

**KARAKTERISASI SENYAWA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI
LUMUT KERAK (*Parmotrema tinctoruma*)**

CHARACTERIZATION OF COMPOUND AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY
TEST FROM LICHEN (*Parmotrema tinctoruma*)

HAMDAYANI L.A



**SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2019

KARAKTERISASI SENYAWA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
DARI LUMUT KERAK (*Parmotrema tinctoruma*)

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Farmasi

Disusun dan Diajukan oleh

HAMDAYANI L.A

kepada

SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2019

TESIS

KARAKTERISASI SENYAWA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI LUMUT KERAK (*Parmotrema tinctoruma*)

Disusun dan diajukan oleh

HAMDAYANI L.A

Nomor Pokok P2501215007

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 20 Desember 2019
dan dinyatakan telah memenuhi syarat



Menyetujui
Komisi Penasihat,

Subehan, M.Pharm.Sc, Ph.D., Apt.
Ketua

Prof.Dr.H.M. Natsir Djide,MS.,Apt.
Sekertaris

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Farmasi
Fakultas Farmasi

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin

Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS., Apt

Subehan, M.Pharm.Sc, Ph.D., Apt.

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Hamdayani L. A

Nim : P2501215007

Program Studi : Farmasi Herbal

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar,
Yang menyatakan

Hamdayani L. A

PRAKATA

Alhamdulillah segala rasa syukur penulis panjatkan ke hadirat ALLAH SWT, berkat limpahan Rahmat dan Karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “ karakterisasi senyawa dan uji aktivitas antibakteri dari lumut kerak (*Parmotrema tinctoruma*)“ untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi Master di Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Dalam penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda **Lance Abidin**, Ibunda **Halijah Ali** dan suami tercinta **Muh. Azwar Thamrin, S.Sos** atas kasih sayang, doa, dukungan serta materi selama penyelesaian studi ini.

Tanpa mengurangi rasa hormat, penulis dengan sepenuh hati menghanturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada : bapak Subehan, M.Pharm, Sc, Ph.D, Apt. selaku pembimbing utama dan bapak Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, M. S., Apt. selaku pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, arahan dan saran selama penyusunan tesis ini. Ibu Dr. Herlina Rante, M.Si., Apt selaku ketua penguji, Ibu Prof.Dr. Asnah Marzuki, M.Si.,Apt selaku sekertaris penguji dan Ibu : Dr. Risfah Yulianty, M.Si., Apt selaku anggota penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran dan arahnya.

Ibu Aliyah, M.Si., Apt. selaku Penasehat Akademik yang telah memberi bimbingan, arahan dan nasehat yang selalu membangun dalam menyelesaikan studi ini. Bapak Subehan, M.Pharm, Sc, Ph.D, Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi, Bapak Subehan, M.Pharm, Sc, Ph.D, Apt. selaku Wakil Dekan I, Ibu Dr. Risfah Yulianty, M.Si., Apt selaku Wakil Dekan II dan Ibu Dr. Sartini, M.Si., Apt. selaku Wakil Dekan III atas kepemimpinannya dalam mengarahkan nahkoda Fakultas Farmasi tercinta. Seluruh Dosen, Staf dan Koordinator Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas segala ilmu, pengabdian, fasilitas dan bantuannya selama ini.

Terima kasih pula untuk Ibu Dra. Hj. Aisyah Fatmawaty, M.Si., Apt, Bapak Drs. H. Sahibuddin A. Gani., Apt dan rekan-rekan dosen STIFA Makassar yang selalu memberikan semangat. Semangat dan motivasi yang diberikan oleh om Alimuddin Ali dan tante Herlina Rante. Persembahkan khusus untuk anakku tersayang Muhammad Al Azzam Ramadhan yang menjadi penyemangatku hingga dapat menyelesaikan studi ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga penulis sangat mengharapkan saran dari semua pihak yang sifatnya membangun. Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Makassar, 23 Desember 2019

Hamdayani. L. A

ABSTRAK

HAMDAYANI L. A. Karakterisasi senyawa dan uji aktivitas antibakteri dari lumut kerak (*Parmotrema tinctoruma*) (dibimbing oleh Subehan dan H.M. Natsir Djide)

Lumut kerak masih banyak dimanfaatkan di beberapa negara untuk pengobatan radang sendi, kemoterapi dan luka bakar. Hal ini dikarenakan adanya senyawa kimia aktif dalam lumut kerak yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, antitumor dan antikanker.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi senyawa dan uji aktivitas antibakteri dari lumut kerak. Ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi menggunakan etanol 70% dipartisi dengan n-heksan dan etil asetat. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambatan 14,50 mm dan *Escherichia coli* dengan diameter hambatan 11,37 mm. Komponen kimia dalam fraksi aktif diidentifikasi melalui skrining fitokimia dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yang menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid menggunakan uap amonia. Karakterisasi dilakukan dengan teknik kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 dengan eluen campuran n-heksan dan etil asetat secara gradien dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Penentuan gugus fungsi terhadap isolat aktif (isolat 1) hasil KLTP dilakukan dengan spektrofotometer *infrared* (FT-IR).

Dari hasil analisis isolat 1 diduga mengandung senyawa flavonoid dengan gugus O-H dengan bilangan gelombang $3441,01\text{ cm}^{-1}$, gugus C-H dengan bilangan gelombang $2854,65\text{ cm}^{-1}$, gugus C=C dengan bilangan gelombang $1539,20\text{ cm}^{-1}$, gugus C-O dengan bilangan gelombang $1020,34\text{ cm}^{-1}$.

ABSTRACT

HAMDAYANI L. A. *Characterization of compound and antibacterial activity test from lichen (Parmotrema tinctorum)* (supervised by Subehan and H.M. Natsir Djide)

Lichen is still widely used in some countries for the treatment of arthritis, chemotherapy and burns. This is due to the presence of active chemical compounds in lichen which have antibacterial, antifungal, antiviral, antitumor and anticancer activities.

This study aims to characterize compounds and test the antibacterial activity of Lichen. Extracts obtained from the maceration process using 70% ethanol were partitioned with n-hexane and ethyl acetate. Antibacterial activity testing was carried out using the diffusion method to use the *Staphylococcus aureus* test bacteria with a resistance diameter of 14.50 mm and *Escherichia coli* with a resistance diameter of 11.37 mm. Chemical components in the active fraction are identified through phytochemical screening by thin layer chromatography (TLC) which shows the presence of flavonoid compounds using ammonia vapor. Characterization is carried out with column chromatography techniques using the silent phase of the 60 silica gel with a mixture of n-hexane and ethyl acetate in a gradient followed by preparative thin-layer chromatography (KLTP). Determination of functional groups on active isolates (isolate 1) from KLTP was carried out by infrared spectrophotometer (FT-IR).

From the results of analysis of isolate 1 it is thought to contain flavonoid compounds with OH groups with wave numbers 3441.01 cm^{-1} , CH groups with wave numbers 2854.65 cm^{-1} , groups C = C with wave numbers 1539.20 cm^{-1} , CO groups with a wave number of 1020.34 cm^{-1} .

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN TESIS	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Lumut Kerak.....	5
B. Morfologi Lumut.....	6
C. Klasifikasi Tumbuhan Lumut.....	7
D. Struktur Vegetatif Lumut.....	10
E. Kandungan Kimia Lumut Kerak.....	12
F. Manfaat Lumut.....	13

G. Motode Isolasi Senyawa Bahan Alam.....	14
H. Antibakteri.....	18
I. Karakteristik <i>Staphylococcus aureus</i>	19
J. Karakteristik <i>Escherichia coli</i>	20
K. Metode Identifikasi secara Spektroskopi <i>infra red</i> (IR).....	21
L. Kerangka Teori.....	26
M. Kerangka Konseptual.....	27
N. Hipotesis.....	27
BAB III METODE PENELITIAN.....	28
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	28
B. Bahan dan Alat Penelitian.....	28
C. Prosedur Kerja Penelitian.....	29
1. Pengambilan Sampel.....	29
2. Preparasi Sampel.....	29
3. Ekstraksi Simplisia.....	30
4. Skrining Fitokimia Ekstrak Lumut Kerak.....	30
5. Partisi cair-cair	31
6. Orientasi Eluen dengan Metode KLT.....	31
7. Aktivitas Antibakteri Fraksi hasil Partisi.....	32
8. Skrining Golongan Senyawa Flavonoid.....	33
9. Kromatografi Kolom Konvensional.....	33
10. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi A-D.....	35
11. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif Fraksi B.....	35

12. Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Senyawa 1 dan 2.....	36
13. Spektroskopi infra merah (<i>infra red</i> /IR).....	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	45
A. Kesimpulan.....	45
B. Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
Tabel 2.1 Senyawa Aktif yang terdapat dalam Lumut.....	13
Tabel 2.2 Frekuensi dan Absorbansi IR (Harmita).....	22
Tabel 2.3 Frekuensi dan Absorbansi IR (Fessenden).....	24
Tabel 2.4 Serapan Khas Gugus Fungsi IR (Silverstein).....	25
Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi.....	38
Tabel 4.2 Hasil Partisi Cai-cair.....	39
Tabel 4.3 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Lichen.....	40
Tabel 4.4 Data Uji Aktivitas Antibakteri hasil Partisi.....	41
Tabel 4.5 Data Eluen dan Hasil Kromatografi Kolom	41
Tabel 4.6 Data Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Hasil Kolom.....	42
Tabel 4.7 Data Uji Aktivitas Antibakteri Isolat hasil KLTP.....	43
Tabel 4.8 Hasil Pembacaan Spektrum IR pada Isolat 1.....	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
Lumut Kerak.....	5
<i>Ascolichenes</i>	8
<i>Basidiolichenes</i>	9
<i>Homoimerus</i>	10
<i>Heteromerous</i>	10
Hasil Determinasi Lumut Kerak (<i>Parmotrema tinctorum</i>).....	56
Simplisia Lumut Kerak (<i>Parmotrema tinctorum</i>).....	57
Proses Maserasi.....	57
Ekstrak Etanol 70% Lumut Kerak.....	57
Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70%.....	58
Profil KLT Orientasi Eluen Fraksi.....	58
Hasil Uji Daya Hambat terhadap Fraksi.....	58
Fraksi Hasil Kromatografi Kolom Konvensional.....	58
Profil KLT Hasil Kromatografi Kolom Konvensional.....	59
Profil KLT Hasil Penggabungan dari 10 Fraksi.....	59
Hasil Uji Daya Hambat terhadap Fraksi Kolom.....	60
Profil KLT Preparatif.....	60
Uji Aktivitas Antibakteri isolat.....	61
Profil KLT Isolat senyawa 1.....	62
Profil KLT identifikasi senyawa golongan flavonoid.....	62
Spektrum FT-IR isolat senyawa 1.....	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Desain Penelitian.....	50
2. Skrining Fitokimia.....	51
3. Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	52
4. Data Perhitungan Nilai Rf.....	54
5. Gambar Hasil Penelitian.....	56

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Lumut kerak (Lichen) merupakan suatu bentuk kehidupan bersama yang sangat erat (simbiosis) antara dua organisme yang berbeda melalui kehidupan bersama yang saling menguntungkan (simbiosis mutualistik) yaitu antara ganggang (alga) dan fungi (jamur). Simbiosis mutualistik terjadi karena ganggang memproduksi gula atau karbohidrat melalui proses fotosintesis, sedangkan fungi sebagai penyedia air dan mineral yang dibutuhkan untuk kehidupan bersama. Bentuk lumut kerak disebut talus karena antara akar, batang dan daunnya sulit dibedakan (Hale, 1973).

Lumut kerak sebagai tumbuhan lumut yang memiliki sekitar 29.000 spesies, diantaranya sekitar 17.000 spesies telah dimanfaatkan sebagai pewarna, kontrol polusi, parfum, makanan dan sebagai bahan obat. Di India beberapa spesies lumut kerak telah dimanfaatkan sebagai obat asma, bronkhitis, alergi dan sirosis hati. Hingga saat ini, penggunaan lumut kerak masih banyak dimanfaatkan di beberapa negara untuk pengobatan radang sendi, kemoterapi dan luka bakar. Hal ini dikarenakan adanya senyawa kimia aktif dalam lumut kerak yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, antitumor dan antikanker (Septiana, 2011).

Lumut kerak memiliki sejumlah metabolit sekunder unik yang tidak dihasilkan oleh tumbuhan tingkat tinggi dan banyak diantaranya merupakan senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas sebagai antikanker, antioksidan, antibiotik dan anti HIV. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh lumut kerak diantaranya adalah senyawa fenolik, dibenzofuran, asam usnat, depsida, depsidon, depson, kuinon dan turunan asam pulvinat (Balaji dan Hariharan, 2007).

Potensi lumut kerak sebagai bahan obat dan kandungan kimia lainnya bergantung pada tumbuhan inang serta lingkungan yang menjadi tempat tumbuhnya. Berbagai riset juga telah dilaporkan tentang peranan lumut kerak yang memiliki potensi untuk menghentikan batuk darah pada penderita TB karena mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, terpen dan golongan antrakuinon, asam usnat, asam barbatolat, asam barbatat yang diduga bersifat antibakteri terhadap *Mycobacterium Tuberculosis* (Sutiningsih dan Sulistyani, 2005). Lumut kerak juga memiliki potensi sebagai antibakteri karena mengandung asam usnat yang dapat menghambat *Staphylococcus*, *Streptococcus* dan *Pneumococcus* dan *Mycobacterium tuberculosis* (Bergner, 1990). Ekstrak aseton dari lumut kerak memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri terhadap *S. aureus* dan *B. subtilis* karena mengandung senyawa asam usnat dan antranorin (Gunasekarn, 2016).

Beberapa bioaktivitas senyawa kimia dari lumut kerak antara lain sebagai antivirus, antifungi, antiinflamasi, analgesik, antipiretik, antiproliferatif, antiprotozoa, antidiabetik dan antikanker (Richardson, 1991; Huneck, 1996).

Berbagai variasi senyawa kimia metabolit sekunder dari lumut kerak umumnya dimetabolisme dari jamur (Brenan *et al*, 2009).

