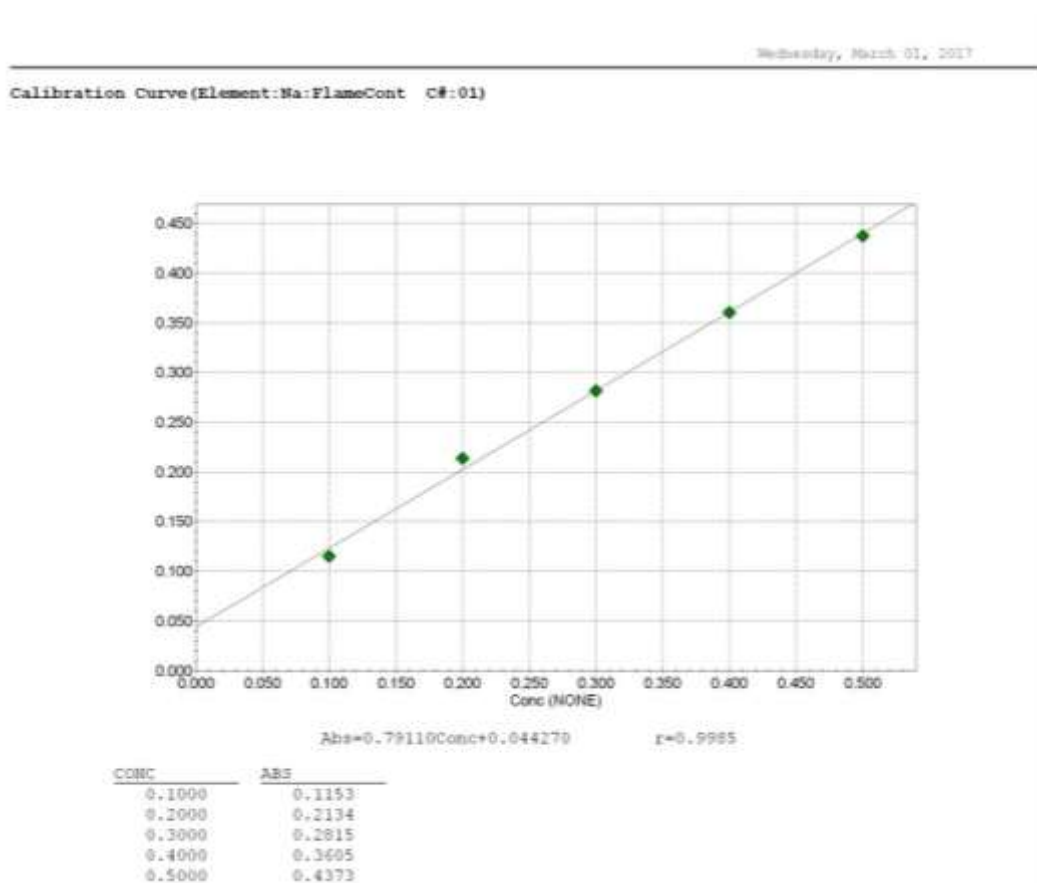
Lampiran 13. Hasil analisis kebocoran sel

A. Hasil analisis kebocoran asam nukleat dan protein

Λ (nm)	KBM 0x			KBM 1x			KBM 2x		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
260	0	0	0	0,482	0,460	0,486	0,507	0,516	0,503
Rata – rata		0			0,476			0,509	
280	0	0	0	0,526	0,493	0,491	0,531	0,537	0,549
Rata – rata		0			0,503			0,539	

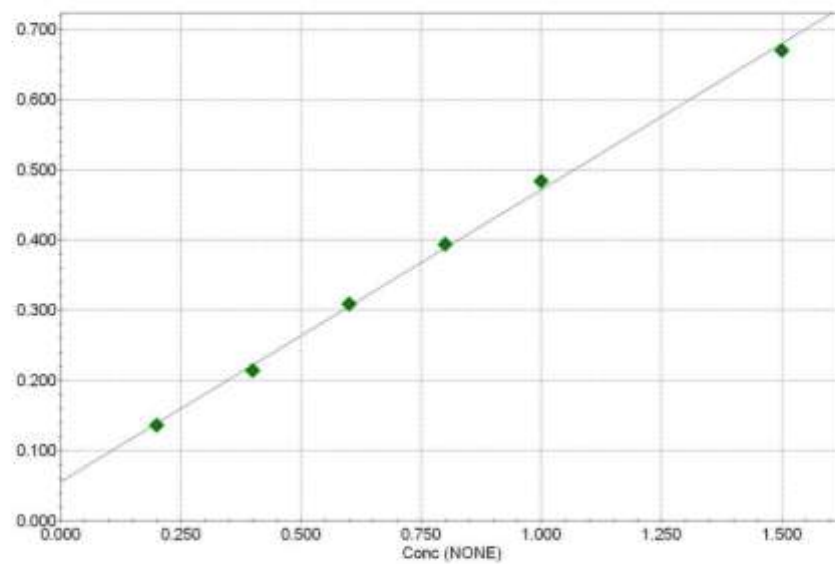
B. Hasil analisis kebocoran ion logam

Hasil kurva kalibrasi



Wednesday, March 01, 2017

Calibration Curve (Element:K:FlameCont CF:01)



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

<u>CONC</u>	<u>ABS</u>
0.4000	0.2135
0.6000	0.3088
0.8000	0.3936
1.0000	0.4834
0.2000	0.1356
1.5000	0.6699

Hasil penetapan kadar 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

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	0.0886	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	0.2658	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	0.0166
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	0.0663		
54	UNK8-2	SA rest B 1x 10000	0.0550	0.0678		
55	UNK8-3	SA rest B 1x 10000	0.0538	0.0668		
56	UNK8-AV	SA rest B 1x 10000	0.0540	0.0670	0.83	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	0.2450	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		

Hasil penetapan kadar 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

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	0.6061	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	1.0284	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	0.5958	
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	0.5634	
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 0.0080
53	UNK7-1	A SA KBM 2-3DF 250		1.6625	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		1.3269	0.6071	

Lampiran 14. Formulasi dan pembuatan media

1. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Peptone.....	10,0	gram
Yeast extract.....	5,0	gram
di-potasium hydrogen phosphate	10,0	gram
D(-)mannitol.....	10,0	gram
Lithium chloride.....	5,0	gram
Glycine	10,0	gram
Phenol red	0,025	gram
Agar.....	13,0	gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian pada cawan petri diberi kallium telurite 3% lalu VJA dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

2. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion.....	12,5	gram
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

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam tabung pH 7,4.

3. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Meat infusion	2,0	gram
Bacto asam kasamino.....	17,5	gram
Kanji.....	1,5	gram
Agar.....	17,0	gram

Reagen-reagen di atas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.