

**ISOLASI DAN ELUSIDASI STRUKTUR
SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI LICHEN SUMATERA *Cladonia rappii*
SERTA PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI**

**SKRIPSI SARJANA FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS**

Oleh

MEDILA ERNA MUSLIM

NO BP : 1311011077



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2017**

PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Medila Erna Muslim

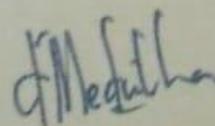
No. BP : 1311011077

Judul Skripsi : Isolasi Dan Elusidasi Struktur Senyawa Metabolit Sekunder Dari Lichen Sumatera *Cladonia rappii* Sertiz Pengujian Aktivitas Antibakteri

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut kepada Fakultas Farmasi Universitas Andalas untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademik

Padang, 20 Oktober 2017

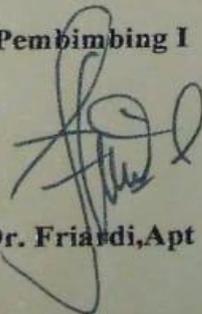


Medila Erna Muslim

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menempuh ujian
Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Andalas
Padang

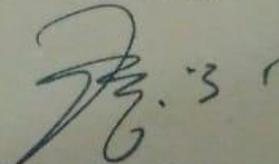
Disetujui oleh :

Pembimbing I



Dr. Friardi, Apt

Pembimbing II



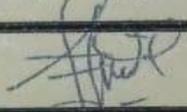
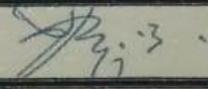
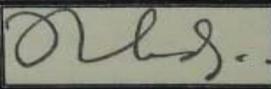
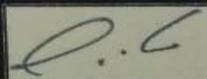
Prof. Dr. H. Amri Bakhtiar, MS, DESS, Ap

Skripsi ini Telah Dipertahankan di Depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi

Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Padang

Pada Tanggal : 30 Oktober 2017

No	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1	Dr. Friardi, Apt	Ketua	
2	Prof. Dr. H. Amri Bakhtiar, MS, DESS, Apt	Anggota	
3	Dr. Elidahanum Husni, M.Si, Apt	Anggota	
4	Prof. Dr. Almahdy A, Apt	Anggota	
5.	Lili Fitriani, S.Si, M.Pharm.sc,Apt	Anggota	

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia yang tiada henti-hentinya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini yang berjudul “**Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Metabolit Sekunder Lichen Sumatera *Cladonia rappii* serta Pengujian Aktivitas Antibakteri**”. Skripsi ini ditujukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan program pendidikan strata satu pada Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang.

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada Bapak Dr. Friardi Apt. selaku pembimbing I dan Bapak Prof. Dr. Amri Bachtiar, MS, DESS Apt selaku pembimbing II yang telah membimbing, mengarahkan dan memberikan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk membimbing penulis selama penelitian dan menyusun skripsi ini.

Rasa hormat dan terima kasih, penulis sampaikan kepada:

1. Orang Tua dan adik penulis (May Muhammad Fikri dan Aldi Fernando Putra) yang selalu memberikan do‘a, dukungan, dan semangat selama penulisan skripsi ini.
2. Prof.Dr.Almahdy A, Apt selaku penasehat akademik yang telah membimbing penulis selama menjalani masa kuliah di Fakultas Farmasi.

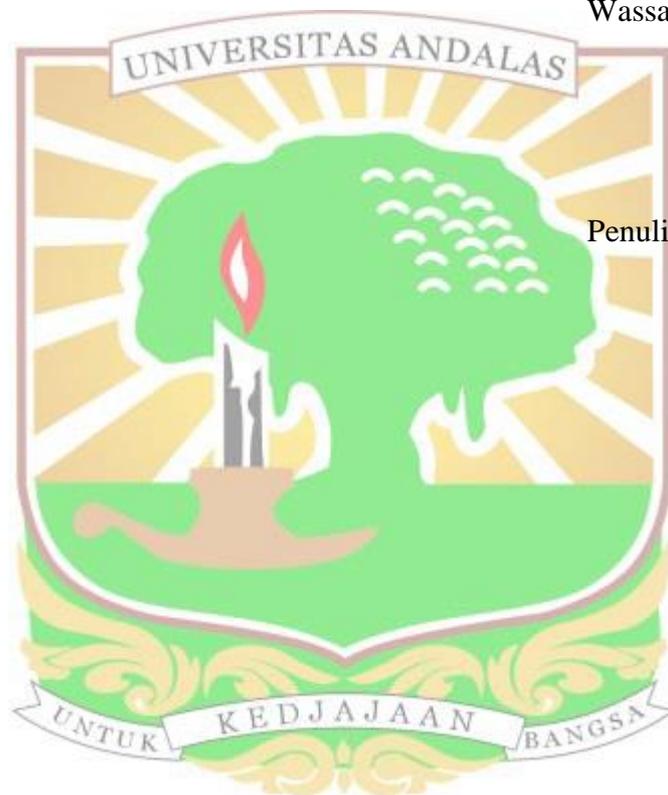
3. Rekan seimbang Nurwahidatul Arifa (Ipeh) & Lativa Susanti yang sama-sama berjuang mulai dari pemisahan sampel ,skrining aktivitas antibakteri, sampai penelitian ini selesai.
4. Rekan-rekan penelitian di Laboratorium Biota Sumatera Bang Arif, Bang Eki, Bang Febry, Bang Nof, Kak Ica dan Kak Mei yang selalu memberikan dukungan dan saran selama penelitian.
5. Priya Tri Nanda yang selalu memberikan do'a, dukungan, motivasi dan semangat selama penulisan skripsi ini.
6. Rekan-rekan seperjuangan dalam penelitian (Arin, Ciin, Aya, Engka, Masre, Eka, Ojik, Adek, Memen dan Nanda)
7. Teman dekat (Cicum Poks) yang selalu memberikan dukungan dan semangat untuk penulis.
8. Rekan-rekan tempat berkeluh kesah dan meminta saran terhadap masalah selama penelitian maupun diluar penelitian Rahmatul Hidayani (Kecil) dan Yesi Fitri Yeni (Bohay).
9. Rekan-rekan seperjuangan dalam kegiatan asisten dilaboratorium Analisa Fisikokimia, Biofarmasetika dan Farmakokinetika, Kimia Organik, dan Kimia Farmasi Dasar yang selalu memberikan dukungan, motivasi dan semangat kepada penulis.
10. Seluruh teman-teman, kakak-kakak serta adik-adik mahasiswa farmasi Universitas Andalas, khususnya angkatan 2013 (SKYPIEA) yang selalu memberikan dukungan dan semangat untuk penulis.

Akhirnya dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran atas kekurangan dan ketidaksempurnaan skripsi ini. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat dikemudian hari dan semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat serta karunia-Nya kepada kita semua.

Padang, Oktober 2017

Wassalam

Penulis



Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Metabolit Sekunder Lichen Sumatera *Cladonia rappii* serta Pengujian Aktivitas Antibakteri

ABSTRAK

Isolasi senyawa metabolit sekunder dari lichen *Cladonia rappii* yang dikoleksi dari kawasan wisata Danau Atas dan Bawah telah dilakukan. Ekstrak n-heksan, etil asetat, aseton dan metanol lichen *C.rappii* dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap 4 bakteri patogen (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa*, *Eschericia coli* dan *Salmonella thyposa*). Ekstrak aseton dan ekstrak metanol menunjukkan aktivitas antibakteri yang besar. Kromatografi kolom ekstrak aseton dengan metode SGP (Step Gradient Polarity) didapatkan senyawa FA1 dan dari ekstrak metanol diperoleh senyawa FM1. Hasil spektroskopi uv-vis menunjukkan senyawa FA1 dan FM1 memiliki panjang gelombang maksimum (λ max) 323 nm dan 324 nm. Berdasarkan profil KLT (Kromatografi Lapis Tipis) senyawa FA1 menunjukkan nilai Rf yang identik dengan senyawa Atranorin yang dijadikan sebagai pembanding. Senyawa FM1 juga memiliki nilai Rf yang identik dengan atranorin namun terdapat perbedaan pada spektrum IR (inframerah) karena itu senyawa FM1 masih memerlukan identifikasi lebih lanjut. Hasil uji bioaktivitas antibakteri senyawa hasil isolasi terhadap 4 bakteri patogen (*S.aureus*, *P.aureginosa*, *E.coli* dan *S.thyposa*) menunjukkan tingkat sensitivitas yang sedang sampai tinggi pada konsentrasi 0,2% dan 0,1%.

Kata kunci : antibakteri, atranorin, *Cladonia rappii*, isolasi, KLT

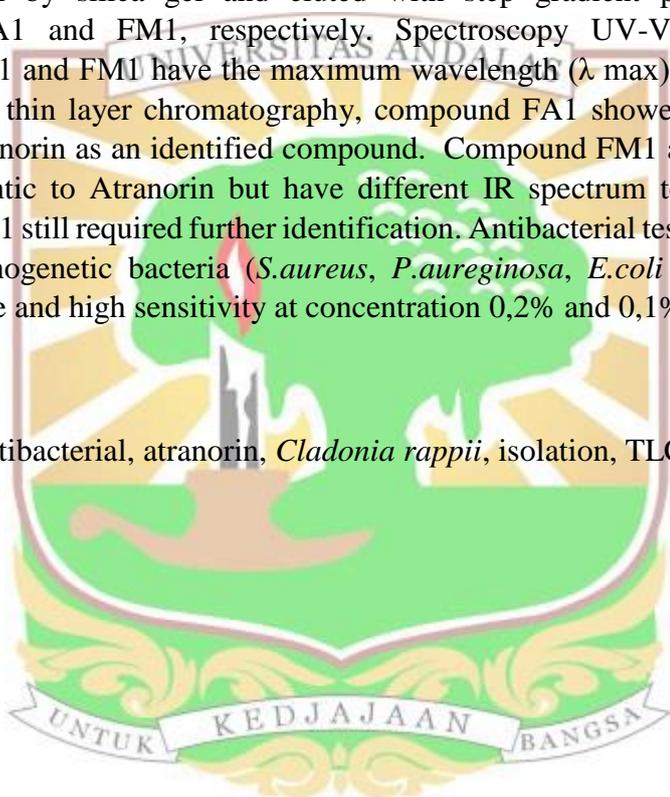


Isolation and Structure Elucidation Of Sumatran Lichen *Cladonia rappii* and antibacterial activity assay

ABSTRACT

The Isolation of secondary metabolites lichen *Cladonia rappii* collected from the "Upper and Lower Lake" tourist areas had been done. The extract of n-hexane, ethyl acetate, acetone, and methanol lichen *C.rappii* tested the antibacterial activity against 4 pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa*, *Escherichia coli* and *Salmonella thyposa*). Acetone extract and methanol extract showed high antibacterial activity. The Acetone and methanol extracts were chromatograph by silica gel and eluted with step gradient polarity yielded compound FA1 and FM1, respectively. Spectroscopy UV-VIS analysis of compound FA1 and FM1 have the maximum wavelength (λ max) at 323 and 324 nm. Based on thin layer chromatography, compound FA1 showed the Rf which identic to Atranorin as an identified compound. Compound FM1 also showed the Rf which identic to Atranorin but have different IR spectrum to Atranorin, so compound FM1 still required further identification. Antibacterial test of each isolate against 4 pathogenetic bacteria (*S.aureus*, *P.aureginosa*, *E.coli* dan *S.thyposa*) showed middle and high sensitivity at concentration 0,2% and 0,1%.

Keywords : antibacterial, atranorin, *Cladonia rappii*, isolation, TLC



DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA	ii
PENGESAHAN	iii
PERTAHANAN SKRIPSI	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
1. PENDAHULUAN.....	1
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Lichen <i>Cladonia rappii</i>	5
2.1.1 Taksonomi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Kandungan Kimia	6
2.1.4 Penggunaan Secara Tradisional.....	7
2.1.5 Bioaktivitas.....	9
2.1.5.1 Lichen Sebagai Antimikroba.....	10
2.1.5.2 Lichen Sebagai Antikanker dan Antitumor	11
2.1.5.3 Lichen Sebagai Antiinflamasi, Analgetik dan Antipiretik...	12
2.1.5.4 Lichen Sebagai Antioksidan	13
2.2 Penyakit Infeksi	14
2.3 Antibiotik dan Resistensi Antibiotik	14
2.3.1 Pengertian Antibiotik dan Mekanisme Kerja	14
2.3.2 Pengertian Resistensi.....	16
2.3.3 Mekanisme Resistensi Antibiotik.....	17
2.3.4 Upaya Mengatasi Resistensi Antibiotik	19

2.4 Ekstraksi	20
2.4.1 Pengertian dan Tujuan	20
2.4.2 Pembagian Ekstraksi	21
2.4.2.1 Maserasi	21
2.4.2.2 Perkolasi.....	22
2.4.2.3 Sokhlet	22
2.4.2.4 Reflux dan Destilasi Uap	23
2.5 Pemurnian dan Pemisahan Senyawa	24
2.5.1 Kromatografi	24
2.5.1.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	24
2.5.1.2 Kromatografi Kolom.....	25
2.5.2 Karakterisasi Senyawa Murni	25
2.5.2.1 Spektrofotometer UV-Vis.....	25
2.5.2.2 Spektrofotometer Infra Merah	26
2.5.2.3 Spektrofotometer Massa	26
2.5.2.4 Spektrofotometer Resonansi Magnetik Inti	27
2.6 Bakteri	28
2.6.1 Morfologi bakteri	28
2.6.2 Jenis Bakteri	28
2.6.3 Laju Pertumbuhan Bakteri	30
2.7 Uji Antibakteri.....	32
2.7.1 Metode Difusi.....	32
2.7.2 Metode dilusi.....	33
2.7.3 Bioautografi.....	33
2.8 Kontrol Pembeding Pengujian Antibakteri	34
3. PELAKSANAAN PENELITIAN	35
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	35
3.2 Metodologi Penelitian	35
3.3. Alat dan Bahan	36
3.3.1 Alat.....	36
3.3.2 Bahan.....	36

3.4	Prosedur Kerja	37
3.4.1	Pengambilan Sampel	37
3.4.2	Identifikasi, Ekstraksi dan Fraksinasi Sampel.....	37
3.4.3	Isolasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Lichen <i>Cladonia rappii</i>	38
3.4.4	Karakterisasi Struktur Kimia Senyawa Aktif Sebagai Antimikroba	38
3.4.5	Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Isolat	38
3.4.5.1	Sterilisasi Alat.....	38
3.4.5.2	Pembuatan media pembenihan Nutrient Agar (NA).....	39
3.4.5.3	Bakteri Uji.....	39
3.4.5.4	Peremajaan Bakteri Uji	39
3.4.5.5	Penyiapan Sampel Uji.....	40
3.4.5.6	Pengujian Antimikroba dengan Metode Difusi Agar	40
3.4.6	Analisa Data	40
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1	Hasil.....	42
4.1.1	Identifikasi Lichen.....	42
4.1.2	Rendemen Ekstrak.....	43
4.1.3	Pengujian Antibakteri Ekstrak Lichen <i>Cladonia rappii</i>	43
4.1.4	Senyawa Hasil Isolasi.....	44
4.1.5	Pengujian Antibakteri Senyawa Hasil Isolasi	44
4.2	Pembahasan	45
4.2.1	Proses Isolasi Senyawa Aktif	45
4.2.2	Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Senyawa Hasil Isolasi.....	51
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	56
5.1	Kesimpulan.....	56
5.2	Saran	57
	DAFTAR PUSTAKA	57
	LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
I	Penggunaan Genus Lichen Di dunia	
II	Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Negatif	
III	Ciri Pertumbuhan Bakteri Pada Setiap Fase Pertumbuhannya.....	
IV	Rendemen Ekstrak.....	
V	Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Kental dan Pembanding	
VI	Hasil Uji Antibakteri Senyawa Hasil Isolasi dan Pembanding.....	
VII	Data Karakteristik Senyawa Murni	
VIII	Spektrum UV-VIS Senyawa FA1	
IX	Spektrum UV-VIS Senyawa FM1.....	
X	Spektrum Inframerah Senyawa FA1	
XI	Spektrum Inframerah Senyawa FM1	
XII	Data Panjang Gelombang Senyawa Atranorin Murni.....	
XIII	Bilangan Gelombang Senyawa Atranorin Murni.....	



DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1	Fase Pertumbuhan Bakteri	
2	Struktur Kimia Kloramfenikol.....	
3	Struktur Senyawa Atranorin	
4	Lichen <i>Cladonia rappii</i>	
5	KLT Senyawa FA1	
6	KLT Senyawa FA1 Penampak Noda.....	
7	KLT Senyawa FA1 Eluen Heksan Etil	
8	KLT Senyawa FA1 Eluen Heksan Etil Penampak Noda.....	
9	KLT Senyawa FM1	
10	KLT Senyawa FM1 Penampak Noda	
11	KLT Senyawa FM1 dengan Pembanding.....	
12	KLT Senyawa FA1 dan FM1 dengan Pembanding.....	
13	Kristal FA1	
14	Kristal FM1.....	
15	Spektrum UV-VIS Senyawa FA1	
16	Spektrum UV-VIS Senyawa FM1	
17	Spektrum Inframerah Senyawa FA1.....	
18	Spektrum Inframerah senyawa FM1.....	
19	Diameter Hambat senyawa FA1 terhadap bakteri <i>P.aurogenosa</i>	
20	Diameter Hambat senyawa FA1 terhadap bakteri <i>S.aureus</i>	
21	Diameter Hambat senyawa FA1 terhadap bakteri <i>S.thyposa</i>	
22	Diameter Hambat senyawa FA1 terhadap bakteri <i>E.coli</i>	

- 23 Diameter Hambat senyawa FM1 terhadap bakteri
P.aurogenosa
- 24 Diameter Hambat senyawa FM1 terhadap bakteri
S.thyposa
- 25 Diameter Hambat senyawa FM1 terhadap bakteri
S.aureus.....
- 26 Diameter Hambat senyawa FM1 terhadap bakteri
E.coli
- 27 Spektrum Serapan Senyawa Atranorin Murni
- 28 Spektrum Inframerah Senyawa Atranorin Murni
- 29 Data Hasil KLT Senyawa Atranorin Murni dan FA1.....



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1 Lichen <i>Cladonia rappii</i>	
2 Skema Kerja	
3 Hasil Identifikasi Lichen <i>Cladonia rappii</i>	
4 Data Hasil Penelitian	



BAB 1

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan sumber keanekaragaman hayati yang cukup besar. Potensi keanekaragaman hayati ini perlu dieksplorasi secara maksimal sehingga dapat dimanfaatkan terutama dalam dunia pengobatan. Lichen merupakan salah satu sumber bahan alam yang jumlahnya banyak di Indonesia dan jenis tumbuhan perintis yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, terdapat sebesar ± 100.000 jenis lichen di dunia 7000 diantaranya terdapat di Indonesia (Negi, 2003).

Lichen merupakan simbiosis antara jamur (*mycobionts*) dan alga atau cyanobacteria (*photobionts*) serta merupakan suatu organisme hasil asosiasi antara jamur dan alga dalam bentuk simbiosis mutualisme dan helotisme yang dapat membentuk kesatuan morfologi yang berbeda dengan spesies lain pada komponen-komponenya. Lichen dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu *crustose*, *foliose*, dan *fruticose*. Metabolit sekunder lichen dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat, antimikroba, antimutagenik dan kosmetik (Nash, 1996; Negi, 2003).

Salah satu manfaat yang sangat potensial dari lichen ini adalah sebagai antimikroba. Sifat antimikroba ini berupa antibakteri, antijamur serta antivirus. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Turk, *et al.*, pada tahun 2003 ekstrak aseton, dietil eter dan etanol dari lichen *Cetraria aculeata* (Schreber) Fr. dan bahan aktif penyusunnya berupa asam Protolikesterinat menunjukkan hasil positif baik pada bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Proteus*

vulgaris, *Pseudomonas aeruginosa* maupun gram positif *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, dan *Listeria monocytogen*.

Penelitian lain juga menyebutkan bahwa lichen dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti hasil yang didapatkan oleh Branislav, *et al.*, pada tahun 2011 ekstrak aseton dari lichen *Cladonia furcata* memiliki efektivitas maksimum antibakteri dan fungi pada konsentrasi yang relatif rendah. Bakteri uji yang digunakan pada penelitian tersebut adalah *Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, dan *Lebsiella pneumoniae*. Berdasarkan fakta-fakta inilah maka dapat dikatakan bahwa lichen memiliki aktivitas antibakteri terutama untuk bakteri-bakteri patogen penyebab penyakit infeksi.

Penyakit infeksi merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas di dunia selain itu penyakit infeksi juga bertanggung jawab pada penurunan kualitas hidup jutaan penduduk dan merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar tidak saja di Indonesia, tapi juga diseluruh dunia. Menurut WHO sebanyak 25 juta kematian di seluruh dunia pada tahun 2011, sepertiganya disebabkan oleh penyakit infeksi. Penyakit infeksi biasanya diobati dengan penggunaan antibiotik namun banyaknya penggunaan antibiotik yang irasional menimbulkan permasalahan baru berupa resistensi antibiotik yang sampai saat sekarang belum ditemukan solusinya.

Resistensi antibiotik adalah perubahan kemampuan bakteri hingga menjadi kebal terhadap antibiotik (WHO, 2011). Prevalensi resistensi antibiotik pun meningkat setiap tahun. Berdasarkan survei yang dilakukan oleh CDC (*Centers for*

Disease Control and Prevention) pada tahun 2013 di Amerika Serikat, setiap tahun setidaknya 2 juta manusia terkena infeksi bakteri yang resisten terhadap satu atau beberapa jenis antibiotik. Hal ini semakin diperparah dengan data yang menunjukkan bahwa sekitar 23.000 orang meninggal setiap tahunnya karena mendapat infeksi bakteri yang telah resisten terhadap antibiotik (CDC, 2013).

Pengembangan antibakteri yang berasal dari bahan alam merupakan salah satu inovasi yang dapat digunakan dalam mengatasi berbagai masalah yang timbulkan oleh resistensi bakteri. Dengan memanfaatkan keanekaragaman tumbuhan yang ada di Indonesia baik tumbuhan tingkat tinggi maupun tingkat rendah. Namun, pemanfaatan tumbuhan tingkat rendah masih sangat minim, sedangkan sumber daya yang ditemukan dari tumbuhan ini sangat mudah dan banyak ditemukan. Salah satu yang menarik adalah lichen. Lichen yang sampai saat sekarang belum banyak diteliti adalah lichen Sumatera spesies *Cladonia rappii* padahal potensinya cukup baik terutama dimanfaatkan sebagai antibakteri.

Berdasarkan hasil PKM (Program Kreativitas Mahasiswa) yang dilaksanakan pada tahun 2016 oleh Muslim *dkk.*, telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ke empat ekstrak dari lichen Sumatera genus *Cladonia rappii* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* diperoleh diameter hambat yang cukup signifikan. Hasil diameter hambat terbesar diperoleh pada ekstrak aseton. Walaupun ke empat ekstrak *Cladonia rappii* memiliki aktivitas terhadap bakteri *S.aureus* namun belum diketahui senyawa apakah yang bertanggung jawab terhadap bioaktivitas tersebut. Berdasarkan hal inilah maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai isolasi senyawa metabolit sekunder dari lichen

Sumatera *Cladonia rappii* serta pengujian senyawa hasil isolasi terhadap aktivitas antibakteri.



BAB 2
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lichen *Cladonia rappii*

2.1.1 Taksonomi

Kingdom	: Fungi		(GBIF, 2017)
Filum	: Askomikota		
Kelas	: Askomisetes		
Ordo	: Lekanorales		
Famili	: Cladoniaceae		
Genus	: Cladonia		
Spesies	: <i>Cladonia rappii</i>		

2.1.2 Morfologi

Lichen terdiri atas bagian talus. Talus lichen mengandung kortek pada lapisan atas dan bawah, lapisan alga dan medula. Lapisan dibedakan berdasarkan ketebalan dan dapat berkembang pada salah satu spesies. Hifa jamur merupakan bagian yang dominan dari talus (Ahmadijan, 1993). Berdasarkan bentuk talusnya lichen dibedakan menjadi 3 yaitu *Crustose*, *Foliose*, dan *Fruticose*. Talus *crustose* merupakan tipe yang paling tua contohnya adalah pada spesies *Lepraria* yang tidak mengandung lapisan tetapi hanya menghasilkan serbuk granul. Talus *foliose* mempunyai kortek bagian atas dan bawah, lapisan alga dan medula biasanya

longgar dan melekat seperti rambut. Beberapa lichen foliose mempunyai talus yang melekat dan hanya berkumpul pada satu titik. Posisi talusnya dapat tegak atau menggantung, bulat atau datar dan biasanya bercabang, tipe seperti ini terdapat pada lichen spesies *Usnea* dan *Cladonia* (Ahmadijan, 1993; Nash, 1996).

Di alam lichen tumbuh sangat lambat hanya beberapa milimeter per tahun. Hale pada tahun 1973 melakukan generalisasi laju pertumbuhan lichen foliose sekitar 0,5-4 mm/tahun, spesies fruticose 1,5-5 mm/tahun dan spesies crustose 0,5-2 mm/tahun. Lichen dapat dijumpai secara luas di daerah yang lembab, dataran tinggi, daerah artik sampai tropik. Tumbuhan ini dapat ditemukan pada permukaan tanah, daun, batu, kulit kayu, pohon, di pinggir sungai maupun tepi pantai (Dobson, 1992; Nash, 2008). Lichen merupakan tumbuhan yang mampu hidup di daerah ekstrem di permukaan bumi. Lichen dapat tumbuh di permukaan tanah, bebatuan, pepohonan bahkan permukaan-permukaan benda buatan manusia. Lichen ditemukan tempat yang jarang ada organisme yang mampu hidup di sana seperti puncak gunung, padang pasir, dan daerah kutub. Di samping itu, lichen seringkali tumbuh di pohon dan semak - semak sebagai epifit, mereka tidak mengambil makanan dari organisme yang ditemelinya akan tetapi mengambil makanan dari atmosfer.

2.1.3 Kandungan Kimia

Metabolit sekunder yang terdapat pada lichen berupa senyawa organik. Lichen mengandung senyawa metabolit sekunder antara 0,1-10% dari berat keringnya dan terkadang mencapai 30% (Galun & Shomer, 1988; Stocker-

Worgotter, 2008; Solhaug, *et al.*, 2009). Lebih dari 800 senyawa metabolit sekunder ditemukan pada lichen, kebanyakan bersifat unik dan hanya sebagian kecil yang ditemukan pada jamur atau tumbuhan tingkat tinggi. Biasanya metabolit sekunder ini terdapat pada hifa dan tersimpan dalam bentuk kristal yang praktis tidak larut didalam air sehingga untuk isolasi senyawa metabolit sekunder pada lichen biasanya digunakan pelarut organik (Backorova, *et al.*, 2012). Lichen mengandung metabolit sekunder yang terdiri atas depsid, depsidon, dibenzofuran, xanton, dan turunan terpenoid (Branislav, *et al.*, 2011). Lichen memproduksi metabolit sekunder yang terdiri dari banyak kelas termasuk senyawa turunan asam amino, asam pulvinat, peptida, gula alkohol, terpenoid, steroid, karotenoid, asam alifatik, fenol monosiklik, depsides, dibenzofurans, antrakuinon, xanthones, asam usnat dan senyawa lain (Huneck, 1999). Asam usnat merupakan senyawa kimia yang paling banyak dipelajari dan digunakan sebagai senyawa aktif dibandingkan dengan senyawa kimia lain yang terkandung dalam lichen. Kelimpahannya didistribusikan pada jenis *Cladonia*, *Usnea*, *Evemia*, *Ramalina*, *Lecanora*, *Parmelia* dan *Alectoria* (Ingólfssdóttir, 2002).



2.1.4 Penggunaan Secara Tradisional

Lichen banyak digunakan dalam pengobatan untuk tujuan yang berbeda. Lichen sering digunakan untuk mengobati luka, baik sebagai disinfektan maupun untuk menghentikan perdarahan. Penggunaan lain lichen secara topikal untuk mengatasi infeksi kulit dan luka termasuk luka pada bagian mulut. Lichen sering dikonsumsi dalam bentuk rebusan untuk mengatasi penyakit yang berkaitan dengan

paru-paru atau sistem pencernaan. Lichen dapat pula digunakan untuk mengatasi permasalahan ginekologi, hal ini berkaitan dengan kemampuan lichen untuk mengobati infeksi yang ditularkan melalui aktivitas seksual dan pengobatan infeksi saluran kemih. 2 kegunaan lain yang tidak umum dari lichen namun ditemukan di beberapa budaya adalah mengobati gangguan pada mata dan digunakan dalam campuran rokok. Banyaknya penggunaan tradisional dari lichen berhubungan dengan kandungan metabolit sekundernya, lichen aktif secara farmakologis dan telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Namun beberapa penggunaan tradisional lichen juga berkaitan dengan kualitas dari karbohidrat (Crawford, 2007).