Umumnya lumut kerak hidup di berbagai habitat yaitu pada batang, cabang dan ranting pohon, kayu yang membusuk, batu-batuan dan tanah. Lumut kerak hidup sebagai epifit pada pohon, seperti tanaman anggrek. Hal ini dapat diartikan bahwa lumut kerak hidup hanya menempel pada pohon inangnya, tidak mengambil makanan pada pohon inangnya dan dapat ditemukan dari tepi pantai hingga pegunungan (Tjitrosoepomo, 2005).

Berdasarkan penelitian sebelumnya (Fadillah *et al*, 2012) tentang aktivitas antibakteri ekstrak tumbuhan lumut hati (*Hepaticae* Sp.) terhadap bakteri patogen menunjukkan bahwa ekstrak metanol dengan aktivitas yang paling baik berdasarkan pengukuran terhadap zona hambat, dari bakteri *Stapylococcus aureus*. Spesies *Parmotrema tinctorum* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Stapylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Shigella dysentriae*, *Salmonella typhi*, namun tidak menghambat *Escherichia coli* (Thippeswamy *et al*, 2011)

Di Indonesia, informasi tentang jenis keragaman *Parmotrema tinctorum* masih kurang. Belum ada penelitian tentang pemetaan dan identifikasinya. Informasi tentang kandungan senyawa dan sebagai penghasil senyawa antibakteri juga masih kurang dibandingkan dengan negara-negara lain seperti Thailand dan India.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat senyawa metabolit sekunder dari lumut kerak yang berpotensi sebagai antibakteri.

2. Bagaimana hasil karakterisasi senyawa dengan metode spektroskopi *infra red* (IR).

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui senyawa metabolit sekunder dari lumut kerak yang berpotensi sebagai antibakteri.
2. Mengetahui hasil karakterisasi senyawa dengan metode spektroskopi *infra red* (IR).

D. Manfaat Penelitian

Memberikan data aktivitas antibakteri dari isolat senyawa dan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tumbuhan tingkat rendah lumut kerak, sehingga memberi nilai tambah dari talus ini.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Lumut Kerak

Lumut kerak (*Parmotrema tinctoruma*) merupakan lumut jenis *foliosa*, menempel pada batang pohon hidup yang tumbuh di dataran tinggi yang lembab atau batang pohon mati. Talus berbentuk datar seperti lembaran daun yang rata, berwarna hijau keabu-abuan (Australian, 2007).



Gambar 1 : Lumut Kerak

Lumut kerak dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu *crustose*, *foliose*, dan *fruticose*. Lumut kerak tumbuh di batang pohon, tanah, batuan, dinding atau substrat lainnya dan dalam berbagai macam kondisi lingkungan, mulai dari daerah gurun sampai daerah kutub. Lumut kerak tumbuh sangat lambat, bahkan hanya beberapa sentimeter dalam setahun (Al-Thani dan Al-Meri, 2011).

B. Morfologi Lumut

Lumut kerak memiliki bentuk populasi antara dua organisme yaitu fungi dan alga dengan bentuk morfologi dan fisiologi yang menunjukkan sebagai organisme tunggal. Morfologi dari lumut kerak yaitu (Hale dan Ahmadjian, 1967) :

1. Lumut kerak secara vegetatif hampir sama dengan alga dan jamur. Pemanjangan secara vegetatif dari tubuh adalah hifa, kalau kita perhatikan bagian permukaan dari hillusnya selalu ditempati oleh alga.
2. Talus berwarna abu-abu atau abu-abu kehijauan, beberapa jenis spesies ada yang berwarna kuning, orange, coklat, atau merah dengan habitat yang bervariasi.
3. Secara garis besar susunan anatomi lumut kerak dibedakan menjadi tiga lapisan yaitu lapisan luar atau korteks (mengandung sel-sel jamur), lapisan gonidium (lapisan yang mengandung alga), dan lapisan empulur (lapisan yang mengandung sel-sel jamur yang tidak rapat untuk menyimpan cadangan air dan tempat perkembangbiakan).
4. Menurut bentuk pertumbuhannya terbagi atas empat tipe yaitu :
 - a. Krustose, jika talus berbentuk seperti kerak (kulit keras), berukuran kecil, datar dan tipis.
 - b. Foliose, jika talus berbentuk seperti daun, talusnya datar, lebar, banyak lekukan seperti daun yang berkerut berputar.
 - c. Fructicose, jika talus tegak seperti semak atau menggantung seperti jumbai atau pita, talus tumbuh tegak atau menggantung pada batu, daun-daunan, atau cabang pohon.

- d. Squamulose, memiliki lobus-lobus seperti sisik, lobus disebut squamulus berukuran kecil memiliki struktur tubuh buah disebut podetia.
5. Siklus hidup dari lumut kerak itu sangat mudah, dia dapat tahan terhadap kekeringan dalam waktu yang lama. Lumut kerak menjadi kering disebabkan panas terik matahari kemudian hidup lagi setelah turunnya hujan.
6. Tubuh buah baru di lumut kerak mulai tumbuh setelah mengalami vegetasi selama bertahun-tahun hal ini disebabkan karena pertumbuhan talus itu sendiri sangat lambat.

C. Klasifikasi Tumbuhan Lumut

Regnum	: Eukariota
Divisi	: Jamur
Keluarga	: Ascomycota
Kelas	: Ascomycetes
Bangsa	: Lecanorales
Suku	: Parmeliaceae
Marga	: Parmotrema
Spesies	: <i>Parmotrema tinctorum</i>

Klasifikasi dilihat bervariasi mulai dari talus, bagaimana bersimbiosis dan tipe pembentukan tubuh buah :

1. Dilihat dari komponen penyusun

A. *Ascolichenes* (Hale dan Ahmadjian, 1967)

1. Cendawan penyusunnya tergolong *pyrenomycetes*, maka tubuh buah yang dihasilkan berupa peristesium.



Gambar 2 : *Ascolichenes*

2. Cendawan penyusunnya tergolong *discomycetes*. Lumut kerak membentuk tubuh buah berupa *apothecium* yang berumur panjang.
3. Dibangun oleh komponen algae dari familia *mycophyceae* dan *chlorophyceae* yang bentuknya berupa gelatin.
4. Meliputi lima ordo, yaitu: *Calicales*, *graphidales*, *cyanophilales*, *leanorales*, dan *caloplacales*.

B. *Basidiolichenes*

1. Berasal dari jamur *basidiomycetes* dan alga *mycophyceae*. Basidiomycetes yaitu dari familia *theleporaceae*, dengan tiga genus *cora*, *corella*, dan *dycionema*. *Mycophyceae* berupa filament yaitu: *Scytonema* dan tidak berbentuk filament yaitu *Chrococcus*.
2. Talus berbentuk lembaran-lembaran.
3. Pada tubuh buah terbentuk lapisan himenium yang mengandung basidium, menyerupai tubuh buah *hymenomycetales*.
4. Berguna untuk bahan pembuat obat-obatan, pembuatan zat warna, ada yang dapat dimakan, ada pula yang beracun. Contoh : *Cora pavonia*, *rocellatinctoria* untuk pembuatan lakmus.



Gambar 3 : *Basidiolichenes* (Hale dan Ahmadjian, 1967)

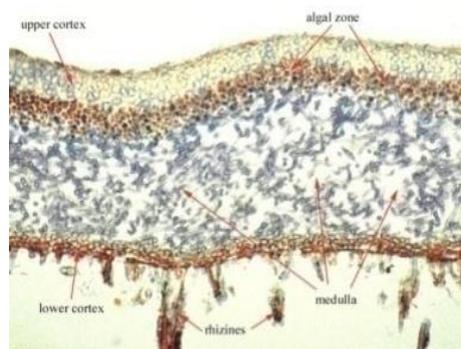
C. *Homoimerus*

Sel alga dan hifa jamur tersebar merata ada talus. Komponen alga mendominasi dengan bentuk seperti gelatin, termasuk dalam *mycophyceae*. Contoh: *Ephebe*, *collema*, *collema coccophorum* (contoh homolmerus) (Amo de Paz et al., 2010).



Gambar 4 : *Homoimerus* (Hale dan Ahmadjian, 1967)

D. *Heteromerous*



Gambar 5 : *Heteromerous* (Hale dan Ahmadjian, 1967)

Sel alga berbentuk terbatas pada bagian atas talus dan komponen jamur menyebabkan terbentuknya talus, alga tidak berupa gelatin *chlorophyceae*.

Contoh: *Parmelia*, *rhizocarp ongeographicum* (contoh crustaceus).

D. Struktur Vegetatif Lumut

Lumut memiliki struktur vegetatif yang unik. Setiap bagian dari struktur tersebut mempunyai arti penting secara fisiologis dan merupakan panduan utama dalam studi taksonomi lumut.

A. *Pori aerasi*, *cyphellae* atau *pseudocypellae* yang berupa lubang kecil pada permukaan atas dan bawah talus yang berperan dalam proses sirkulasi udara pada talus.

1. *Cypellae*, berbentuk rongga bulat yang agak besar serta terdapat pada korteks bawah dan hanya dijumpai pada genus *Sticta*.
2. *Pseudocypellae*, mempunyai ukuran yang lebih kecil *cyphellae* dan terdapat pada korteks bawah.

B. Diaspora vegetatif berupa :

1. Soredia, terdapat pada bagian medulla yang keluar melalui celah kulit. Soredia dapat dengan mudah diterbangkan angin dan mudah dan akan tumbuh pada kondisi yang sesuai menjadi tumbuhan lumut yang baru. Jadi pembiakan berlangsung dengan perantaraan soredia. Soredia itu sendiri merupakan kelompok kecil sel sel alga yang sedang membelah dan diselubungi benang benang miselium menjadi satu badan yang dapat terlepas dari induknya.

2. Isidia, berbentuk silinder, bercabang seperti jari tangan dan terdapat pada kulit luar. Dengan kemampuannya bergabung dengan talus, isidia dapat menambah luas permukaan luarnya. Sebanyak 25-30 % dari spesies foliose dan fruticose mempunyai isidia.
3. Hormosistangia, berupa filamen alga yang diliputi oleh lembaran gelatin yang tebal, perilaku perkembangbiakannya mirip dengan jamur induknya.
4. Cephalodia, suatu struktur yang terjadi pada lumut yang terbentuk dari gabungan satu jenis alga dengan dua jenis jamur, jika dua jenis jamur bergabung dengan satu jenis alga, sebaran dua jenis jamur ini tidak terjadi secara homogen, namun berkelompok kelompok, sehingga penggabungan dengan tipe ini menyebabkan perbedaan struktur talus terjadi pada daerah dimana terdapat perbedaan jenis jamur yang bergabung dengan alga.

E. Kandungan Kimia Lumut kerak

Pada lingkungan tumbuh yang berbeda, produksi senyawa kimia berubah jumlah dan jenisnya, menurut penelitian kadar asam fusidat dan atranorin mengalami penurunan jika terdapat akumulasi logam berat yang lebih tinggi pada lumut, serta meningkatkan rasio antara senyawa polar dan senyawa non polar yang terekstraksi. Penurunan produksi asam fusidat digunakan sebagai biomarker tingkat polusi pada suatu daerah (Bialonska dan Dayan, 2005).

Dari penelitian sebelumnya metabolit sekunder yang telah didapatkan pada lumut *P. tinctorum* yaitu, asam lekanorat, atranorin dan kloroatranorin serta asam norstiktat (Teyler, 1988).

F. Manfaat Lumut

Lumut memiliki bermacam-macam manfaat, namun lumut belum digunakan sebagai sumber makanan secara luas, karena lumut memiliki rasa yang pahit dan dapat menimbulkan alergi jika diolah dengan tidak tetap.

Pada abad pertengahan lumut banyak digunakan oleh ahli pengobatan. Sebagai contoh *Lobaria pulmonaria* yang digunakan untuk menyembuhkan penyakit paru-paru karena *Lobaria* dapat membentuk lapisan tipis pada paru-paru, sebagai obat tradisional untuk TBC, disentri dan diuretik, *Cetraria eslandica* sebagai obat batuk, *Hypogymnia physodes* sebagai penghambat enzim tirosinase dan sebagainya. Selain itu lumut juga digunakan sebagai ekspektoran dan obat liver. Lumut juga ditemukan telah digunakan dalam pengobatan di Negara Cina, Kepulauan Pasifik dan Selandia Baru. Diperkirakan sekitar 50% dari semua spesies lumut kerak memiliki sifat antibiotik. Penelitian bahan obat-obatan dari lumut terus berkembang terutama di Jepang. Dari hasil penelitian beberapa bahan aktif yang memiliki manfaat pengobatan dalam lumut dan manfaatnya (table 1) :

Tabel 2.1. Senyawa aktif yang terdapat dalam lumut kerak (Huneck, 1996)

Aktivitas	Senyawa aktif yang terdapat dalam lumut kerak
Antibiotik	Depsida, asam usnat, atranorin
Antitumor dan antimutagen	(-) asam usnat, asam protolichesterinat, atranorin, asam nefrosteranat, asam poliporat dan turunannya, asam fisudalat, turunan lichenin
Penghambat aktivitas enzim	Asam lekanorat (histidin dekarboksilase), (-) asam usnat (urease), asam 4-O-metilriptoklorofaeat (prostaglandin sintetase), ekstrak dari <i>Hypogymnia physodes</i> dan <i>Letharia vulpina</i> (L) Hue (tyrosinase)

G. Metode Isolasi Senyawa Bahan Alam

1. Metode Isolasi

Isolasi adalah pemisahan suatu komponen kimia dari campuran. Pemisahan ini didasarkan atas perbandingan sifat partisi komponen tersebut terhadap adsorbennya. Isolasi ini dilakukan dengan cara ekstraksi, fraksinasi dan kromatografi, sedangkan pemurnian suatu senyawa biasanya dilakukan dengan kromatografi dan rekristalisasi untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengotor (Harborne, 1996).

a. Penyiapan Sampel

Analisis fitokimia dapat dilakukan dengan menggunakan jaringan tumbuhan yang masih segar. Jaringan segar yang diperoleh, disimpan kering dalam kantong plastik. Untuk analisis fitokimia digunakan jaringan tumbuhan yang segar dan dikeringkan tanpa menggunakan suhu tinggi, lebih baik dengan aliran udara yang cukup. Setelah kering, tumbuhan dapat disimpan sebelum digunakan untuk analisis (Harborne, 1996).

b. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi yang dipilih untuk digunakan dalam suatu penelitian fitokimia sangat bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang akan diisolasi. Maserasi merupakan cara ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung cahaya. Metode maserasi digunakan

untuk menyari sampel yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam pelarut. Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut akibat kontak langsung dan waktu yang cukup lama dengan sampel (Manjang, 2004).

c. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu cara yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen secara cepat berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen senyawa kimia bergerak naik mengikuti fase gerak, karena daya serap adsorben terhadap komponen-komponen senyawa kimia tidak sama, sehingga komponen senyawa kimia bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya, hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan (Sudjadi, 1988).

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi serapan dimana fasa diam berupa zat padat yang disebut adsorben (penyerap) dan fasa gerak berupa zat cair yang disebut larutan pengembang (Gritter dkk., 1991).

d. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam jumlah banyak. Pada dasarnya, prinsip kromatografi kolom sama dengan KLT, dimana senyawa-senyawa dalam campuran terpisah oleh karena adsorpsi antara suatu padatan penyerap sebagai fase diam dan suatu pelarut sebagai fase gerak. Kolom kromatografi biasanya berupa pipa gelas yang dilengkapi

sebuah kran. Untuk menahan penyerap didalam kolom dapat digunakan wol kaca atau kapas (Sastrohamidjojo, 2005).

Kromatografi kolom bertujuan untuk purifikasi dan isolasi komponen dari suatu campurannya. Metode pembuatan kolom terbagi menjadi 2, yaitu metode kering dan metode basah. Pada metode kering, kolom diisi dengan fase diam bubuk yang kering, lalu diikuti dengan penambahan fase gerak. Sedangkan pada metode basah, bubur (slurry) disiapkan dari eluen dengan fase diam bubuk dan kemudian dengan hati-hati dituangkan ke dalam kolom (Gritter dkk, 1991).

Sebagian besar prinsip pemisahan kromatografi kolom didasarkan pada afinitas kepolaran analit dengan fase diam. Sedangkan fase gerak selalu memiliki kepolaran yang berbeda dengan fase diam. Pada sebagian besar kromatografi kolom, menggunakan fase diam yang bersifat polar dengan fase gerak yang non-polar akan menjadikan waktu retensi lebih singkat. Semakin cepat pergerakan fase gerak, akan meminimalkan waktu yang diperlukan untuk bergerak di sepanjang kolom. Laju aliran kolom dapat ditingkatkan dengan memperluas aliran eluent di dalam kolom dengan mengisi fase diam pada bagian bawah atau dikurangi dengan mengontrol kran. Laju aliran yang lebih baik dapat dicapai dengan menggunakan pompa atau dengan menggunakan gas dengan kompresi (misalnya nitrogen atau argon) untuk mendorong pelarut melalui kolom. Kolom (tabung gelas) diisi dengan bahan seperti alumina, silika gel atau pati yang dicampur dengan adsorben, dan pastinya diisikan ke dalam kolom. Larutan sampel kemudian diisikan kedalam kolom dari atas sehingga sampel diadsorbsi oleh adsorben. Kemudian pelarut (fasa gerak; pembawa) ditambahkan tetes

demis tetes dari atas kolom. Partisi zat terlarut berlangsung di pelarut yang turun ke bawah (fase gerak) dan pelarut yang teradsorpsi oleh adsorben (fase diam). Selama perjalanan turun, zat terlarut akan mengalami proses adsorpsi dan partisi berulang-ulang. Laju penurunan berbeda untuk masing-masing zat terlarut dan bergantung pada koefisien partisi masing-masing zat terlarut (Sastrohamidjojo, 2005).

Keuntungan kromatografi kolom yaitu dapat digunakan untuk analisis dan aplikasi preparatif, menentukan jumlah komponen campuran, serta memisahkan dan purifikasi substansi. Kerugian kromatografi kolom yaitu dibutuhkan kemampuan teknik dan manual untuk mempersiapkan kolom. Selain itu, metode ini membutuhkan waktu yang lama (time consuming) (Rahman, 2009).

H. Antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, memusnahkan mikroorganisme pada inang yang terinfeksi dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Ganiswarna, 2007).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa kerusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan

protein. Pada bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakterostatik, bakteriosidal dan bakteriolitik (Pelczar dan Chan, 1988).

Daya antimikrobia diukur secara *in vitro* agar dapat ditentukan kemampuan suatu zat antimikrobia. Adanya fenomena ketahanan tumbuhan secara alami terhadap mikroba menyebabkan pengembangan sejumlah senyawa yang berasal dari tanaman yang mempunyai kandungan antibakteri dan antifungi (Jawetz, 2008).

I. Karakteristik *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif yang menghasilkan pigmen kuning, bersifat aerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan tidak motil, umumnya tumbuh berpasangan maupun berkelompok, dengan diameter sekitar 0,8-1,0 μm (Jawetz, 2008).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah (Anonim, 2010):

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Staphylococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Jenis	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus merupakan bakteri osmotoleran, yaitu bakteri yang dapat hidup di lingkungan dengan rentang konsentrasi zat terlarut (contohnya garam) yang tinggi, dan dapat hidup pada konsentrasi NaCl sekitar 3 Molar. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan optimum pada suhu 37°C dengan waktu pembelahan 0,47 jam. Bakteri ini biasanya terdapat pada saluran pernafasan atas dan kulit, keberadaan *S. aureus* pada saluran pernafasan atas dan kulit pada individu jarang menyebabkan penyakit, individu sehat biasanya hanya berperan sebagai karier (Honeyman dkk, 2001).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif, dinding selnya terdiri dari peptidoglikan yang sangat tebal dan memberi kekakuan untuk mempertahankan keutuhan sel. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, tumbuh baik pada kondisi habitat yang mengandung NaCl hingga 10% dan pada suhu 60°C hingga 30 menit. *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu 7-47,8 °C dan memproduksi enterotoksin antara suhu 10-46 °C (Morin dan Gorman, 1995).

J. Karakteristik *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bagian dari flora normal kolon pada manusia dan binatang, tetapi dapat menjadi pathogen baik didalam maupun diluar saluran cerna. *E.coli* memiliki fimbria atau pili yang penting untuk melekatannya kepada permukaan mukosa inang, dan berbagai galur organisme ini mungkin dapat bergerak aktif atau tidak bergerak. Kebanyakan galur bakteri ini meragikan laktosa berbeda dengan patogen usus lainnya. *E.coli* memproduksi asam maupun gas selama meragikan karbohidrat (Cornelissen *et al*, 2015).

Klasifikasi *Escherichia coli*

Kingdom	: Prokaryota
Divisio	: Gracilicutes
Class	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i> (Juliantina <i>et al</i> , 2008)

E. coli merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, motil aktif dan tidak membentuk spora. Pembiakkan *E. coli* bersifat aerob atau fakultatif anaerob, pertumbuhan optimum pada suhu 37°C. *E. coli* mempunyai beberapa antigen, yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O merupakan antigen somatik berada dibagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak dikapsul (Juliantina *et al*, 2008).

K. Metode Identifikasi secara Spektroskopi *infra red* (IR)

Spektroskopi inframerah adalah teknik yang didasarkan adanya vibrasi dari atom pada suatu molekul. Spektrumnya diperoleh dari sinar radiasi inframerah yang diserap oleh sampel pada energi tertentu. Frekuensi inframerah biasanya dinyatakan dalam satuan bilangan gelombang per sentimeter. Daerah IR mempunyai jarak pengukuran dari 4000 – 625 cm⁻¹ .

Spektrum IR yang berada pada daerah diatas $1600-4000\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan pita spektrum yang disebabkan adanya vibrasi yang khas dari ikatan kimia gugus fungsi molekul yang ditentukan, sedangkan spektrum IR yang berada pada daerah $1300-625\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan pita spektrum yang disebabkan oleh getaran seluruh molekul dan dikenal dengan nama sidik jari. Kisaran frekuensi pada bilangan gelombang ini sama dengan energi sekitar 2-12 kkal/mol. Jumlah energi ini cukup mempengaruhi vibrasi ikatan (gerakan uluran atau pembengkokan ikatan) tetapi sangat kurang untuk memutus ikatan. Jenis ikatan tertentu biasanya meregang pada kisaran sempit dengan frekuensi tertentu. Spektroskopi inframerah terutama bermanfaat untuk menetapkan jenis ikatan yang ada dalam molekul (dengan menggunakan daerah gugus fungsi) (Dachriyanus, 2004).

Tabel 2.2. Frekuensi dan Absorbansi IR (Harmita, 2015)

	Gugus Fungsi	Tipe Vibrasi	Intensitas	Frekuensi
C-H	Alkana	Ulur	Kuat	3000-2850
	CH ₃	Tekuk	Sedang	1450
	CH ₂	Tekuk	Sedang	1375
=CH	Alkena	Ulur	Sedang	3100-3000
		Tekuk Luar Bidang	Kuat	1000-650
=CH	Aromatis	Ulur	Kuat	3150-3050
		Tekuk Luar Bidang	Kuat	900-690
≡CH	Alkuna	Ulur	Kuat	±3300
C-H	Aldehida	-	Lemah	2900-2800
		-	Lemah	2800-2700
C-C	Alkana	-	-	-
C=C	Alkena	-	Sedang-lemah	1680-1600

	Aromatis	-	Sedang-lemah	1600 dan 1475
C≡C	Alkuna	-	Sedang-lemah	2250-2100
	Aldehida	-	Kuat	1740-1720
	Keton	-	Kuat	1725-1705
	Asam karboksilat	-	Kuat	1725-1700
C=O	Ester	-	Kuat	1750-1730
	Amida	-	Kuat	1670-1640
	Anhidrida	-	Kuat	1810 dan 1760
	Asil halide	-	Kuat	1800
C-O	Alkohol, eter, ester, asam karboksilat, anhidrida	-	Kuat	1300-1000
O-H	Hidroksil (alkohol, fenol)	-	-	
	Bebas	-	Sedang	3650-3600
	H-terikat	-	Sedang	3500-3200
	Asam karboksilat	-	Sedang	3400-2400
N-H	Amin, primer, amin sekunder dan amida	Ulur	Sedang	3500-3100
		Tekuk	Sedang-kuat	1640-1550
C-N	Amin	-	Sedang-kuat	1350-1000
C=N	Imin dan Oksim	-	Lemah-sedang	1690-1640
C≡N	Nitril	-	Sedang	2260-2240
X=C=Y	Alena Katena Isosianat Isotiosianat	-	-	2270-1950
N=O	Nitro (R-NO ₃)	-	Kuat	1550 dan 1350
S-H	Merkaptan	-	Lemah	2550
S=O	Sulfoksida	-	Lemah	1050
	Sulfon, sulfonilkloroda, sulfat dan sulfonamide	-	Kuat	1375-1300 dan 1200-1140
C-X	Florida	-	Kuat	1400-1000

	Klorida	-	Kuat	800-600
	Bromida, iodide	-	Kuat	<667

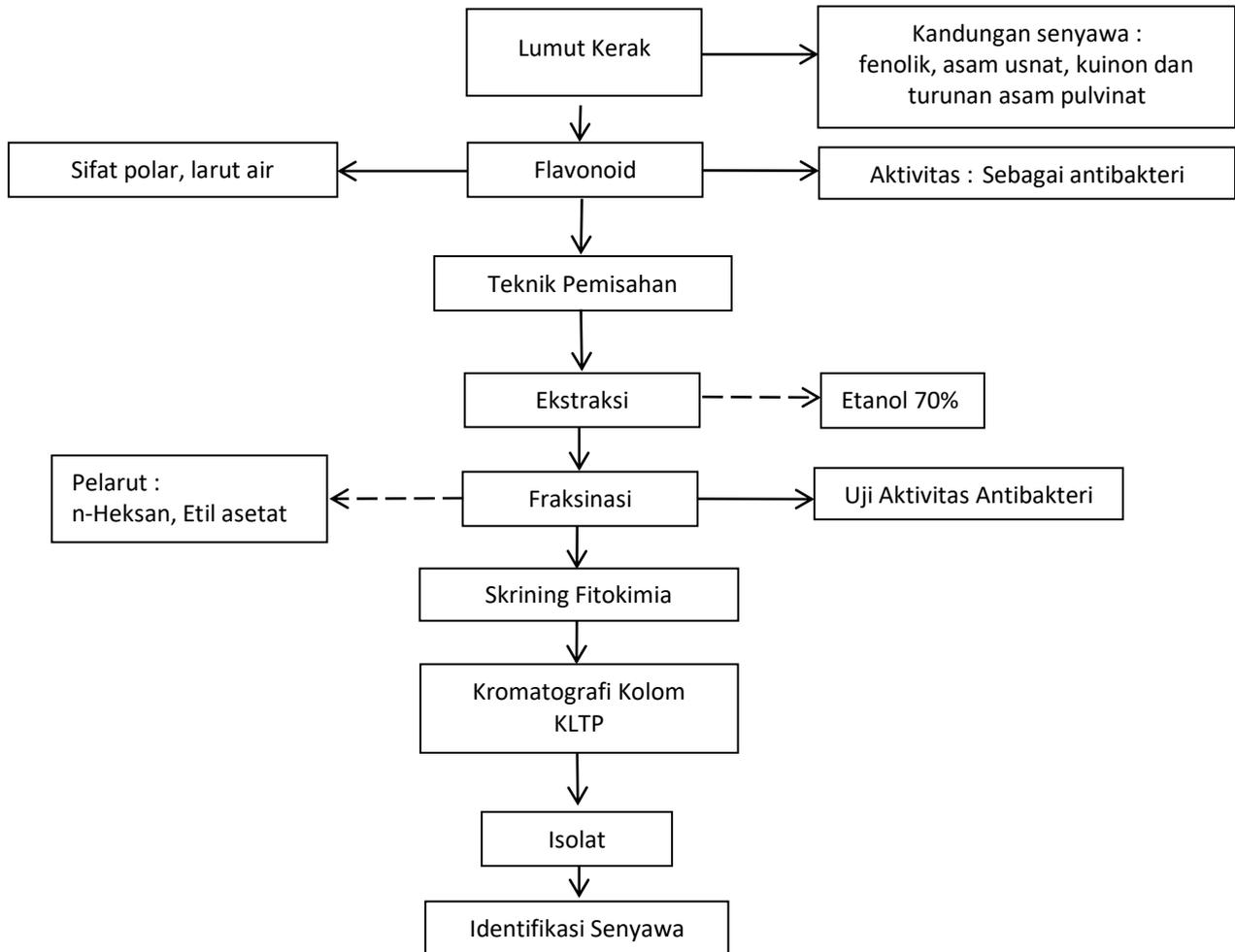
Tabel 2.3. Frekuensi dan Absorbansi IR (Fessenden, 1999)