Lichen digunakan sebagai salah satu obat tradisional yang diaplikasikan pada hewan dan manusia. Sebagai contoh di Selandia Baru lichen spesies *usnea* dipakai sebagai bantalan dan komponen popok (Pretty, *et al.*, 1999). Spesies *usnea* juga digunakan di Asia, Eropa, dan Afrika untuk mengatasi demam serta menghilangkan nyeri (Okuyama, *et al.*, 1995). Argentina menggunakan *Usnea densirostra* atau yang disebut dengan “*barba de la piedra*” sebagai obat tradisional dalam mengatasi beberapa gangguan (Correche, *et al.*, 1998). 2 spesies lichen *Parmelia caperata* dan *umbilicaria* sp dilaporkan digunakan sebagai obat tradisional di Chili (Munoz, *et al.*, 1981). *Ramalina thrausta* digunakan di Finlandia untuk mengobati luka, berbagai penyakit kulit, dan mengatasi gangguan pada tenggorokan serta sakit gigi (Vartia, 1973). *Cetraria islandica* secara tradisional digunakan dalam bentuk mucilago sebagai obat batuk dikenal sebagai “*tonikum amarum*” (Muller, 2001). Beberapa spesies lichen digunakan untuk pengobatan

tradisional yang dipercaya bisa mengobati dispepsia, luka terbuka, diabetes, bronkitis, tuberkulosis paru, dan beberapa penyakit yang berhubungan dengan darah dan hati (Richardson, 1988).

Tabel I : Penggunaan genus lichen didunia (Branislav, *et al.*, 2015).

Genus Lichen	Banyak digunakan di
Usnea	Seluruh dunia, kecuali Australia
Evernia dan Pseudovernia	Eropa dan Afrika Utara
Letaria	Amerika Utara
Letariela	China
Cetraria	Eropa
Parmotrema dan Everniastrum	India
Xantoparmelia	Amerika Utara dan Afrika
Cladonia dan Cladina	Amerika Utara, Eropa Asia
Tamnolia	Asia
Ramalina	Amerika Utara, Eropa dan Asia
Lobaria dan Peltigera	Amerika Utara, Eropa dan Asia
Umbilikaria	Amerika Utara dan Asia

2.1.5 Bioaktivitas

Secara umum metabolit yang terdapat pada lichen terdiri atas metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit sekunder bersifat lebih kompleks dan memiliki komposisi 20% dari berat kering. (Muggia, *et al.*, 2009). Lebih dari 1000

substansi yang terdapat pada lichen telah diketahui strukturnya dan memiliki aktivitas yang hampir sama satu sama lain.

2.1.5.1 Lichen Sebagai Antimikroba

Pemanfaatan lichen sebagai antimikroba secara tradisional telah lama dilakukan, sehingga menarik perhatian para ilmuwan. Sifat antimikroba ini meliputi antibakteri, antijamur, dan antivirus. Kemampuan lichen sebagai antimikroba ditentukan oleh senyawa asam yang terdapat di dalamnya. Asam usnat adalah antimikroba spektrum luas dan merupakan kandungan yang paling umum diketahui dari lichen. Selain asam usnat masih banyak lagi jenis asam dalam lichen yang memiliki aktivitas antibiotik terutama sebagai antibakteri. Ekstrak aseton, dietil eter dan etanol dari lichen *Cetraria aculeata* (Schreber) Fr. dan bahan aktif penyusunnya berupa asam protolikesterinat menunjukkan hasil yang lebih luas baik pada bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* maupun gram positif *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, dan *Listeria monocytogenes* (Turk, *et al.*, 2003).

Gupta, *et al.*, (2007) melaporkan bahwa ekstrak etanol lima jenis lichen yaitu *Flavoparmelia caperata*, *Heterodermia leucomela*, *Everniastrum cirrhatum*, *Rimelia reticulata*, dan *Stereocaulon foliolosum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv dan H37Ra penyebab penyakit TBC. Selain sebagai antibakteri, lichen juga memiliki aktivitas antijamur dan antivirus. Candan, *et al.*, (2007) melaporkan bahwa ekstrak aseton, kloroform, dietil

eter, metanol, dan petroleum eter *Parmelia sulcata* dan penyusunnya (asam salazinat) menunjukkan aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Aspergillus niger*, dan *A. fumigatus*. Sedangkan ekstrak aseton dan metanol dari *Cladonia furcata*, *P. caperata*, *P. pertusa*, *Hypogymnia physodes* dan *Umbilicaria polyphylla* memiliki kemampuan sebagai antijamur diantaranya pada jenis *A. flavus*, *A. fumigatus*, dan *C. Albicans* (Rancovic, *et al.*, 2007). Ekstrak lichen *Protousnea poeppigii* dan *Usnea florida* diketahui memiliki aktivitas antijamur patogen *Trichophyton mentagrophytes* dan *T. Rubrum* penyebab tinea pedis . Dari isolasi senyawa kimia yang dilakukan didapatkan bahwa senyawa aktif yang berperan sebagai antijamur adalah asam isodivarikatat dan asam divarikatinat (Schmeda-Hirschmann, *et al.*, 2008). Esimone, *et al.*,(2007) melaporkan bahwa fraksi polisakarida lichen *Parmelia perlata* mempunyai kemampuan antivirus spesifik terhadap virus demam kuning. Selain terhadap virus demam kuning, fraksi *P. perlata* juga mempunyai aktivitas penghambatan pada infeksi virus poliomyelitis dan IBDV (Gumboro virus).

2.1.5.2 Lichen Sebagai Antikanker dan Antitumor

Russo, *et al.*, (2008) melaporkan bahwa Pannarin yang diisolasi dari lichen genus Pannaria mampu menghambat pertumbuhan sel-sel melanoma manusia M14 melalui peningkatan mekanisme apoptosis. Aktivitas antiproliferatif dari tenuiorin (sebuah tridepsid) dan metil orsellinat yang diekstraksi dari *Peltigera leucophlaebia* yang telah diuji pada sel kanker payudara manusia (T-47D), pankreas (PANC-1) dan usus (WIDR) menunjukkan pengurangan yang lemah

sampai sedang dalam serapan [3H] timidin oleh sel-sel pankreas dan usus (Ingólfssdóttir, *et al.*, 2002). Substansi lichen lainnya yaitu asam 16-O-asetilleucotylic yang diisolasi dari ekstrak aseton *Myelochroa aurulenta* diketahui menunjukkan aktivitas antiproliferatif terhadap sel leukemia HL-60 (Tokiwano, *et al.*, 2009). Asam usnat juga dapat mengurangi jumlah sel leukemia (K-562) dan kultur sel karsinoma endometrium (Kristmundsdottir, *et al.*, 2002). Baeomycesic, asam lekanorat, asam barbatat, dan asam skuamatat dari ekstrak kloroform, etil asetat dan metanol *Thamnolia vermicularis* (Sw.) Schaer var *subuliformis* (Ehrh.) diketahui memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HeLa (Manojlovic, *et al.*, 2010). Selain untuk pengobatan, beberapa ekstrak lichen juga digunakan untuk kemopreventif sel kanker. Efek kemopreventif terhadap sel kanker dari ekstrak *Xanthoria elegans* mampu menginduksi aktivitas kuinon reduktase sedangkan ekstrak *Peltigera leucophlebia* memiliki kemampuan penghambatan moderat terhadap sel kanker leukemia HL-60 (Ingolfssdottir, *et al.*, 2000).

2.1.5.3 Lichen Sebagai Antiinflamasi, Analgetik dan Antipiretik

Ekstrak air dari *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. dilaporkan mempunyai kemampuan anti inflamasi yang sedang (Suleyman, *et al.*, 2003). Efek anti inflamasi ekstrak metanol lichen *Peltigera rufescens* (Weis.) Humb mampu mengurangi inflamasi pada model tahap peradangan akut dan menunjukkan efek antiproliferatif yang kuat (63,5%) pada model peradangan kronis (Tanas, *et al.*, 2010). Vijayakumar, *et al.*, (2000) melaporkan bahwa (+) asam usnat yang diisolasi dari lichen *Roccella montagnei* juga memiliki aktivitas antiinflamasi yang sama

kuat dengan ibuprofen, sebuah golongan obat yang secara umum digunakan dalam kasus inflamasi, sehingga dapat dikembangkan untuk obat antiinflamasi baru. Senyawa aktif dalam lichen juga mempunyai aktivitas dalam mengurangi rasa sakit dan juga penurun panas. Okuyama, *et al.*, (1995) melaporkan bahwa asam usnat yang terkandung dalam lichen *Usnea diffracta* mempunyai aktivitas sebagai analgesik dan antipiretik yang telah berhasil dilakukan pada percobaan menggunakan tikus sebagai hewan coba.

2.1.5.4 Lichen Sebagai Antioksidan

Banyak ekstrak lichen memiliki sifat antioksidan karena adanya kandungan fenolik. Konstituen fenolik dari lichen *Parmotrema stuppeum* (Nyl.) Hale (Parmeliaceae) termasuk juga asam orsenillat, metil orsenillat, asam lekanorat dan atranorin menunjukkan aktivitas antioksidan tingkat sedang (Jayapraksha & Rao, 2000). Turunan asam stiktat dari lichen *Usnea articulata* (Ach.) *Motyka* dilaporkan mempunyai aktivitas yang signifikan sebagai antioksidan (Dévéhat, *et al.*, 2007). Sebuah studi melaporkan adanya aktivitas antioksidan dari ekstrak air *Cetraria islandica* yang memiliki aktivitas lebih kuat daripada α -tokoferol pada konsentrasi yang sama (Gülçin, *et al.*, 2002). Ekstrak metanol dan aseton lichen *Umbilicaria antarctica*, *Cladonia furcata*, *Sphaerophorus globosus* dan *Usnea Antarctica* yang dikoleksi dari pulau King George di kepulauan Antartika diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Dari hasil penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktifnya, didapatkan bahwa asam lekanorat yang diisolasi dari ekstrak aseton *U. Antarctica* diketahui mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi diantara

lainnya (Luo *et al.*, 2009). Pigmen kuning dan merah tua yang diisolasi dari *Lethariella sernderi*, *L. cashmeriana*, dan *L. sinensis* diidentifikasi sebagai komponen antioksidan. Pigmen kuning diidentifikasi sebagai canarion, dan yang lainnya diidentifikasi sebagai derivatif 1,2-kuinon, rubrocashmeriquinone, 7-chlorocanarione dan 7-chlororubrocashmeriquinone (Kinoshita, *et al.*, 2010)

2.2 Penyakit Infeksi

Penyakit infeksi di Indonesia masih termasuk dalam sepuluh penyakit terbanyak dan merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting. Penyakit infeksi merupakan penyebab paling utama tingginya angka kesakitan dan angka kematian terutama pada negara-negara berkembang seperti halnya Indonesia. Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba patogen (Darmadi, 2008). Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji, 2011). Bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi contohnya *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

2.3 Antibiotik dan Resistensi Antibiotik

2.3.1 Pengertian Antibiotik dan Mekanisme Kerja

Antibiotik adalah suatu senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang pada konsentrasi rendah dapat memusnahkan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Radji, 2011). Antibiotik diklasifikasikan berdasarkan spektrum atau kisaran kerjanya. Berdasarkan spektrumnya, antibiotik dapat dibedakan menjadi dua yaitu antibiotik berspektrum luas dan sempit. Antibiotik

berspektrum luas mampu menghambat bahkan sampai membunuh bakteri dari golongan Gram positif maupun Gram negatif. Sedangkan bakteri yang berspektrum sempit hanya mampu menghambat segolongan bakteri saja, misalnya hanya mampu menghambat atau hanya membunuh bakteri Gram positif saja atau bisa juga hanya membunuh bakteri Gram negatif saja.

Penemuan antibiotik diinisiasi oleh Paul Ehrlich pada tahun 1910. Kemudian pada tahun 1928 secara tidak sengaja Alexander Fleming menemukan penicillin. Sejak saat itu, antibiotik banyak digunakan dalam dunia klinis untuk menangani berbagai penyakit infeksi. Menurut Setiabudy (2009) antibiotik adalah suatu zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba terutama fungi, yang dapat menghambat atau memusnahkan mikroba jenis lain. Berdasarkan mekanisme kerja antibiotik dibedakan menjadi :

- a. Menghambat sintesa dinding sel, antibiotika ini adalah yang dapat merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif.
- b. Merusak membran plasma. Antibiotik yang dapat merusak membran plasma yaitu antibiotik golongan polipeptida yang bekerja dengan cara mengubah permeabilitas membran plasma sel bakteri seperti polimiksin B yang melekat pada fosfolipid membran.
- c. Menghambat sintesa protein. Kelompok antibiotik yang gula aminonya tergabung dalam ikatan glikosida merupakan aminoglikosida yang termasuk dalam antibiotik yang memiliki spektrum luas dan bersifat bakterisidal dengan mekanisme penghambatan pada sintesis protein.

Contoh antibiotik golongan aminoglikosida yaitu streptomisin, gentamisin, dan lain-lain

- d. Menghambat sintesa asam nukleat. Antibiotik golongan kuinolon dan rifampin termasuk antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat. Penghambatan pada asam nukleat berupa penghambatan pada transkripsi dan replikasi mikroorganisme.
- e. Menghambat sintesa metabolit esensial. Antimetabolit merupakan substansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki struktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Penghambatan terhadap sintesis metabolit esensial antara lain dengan adanya kompetitor berupa antimetabolit tersebut. Sebagai contoh dari antimetabolit yaitu sulfanilamid dan para amino *benzoic acid* (PABA) (Pratiwi, 2008).