Macam Ikatan	Frekuensi Absorpsi Dalam (cm ⁻¹)
Karbon-karbon	
C=C (alkenil)	1600-1700
C-C (aril)	1450-1600
C≡C (alkinil)	2100-2250
Karbon-hidrogen	
Sp ³ C-H	2800-3000
Sp ² C=H	3000-3300
Sp C≡H	~ 3300
Aldehida C-H	2700-2780
Alkohol, eter, fenol dan amin	
O-H	3000-3700
N-H	3000-3700
Alkohol C-O	900-1300
Amin C-N	900-1300
Eter C-O	1050-1260
Senyawa karbonil	
Aldehida C=O	1720-1740
Keton C=O	1705-1750
Karbonil C=O	1700-1725
Ester C=O	1735-1750
Nitril	
C≡N	2200-2400

Tabel 2.4. Serapan Khas Gugus Fungsi IR (Silverstein, 2005)

Gugus Fungsi	Jenis Senyawa	Daerah Serapan (cm^{-1})
C-H	Alkana	2850-2960, 1350-1470
C-H	Alkena	3020-2960, 675-870
C-H	Aromatik	3000-3100, 675-870
C-H	Alkuna	3300
C=C	Alkena	1640-1680
C=C	Aromatik (cincin)	1500-1600
C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, eter.	1080-1300
C=O	Aldehid, keton, asam karboksilat, ester.	1690-1760
O-H	Alkohol, fenol (monomer)	3610-3640
O-H	Alkohol, fenol (ikatan H)	2000-3600
O-H	Asam, karboksilat	3000-3600 (lebar)
N-H	Amina	3310-3500
C-N	Amina	1180-1360

L. Kerangka Teori



M. Kerangka Konsep



Keterangan :

Variabel bebas : 

Variabel antara : 

Variabel tergantung : 

Hubungan variabel bebas : 

Hubungan Variabel tergantung : 

N. Hipotesis

1. Ekstrak dari lumut kerak (*Parmotrema tinctoruma*) mengandung senyawa metabolit sekunder
2. Isolat senyawa aktif dari lumut kerak memiliki aktivitas sebagai antibakteri

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Juni 2018 sampai November 2019, berlokasi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi, Laboratorium Biofarmaka Pusat Kegiatan Penelitian, dan Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin Makassar.

B. Bahan dan Alat Penelitian

1. Alat yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (*Iwaki Pyrex®*), autoklaf (*HL 36Ae®*), batang pengaduk, bejana maserasi, blender (*Sanex®*), botol vial, cawan petri (*Iwaki Pyrex®*), cawan porselin, *chamber*, corong kaca (*Iwaki Pyrex®*), Erlenmeyer berbagai ukuran, gelas ukur (*Iwaki Pyrex®*), *hot plate*, inkubator (*Memmert®*), jangka sorong (*Kenmaster®*), jarum ose, labu ukur (*Iwaki Pyrex®*), lampu UV (254 dan 366 nm), *microwave* (*Sharp®*), oven (*Memmert®*), pinset, pipet tetes berbagai ukuran, pipet ukur berbagai ukuran, pipa kapiler, seperangkat kromatografi kolom, tabung reaksi (*Iwaki Pyrex®*), timbangan analitik (*Precisa®*), tip dan mikropipet (*Acura®*), statif dan klem, Spektrofotometer IR, *vacuum rotary evaporator* (*Rotavapor II Buchi®*).

2. Bahan yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah aluminium foil, aquadest, biakan akuades, aluminium foil, amonia (*Merck®*), asam asetat (CH_3COOH) glacial

(Merck®), asam klorida (HCl) pekat (Merck®), asam sulfat (H₂SO₄) (Merck®), bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, besi (III) klorida (FeCl₃) (Merck®), DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) (Merck®), etanol 70% (Brataco®), etil asetat (Merck®), H₂SO₄ (Merck®), kapas, kertas cakram, kertas saring Whatman 42, magnesium (Mg) (Merck®), metanol (Merck®), n-heksan (Merck®), Nutrien Agar (NA) (Oxoid®), pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, peraksi Wagner, silica gel KLT 60 F₂₅₄ (ukuran 20 x 20 cm), lumut kerak (*Parmotrema tinctoruma*), silica gel 60 (0,063-0,200 mm).

C. Prosedur Kerja Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Lumut kerak sebanyak 1000 g diperoleh dari Kelurahan Pakala, Kecamatan Mengkendek, Kabupaten Tana Toraja, Provinsi Sulawesi Selatan. Determinasi lumut kerak dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) dengan nomor Determinasi 1962/IPH.1.01/lf.07/VIII/2017.

2. Preparasi Sampel

Lumut kerak dicuci dengan air mengalir lalu ditiriskan, dirajang kemudian dikeringkan dalam lemari pengering. Tujuan dikeringkan adalah agar kadar air (<10%) berkurang sehingga memudahkan pada saat ekstraksi. Simplisia yang telah kering disortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing atau zat pengotor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi. Simplisia kemudian dihaluskan menggunakan blender kemudian diayak dengan derajat kehalusan 22/60 untuk mendapatkan tekstur serbuk agak kasar.

3. Ekstraksi Simplisia

Ekstrak etanol diperoleh melalui metode maserasi dengan merendam 200 g simplisia dalam etanol 70% (perbandingan 1:10) selama 3 hari diikuti dengan filtrasi. Proses diulang tiga kali dan ekstrak digabungkan. Penyari diuapkan pada *vacuum rotary evaporator (Rotavapor II Buchi®)* hingga diperoleh ekstrak etanol kental.

4. Skrining Fitokimia Ekstrak Lumut Kerak

a. Uji Alkaloid

Ekstrak dilarutkan dengan 5 mL akuades lalu ditambahkan 5 tetes HCl 2 N kemudian dipanaskan. Dipisahkan menjadi 3 bagian, masing-masing bagian ditetaskan dengan pereaksi Dragendorf (hasil positif menghasilkan endapan jingga), pereaksi Mayer (hasil positif menghasilkan endapan putih) dan pereaksi Wagner (hasil positif menghasilkan endapan coklat).

b. Uji Flavonoid

Ekstrak dilarutkan dengan 5 mL aquadest, kemudian ditambahkan 0,1 g bubuk magnesium dan 2 tetes HCl pekat. Hasil positif mengandung flavonoid jika terjadi perubahan warna jingga, merah atau kuning.

c. Uji Saponin

Ekstrak dilarutkan dengan 5 mL air hangat, kemudian dikocok kuat-kuat selama ± 60 detik. Positif mengandung saponin jika busa yang terbentuk setinggi 1 cm (bertahan selama ± 10 menit) dan setelah menambahkan 1 tetes HCl 2 N busa tidak hilang.

d. Uji Tanin

Ekstrak dilarutkan dengan 5 mL akuadest kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl_3 . Positif mengandung senyawa tanin jika terjadi perubahan warna pada larutan menjadi hijau kehitaman.

5. Partisi Cair-cair

Ekstrak etanol dipartisi dengan metode cair-cair. Sebanyak 5 g ekstrak etanol disuspensikan dengan 50 mL air suling ke dalam corong pisah dan dipartisi secara berturut-turut dengan n-heksan dan etil asetat untuk mendapatkan fraksi dalam penyari ini. Proses ini akan meninggalkan sisa fraksi air. Penyari dihilangkan dengan bantuan *vacuum rotary evaporator* pada tekanan rendah untuk mendapatkan fraksi kental.

6. Orientasi Eluen dengan Metode KLT

a. Penyiapan plat KLT

Plat KLT diaktifkan menggunakan oven pada suhu 115°C kemudian dipotong dengan ukuran 7×1 cm (lebar disesuaikan dengan jumlah sampel).

b. Penyiapan eluen

Eluen yang digunakan adalah campuran pelarut n-heksan : etil asetat. Fraksi yang diperoleh pada metode sebelumnya diaplikasikan pada plat KLT dan dielusi dalam larutan pengembang n-heksan:etil asetat (3:1, 1:1, 6:4, 7:3, 8:2 dan 9:1). Deteksi bercak diamati dalam lampu UV 254 nm dan 366 nm. Eluen dengan perbandingan (9:1) terpilih karena menunjukkan profil pemisahan paling jelas dan memberikan spot paling banyak pada sinar UV 254 nm dan 366 nm. Eluen tersebut digunakan sebagai fase gerak untuk tahapan selanjutnya.

7. Aktivitas Antibakteri Fraksi Hasil Partisi

a. Pembuatan Media

Media Nutrien Agar 20 g dilarutkan dengan 500 mL aquadest di dalam Erlenmeyer, kemudian diaduk dan dihomogenkan dengan bantuan pemanasan menggunakan *microwave* hingga semua bahan larut. Setelah itu diukur pH 7,2 dan dicukupkan volumenya hingga 1000 mL. Kemudian disterilkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C atm selama 15 menit.

b. Peremajaan Kultur Murni

Koloni bakteri uji diambil dengan menggunakan ose steril dari kultur murninya dan selanjutnya diinokulasi dalam medium *Nutrien Agar* (NA) miring dalam tabung reaksi kemudian diinkubasi menggunakan inkubator pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

c. Pengujian

Masing-masing fraksi dibuat dengan konsentrasi 3% atau 0,6 g. Tiap fraksi dilarutkan dengan DMSO 10%. Medium NA dimasukkan ke dalam cawan petri 15 mL dan dibiarkan memadat, kemudian suspensi bakteri *S.aureus* diambil dengan menggunakan swab steril dan digoreskan pada media. Kemudian masing-masing fraksi diaplikasikan pada kertas cakram masing-masing 20 µL. Semua fraksi dan control uji ditempatkan pada permukaan media. Kontrol positif menggunakan paperdisk tetrasiklin 30 µg dan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam yang lalu diamati zona hambat yang terbentuk dan diukur diameternya menggunakan

jangka sorong. Hal yang sama dilakukan untuk pengujian menggunakan bakteri *Escherichia coli*.

8. Skrining Golongan Senyawa Flavonoid pada Fraksi n-heksan

Kromatogram hasil KLT dari fraksi n-heksan diuapkan menggunakan larutan amonia selama 30 menit. Tampak bercak berpendar kuning dalam sinar UV 366 nm yang menandakan hasil positif mengandung golongan senyawa flavonoid pada fraksi n-heksan.

9. Kromatografi Kolom Konvensional

a. Penyiapan Kolom Konvensional

Pengerjaan dimulai dengan menimbang silika gel 60 sebanyak 50 g dan ditambahkan pelarut n-heksan hingga berbentuk suspensi. Suspensi silika gel lalu dimasukkan dan dipadatkan hingga tidak terdapat rongga udara. Bagian atas kolom dilapisi dengan kertas saring kemudian dialirkan menggunakan larutan n-heksan.

b. Penyiapan Sampel

Silika gel 60 selanjutnya ditimbang sebanyak 5 g, lalu dicampurkan ke dalam 5 g sampel hingga homogen dan digerus sampai kering.

c. Penyiapan Eluen

Secara berurutan disiapkan 10 konsentrasi eluen dengan volume masing-masing 100 mL yaitu eluen 1-9 dibuat dengan campuran n-heksan : etil asetat, dimana eluen 1 (20:1), eluen 2 (10:1), eluen 3 (9:1), eluen 4 (8:1), eluen 5 (7:1), eluen 6 (6:1), eluen 7 (5:1), eluen 8 (1:1), eluen 9 (1:5) dan eluen 10 metanol 100 mL.

d. Pemisahan dan Pemurnian

Sampel dimasukkan secara perlahan ke dalam kolom melalui bagian atas dengan bantuan corong kaca. Pada bagian atas sampel selanjutnya dilapisi dengan kertas saring. Setelah itu proses elusi dapat dilakukan. Proses elusi dimulai dengan menuang eluen mulai dari eluen yang non polar ke dalam kolom. Setelah melewati dan mengelusi kolom, maka akan keluar eluat yang ditampung dalam wadah. Eluat yang keluar pertama disebut dengan fraksi 1 sampai eluen pertama habis, eluat kedua sebagai fraksi 2 sampai eluen kedua habis dan seterusnya. Proses ini dilakukan terus menerus dengan peningkatan kepolaran eluen secara gradien sampai dengan eluen paling polar. Hasil pemisahan tersebut menghasilkan 10 fraksi.

e. Analisis Hasil Pemisahan

Seluruh fraksi (F1-F10) hasil Kromatografi Kolom Konvensional kemudian diuji pada plat KLT dengan eluen campuran n-heksan:etil asetat (9:1) sebanyak 20 mL. Hasil KLT tersebut diamati dengan menggunakan lampu UV 254 nm, 366 nm dan pereaksi semprot H_2SO_4 10%. Fraksi dengan nilai R_f yang sama digabung dan dipekatkan kembali. Dari hasil penggabungan fraksi diperoleh 4 fraksi (Fraksi A-D).

10. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi A-D

Medium NA dimasukkan ke dalam cawan petri 15 mL dan dibiarkan memadat, kemudian suspensi bakteri *S.aureus* diambil dengan menggunakan swab steril dan digores pada media. Kemudian masing-masing fraksi dilarutkan dengan DMSO 10%, lalu ditetaskan pada paperdisk masing-masing 20 μ L.

Semua fraksi ditempatkan pada permukaan media, untuk kontrol positif menggunakan paperdisk tetrasiklin 30 µg. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam yang lalu diamati zona hambat yang terbentuk dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Hal yang sama dilakukan untuk pengujian menggunakan bakteri *E.coli*.

11. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif Fraksi B

Fraksi B yang memiliki diameter zona hambat paling besar diuji lebih lanjut dengan metode KLT preparatif. Fraksi B diaplikasikan pada plat kaca berukuran 20x20 cm dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (9:1) hingga diperoleh beberapa isolat senyawa. Masing-masing isolat yang sudah dikerok dilarutkan dengan etil asetat kemudian disentrifugasi sehingga hasil akhir akan diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antibakterinya kembali.