2.3.2 Pengertian Resistensi

Resistensi adalah suatu keadaan karena pengaruh obat antiinfeksi terhadap kuman berkurang khasiatnya atau kuman tersebut tidak sensitif oleh perlakuan obat anti infeksi. Resistensi merupakan kegagalan pengobatan dengan suatu antibiotika dengan dosis terapi (Gran, 1983). Franklin dan Snow (1985) serta Brander, *et al.*, (1991) mengatakan bahwa mekanisme resistensi bakteri terhadap antibiotik terjadi dengan cara penginaktifan obat, perubahan target atau sirkulasi enzim, berkurangnya akumulasi obat oleh adanya sel resisten, variasi jalur metabolisme. Menurut Gran (1983) dan Brander, *et al.*, (1991), ada 3 macam tipe

resistensi, yaitu non genetik, genetik dan silang. Resistensi non genetik terdapat pada mikroba dalam keadaan inaktif atau istirahat, resistensi genetik merupakan mutasi spontan karena terjadinya tanpa dipengaruhi ada atau tidaknya antimikroba tersebut.

Resistensi bakteri dapat terjadi secara intrinsik maupun didapat. Resistensi intrinsik terjadi secara kromosomal dan berlangsung melalui multiplikasi sel yang akan diturunkan pada turunan berikutnya. Resistensi yang didapat terjadi akibat mutasi kromosomal atau akibat transfer DNA. Sifat resistensi terhadap antibiotik melibatkan perubahan genetik yang bersifat stabil dan diturunkan dari satu generasi ke generasi lainnya, dan setiap proses yang menghasilkan komposisi genetik bakteri seperti mutasi, transduksi, dan konjugasi dapat menyebabkan timbulnya sifat resisten tersebut. Telah diketahui lebih dari dua dekade bahwa penyebaran sifat resisten secara cepat dan luas dapat terjadi di antara spesies bakteri yang sama maupun yang berbeda, bahkan juga di antara genus yang berbeda melalui perantaraan plasmid (faktor R). Pada resistensi dengan perantaraan plasmid, mikroorganisme mendapatkan kemampuan tambahan dalam bentuk produksi enzim dan pada mutasi terjadi perubahan struktur di dalam sel bakteri (Brooks, 1998)

2.3.3 Mekanisme Resistensi Antibiotik

Mekanisme resistensi bakteri terhadap antibiotik diantaranya melalui mekanisme mikroorganisme menghasilkan enzim dan merusak obat yang aktif, mikroorganisme merubah permeabilitasnya terhadap obat, mikroorganisme

mengubah struktur target untuk obat, mikroorganisme mengembangkan jalur metabolisme baru menghindari jalur yang biasa dihambat oleh obat, dan mikroorganisme mengembangkan enzim baru yang masih dapat melakukan fungsi metaboliknya tapi sedikit dipengaruhi oleh obat (Jawetz, *et al.*, 2001).

Menurut Neu dan Gootz (2011) yang dikutip dari Sunarjati Sudigdoadi perubahan-perubahan dasar dalam hal kepekaan mikroorganisme terhadap antibiotik tanpa melihat faktor genetik yang mendasarinya adalah terjadinya hal-hal seperti berikut

- a. Dihasilkannya enzim yang dapat menguraikan antibiotik seperti enzim penisilinase, sefalosporinase, fosforilase, adenilase dan asetilase.
- b. Perubahan permeabilitas sel bakteri terhadap obat.
- c. Meningkatnya jumlah zat-zat endogen yang bekerja antagonis terhadap obat.
- d. Perubahan jumlah reseptor obat pada sel bakteri atau sifat komponen yang mengikat obat pada targetnya.

Masalah resistensi bakteri terhadap antibiotik telah dapat dipecahkan dengan ditemukan antibiotik golongan baru, seperti golongan aminoglikosida, glikopeptida, dan makrolida, juga obat modifikasi kimiawi dari antibiotik yang telah ada. Namun, tak ada jaminan bahwa pengembangan antibiotik baru dapat mencegah kemampuan bakteri menjadi resisten.

Beberapa bakteri mempunyai kemampuan alami untuk kebal atau resisten terhadap efek pengobatan, misal dengan antibiotik, meskipun tidak berinteraksi secara langsung. Hal ini dapat terjadi karena bakteri mempunyai enzim yang

dapat merusak obat (Brander, *et al.*, 1991). Penghancuran antibiotik secara enzimatis oleh enzim yang dihasilkan bakteri seperti β -laktamase. β -laktamase akan memecah cincin β -laktam dari penisilin dan derivatnya demikian juga aminoglukosa menjadi terasetilasi atau terfosforilasi oleh asetilase atau fosforilase. Dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih kompleks membuat bakteri kurang sensitif terhadap antibiotik β -laktam. Reseptor tempat agen antimikroba bereaksi dapat berubah baik afinitas reseptor terhadap antimikroba maupun respon reseptor yang dapat menaikkan aktivitas sehingga dapat mengatasi obat tersebut. Berkurangnya akumulasi obat oleh adanya sel resisten terjadi dengan adanya penurunan permeabilitas membran sel terhadap antibiotik dan variasi jalur metabolisme tersebut oleh antimikroba. Obat yang dapat menghambat pertumbuhan antagonis kompetitif metabolisme normal, dapat menghasilkan metabolik yang berlebihan. Akibatnya obat tersebut tidak efektif lagi bagi bakteri (Setyabudy & Gan, 1995).

2.3.4 Upaya Mengatasi Resistensi Antibiotik

Untuk mengatasi resistensi lebih lanjut, saat ini Center For Disease and Prevention, World Health Organization (WHO) dan berbagai organisasi profesional lainnya telah membangun koalisi dan tindakan untuk dapat meningkatkan perhatian publik mengenai masalah resistensi antibiotik. Para praktisi kesehatan harus dapat memahami bahwa pemberian antibiotik yang tidak sesuai indikasi, tidak cukup, maupun terapi antibiotik yang lama dapat meningkatkan resistensi bakteri terhadap

antibiotik. Oleh karena itu pemilihan antibiotik haruslah didasarkan pada prinsip yang jelas. Prinsip pemilihan antibiotik adalah

- a. Lakukan pewarnaan gram, kultur , dan tes sensitivitas sebelum memulai terapi antibiotik
- b. Terapi empirik harus berdasarkan data epidemiologi
- c. Terapi definitif harus berdasarkan hasil kultur dan sensitivitas patogen penyebab
- d. Pemilihan agen, dosis, cara pemberian dan durasi ditentukan oleh aktivitas spektrum antibiotik, farmakokinetika obat, usia, fungsi organ, dan efek samping pada fetus.
- e. Terapi antibiotik yang dipilih harus paling efektif dan efektif untuk melawan bakteri patogen penyebab dan bersifat tidak toksik.
- f. Penggunaan terapi kombinasi jika sesuai dengan keadaan (Yulia, 2009).

2.4 Ekstraksi

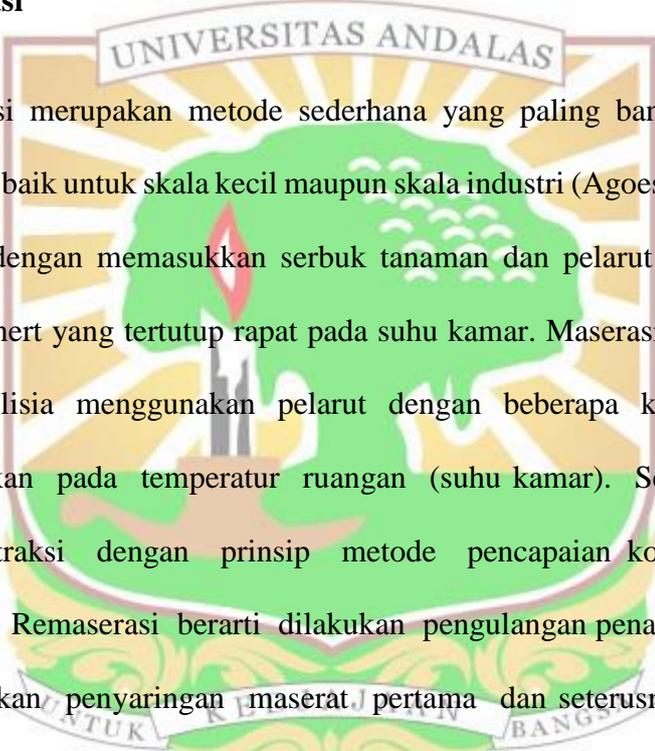
2.4.1 Pengertian dan Tujuan

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Berapa target ekstraksi diantaranya

- a. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
- b. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme
- c. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural (Sarker, *et al.*, 2006)

2.4.2 Pembagian Ekstraksi

2.4.2.1 Maserasi



Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI, 2000). Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

2.4.2.2 Perkolasi

Pada perkolasi sederhana dan berkesinambungan, sasaran proses biasanya adalah menarik bahan berkhasiat dari tanaman secara total. Pada perkolasi sederhana bahan berkhasiat diekstraksi sampai habis menggunakan pelarut yang segar. Proses ini merupakan proses yang memakan waktu lama dan mahal karena harus menggunakan sejumlah besar pelarut yang bergantung pada beberapa parameter berikut yaitu waktu yang dibutuhkan untuk mencapai kesetimbangan pelarut-solut, kuantitas pelarut yang dibutuhkan untuk menghasilkan ekstraksi pertama dalam skala ekonomi memadai, dan kuantitas pelarut yang dibutuhkan untuk mengencerkan secara sempurna kuantitas solut yang tertahan oleh ampas ekstraksi pertama (Agoes, 2007).

Metode perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan cara serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator. Perkolator merupakan wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya. Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

2.4.2.3 Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan

jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI,2000). Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

2.4.2.4 Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel, 2006).

2.5 Pemurnian dan Pemisahan Senyawa

2.5.1 Kromatografi

Kromatografi adalah metode pemisahan campuran menjadi berbagai komponennya berdasarkan kesetimbangan heterogen yang terjadi selama Bergeraknya pelarut yang disebut fase gerak melewati fase diam untuk memisahkan dua atau lebih komponen dari materi yang dibawa oleh pelarut. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan sedangkan fase gerak dapat berupa cairan atau gas (Touchstone, 1983). Teknik kromatografi yang umum digunakan dibidang farmasi yaitu kromatografi kolom, kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, dan high performance liquid chromatography (kromatografi cair kinerja tinggi / KCKT).

2.5.1.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan atas penjerapan, partisi, atau gabungannya. KLT merupakan salah satu teknik kromatografi yang banyak digunakan untuk analisis kualitatif senyawa organik, isolasi senyawa tunggal dari campuran multikomponen, analisis kuantitatif, dan isolasi skala preparatif (Waksmundzka, 2008). Teknik KLT sangat bermanfaat untuk analisis obat dan bahan lain dalam laboratorium karena hanya memerlukan peralatan sederhana, waktu yang cukup singkat, dan jumlah zat yang diperiksa cukup kecil (Stahl, 1969; Harmita, 2006).

2.5.1.2 Kromatografi Kolom

Salah satu metode pemisahan senyawa dalam jumlah besar adalah menggunakan kromatografi kolom. Pada kromatografi kolom fasa diam yang digunakan dapat berupa silika gel, selulosa atau poliamida. Sedangkan fasa geraknya dapat dimulai dari pelarut non polar kemudian ditingkatkan kepolarannya secara bertahap, baik dengan pelarut tunggal ataupun kombinasi dua pelarut yang berbeda kepolarannya dengan perbandingan tertentu sesuai tingkat kepolaran yang dibutuhkan. Fraksi yang diperoleh dari kolom kromatografi ditampung dan dimonitor dengan kromatografi lapis tipis. Fraksi-fraksi yang memiliki pola kromatogram yang sama digabung kemudian pelarutnya diuapkan sehingga akan diperoleh beberapa fraksi. Noda pada plat KLT dideteksi dengan lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254/366 nm. Untuk senyawa-senyawa yang mempunyai gugus kromofor, dengan penampak noda seperti larutan Iod, FeCl_3 dan H_2SO_4 dalam metanol 10% (Stahl, 1969).

2.5.2 Karakterisasi Senyawa Murni

2.5.2.1 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer ultraviolet (UV-VIS) dapat digunakan untuk analisa kualitatif dan analisa kuantitatif tapi penggunaannya dalam penentuan struktur senyawa organik masih terbatas. Senyawa-senyawa yang dapat dianalisa dengan Spektrofotometer UV-VIS digunakan untuk mengukur transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan elektronik. Transisi tersebut biasanya antara orbital ikatan

(orbital pasangan bebas) dengan orbital non ikatan (orbital anti ikatan). Keuntungan selektif dari spektrofotometer UV-VIS adalah dapat menentukan gugus karakteristik dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Parameter yang spektrofotometer UV-VIS adalah senyawa-senyawa yang mempunyai gugus kromofor diperoleh dari spektrofotometer UV-VIS adalah harga panjang gelombang maksimum (λ_{mak}) dan absorban (A) dari senyawa yang dianalisa (Dachriyanus, 2004; Hesse, 1991).

2.5.2.2 Spektrofotometer Infra Merah

Spektrofotometer inframerah dapat digunakan untuk menentukan gugus fungsi yang terdapat pada senyawa organik tapi penggunaannya dalam penentuan struktur senyawa organik masih terbatas. Spektrofotometer inframerah berfungsi mengukur perubahan vibrasi ikatan antara atom-atom yang ada dalam senyawa organik. Parameter yang ditentukan adalah bilangan gelombang (cm^{-1}) dari puncak-puncak yang muncul pada spektrum inframerah (Dachriyanus, 2004; Hesse, 1991).

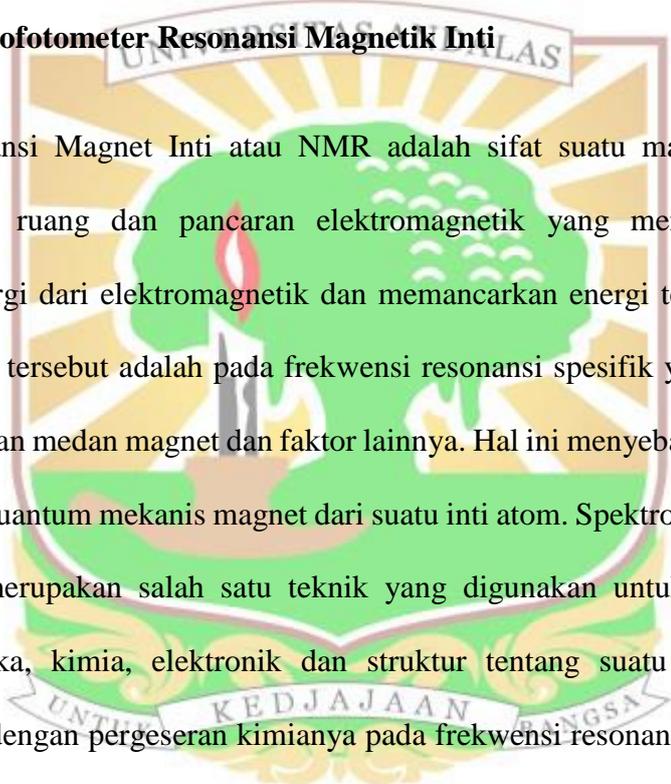
2.5.2.3 Spektrofotometer Massa

Spektroskopi massa adalah teknik analisis untuk menentukan komposisi dasar dari suatu sampel atau molekul. Spektrometer massa digunakan untuk penentuan berat molekul suatu senyawa. Prinsipnya adalah ionisasi senyawa kimia untuk menghasilkan muatan atau fragmen molekul dan penentuan massa per muatan. Alat spektrometer massa terdiri dari tiga bagian, yakni :

- 1). Sumber ion, yang dapat merubah fase sampel (molekul) menjadi ion.
- 2). Elektromagnetik, yang memisahkan ion dari massa.
- 3). Bagian detektor, yang menentukan nilai dari jumlah indikator yang menyediakan data untuk perhitungan keberadaan ion yang ada.