12. Uji Aktivitas Antibakteri Isolat Senyawa 1 dan 2

Medium NA dimasukkan ke dalam cawan petri 15 mL dan dibiarkan memadat, kemudian suspensi bakteri *S. aureus* diambil dengan menggunakan swab steril dan digores pada media. Kemudian masing-masing isolat dilarutkan dengan DMSO 10%, lalu diteteskan pada kertas cakram masing-masing 20 µl. Semua fraksi ditempatkan pada permukaan media, untuk kontrol positif menggunakan kertas cakram tetrasiklin 30 µg. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam yang lalu diamati zona hambat yang terbentuk dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong.

13. Spektroskopi Infra Merah (*Infra red*/FT-IR) Isolat Senyawa 1

Isolat senyawa 1 dari metode pemurnian KLTP kemudian diukur menggunakan spektroskopi IR untuk mengetahui gugus fungsi suatu senyawa kimia khususnya senyawa organik yang terdapat dalam lumut kerak.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Telah dilakukan penelitian tentang karakterisasi senyawa dan uji aktivitas antibakteri dari lumut kerak. Lumut kerak yang dipilih sebagai sampel penelitian ini diperoleh dari Kelurahan Pakala, Kecamatan Mengkendek, Kabupaten Tana Toraja, Provinsi Sulawesi Selatan. Lumut kerak dipilih sebagai sampel penelitian untuk memanfaatkan epifit yang hidup pada pepohonan sehingga tidak mengurangi ekosistem tumbuhan jenis tertentu. Agar dapat digunakan sebagai bahan baku obat tradisional maka perlu dilakukan standarisasi. Salah satu parameter standarisasi bahan obat tradisional yaitu informasi mengenai kandungan metabolit sekunder dan profil KLT dari ekstrak tanaman tersebut (Saifudin *et al.* 2011). Determinasi lumut kerak dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) dengan nomor determinasi 1962/IPH.1.01/If.07/VIII/2017 (lampiran gambar 6).

Tahap awal penelitian adalah pengumpulan lumut kerak yang menempel pada pepohonan. Simplisia yang terkumpul sebanyak 1000 g kemudian dicuci bersih hingga zat pengotor atau tanah yang menempel terpisah dari simplisia, kemudian dikeringkan pada lemari pengering simplisia (*IL-80 EN[®]*) selama 8 jam pada suhu 40°C. Pengeringan simplisia menghasilkan bobot kering (200 g) 20% dari berat simplisia segar (tabel 4.1 dan lampiran gambar 7).

Tabel 4.1 : Hasil ekstraksi lumut kerak

Sampel	Bobot Simplisia (g)	Volume Etanol 70% (mL)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Lumut kerak (<i>Parmotrema tinctorum</i>)	200	2.000	27	13,5 b/b

Tahap selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi, yang mempunyai beberapa kelebihan antara lain alat yang digunakan sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendaman tetapi menghasilkan produk yang baik, selain itu dengan teknik ini zat-zat yang tidak tahan panas tidak akan rusak (Harborne, 1996). Pada tahap ekstraksi sebanyak 200 g serbuk simplisia dimaserasi menggunakan penyari etanol 70% karena bersifat lebih selektif, etanol lebih mudah menembus membran sel ketika mengekstraksi bahan intraseluler dari bahan tanaman. tidak beracun, netral, absorpsinya baik, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol >20% (Santana *et al*, 2009) dan menurut (Karou *et a.*, 2005) pemanfaatan etanol sebagai penyari karena etanol baik untuk mengekstraksi senyawa antibakteri seperti flavonoid dan alkaloid. Proses perendaman 3x24 jam dan dilakukan sampai 3 kali dengan tujuan untuk memaksimalkan penarikan senyawa-senyawa yang dapat terdapat pada lumut kerak serta mendapatkan ekstrak yang lebih banyak (lampiran gambar 8).

Dari hasil maserasi diperoleh filtrat berwarna coklat pekat. Kemudian filtrat dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator (Rotavapor II Buchi®)* hingga diperoleh ekstrak kental. Proses evaporasi dilakukan untuk menghilangkan sisa penyari yang terkandung dalam ekstrak. Hasil akhir yang

diperoleh berupa ekstrak kering 27 g setelah diangin-anginkan pada suhu ruangan (lampiran gambar 9). Nilai rendemen dari ekstrak yaitu 13,5% (tabel 4.1). Semakin besar rendemen yang dihasilkan dapat diasumsikan bahwa komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak lebih banyak (Nurhayati *et al*, 2009).

Ekstrak etanol 70% kemudian disuspensikan dengan 50 mL akuades (1:1 b/v) dalam corong pisah dan dipartisi secara berurutan dengan n-heksan dan etil asetat untuk mendapatkan fraksi. Pada proses ini akan meninggalkan sisa fraksi air. Masing-masing fraksi dipekatkan dengan bantuan *vacuum rotary evaporator* pada tekanan rendah untuk mendapatkan fraksi kental (tabel 4.2).

Tabel 4.2 : Hasil partisi cair-cair ekstrak etanol 70%

Sampel	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi n-heksan (g)	Bobot fraksi etil asetat (g)	Bobot fraksi tidak larut air (g)
Ekstrak etanol Lumut kerak	5	5,821	4,062	9,014

Skrining fitokimia pada ekstrak etanol 70% lumut kerak menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin (tabel 4.3 dan lampiran gambar 10). Kelompok senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid dan tanin yang terkandung dalam 70% ekstrak etanol lumut kerak, adalah kelompok senyawa yang memiliki sifat antibakteri (Bylka *et al*, 2004).

Tabel 4.3 : Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol lumut kerak

Senyawa	Pereaksi	Perubahan Reaksi	Hasil
Alkaloid	Ekstrak+HCl 2M+Dragendorf	Endapan jingga	+
	Ekstrak+HCl 2M+Mayer	Endapan putih	+
	Ekstrak+HCl 2M+Wagner	Endapan coklat	+
Flavonoid	Ekstrak+Mg+HCl	Endapan merah tua	+
Saponin	Ekstrak+air hangat	Berbuih 2-10 cm	-
Tanin	Lieberman Buchard	Hijau	+

Dilakukan orientasi eluen menggunakan campuran n-heksan : etil asetat. Fraksi yang diperoleh pada metode sebelumnya diaplikasikan pada plat KLT dan dielusikan dalam larutan pengembang n-heksan:etil asetat (3:1, 1:1, 6:4, 7:3, 8:2 dan 9:1). Deteksi bercak diamati dalam lampu UV 254 nm dan 366 nm. Eluen campuran n-heksan : etil asetat dengan perbandingan (9:1) terpilih karena menunjukkan profil pemisahan paling jelas dan memberikan spot paling banyak pada sinar UV 254 nm dan 366 nm (gambar 11). Eluen tersebut digunakan sebagai fase gerak untuk tahapan selanjutnya.

Fraksi yang diperoleh dari proses partisi diuji aktivitas antibakterinya dimana fraksi n-heksan memiliki diameter zona hambat yang lebih besar dibanding fraksi etil asetat pada **bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*** (tabel 4.4 dan lampiran gambar 12). Fraksi n-heksan diaplikasikan pada plat KLT untuk diidentifikasi dengan menggunakan uap amonia selama 30 menit. Berdasarkan hasil pengujian ditemukan bahwa pada fraksi n-heksan mengandung senyawa golongan flavonoid (lampiran gambar 21).

Tabel 4.4 : Data uji aktivitas antibakteri fraksi partisi

Sampel Uji	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Fraksi n-Heksan	14,50	11,37
Fraksi Etil Asetat	10,01	9,67
Fraksi Air	6,67	7,02
Kontrol – (DMSO)	6	6
Kontrol + (Tetrasiklin)	30,38	30,38

Fraksi n-heksan dikromatografi kolom konvensional menggunakan 10 perbandingan eluen (tabel 4.5). Dari proses tersebut menghasilkan 10 fraksi (F1-F10) yang ditampung pada 50 vial yang telah dikalibrasi dengan volume 20 mL (tabel 4.5 dan gambar 13). Selanjutnya semua fraksi yang diperoleh diKLT kembali menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (9:1) (gambar 14). Dilakukan penggabungan menjadi 4 fraksi (fraksi A, fraksi B, fraksi C dan fraksi D) berdasarkan nilai Rf dan warna spot noda pada lempeng KLT (gambar 15).

Tabel 4.5 : Data eluen dan hasil kromatografi kolom konvensional

No	n-Heksan (mL)	Etil Asetat (mL)	Perbandingan	Warna Fraksi	Kode Fraksi
1	95,23	4,77	20 : 1	Bening	F1
2	90,90	9,10	10 : 1	Kuning Kecoklatan	F2
3	90	10	9 : 1	Kuning	F3
4	88,88	11,12	8 : 1	Merah Bata	F4
5	87,50	12,50	7 : 1	Coklat Kehitaman	F5
6	85,71	14,29	6 : 1	Coklat Kehitaman	F6
7	83,33	16,67	5 : 1	Kuning Kecoklatan	F7

8	50	50	1 : 1	Coklat Muda	F8
9	16,67	83,33	1 : 5	Coklat Muda	F8
10	0	0	100 mL Metanol	Bening	F10

Tahap selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap keempat fraksi tersebut. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa yang memiliki aktivitas paling besar adalah fraksi B pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (tabel 4.6 dan lampiran gambar 16).

Tabel 4.6 : Data uji aktivitas antibakteri fraksi A-D

Sampel Uji	Diameter Zona Hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Fraksi A (F1)	6,12	6,15
Fraksi B (F 2-5)	12,13	9,54
Fraksi C (F 6-7)	8,15	7,43
Fraksi D (F 8-F10)	6,77	6,65
Kontrol + (Tetrasiklin)	30,39	30,38

Fraksi B diuji lebih lanjut ke tahap pemisahan senyawa dengan metode KLT preparatif hingga diperoleh dua isolat senyawa (isolat 1 dan 2) (lampiran gambar 17). Isolat senyawa yang diperoleh selanjutnya diuji kembali aktivitas antibakterinya terhadap biakan bakteri *S.aureus*, dimana isolat 1 memiliki diameter zona hambat lebih besar (10,51 mm) dibandingkan isolat 2 yaitu (7,87 mm) (tabel 4.7 dan lampiran gambar 18).

Tabel 4.7 : Data uji aktivitas antibakteri isolat senyawa 1 dan 2

Sampel Uji	Diameter Zona Hambat (mm)
	<i>Staphylococcus aureus</i>
Isolat 1	10,51
Isolat 2	7,87
Kontrol + (Tetrasiklin)	30,37

Isolat 1 selanjutnya dikarakterisasi menggunakan instrumen spektrofotometer inframerah (FT-IR). Isolat 1 dipilih karena memiliki diameter zona hambat lebih besar dibandingkan isolat 2.

Tabel 4.8: Hasil pembacaan spectrum FT-IR pada isolat 1

No	Bilangan gelombang isolat 1 (cm ⁻¹)	Daerah Frekuensi (cm ⁻¹)			Prediksi gugus fungsi
		Pustaka Silverstein (2005)	Pustaka Fessenden (1999)	Pustaka Harmita (2015)	
1	1020,34	-	900-1300	1000-1300	C-O
2	1539,20	1640-1680	1600-1700	1600-1680	C=C
3	2854,65	2850-2960	2800-3000	2850-3000	C-H
4	3441,01	3310-3500	3000-3700	3200-3500	O-H

Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi 1020,34 cm⁻¹ pada daerah sidik jari dengan intensitas serapan kuat. Nilai tersebut mengidentifikasi adanya gugus C-O karena absorpsi terjadi pada bilangan 1000-1300 cm⁻¹ (Harmita, 2005).

Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi 1539,20 cm⁻¹ dengan intensitas serapan sedang dan tajam. Nilai tersebut mengindikasikan adanya gugus C=C karena absorpsi terjadi pada panjang gelombang 1600-1700 cm⁻¹ (Fessenden, 1999).

Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi $2854,65\text{ cm}^{-1}$ dengan tipe vibrasi ulur dan intensitas serapan kuat. Nilai tersebut mengindikasikan adanya gugus C-H karena absorpsi terjadi pada panjang gelombang **2800-3000** cm^{-1} (Fessenden, 1999).

Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi $3441,01\text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas serapan sedang. Nilai tersebut mengindikasikan adanya gugus O-H karena absorpsi terjadi pada panjang gelombang 3000-3600 cm^{-1} (Silverstein, 2005).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Lumut kerak terbukti dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat 14,50 mm dan bakteri *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 11,37 mm.
2. Hasil karakterisasi lumut kerak dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR diduga mengandung senyawa flavonoid dengan gugus O-H dengan bilangan gelombang $3441,01\text{ cm}^{-1}$, gugus C-H dengan bilangan gelombang $2854,65\text{ cm}^{-1}$, gugus C=C dengan bilangan gelombang $1539,20\text{ cm}^{-1}$, gugus C-O dengan bilangan gelombang $1020,34\text{ cm}^{-1}$.

B. Saran

Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut menggunakan instrumen spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan *Gas Chromatografi Mass Spectrometry* (GC-MS).