Spektrometer massa dapat digunakan untuk keperluan kualitatif dan kuantitatif (Dachriyanus, 2004; Hesse, 1991).

2.5.2.4 Spektrofotometer Resonansi Magnetik Inti



Resonansi Magnet Inti atau NMR adalah sifat suatu magnet inti yang terdapat pada ruang dan pancaran elektromagnetik yang menyebabkan inti menyerap energi dari elektromagnetik dan memancarkan energi tersebut ke luar. Radiasi energi tersebut adalah pada frekwensi resonansi spesifik yang tergantung dengan kekuatan medan magnet dan faktor lainnya. Hal ini menyebabkan observasi spesifik sifat kuantum mekanis magnet dari suatu inti atom. Spektroskopi resonansi magnet inti merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk mendapatkan informasi fisika, kimia, elektronik dan struktur tentang suatu molekul yang berhubungan dengan pergeseran kimianya pada frekwensi resonansi dari inti pada sampel. Teknik ini dapat memberikan informasi detail mengenai topologi, dinamika dan struktur tiga dimensi molekul dalam larutan ataupun dalam bentuk padat. Teknik NMR-2D seperti HMBC dan HSQC dapat digunakan dalam pendeteksian korelasi proton dengan karbon (Dachriyanus, 2004; Hesse, 1991).

2.6 Bakteri

2.6.1 Morfologi bakteri

Bakteri memiliki satuan ukuran micrometer (μm), yang setara dengan $1/1000$ mm atau 10^{-3} mm. Umumnya bakteri memiliki ukuran $0,5-1,0 \times 2,0-5,0$ μm . Sel bakteri secara individual dapat berbentuk seperti elips/bola (coccus), batang/silindris (bacillus) atau spiral (spirillum). Struktur luar bakteri terdiri dari flagellum, pili dan kapsul. Flagellum merupakan alat gerak pada bakteri yang berukuran $10-20$ nm. Pili merupakan bagian yang berfungsi untuk melekatkan bakteri pada permukaan inangnya dan sebagai pintu gerbang masuknya bahan genetik. Kapsul merupakan pelindung sekaligus gudang makanan. Dinding sel bakteri merupakan pembentuk sel yang bersifat kaku karena mengandung peptidoglikan (Pelczar & Chan, 2010)

2.6.2 Jenis Bakteri

Bedasarkan struktur dinding sel bakteri terdiri dari Gram Positif dan Gram negatif. Perbedaan ini penting untuk diketahui karena hal inilah yang menyebabkan kedua jenis bakteri memberikan respon yang berbeda pada perlakuannya (Pelczar & Chan, 2010).

Tabel II : Perbedaan antara bakteri Gram positif dan negatif (Pelczar dan Chan, 2010).

Ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram Positif	Gram Negatif

Struktur Dinding Sel	Tebal (15-80 mm) Berlapis tunggal	Tipis (10-15 mm) Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%)	Kandungan lipid tinggi (11-22%)
Resistensi dan gangguan fisik	Lebih resisten	Kurang resisten
Persyaratan Nutrisi	Relatif rumit pada banyak spesies	Relatif sederhana

1. *Escherichia coli*

E. coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek dan datar. *E. coli* dapat berkembang dengan sangat cepat (motile) dan koloni saling terpisah. Bakteri ini merupakan flora normal pada usus manusia, namun jika jumlahnya tak terkendali dapat menyebabkan infeksi saluran urin dan diare (Brooks, *et al.*, 2013).

2. *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat yang tidak teratur dan seperti susunan buah anggur. *S. aureus* merupakan bakteri flora normal namun jika jumlahnya tidak terkendali dapat menyebabkan infeksi pada kulit, pernafasan, mastitis, sepsis dan sindrom toksik (Brooks, *et al.*, 2013).

3. *Salmonella typhosa*

S. typhosa adalah bakteri yang menyebabkan penyakit infeksi sistemik yang dikenal dengan demam thypoid dan biasanya mengenai saluran

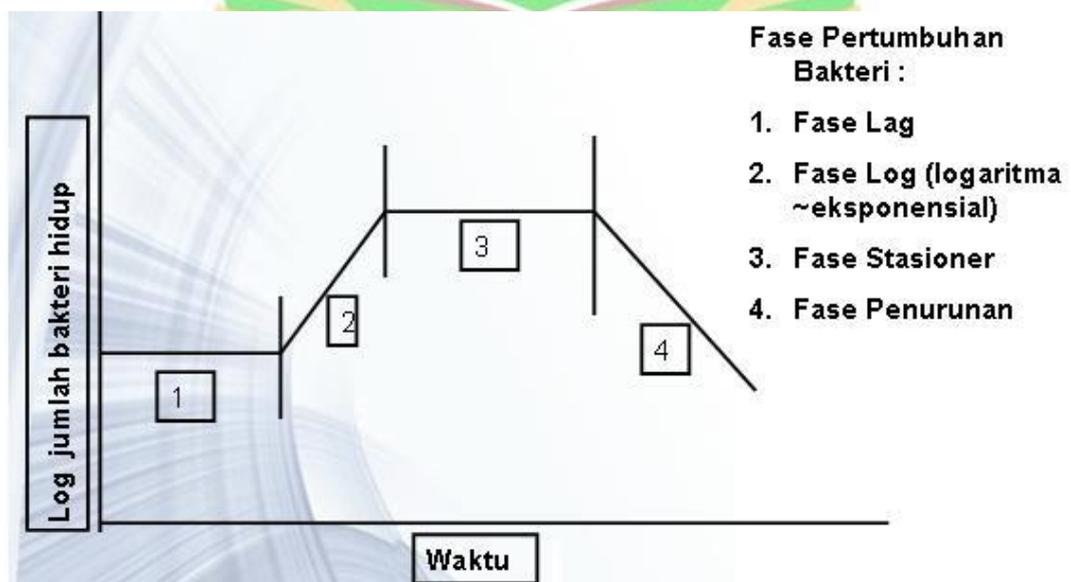
pencernaan dengan gejala demam lebih dari satu minggu, gangguan pencernaan, dan gangguan kesadaran (Djide, *et al.*, 2006; Brooks, *et al.*, 2005).

4. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa adalah bakteri gram negatif berbentuk batang lurus atau lengkung, berukuran sekitar 0,6 x 2 mikrometer. Dapat ditemukan satu-satu, berpasangan dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung, serta mempunyai flagel monotrika (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Kayser, *et al.*, 2005).

2.6.3 Laju Pertumbuhan Bakteri

Jika suatu bakteri diinokulasikan pada suatu medium maka bakteri akan memperbanyak diri menjadi dua kali lipat pada interval waktu tertentu (waktu regenerasi) selama inkubasi. Kurva tahapan pertumbuhan bakteri tersebut dapat dijelaskan pada gambar dibawah ini.



Gambar 1. Fase pertumbuhan bakteri, (A) fase pertumbuhan lamban (B) fase pertumbuhan cepat, (C) fase pertumbuhan statis dan (D) fase kematian.

Fase lamban (*lag phase*) dimana pada fase ini tanpa ada pertumbuhan. Kemudian terjadi fase pertumbuhan cepat (*log phase*) dan diikuti dengan pertumbuhan statis (*stationary phase*). Kemudian fase terakhir yakni penurunan sel yang hidup (Pelczar & Chan, 2010). Untuk ciri pertumbuhan bakteri lebih lanjut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel III. Ciri pertumbuhan bakteri pada setiap fase pertumbuhannya (Pelczar & Chan, 2010)

Fase Pertumbuhan	Ciri
Fase lamban (<i>lag phase</i>)	Tidak ada pertumbuhan populasi, sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambahnya ukuran serta substansi intraseluler bertambah
Fase pertumbuhan cepat (<i>log phase</i>)	Sel membelah dengan laju yang konstan, massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama aktivitas metabolit konstan dan pertumbuhan seimbang

Fase statis (<i>Stationary phase</i>)	Penumpukan produk beracun dan/atau kehabisan nutrient, beberapa sel mengalami kematian sedangkan lainnya tumbuh, membelah dan jumlah sel menjadi tetap
Penurunan sel yang hidup	Sel mengalami kematian yang lebih cepat dari pada sel baru dan laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponensial

2.7 Uji Antibakteri

Metode pengujian antimikroba yang umum digunakan saat ini terdiri atas tiga jenis metode yaitu bioautografi, difusi dan dilusi. Bioautografi dan difusi merupakan metode kualitatif yang menentukan ada atau tidaknya aktivitas antibakteri. Sedangkan dilusi merupakan metode kuantitatif yang dapat menentukan *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)* (Valgas, *et al.*, 2007).

2.7.1 Metode Difusi

Merupakan metode analisa kualitatif terhadap bakteri untuk penentuan ada atau tidaknya aktivitas antibakteri, sensitivitas antibiotik, atau resistensi antibiotik. Pada metode ini digunakan dalam cakram (dengan diameter sekitar 6 mm) yang

berisi beberapa konsentrasi yang diinginkan dan diletakkan pada permukaan agar. Petri kemudian diinkubasi pada suhu yang cocok. Hasil dari metode ini memberikan hasil berupa diameter hambat. Keuntungan dari metode ini yakni mudah dilakukan, membutuhkan biaya yang kecil dan biasa digunakan untuk *screening* ekstrak, minyak atsiri dan berbagai obat (Balouiri, *et al.*, 2016).

2.7.2 Metode dilusi

Metode ini merupakan metode penentuan *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)*. Salah satu metode yang memberikan hasil yang baik yakni metode mikrodilusi dengan media broth. Metode mikrodilusi menggunakan volume kecil yakni ditempatkan pada 96 lubang *microplate*. Kelemahan metode dilusi yakni pada pengisian sumur dilakukan secara manual rentan terjadi human error. Penentuan MIC dapat dilakukan dengan menggunakan alat dan atau metode kolorimetri menggunakan suatu reagen. Reagen yang digunakan seperti garam tetrazolium dan resazurin (Balouiri, *et al.*, 2016).

2.7.3 Bioautografi

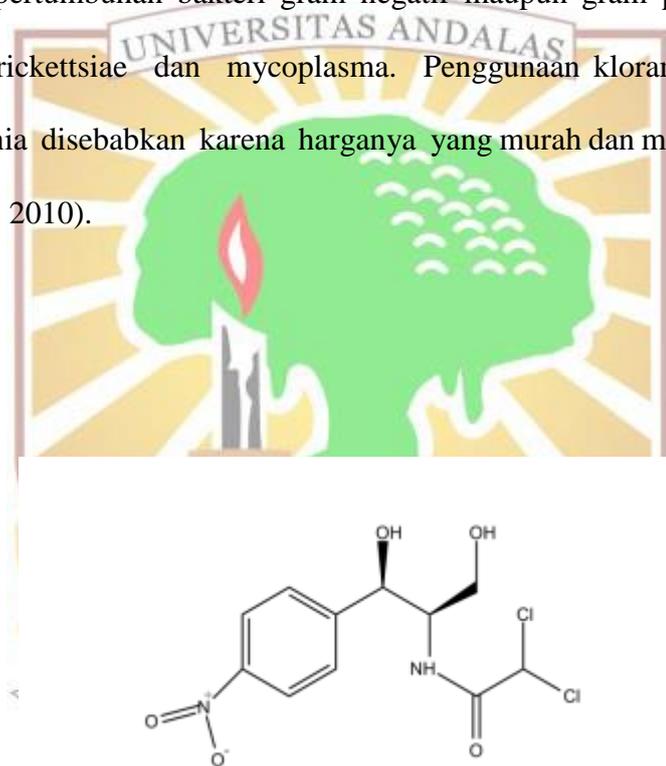
Metode ini merupakan metode yang paling mudah digunakan, baik untuk bakteri maupun fungi. Metode metode ini menggunakan plat KLT yang dibenamkan atau disemprot dengan suspensi bakteri. Bioautogram ini kemudian diinkubasi pada suhu 25°C atau 36°C. Untuk penampak noda pertumbuhan mikroba digunakan garam tetrazolium. Reagen pendeteksi yang umum digunakan yakni p-iodonitrotetrazolium violet. Garam ini dapat disemprotkan pada bioautogram pada

plat yang telah diinkubasi tadi. Plat tersebut diinkubasi kembali 25°C selama 24 jam, 3-4 jam pada 36°C (Balouiri, *et al.*, 2016).

2.8 Kontrol Pembeding Pengujian Antibakteri

Kloramfenikol

Kloramfenikol (CHL) adalah antibiotik berspektrum luas yang menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif maupun gram positif, termasuk chlamydiae, rickettsiae dan mycoplasma. Penggunaan kloramfenikol sudah meluas di dunia disebabkan karena harganya yang murah dan mudah didapatkan (Zuorro, *et al.*, 2010).



Gambar 2 : Struktur Kimia Kloramfenikol (Zuorro, *et al.*, 2010).



3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan selama 10 bulan (Desember – September) di Laboratorium Biota Sumatera Universitas Andalas.