DAFTAR PUSTAKA

1. Adijuwana, H., Anwar, M. 1989. *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologis*. IPB. Bogor.
2. Al-Thani, R.F., Al-Meri, A.H. *Study of Some Lichens of Qatar*. J. Biol. 2011:1(3);41-46.
3. Amo De Paz G., Raggio J., Gómez-Serranillos, M. P., Palomino O. M., González-Burgos, E., Carretero M. E., Crespo, A. *HPLC isolation of antioxidant constituents from Xanthoparmelia spp.* Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2010:53;165–171.
4. Australian Government. 2007. *Checklist of the Lichen of Australia and its Island Territories Parmotrema Tinctorum (Nyl) Hale*.
5. Balaji, P., Hariharan, G.N. *In Vitro Antimicrobial Activity of Parmotrema praesorediosum Thallus Extracts*. Res Journal of Botany. 2007:2(1);54-59.
6. Bergner. 1990. *Usnea: The Herbal Antibiotic and Other Medicinal Liches*. Capitola: Botanica Press.
7. Brenan, S. *Biological Activity of Some Common Lichen*. FASEB Journal. 2009:23;716.10.
8. Bialonska, D., Dayan, F.E. *Chemistry of Lichen Hypogymnia physodes Transplanted to an Industrial Region*. Journal of Chemical Ecology. 2015.
9. Djide, N, Sartini. 2005. *Analisis Mikrobiologi Farmasi*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar.
10. Fadhilla, R., Iskandar, E.A.P., Kusumaningrum, H.D.W. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Lumut Hati (Marchantia paleaceae) Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan*. J. Teknologi dan Industri Pangan. 2012:22.
11. Ganiswarna, G.S. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi V. Departemen Farmakologi dan Terapeutik. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta.
12. Gritter, R.J., Bobitt, J.M., Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Terjemahan Padmawinata. Edisi II. ITB. Bandung.
13. Gunasekaran., Saranyapiriya., Vinoshene, P.R., Surash, R., Vikneswara, M., Wahid, M.S., Laily, B.D. *Antibacterial And Antioxidant Activity Of Lichens*

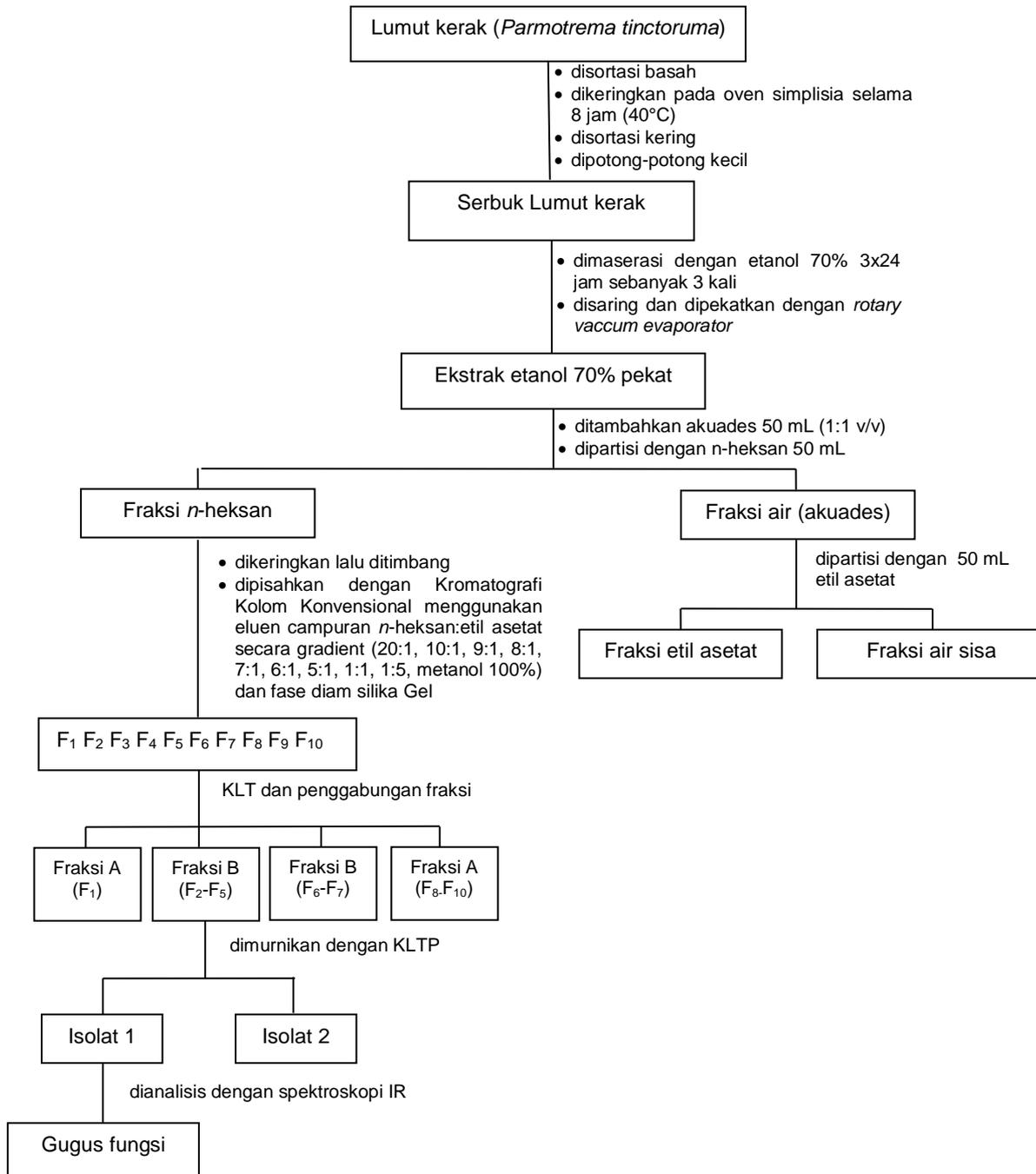
Usnea rubrotincta, Ramalina dumeticola, Cladonia verticillata And Their Chemical Constituents. Journal of Analytical Sciences. 2016:20(1)

14. Hale, M.E. 1973. *The Lichens*. New York and London. Academic Press.
15. Harborne. J. B. 1996. *Metode Fitokimia*. Institut Teknologi Bandung. Bandung
16. Honeyman, A. L., Friedman, H., Bendinelli, M. 2001. *Staphylococcus aureus Infection and Disease*. Plenum Publishers. New York.
17. Huneck, S., Yoshimura, I. 1996. *Identification Of Lichen Substance*. 2 ed. New York (US): Springer.
18. Jawetz., Melnic., Adelbergs. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta. EGC.
19. Manjang, Y. 2004. *Pelestarian dan Perkembangan Melalui Tanah Agrowisata, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Penelitian Kimia Organik Bahan Alam. Universitas Andalas. Padang.
20. Morin R.B., Gorman, M. 1995. *Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics*. Vol 3. Academic Press.
21. Nurhayati, T., Aryanti, D., Nurjanah. *Kajian Awal Potensi Ekstrak Spons Sebagai Antioksidan*. Jurnal Kelautan Nasional. 2009:2(2);43-51.
22. Pelczar, M.J., Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid I. Penerjemah: Ratna Siri Hadioetomo, Teja Imas, S.Sutarmi Tjitrosomo dan Sri Lestari angka. Universitas Indonesia. Jakarta.
23. Rahman, A. 2009. *Kromatografi untuk Analisis Obat*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
24. Roy., Gritter. 1991. *Pengantar Kromatografi*. ITB Press. Bandung.
25. Saifudin, Aziz., Rahayu, Viesa., Teruna, H.D. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*, Edisi pertama, Graha Ilmu, Yogyakarta, Indonesia.
26. Santana, C.M., Ferrera, Z.S., Padron, M.E.T., Rodriguez, J.J.S. *Methodologies for The Extraction of Phenolic Compounds from Enviromental Sampels: New Approaches*. Molecules. 2009:14;298-320.

27. Sastrohamidjojo, H.. 2005. *Kromatografi*. Liberty Press. Yogyakarta.
28. Septiana, E. *Potensi Lichen sebagai Sumber Bahan Obat : Suatu Kajian Pustaka*. Jurnal Biologi. 2011:15;1-5.
29. Silverstein, R. M. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compound*. United State of America: John Wiley & Sons.
30. Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan Kimia*. Kanisius. Yogyakarta.
31. Sutiningsih, D., Sulistyani. 2005. Tesis: *Aktivitas Antibakteri Fraksi Metanol Kayu Angin (Usnea misaminensis (Vain) Not.) Terhadap Mycobacterium Tuberculosis H37Rv*. Universitas Diponegoro: Semarang. Diakses pada tanggal 1 November 2019.
32. Syabatini., Annisa. 2008. *Pemurnian Bahan Melalui Rekrystalisasi*. Skripsi. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung Mangkurat. Banjarmasin.
33. Teyler, V.E. 1988. *Pharmacognosy*. 9th Edition. Lea and Febiger. Phialdelphia.
34. Tjitrosoepomo, G. 2005. *Taksonomi Shizophyta, Thallophyta, Briophyta, Pteridophyta*. Yogyakarta : Gajah Mada University Perss.
35. Thippeswamy, B., Naveenkumar, K.J., Bodharthi, J.G., Shivaprasad. S.R. *Antimicrobial activity of Ethanolic Extract of Usnea longissima*. J. Experiment Sci. 2011:2(12);01-03.
36. Voight, R.1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Ed-5*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

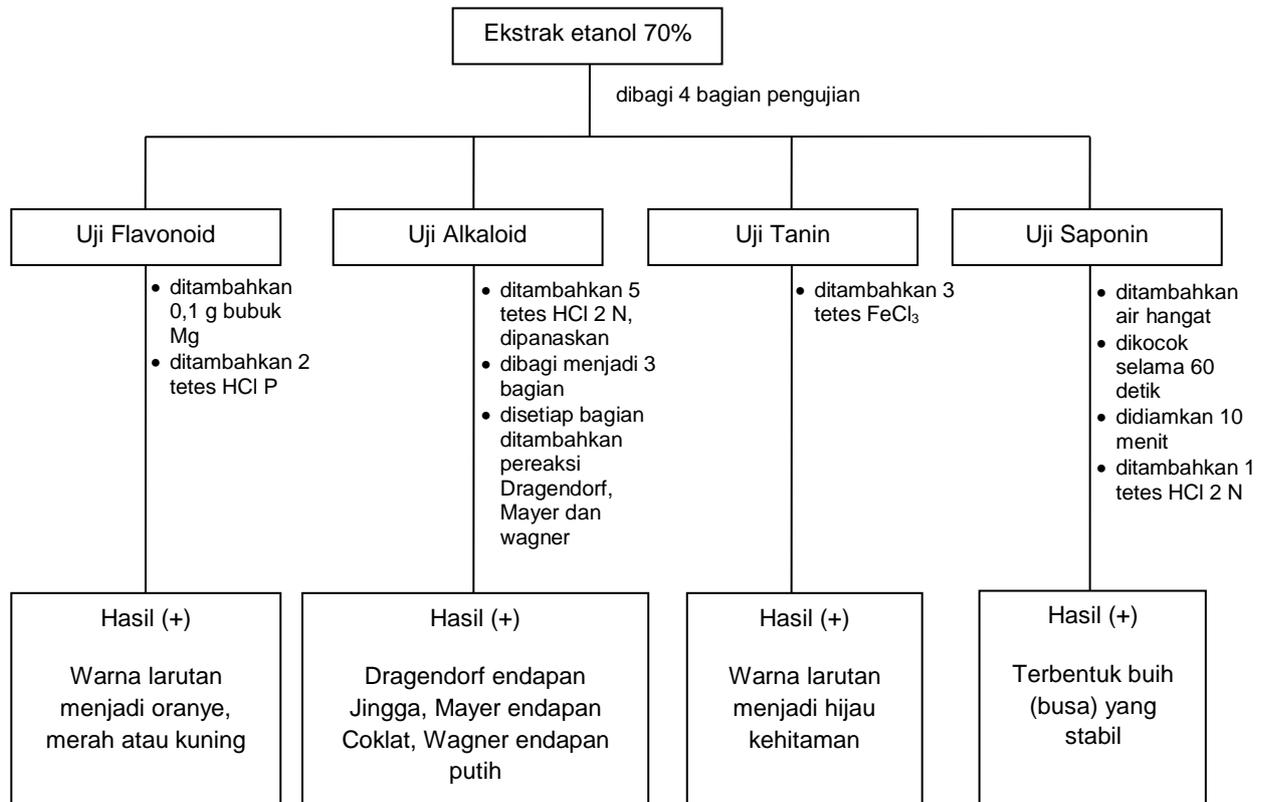
LAMPIRAN

Lampiran 1. Desain penelitian

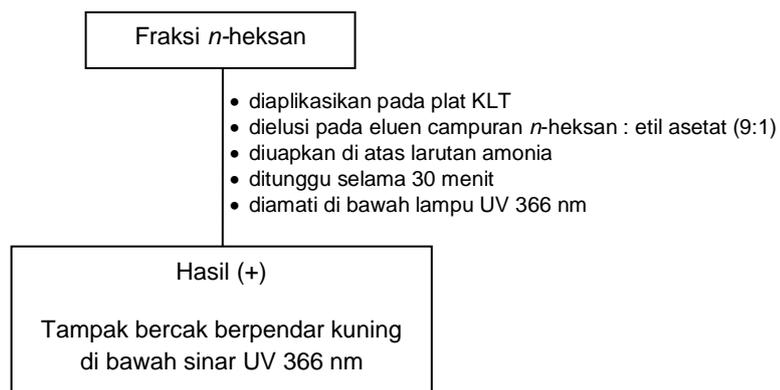


Lampiran 2. Skrining fitokimia

1. Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% lumut kerak

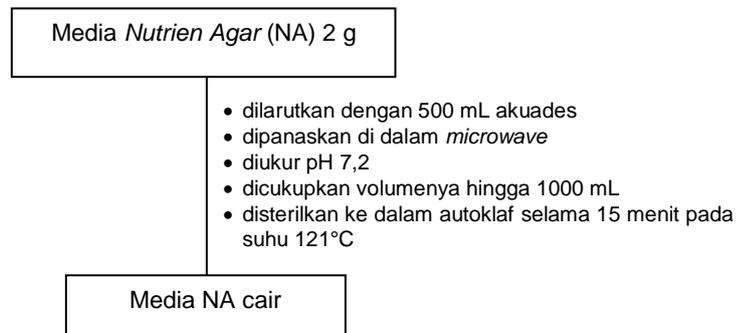


2. Skrining fitokimia golongan senyawa flavonoid fraksi aktif

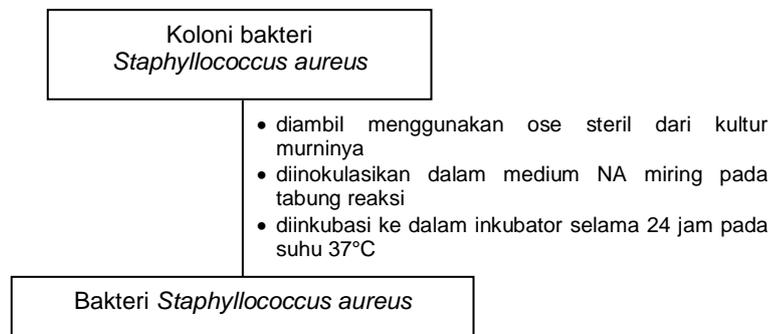


Lampiran 3. Pengujian aktivitas antibakteri

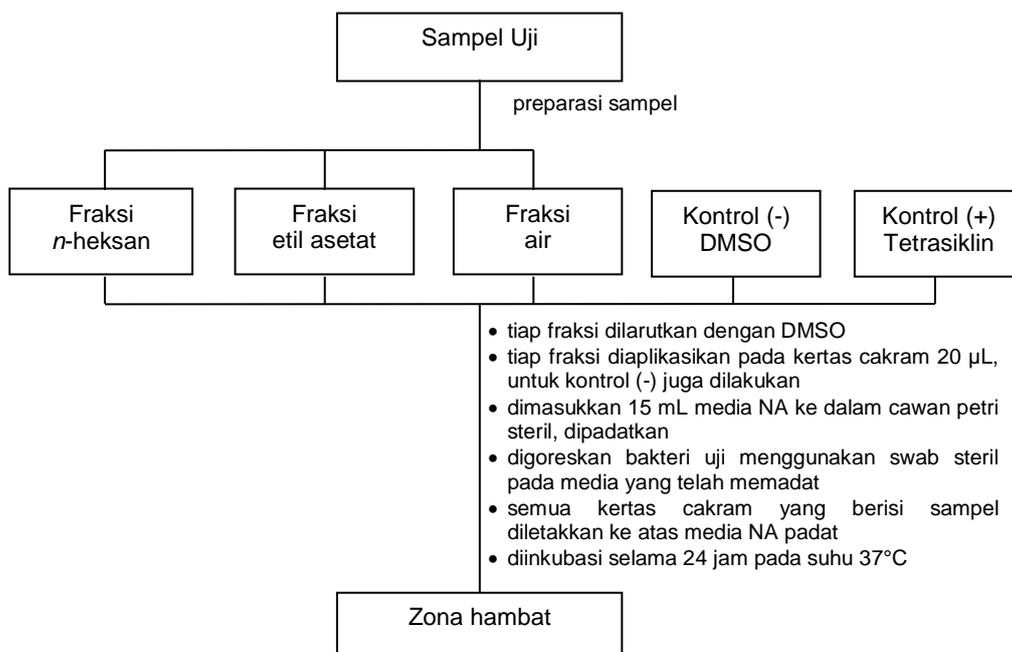
1. Pembuatan media



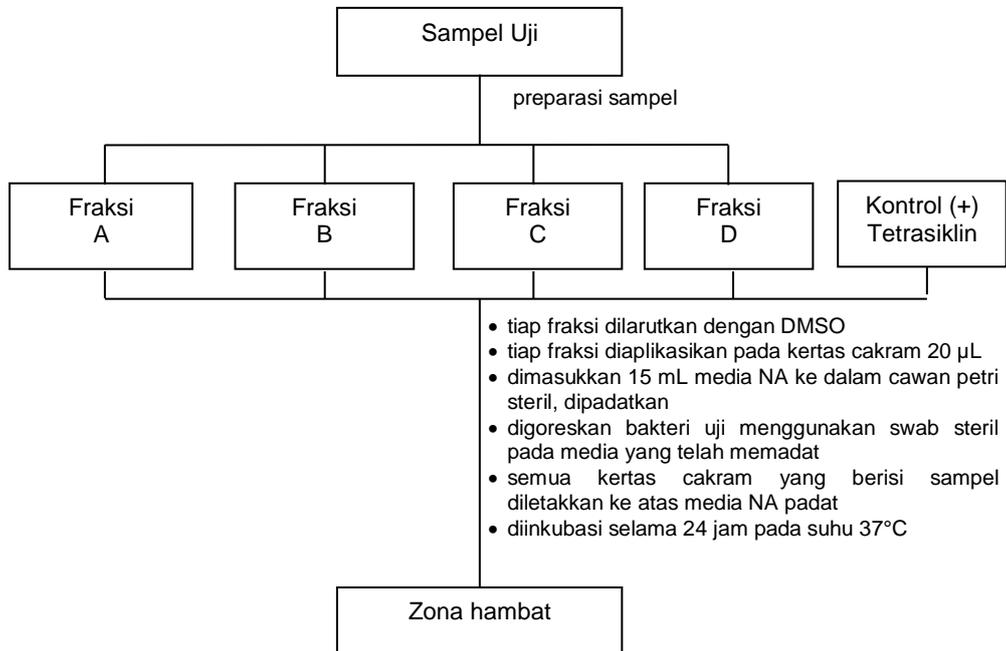
2. Peremajaan kultur murni



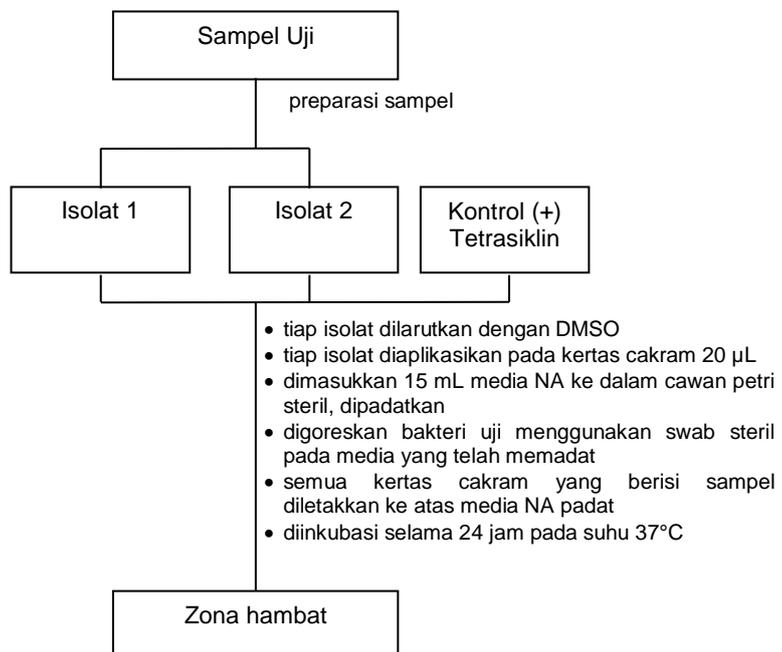
3. Pengujian aktivitas antibakteri pada fraksi hasil partisi



4. Pengujian aktivitas antibakteri pada fraksi A-D



5. Pengujian aktivitas antibakteri pada isolat senyawa 1 dan 2



Lampiran 4. Data perhitungan nilai Rf

1. Nilai Rf fraksi hasil partisi

Sampel	UV 365 nm	UV 254 nm
Fraksi n-heksan	0,16	0,38
	0,38	0,49
	0,49	0,84
	0,6	0,95
	0,84	-
	0,95	-
Fraksi Etil Asetat	0,15	0,36
	0,36	0,45
	0,45	-
Fraksi air	-	-

2. Nilai Rf fraksi 1-10

Sampel	UV 365 nm	UV 254 nm	H ₂ SO ₄ 10%
Fraksi 1 (F1)	0,38	0,94	0,91
	0,94	-	0,94
Fraksi 2 (F2)	0,35	0,35	0,38
	0,42	0,42	0,42
	0,45	0,84	0,91
	0,55	0,94	0,94
	0,84	-	-
Fraksi 3 (F3)	0,38	0,35	0,4
	0,4	-	0,87
	0,45	-	0,94
	0,84	-	-
Fraksi 4 (F4)	0,38	0,35	0,94
	0,4	-	-
	0,45	-	-
	0,84	-	-
Fraksi 5 (F5)	0,38	0,35	0,38
Fraksi 6 (F6)	-	-	-
Fraksi 7 (F7)	-	0,38	0,4
Fraksi 8 (F8)	0,38	0,91	-
	0,85	-	-
	0,91	-	-
Fraksi 9 (F9)	0,38	-	-
Fraksi 10 (F10)	0,38	0,36	-

3. Nilai Rf fraksi A-D

Sampel	UV 365 nm	UV 254 nm	H ₂ SO ₄ 10%
F1 (Fraksi A)	0,58	-	-
F2-F5 (Fraksi B)	0,56	0,22	0,22
	0,73	0,58	0,47
	0,89	0,64	0,55
	-	-	0,6
F6-F7 (Fraksi C)	0,53	-	-
F8-10 (Fraksi D)	0,6	-	-

4. Nilai Rf isolat senyawa 1 dan 2

Sampel	UV 365 nm	UV 254 nm	H ₂ SO ₄ 10%
Isolat 1	0,43	0,43	-
isolat 2	0,54	0,54	-

Lampiran 5. Gambar hasil penelitian

	LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES) PUSAT PENELITIAN BIOLOGI (RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY) Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911 Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612 Website : www.biologi.lipi.go.id	  
-----------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Cibinong, 11 Agustus 2017

Nomor : 1962/IPH.1.01/If.07/VIII/2017
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

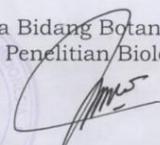
Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). **Fahlin N. Awad**
NIM : 15.01.378
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi
(STIFA) Makassar
Jl. Perintis Kemerdekaan Km.13,7 Daya
Makassar - 90242

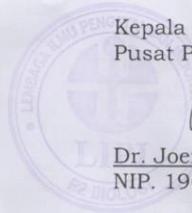
Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Lumut Kerak	<i>Parmotrema tinctoruma</i>	Parmeliaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.


Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,
Dr. Joeni Setijo Rahajoe
NIP. 196706241993032004



C:\Users\windows 7\Desktop\dokumen lia\Ident 2017\Fahlin N. Awad.doc\Hamzah-Nu
Page 1 of 1

Gambar 6 : Hasil determinasi lumut kerak



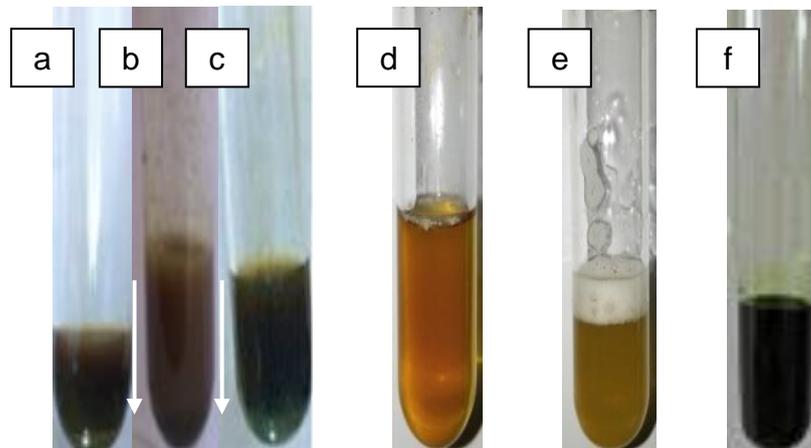
Gambar 7 : Simplisia lumut kerak



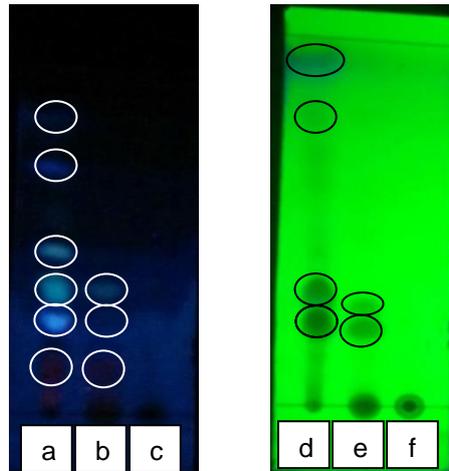
Gambar 8 : Proses maserasi



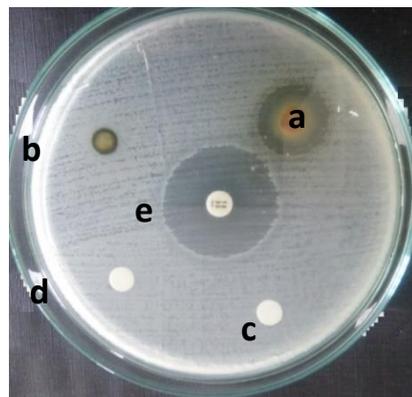
Gambar 9 : Ekstrak etanol 70% lumut kerak



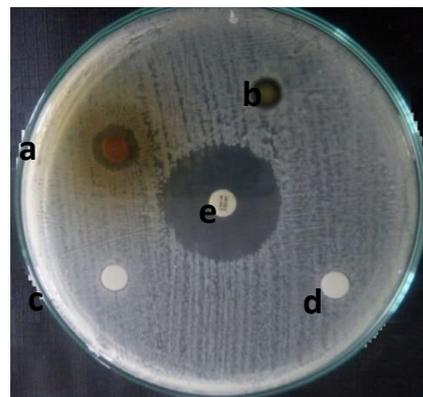
Gambar 10 : Skrining fitokimia ekstrak etanol 70%: Uji alkaloid (a,b,c) dengan pereaksi Wagner (endapan coklat), pereaksi Dragendorff (endapan jingga), pereaksi Mayer (endapan putih), uji flavonoid (d), uji Saponin (e), dan uji tanin (f)



Gambar 11 : Profil KLT orientasi eluen fraksi dengan eluen n-heksan : etil asetat (9 : 1). Profil fraksi n-heksan pada UV 366 nm (a), profil fraksi etil asetat pada UV 366 nm (b), profil fraksi tidak larut pada UV 366 nm (c), profil fraksi n-heksan pada UV 254 nm (d), profil fraksi etil asetat pada UV 254 nm (e), profil fraksi tidak larut pada UV 254 nm (f).