3.2 Metodologi Penelitian

Dimulai dari pengambilan sampel, kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dengan tingkat kepolaran yang berbeda dari non polar,

semi polar, dan polar. Setelah itu dilakukan pengujian aktivitas antimikroba dari ekstrak *Cladonia rappii*, isolasi senyawa dari ekstrak yang paling aktif kemudian karakterisasi senyawa murni.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada proses isolasi adalah botol maserasi, seperangkat alat rotary evaporator, penagas air, desikator, vial 20 ml, plat tetes, pipet tetes, spatel, timbangan analitik, corong, erlenmeyer (kapasitas 250 ml, 500 ml dan 2 L), gelas piala (kapasitas 100 ml), corong pisah (kapasitas 1 L), gelas ukur (kapasitas 10 ml, 100 ml, dan 250 ml), oven, aluminium foil, kolom kromatografi, lampu UV 254, Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu Pharmaspec 1700[®]), Spektrofotometer FT-IR Spectrometer Frontier (Perkin Elmer), Fisher John Melting Point Apparatus, Chamber, dan Pipet kapiler. Untuk uji antibakteri: cawan petri, vial, tabung reaksi, pipet mikro, erlenmeyer, jarum ose, lampu spritus, batang pengaduk, Laminar Air Flow (LAF), inkubator (Mettler[®]), autoklaf (model 25X-2), cawan Petri, timbangan analitik, vortex, kasa, kamera, hotplate (Cimarec[®]) cotton bud, dan pinset.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk isolasi adalah sampel lichen *Cladonia rappii* aquadest, heksan, etil asetat, aseton, metanol, aluminium foil, silika gel 60

(Merck®), plat silika gel 60 F₂₅₄ (Merck®). Bahan yang digunakan dalam pengujian aktivitas antimikroba Nutrien Agar (Merck®), dimetil sulfoksida (DMSO), aquadest, pembanding kloramfenikol, bakteri *Estericholia coli*, *Salmonella thyphosa*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Metisilin Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA).

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Tumbuhan lichen *Cladonia rappii* diambil dibebatuan kawasan wisata danau atas dan danau bawah Alahan Panjang, Kabupaten Solok. Lalu lichen diidentifikasi di Herbarium Anda Universitas Andalas

3.4.2 Identifikasi, Ekstraksi dan Fraksinasi Sampel

Lichen yang dikoleksi sebanyak 500 gram diekstrak dengan cara maserasi bertingkat yang dimulai dengan pelarut non polar (heksan), semi polar (etil asetat dan aseton), dan terakhir pelarut polar (metanol). Maserat yang diperoleh dilihat kandungan kimianya dengan metode kromatografi lapis tipis. Maserat ditotolkan pada KLT dengan konsentrasi 20 µg/ 100 ml lalu dikembangkan dengan beberapa pengembang yaitu pengembang B (heksan : dietil eter : asam format = 120 :30 :5) pengembang C (toluen:etil asetat:asam format =75:20:5) dan pengembang G (toluen : asam format= 85:15) dan diberi penampak noda Anisaldehyd (Huneck & Yoshimura, 1996).

3.4.3 Isolasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Lichen *Cladonia rappii*

Dari uji pendahuluan anti bakteri didapatkan ekstrak yang paling berpotensi sebagai anti bakteri, hasil fraksi dari ekstrak tersebut lalu dipisahkan dengan metode kromatografi yaitu kromatografi kolom dan subfraksi tadi dimonitor dengan kromatografi lapis tipis. Senyawa yang belum murni akan dimurnikan dengan cara rekristalisasi.

3.4.4 Karakterisasi Struktur Kimia Senyawa Aktif Sebagai Antimikroba

Isolat yang telah murni lalu dikarakterisasi struktur kimianya, meliputi pemeriksaan organoleptis, pemeriksaan kimia, penentuan titik leleh dengan *Fischer Jons Melting Apparatus*, pemeriksaan kromatografi lapis tipis untuk menunjukkan kemurnian zat, penentuan spektrum ultraviolet dengan spektrofotometer UV-Vis, penentuan spektrum IR dengan alat spektrofotometer IR.

3.4.5 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Isolat

3.4.5.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Cawan petri, tabung reaksi, kertas cakram, gelas ukur, dan media agar yang telah dimasukkan kedalam erlenmeyer kemudian ditutup bagian mulutnya dengan kapas yang dibalut dengan kain kasa, kemudian dibungkus dengan kertas koran atau perkamen, lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs

selama 15 menit. Pinset dan jarum ose dosterilkan dengan cara *flambier* pada lampu spiritus. *Laminar air flow cabinet* dibersihkan dari debu kemudian disemprot dengan etanol 70% biarkan selama 15 menit. Setelah itu sterilkan dengan menyalakan lampu UV nya selama 10 menit lalu nyalakan bunsen lebih kurang 10 menit sebelum digunakan.

3.4.5.2 Pembuatan media pembenihan Nutrient Agar (NA)

Serbuk Nutrien Agar dialrutkan dalam 1 liter aquadest sebanyak 20gram dalam erlenmeyer, kemudian dipanaskan sambil di aduk sampai terbentuk larutan yang jernih. Kemudian mulut erlenmeyer disumbat dengan kapas yang dibalut dengan kain kasa. Kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 lbs selama 15 menit.

3.4.5.3 Bakteri Uji

Bakteri *Estericholia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella thyphosa* NCTC 786 , dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 didapatkan dari Laboratorium Biota Sumatera, universitas Andalas.

3.4.5.4 Peremajaan Bakteri Uji

Bakteri uji dari stok kultur murni di tanam dalam media miring NA dengan cara menggoreskan biakan yang di ambil menggunakan jarum ose pada permukaan agar miring, lalu diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37⁰C.

3.4.5.5 Penyiapan Sampel Uji

Sampel terdiri isolat dan ekstrak dari lichen *C.rappii* yang telah dikoleksi. Senyawa hasil isolasi dibuat menjadi beberapa konsentrasi yaitu ditimbang seksama 2 mg senyawa hasil isolasi kemudian dilarutkan dalam 1 ml DMSO sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk 0,2% kemudian diencerkan menjadi 0,1% ; 0,05% ; 0,025% dan 0,0125%.

3.4.5.6 Pengujian Antimikroba dengan Metode Difusi Agar

Pengujian menurut metode Chen, *et al.*, (2008) 30 mL media NA steril dimasukkan dalam cawan petri hingga memadat, celupkan cotton bud ke dalam suspensi bakteri dan diinokulasikan ke permukaan agar. Sampel terdiri dari ekstrak metanol, heksan, etil asetat dan aseton dengan konsentrasi yaitu 10%, dan 5% dalam DMSO, dan senyawa hasil isolasi dengan konsentrasi 0,2% ; 0,1% ; 0,05% ; 0,025% dan 0,0125% dalam DMSO. Selanjutnya pipet 10 µL larutan uji ke kertas cakram. Pengujian antimikroba dilakukan terhadap bakteri *Estericholia coli*, *Salmonella thyphosa*, *Staphylococcus aureus*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Dengan kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

3.4.6 Analisa Data

Senyawa hasil isolasi yang diperoleh dilakukan karakterisasi sebagai berikut

1. Pemeriksaan organoleptis

Dilakukan dengan mengamati secara visual bentuk dan warna senyawa hasil isolasi

2. Pemeriksaan Jarak Leleh

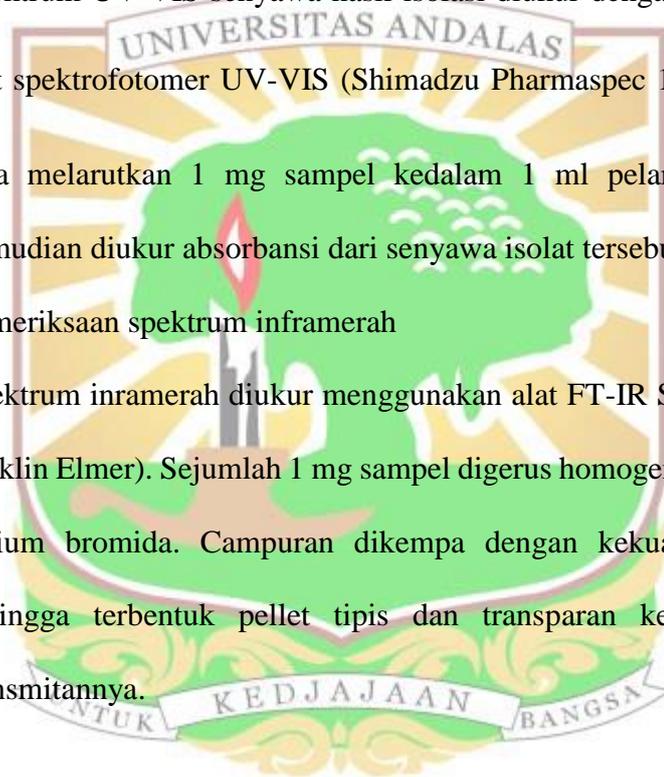
Pemeriksaan jarak leleh dari senyawa yang didapat menggunakan *Melting Point Apparatus (Fischer-Johns)*

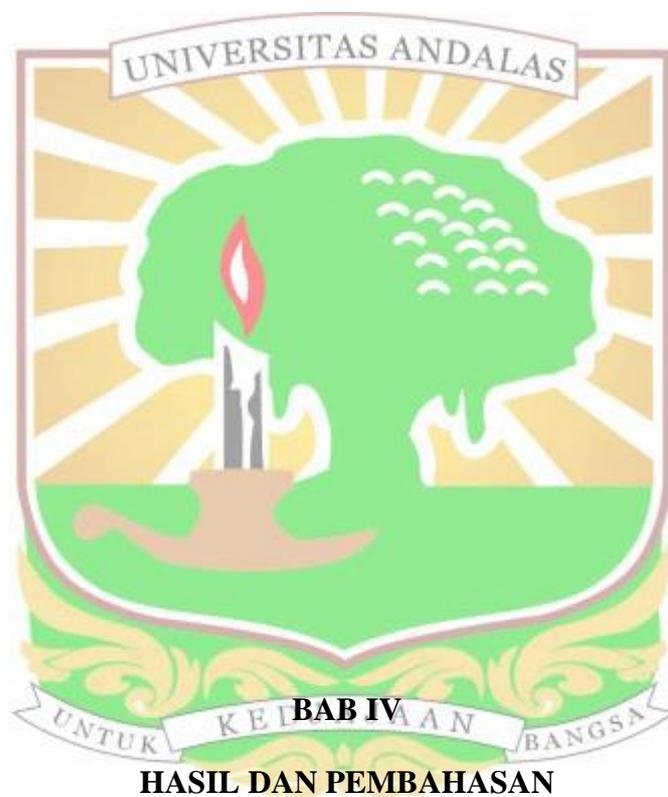
3. Pemeriksaan Spektrum UV-VIS

Spektrum UV VIS senyawa hasil isolasi diukur dengan menggunakan alat spektrofotomer UV-VIS (Shimadzu Pharmaspec 1700[®]). Dengan cara melarutkan 1 mg sampel kedalam 1 ml pelarut yang sesuai kemudian diukur absorbansi dari senyawa isolat tersebut.

4. Pemeriksaan spektrum inframerah

Spektrum inframerah diukur menggunakan alat FT-IR Spectrum ONE (Perklin Elmer). Sejumlah 1 mg sampel digerus homogen dengan 100mg kalium bromida. Campuran dikempa dengan kekuatan 10ton/cm³, sehingga terbentuk pellet tipis dan transparan kemudian diukur transmisinya.





HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Identifikasi Lichen

Tumbuhan lichen *Cladonia rappii* diidentifikasi di Herbarium ANDA Universitas Andalas. Hasil identifikasi tertera pada lampiran 3.

4.1.2 Rendemen Ekstrak

Sebanyak 500 gram Lichen *Cladonia rappii* diekstraksi dengan 4 jenis pelarut dengan kepolaran berbeda yaitu Heksana, Etil Asetat, Aseton dan Metanol.

Tabel IV : Rendemen Ekstrak

Ekstrak Kental	Berat Yang diperoleh (gram)	Rendemen
Heksana	0,6864	0,13 %
Etil Asetat	2,7212	0,54 %
Aseton	3,9338	0,78 %
Metanol	15,8198	3,16 %

4.1.3 Pengujian Antibakteri Ekstrak Lichen *Cladonia rappii*

Tabel V . Hasil uji antibakteri ekstrak kental dan pembanding

Keterangan :

Satu cakram =10 μ L

K(+) = kontrol positif (kloramfenikol 30 μ g/cakram)

K(-) = kontrol negatif (DMSO)

Bakteri	Konsentrasi 2 mg/cakram								K (+)	K (-)
	Ekstrak n-heksan		Ekstrak Etil Asetat		Ekstrak Aseton		Ekstrak Metanol			
Diameter daerah hambat (mm)										
	5%	10%	5%	10%	5%	10%	5%	10%		
<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	-	-	10,05	-	27	-
<i>S.thyposa</i>	10,05	-	10,05	-	10,05	-	-	-	28	-
<i>E.coli</i>	10,05	12,05	9,05	16,05	11,05		12,05	21,05	27	-
<i>P.augenosa</i>	7,05	19,05	-	-	-	-	-	-	28	-

4.1.4 Senyawa Hasil Isolasi

Pada penelitian ini diperoleh 2 senyawa. Senyawa hasil isolasi 1 diperoleh dari ekstrak aseton setelah dilakukan kromatografi kolom flash sistem SGP (*Step Gradient Polarity*) pada fraksi 7:3 (Heksan : Etil Asetat). Isolat diberi kode FA1 . Didapat data spektrum ultraviolet dan spektrum inframerah. (Lampiran 4).

Senyawa hasil isolasi 2 diperoleh dari ekstrak Metanol setelah dilakukan kromatografi kolom flash sistem SGP (*Step Gradient Polarity*) pada fraksi 7:3 (Heksan : Etil Asetat). Isolat diberi kode FM1 . Didapat data spektrum ultraviolet dan spektrum inframerah (Lampiran 4).

4.1.5 Pengujian Antibakteri Senyawa Hasil Isolasi

Tabel VI. Hasil uji antibakteri senyawa hasil isolasi dan perbandingan

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/cakram}$)					K (+)	K (-)
	20	10	5	2,5	1,25		
Diameter Daerah Hambat (mm)							
Senyawa FA1							
<i>S.aureus</i>	11,38 \pm 2,30	-	-	-	-	28	-
<i>S.thyposa</i>	10,05 \pm 1,41	-	-	-	-	29	-

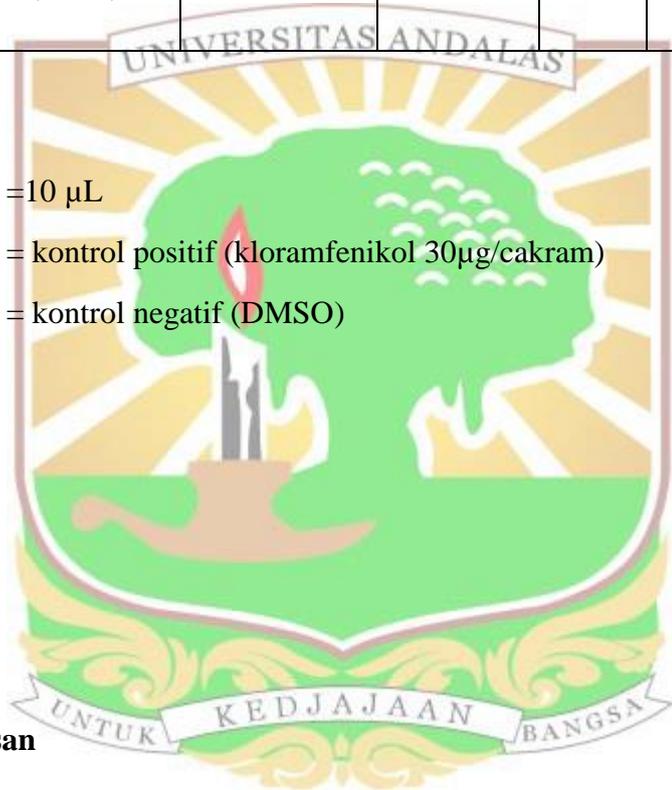
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	28	-
<i>P.aeruginosa</i>	18±7,07	-	-	-	-	29	-
Senyawa FM1							
<i>S.aureus</i>	15,02±3,98	10,52±0,67	-	-	-	28	-
<i>S.thyposa</i>	11,38±1,52	-	-	-	-	29	-
<i>E.coli</i>	9,05±4,35	-	-	-	-	26	-
<i>P.aeruginosa</i>	10,05±0,70	-	-	-	-	27	-

Keterangan :

Satu cakram = 10 µL

K(+) = kontrol positif (kloramfenikol 30µg/cakram)

K(-) = kontrol negatif (DMSO)



4.2 Pembahasan

4.2.1 Proses Isolasi Senyawa Aktif

Lichen mengandung banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan melalui proses simbiosis organisme antara fungi dan alga atau sianobakteria. Tumbuhan lichen *Cladonia rappii* yang digunakan pada penelitian ini berjumlah 500 gr yang diambil dikawasan wisata danau atas dan danau bawah kabupaten

Solok . Tahap pertama dilakukan proses sortasi untuk memisahkan bagian talus, bagian tanah tempat tumbuh dari lichen tersebut serta pengotor lainnya. Bagian talus yang dipilih karena senyawa metabolit sekunder dihasilkan oleh bagian mikobion dan terakumulasi dipermukaan pada bagian hifa/talus dalam bentuk kristal. Selanjutnya dilakukan pengeringan dengan cara diletakkan di dalam ruangan yang terlindung dari cahaya dan panas yang bertujuan untuk meminimalisir rusaknya senyawa.

Sampel kering sebanyak 500 gr dihaluskan dengan cara di blender untuk memperkecil ukuran partikel tumbuhan yang bertujuan untuk memaksimalkan daya serap pelarut kedalam inti sel tumbuhan pada saat ekstraksi. Berdasarkan literatur dikatakan semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar luas permukaannya, sehingga kontak antar partikel tumbuhan dengan pelarut akan semakin besar dan proses ekstraksi pun dapat berjalan maksimal.

Setelah dilakukan penyiapan dan pembersihan sampel tahap selanjutnya adalah dilakukan proses maserasi. Metode maserasi dipilih karena proses ekstraksi dilakukan pada suhu kamar dan tanpa pemanasan sehingga sangat baik untuk ekstraksi senyawa kimia yang belum diketahui. Tidak adanya penggunaan panas selama proses ekstraksi dapat mengantisipasi rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Keuntungan lain dari metode ini adalah proses pengerjaan yang mudah serta peralatan yang dibutuhkan juga sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut selama sembilan hari, dimana tiap hari selama perendaman sampel sesekali diaduk sehingga membantu percepatan difusi zat dari sampel kedalam pelarut. Disamping itu, pengadukan ini

bertujuan untuk mengurangi kejenuhan pelarut terhadap sampel, proses ini diulangi sebanyak 3 kali.

Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi adalah heksana, etil asetat, aseton dan metanol. Metode ekstraksi bertingkat dipilih karena untuk menghindari senyawa-senyawa yang dapat rusak yang terkandung dalam lichen secara umum yaitu golongan depsid (atranorin) jika diekstraksi langsung dengan pelarut metanol. Kemudian ekstrak yang diperoleh pada masing-masing pelarut yang digunakan dilakukan proses penguapan secara *in vacuo* dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental, selanjutnya ekstrak kental ditimbang dan dihitung rendemen yang diperoleh pada masing-masing pelarut.

Dalam pemilihan sampel penelitian untuk isolasi senyawa aktif terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan aktivitas antibakteri ke empat ekstrak kental yang diperoleh dimana bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*. Metode uji antibakteri yang digunakan adalah metode difusi agar. Berdasarkan hasil uji antibakteri yang diukur adalah diameter hambat dari ekstrak. Diameter hambat terbesar diperoleh pada ekstrak aseton sebesar 2,563 cm yang memiliki nilai diameter hambat yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kloramfenikol yang digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian ini, diameter hambat kloramfenikol sebesar 2,386 cm. Setelah aseton, diameter hambat terbesar selanjutnya diikuti oleh ekstrak metanol sebesar 1,302 cm, kemudian ekstrak heksana sebesar 0,996 cm dan nilai diameter hambat terkecil ada pada ekstrak etil asetat dengan nilai 0,946 cm. Berdasarkan data inilah maka ekstrak aseton dilanjutkan ke tahap isolasi senyawa aktif dari lichen *Cladonia rappii*.

Ekstrak aseton yang diperoleh sebanyak 3 gr dilakukan kromatografi kolom cair vakum dan 0,9 g sisanya disimpan untuk pengujian selanjutnya. Sistem kromatografi yang digunakan adalah SGP (*Step Gradient Polarity*) dimana dimulai dengan pelarut non polar yaitu heksana, kemudian dilanjutkan dengan etil asetat dan yang terakhir menggunakan pelarut polar metanol dengan perbandingan masing-masing. Proses pemisahan pada kolom dihentikan pada saat telah terjadi perubahan warna pada fraksi yang diperoleh. Masing-masing fraksi non polar, semi polar dan polar yang telah diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator. Dari hasil penguapan diperoleh beberapa fraksi yaitu fraksi heksan 100%, 9:1 (Heksan:Etil), 7:3 (Heksan : Etil), 6:4 (Heksan : Etil) , 5:5 (Heksan : Etil), 4:6 (Heksan : Etil), Etil 100% , 1:1 (Etil : Metanol) serta fraksi terakhir adalah Metanol 100%. Selanjutnya masing-masing fraksi dimonitor dengan KLT dan diberi penampak noda anisaldehyd. Anisaldehyd merupakan penampak noda untuk golongan-golongan senyawa terpenoid, karbohidrat, fenolik serta steroid. Berdasarkan pola KLT (Kromatografi Lapis Tipis) maka ada beberapa fraksi yang digabung dikarenakan memiliki pola KLT yang sama dan berdasarkan jumlah nodanya maka fraksi 7:3 (Heksan : Etil Asetat) dilanjutkan proses pemisahan tahap berikutnya, karena pada fraksi inilah ditemukan jumlah noda yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan fraksi yang lainnya. Tahapan selanjutnya fraksi 7:3 dilakukan proses rekristalisasi dengan menggunakan pelarut etil asetat dan diuapkan, setelah 24 jam kemudian terbentuk kristal. Kristal yang diperoleh pada fraksi 7:3 (heksan : etil asetat) selanjutnya dilihat organoleptisnya mulai dari bentuk kristal, warna,

dan bau. Kemudian dilanjutkan proses penentuan sifat fisikokimia yaitu penentuan jarak leleh kristal.

Setelah didapatkan isolat pada fraksi 7:3 (Heksan : Etil Asetat) pekerjaan dilanjutkan pada fraksi berikutnya, namun karena terkendala jumlah fraksi yang diperoleh sangat sedikit dan tidak memungkinkan untuk dilakukan pemurnian lebih lanjut, maka proses isolasi dilanjutkan pada ekstrak metanol. Ekstrak metanol berjumlah 15,8198 gr, sebanyak 5 gr ekstrak kemudian dilakukan proses pemisahan dengan metode kromatografi kolom flash sistem SGP (*Step Gradient Polarity*) dan sisanya disimpan untuk pengujian selanjutnya. Sistem ini menggunakan pelarut heksan, etil asetat dan metanol dengan perbandingan masing-masing. Proses pemisahan dihentikan ketika fraksi yang ditampung telah menunjukkan warna yang berbeda. Dari proses ini diperoleh beberapa fraksi yaitu fraksi heksan 100%, 9:1 (heksan : etil asetat), 7:3 (heksan : etil asetat), 6:4 (heksan : etil), 5:5 (heksan : etil asetat), 4:6 (heksan : etil asetat), etil asetat 100%, 1:1 (etil asetat : metanol), dan fraksi terakhir adalah metanol 100%. Fraksi ini kemudian dimonitor dengan menggunakan KLT menggunakan eluen toluen : etil asetat : asam format (70 : 25 : 5). Dari hasil KLT yang diperoleh beberapa fraksi yang memiliki bentuk noda yang sama digabung.

Tahapan selanjutnya yang dilakukan adalah proses rekristalisasi. Rekristalisasi merupakan suatu proses pemurnian senyawa organik dengan memanfaatkan kejenuhan pelarut atau menggunakan dua pelarut yang berbeda namun dapat saling bercampur.

a. Senyawa FA1

Dari hasil kromatografi kolom fraksi 7:3 (Heksana : Etil Asetat) dilakukan proses rekristalisasi dengan cara melarutkan fraksi yang diperoleh dengan etil asetat secukupnya sampai terlarut seluruhnya dan dibiarkan menguap selama 24 jam, pada proses ini diperoleh kristal berbentuk jarum, berwarna putih , dengan jarak leleh 189,4 – 191,2. Data spektrum ultraviolet kristal ini memiliki panjang gelombang maksimal (λ max) 323 nm yang menunjukkan senyawa memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Berdasarkan hasil analisis spektrofotometer IR senyawa ini memiliki bilangan gelombang 2926,71 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus aromatik 2116,72 cm^{-1} dan 1909,13 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus karbonil (Silverstein, 2005). Senyawa ini juga telah dibandingkan dengan senyawa pembanding yang ada, yakni dengan penotolan pada plat KLT dan pemberian penampak noda anisaldehyd. Hasilnya senyawa ini menunjukkan noda pada plat KLT berwarna orange tua dan memiliki nilai R_f yang identik dengan atranorin.

b. Senyawa FMI

Dari hasil kromatografi kolom fraksi 7:3 (Heksana: Etil Asetat) ekstrak metanol dilakukan proses rekristalisasi dengan cara melarutkan fraksi yang diperoleh dengan etil asetat secukupnya sampai terlarut seluruhnya dan dibiarkan menguap selama 24 jam, pada proses ini diperoleh kristal berbentuk jarum, berwarna kuning, dengan jarak leleh 191,1-192. Data spektrum Ultraviolet kristal ini memiliki panjang gelombang maksimal

(λ max) 324 nm yang menunjukkan senyawa memiliki ikatan rangkap terkonjugasi. Data spektrum inframerah menunjukkan pita serapan pada bilangan gelombang 3357 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi hidroksil 2138 cm^{-1} menunjukkan regangan pada C rangkap 3, 2860 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan pada C-H. Walaupun senyawa ini memiliki Rf yang identik dengan senyawa atranorin sebagai pembanding namun ia memberikan spektrum spektroskopi inframerah yang berbeda dengan senyawa atranorin sehingga senyawa FM1 masih memerlukan identifikasi lebih lanjut.

4.2.2 Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Senyawa Hasil Isolasi

Setelah didapatkan senyawa isolat yang diperoleh dari ekstrak dan fraksi yang berbeda maka tahapan selanjutnya dilakukan uji bioaktivitas senyawa isolat. Uji aktivitas yang dilakukan adalah uji aktivitas antibakteri baik untuk ekstrak kental masing-masing pelarut maupun senyawa murni hasil isolasi yang telah didapatkan. Metode pengujian aktivitas antibakteri yang dipilih adalah metode difusi agar. Metode ini dipilih karena lebih sensitif terhadap senyawa-senyawa antibakteri baru yang belum diketahui aktivitasnya. Pada metode ini penghambatan pertumbuhan ditunjukkan oleh luasnya wilayah jernih (zona hambat) disekitar kertas cakram (Brander, *et al.*, 1999).

Pada pengujian antibakteri, konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 2 mg dilarutkan dalam 1 ml DMSO sedangkan isolat dibuat menjadi beberapa konsentrasi yaitu ditimbang seksama 2 mg senyawa hasil isolasi kemudian

dilarutkan dalam 1 ml DMSO sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk 0,2%, kemudian diencerkan menjadi 0,1% ; 0,05% ; 0,025% ; dan 0,0125%. DMSO digunakan sebagai pelarut karena merupakan pelarut yang aprotik sehingga dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar, serta DMSO juga tidak memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan mikroba (Pratiwi, 2008), sehingga juga digunakan sebagai kontrol negatif pada pengujian. Kontrol positif yang digunakan pada pengujian yaitu kloramfenikol. Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan yang bertujuan untuk memperkecil kesalahan serta ketepatan pengukuran diameter hambat dengan melihat nilai standar deviasi yang diperoleh. Bakteri uji yang digunakan adalah *Escheria coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thyposa*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *MRSA (Metisilin Resistant Staphylococcus aureus)*.

1. Ekstrak Heksan

Hasil uji antibakteri ekstrak n-heksan menunjukkan aktivitas yang cukup signifikan menghambat pertumbuhan bakteri uji. Pada konsentrasi 5 dan 10% yang digunakan menunjukkan daya hambat yang cukup besar (Lampiran 4) dengan masing-masing diameter hambat yang signifikan (Tabel 6). Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak n-heksan cenderung lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dibandingkan dengan bakteri gram positif karena pada hasil yang diperoleh terlihat bahwa ekstrak heksan tidak memberikan diameter hambat pada bakteri uji *S.aureus* yang merupakan bakteri gram positif.