Staphylococcus aureus

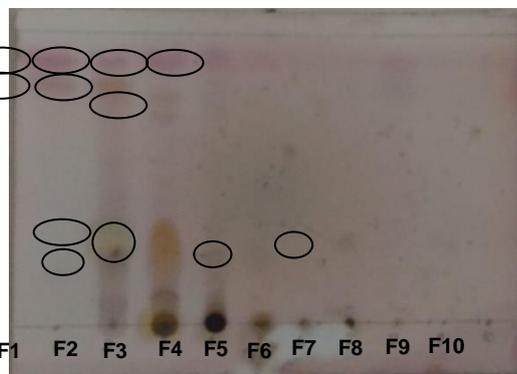
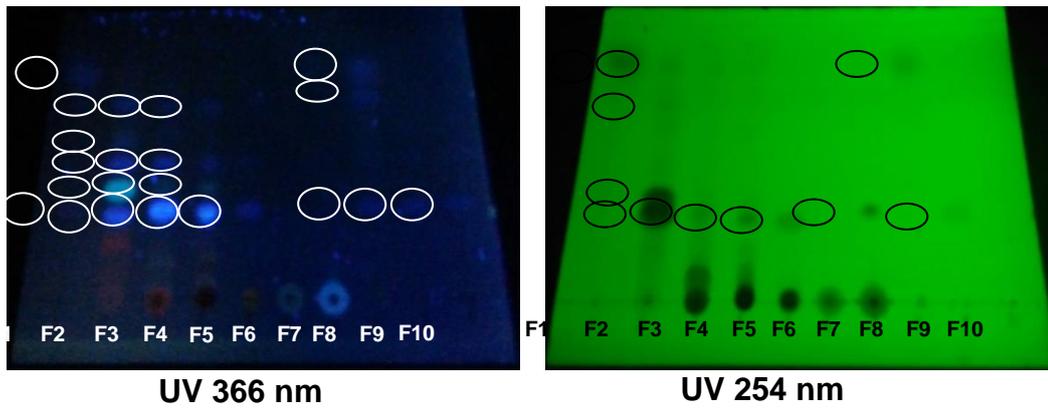


Escherichia coli

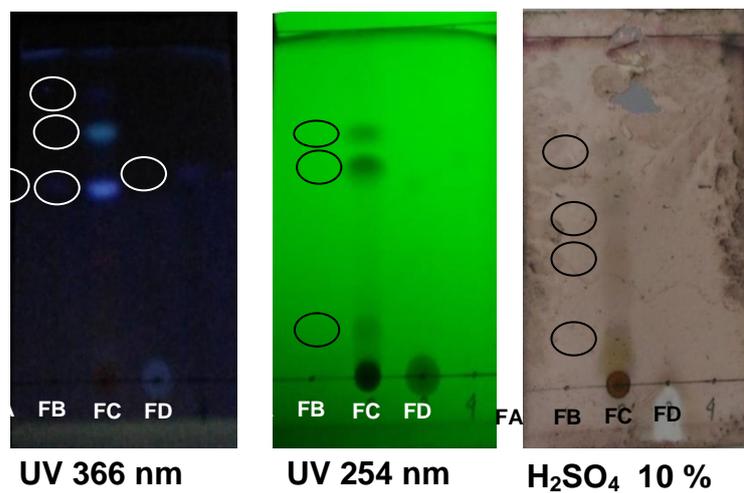
Gambar 12 : Hasil uji daya hambat terhadap fraksi hasil partisi. Fraksi n-heksan (a), fraksi etil asetat (b), fraksi air (c), kontrol (-) DMSO (d), kontrol (+) Tetrasiklin (e).



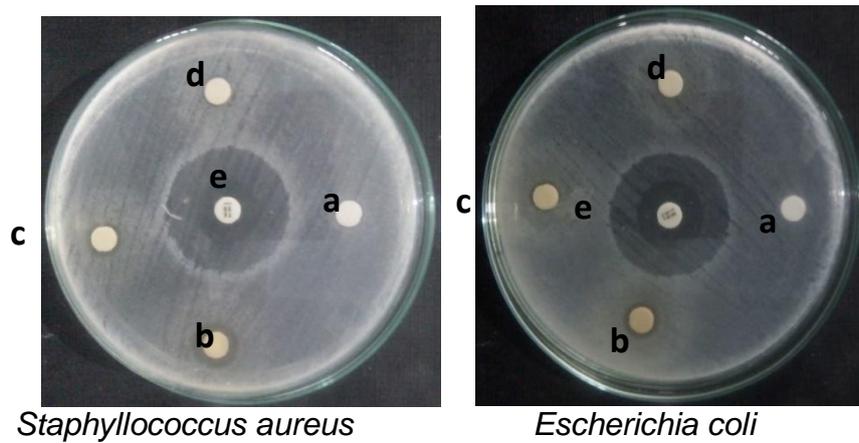
Gambar 13 : Fraksi (F1-10) hasil kromatografi kolom konvensional



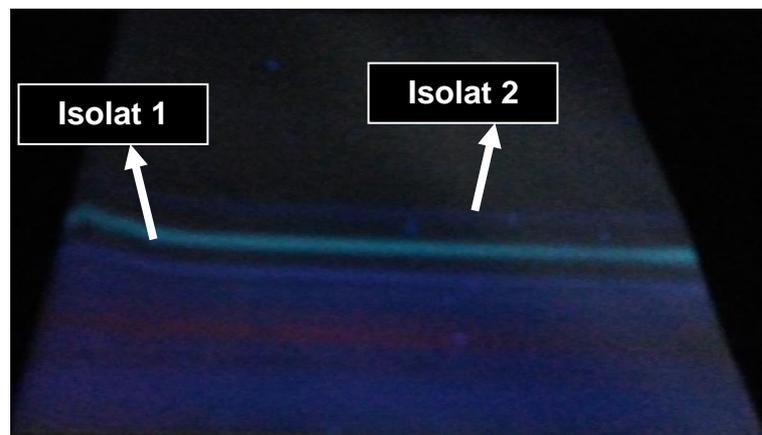
Gambar 14 : Profil KLT hasil kromatografi kolom konvensional dengan eluen n-heksan : etil asetat (9 : 1)



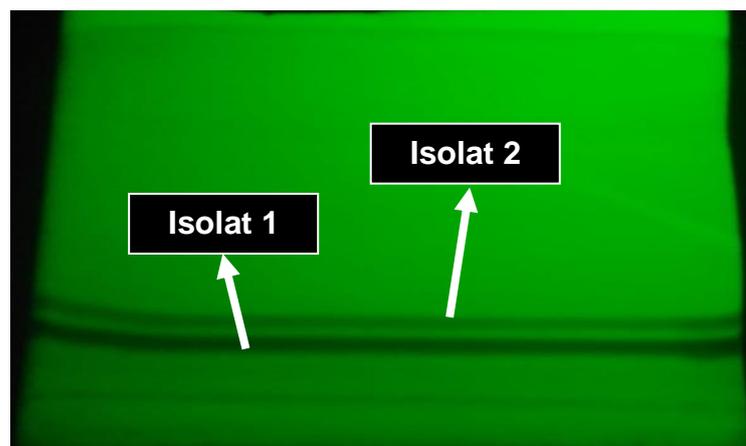
Gambar 15 : Profil KLT fraksi A-D dengan eluen campuran n-heksan : etil asetat (9 : 1)



Gambar 16 : Hasil uji daya hambat terhadap fraksi A-D. Fraksi A (a), fraksi B (b), fraksi C (c), fraksi D (d), kontrol (+) Tetrasiklin (e).

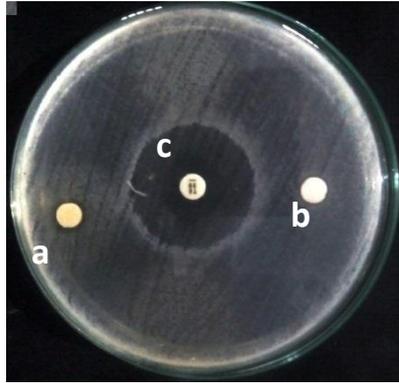


UV 366 nm

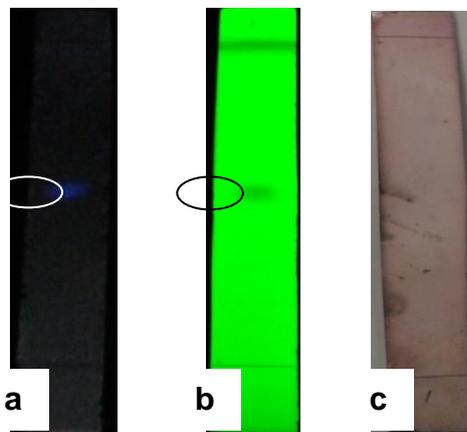


UV 254 nm

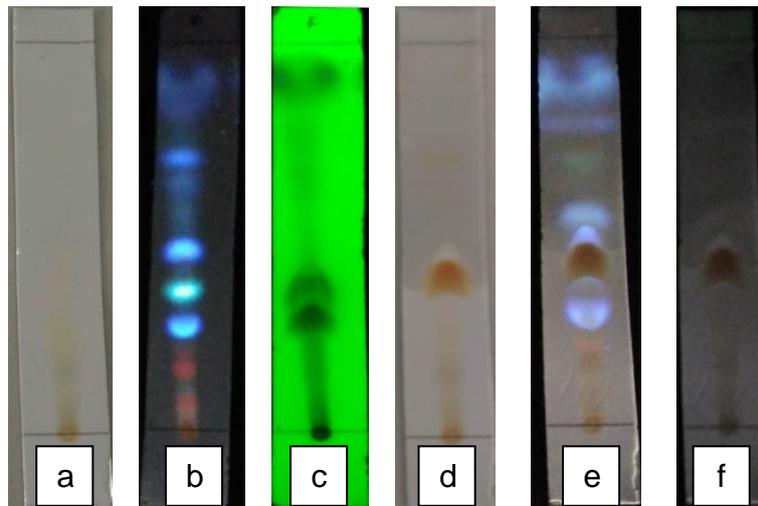
Gambar 17 : Profil KLT preparatif fraksi B dengan eluen campuran heksan : etil asetat (9:1)



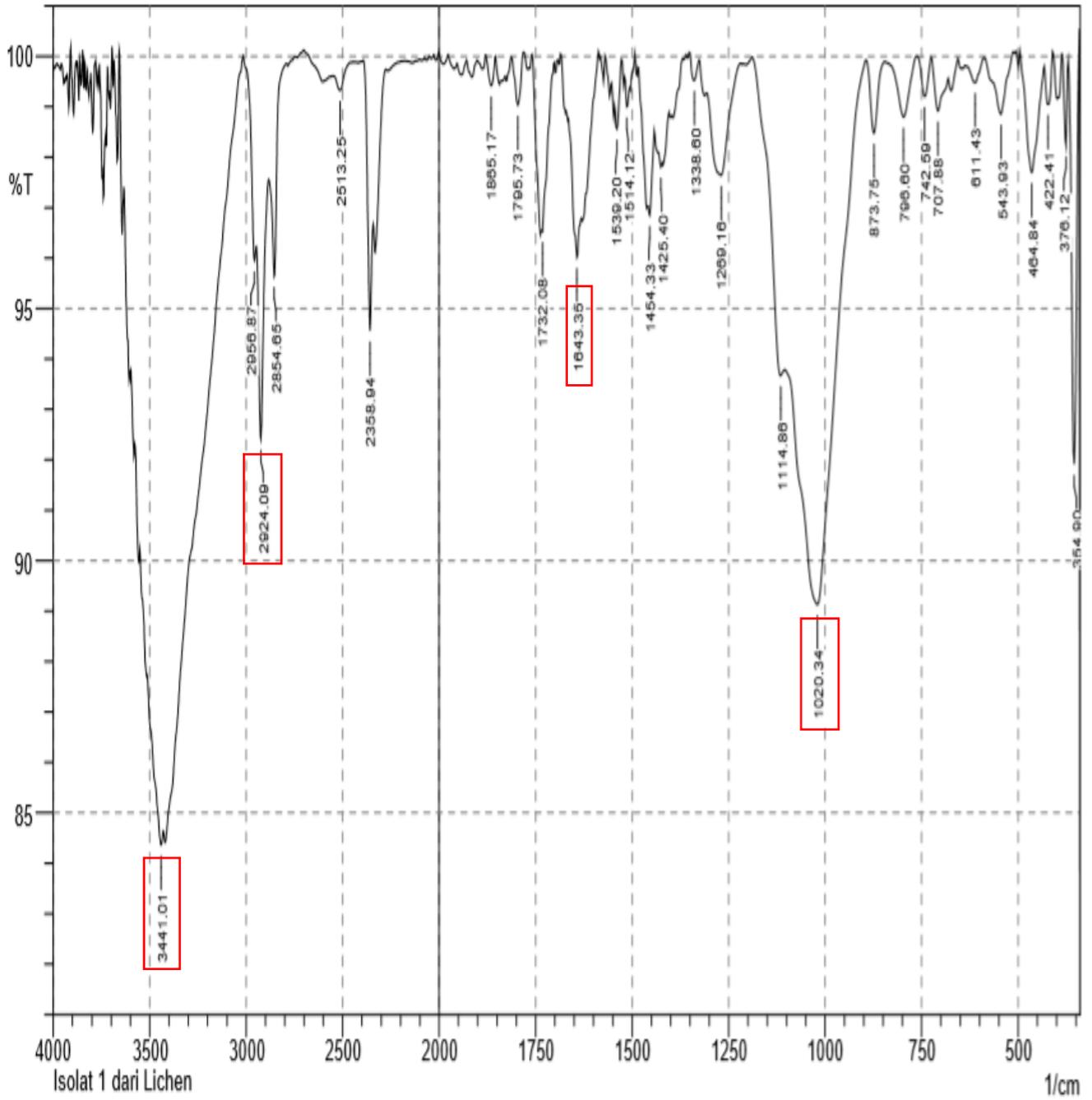
Gambar 18 : Uji aktivitas antibakteri isolat senyawa pada biakan *Staphylococcus aureus*, isolat 1 (a), isolat 2 (b), kontrol + (tetrasiklin) (c)



Gambar 19 : Profil KLT isolate senyawa 1 dengan eluen campuran n-heksan : etil asetat (9:1). Penampakan pada sinar UV 366 nm (a), penampakan pada sinar UV 254 nm (b), penampakan dengan pereaksi semprot H_2SO_4 10 % (c).



Gambar 20 : Profil KLT identifikasi senyawa golongan flavonoid pada fraksi n-heksan dengan pengamatan pada: sinar tampak (a), sinar UV 366 nm (b), sinar UV 254 nm (c), sinar tampak setelah diuapkan amonia (d), sinar UV 366 nm setelah diuapkan amonia (e), sinar UV 254 nm setelah diuapkan amonia (f).



Gambar 19 : Spektrum FT-IR dari isolat 1