2. Ekstrak Etil Asetat

Pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat terlihat bahwa ekstrak ini hanya memberikan diameter hambat pada bakteri gram negatif dengan nilai diameter yang cukup signifikan (Tabel 5). Berdasarkan data hasil diameter hambat ekstrak etil asetat memiliki tingkat sensitifitas yang sedang terhadap bakteri *E.coli* dan *S.thyposa* pada konsentrasi 5%.

3. Ekstrak Aseton

Pada pengujian aktivitas antibakteri, ekstrak aseton hanya aktif terhadap 2 bakteri uji yaitu bakteri *S.thyposa* dan *E.coli* hanya pada konsentrasi 5% (Tabel 5). Hasil diameter hambat yang diperoleh dikategorikan memiliki sensitifitas yang sedang.

4. Ekstrak Metanol

Pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak metanol mempunyai diameter hambat yang cukup signifikan jika dibandingkan dengan ekstrak yang lain (Tabel 5). Ekstrak metanol mempunyai daya hambat baik untuk bakteri gram positif maupun gram negatif, diameter hambat terbesar terdapat pada bakteri uji *E.coli* dengan kategori sensitifitas tinggi.

5. Senyawa hasil isolasi FA1

Senyawa isolat FA1 diujikan pada 4 bakteri uji yang sama dengan ekstrak. Hasil yang didapatkan pada pengujian ini senyawa FA1 tidak memberikan diameter hambat terhadap bakteri *E.coli*. Diameter hambat terbesar senyawa ini terdapat pada bakteri uji *P.aureginosa* dengan nilai

diameter hambat $18 \pm 7,07$ dan dikatakan memiliki sensitifitas tinggi terhadap bakteri ini. Konsentrasi yang memberikan diameter hambat ini adalah 0,2%. Berdasarkan data yang diperoleh dapat dikatakan senyawa ini aktif terhadap bakteri gram negatif dibandingkan dengan bakteri gram positif.

6. Senyawa hasil isolasi FM1

Senyawa FM1 menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih baik jika dibandingkan dengan senyawa FA1 karena dapat dikategorikan lebih sensitif terhadap bakteri uji yang digunakan dan memberikan diameter hambat terhadap semua bakteri yang diujikan. Hasil diameter hambat terbesar isolat ini terdapat pada bakteri uji *S.aureus* dengan nilai $15,02 \pm 3,98$. Konsentrasi yang memberikan diameter hambat ini adalah 0,2%. Berdasarkan data inilah maka senyawa FM1 dikategorikan memiliki sensitifitas tinggi terhadap *S.aureus* dan kategori sensitifitas sedang untuk bakteri uji yang lain.

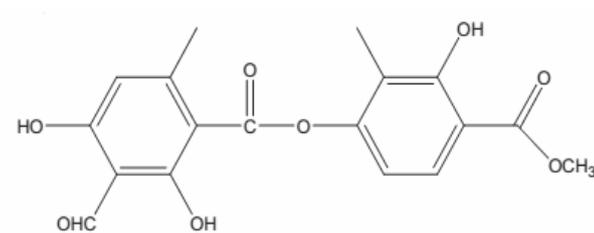
Aktivitas antibakteri dikategorikan tingkat sensitifitas tinggi apabila diameter zona hambat mencapai >12 mm, kategori tingkat sensitifitas sedang diberikan apabila senyawa antibakteri mampu memberikan diameter zona hambat sekitar 9-12 mm, kategori tingkat sensitifitas rendah apabila diameter berkisar antara 6-9 mm dan resisten apabila <6 mm (tidak memiliki zona hambat).

Berdasarkan literatur diatas maka dapat dikatakan bahwa ekstrak kental *C.rappii* dan isolat yang diperoleh memiliki sensitivitas yang bervariasi mulai dari rendah dan sedang. Aktivitas antibakteri pada ekstrak berbeda untuk tiap bakteri

yang diujikan ada yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif saja namun tidak memberikan daya hambat terhadap bakteri gram positif.

Salah satu penyebab adanya perbedaan hasil antara bakteri gram positif dan negatif adalah perbedaan komponen penyusun sel bakteri tersebut. *S.thyposa* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang berlapis-lapis dan sangat kompleks (Jawetz *et al.*, 1986). Kekompleksan struktur dinding sel bakteri gram negatif merupakan rintangan yang besar bagi agen antimikroba untuk menembusnya. Namun berdasarkan hasil yang diperoleh senyawa FA1 merupakan agen antimikroba yang dapat dijadikan salah satu alternatif dalam mengatasi permasalahan tersebut.

Berdasarkan hasil yang diperoleh diduga senyawa yang aktif yang terkandung dalam lichen *Cladonia rappii* ini adalah golongan depsid yaitu atranorin. Atranorin diketahui memiliki aktivitas antimikroba berdasarkan penelitian Kosanic pada konsentrasi 4 - 0,00181 mg/ml, atranorin memberikan efek antimikroba yang kuat baik untuk bakteri dan jamur. Penelitian lain menyatakan atranorin memiliki efek antimikroba dalam rentang yang sedang yaitu pada konsentrasi 0,25 – 512 µg/ml tetapi hanya aktif pada bakteri *S.aureus* (Marante *et al.*,2012) . Spesies lain dari lichen yang diketahui memiliki senyawa atranorin adalah *C.kalbi* , *C.furcata*, *Lethariella canariensis* , *Hypotrachyna revoluta* , dan *Usnea articulata*. Berdasarkan data penelitian sebelumnya dan hasil yang diperoleh pada penelitian ini maka dapat dikatakan senyawa atranorin merupakan kandidat obat antibakteri yang cukup baik untuk dikembangkan kedepannya.



Gambar 3 : Struktur Senyawa Atranorin

Gambar 3 : Struktur Kimia Atranorin



5.1 Kesimpulan

1. Senyawa FA1 sebanyak 9,6 mg (0,0024%) dan Senyawa FM1 sebanyak 11,1 mg (0,0701%). Berdasarkan uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dan studi literatur diduga senyawa ini adalah golongan depsid atranorin.

2. Pengujian antibakteri diketahui bahwa senyawa FA1 dan FM1 aktif menghambat pertumbuhan bakteri uji dan dikategorikan memiliki sensitifitas yang sedang

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan elusidasi struktur dari senyawa hasil isolasi yang diperoleh dan untuk melanjutkan isolasi senyawa minor ekstrak aseton, kemudian metanol serta pengujian aktivitasnya masing-masing.



Agoes G. Teknologi Bahan Alam. Bandung: ITB Press. 2007

Ahmadjian V. The Lichens. New York & London : Academic Press. 1993

Backorova M, Jendzelovsky R, Kello M, Lichen Secondary Metabolites are Responsible For Induction Apoptosis In HT-29 dan A2780 Human Cancer Cell Line. Toxicol In Vitro 2012; 26:462-468.

Brander GC, Pugh RJ, Bywater WL. Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics. 5th ed : Bailliere Tindall ELBS. 436,467-473. 1991

- Branislav RR, Marijana MK, Tatjana PS. Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer activity of the lichens *Cladonia furcata*, *Lecanora atra* and *Lecanora muralis*. *Complementary and Alternative Medicine* 11:97. 2011
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, 21st ed, : Prentice Hall International Inc, 145 –176. 1998
- Candan M, Yilmaz M, Tay T, Erdem M, Türk AÖ. Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen *Parmelia sulcata* and Its Salazinic Acid Constituent. *Z. Naturforsch. C.* 2007; 62(7/8): 619-621.
- Control and Prevention (CDC). <https://www.cdc.gov/drugresistance/index.html> diakses 16 Januari 2017. 2013
- Chen, I-N, C-C. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Zingiberaceae Plants in Taiwan. *Plant Food Hum.Nutr.* 2008; 63. 15-20.
- Crawford S. Ethnolichenology of *Bryoria fremontii* : wisdom of elders, population ecology, and nutritional chemistry. M.Sc. thesis University of Victoria Canada. 2007.
- Dachriyanus. Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi. Padang: Andalas University Press. 2004.
- Darmadi. Infeksi Nosokomia I: Problematika Dan Pengendaliannya. Jakarta: Penerbit Salemba Medika. 2008
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000
- Dévéhat FL, Tomasi S, Elix JA, Bernard A, Rouaud I, Uriac P, Boustie J. Stictic Acid Derivatives from the Lichen *Usnea articulata* and Their Antioxidant Activities. *J. Nat. Prod.* 2007; 70(7): 1218-1220.
- Dobson FS. Lichens An Illustrated The Guide to British and Irish Species. Singapore: Stamford Press. 1992
- Esimone CO, Ofokansi KC, Adikwu MU, Ibezim EC, Abonyi DO, Odaibo GN, Olaleye DO. In Vitro Evaluation of the Antiviral Activity of Extracts from the Lichen *Parmelia perlata* (L.) Ach. Againsts Three RNA viruses. *J. Infect. Dev. Count.* 2007; 1(3): 315-320.
- Esimone CO, Grunwald T, Nworu CS, Kuate S, Proksch P, Uberla K. Broad Spectrum Antiviral Fractions from the Lichen *Ramalina farinacea*(L.) Ach. *Chemotherapy.* 2009; 55(2): 119-126.

- Franklin TJ, Snow GA. Biochemistry and Molecular Biology of Antimicrobial Drug Action, 6th Edition, England : Spinger Science and Business Media, Inc. 2005
- Frengki. Isolasi, Elusidasi Struktur Dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Tanaman *Calophyllum Macrophyllum* Scheff : (Tesis) Program Studi Magister Ilmu Kefarmasian Depok : Universitas Indonesia. 2010
- Galun M, Shomer IA. Secondary Metabolic Products. In Galun M (ed) CRC Handbook of Lichenology Vol III. CRC : Boca Raton. 1988.
- GBIF. <http://www.gbif.org/species/339068/> diakses 17 Januari 2017. 2017
- Gülçin I, Oktay M, Küfrevioğlu OI, Aslan A. Determination of Antioxidant Activity of Lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. J. Ethnopharmacol. 2002; 79(3): 325-329.
- Gupta VK, Darokar MP, Saikia D, Fatima APA, Khanuja SPS. Antimycobacterial Activity of Lichens. Pharm.Biol. 2007; 45(3): 200-204.
- Harmita. Buku Ajar Analisis Fisikokimia. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 205-211. 2006
- Hesse M, Meier H, Zeeh B. Spektroskopische Methoden in der Organischen Chemie, 4.ü bearbeitete Auflage. New York: Georg Thieme Verlag Stuttgart. 1991
- Huneck S. The significance of lichens and their metabolites. Naturwissenschaften. 1999; 86: 559-570.
- Huneck S, Yoshimura I. Identification of lichen substances. Verlag Berlin Heidelberg New York : Springer. 1996
- Ingólfssdóttir K. Usnic Acid (a Literature Review). Phytochemistry. 2002; 61: 729-736
- Ingólfssdóttir K, Gudmundsdóttir GF, Ogmundsdóttir HM, Paulus K, Haraldsdóttir S, Kristinsson H, Bauer R. Effects of Tenuiorin and Methyl Orsellinate from the Lichen *Peltigera leucophlebia* on 5-/15-lipoxygenases and Proliferation of Malignant Cell Lines In Vitro. Phytomedicine. 2002; 9(7): 654-658.
- Ingólfssdóttir K, Lee SK, Bhat KPL, Lee K, Chai HB, Kristinsson H, Song LL, Gills J, Gudmundsdóttir JTh, Greenwood EM, Jang MS, Pezzuto JM. Evaluation of Selected Lichens from Iceland for Cancer Chemopreventive and Cytotoxic Activity. Pharm. Biol. 2000; 38(4): 313-317.

- Jayapraksha GK, Rao LJ. Phenolic Constituents from the Lichen Parmotrema stippeum (Nyl.) Hale and Their Antioxidant Activity. *Z. Naturforsch. C.* 2000; 55(11/12): 1018-1022.
- Kristmundsdóttir T, Aradóttir RAE, Ingólfssdóttir K, Ogmundsdóttir RM. Solubilization of the Lichen Metabolite (+)-Usnic Acid for Testing in Tissue Culture. *J. Pharm. Pharmacol.* 2002; 54(11): 1447-1452.
- Kinoshita K, Togawa T, Hiraishi A, Nakajima Y, Koyama K, Narui T, Wang L, Takahashi K. Antioxidant Activity of Red Pigments from the Lichens *Lethariella sernanderi*, *L. cashmeriana*, and *L. sinensis*. *J. Nat. Med.* 2010; 64(1): 85-88.
- Luo H, Yamamoto Y, Kim JA, Jung JS, Koh YJ, Hur JS. Lecanoric Acid, a Secondary Lichen Substance with Anti-oxidant Properties from Umbilicaria antarctica in Maritime Antarctica (King George Island). *Polar. Biol.* 2009; 32(7): 1033-104.
- Manojlovic NT, Vasiljevic P, Juskovic M, Najman S, Jankovic S, Andjelkovic AM. HPLC Analysis and Cytotoxic Potential of Extracts from the Lichen *Thamnolia vermicularis* var *subuliformis*. *J. Med. Plant. Res.* 2010; 4(9): 817-823.
- Muggia L, Schmitt I, Grube M. Lichen as Treasure Chest Of Natural products. *SIM News.* 2009
- Muller K. Pharmaceutically relevant metabolite from lichen. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 2011; 56: 9-16.
- Muslim ME, dkk. Laporan Akhir Penelitian Program Kreativitas Mahasiswa: Pembuatan Sediaan Krim dari *Cladonia rappii* sebagai Anti MRSA untuk Pengobatan Ulkus Diabetikum serta Pengujian *in vivo* pada Mencit. 2016
- Nash TH. *Lichen Biology.* Cambridge : Cambridge University Press. 1996
- Nash TH. *Lichen Biology 2nd edn.* Cambridge :Cambridge University Press. 2008
- Negi HR. Lichens: A Valuable Bioresource for Enviromental Monitoring and Sustainable Development. *General article: Resonance.* 2003
- Okuyama E, Umeyama K, Yamazaki M, Kinoshita Y, Yamamoto Y. Usnic Acid and Diffractic Acid as Analgesic and Antipyretic Components of *Usnea diffracta*. *Plant. Med.* 1995; 61(2): 113-115.

- Pratiwi ST. Mikrobiologi Farmasi. Yogyakarta: Penerbit Erlangga. Halaman 176. 2008
- Radji M. Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran, 107, 118, 201-207, 295. Jakarta : Buku Kedokteran EGC. 2011
- Ranković B, Misić M, Sukdolak S. Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichens *Cladonia furcata*, *Parmelia caperata*, *Parmelia pertusa*, *Hypogymnia physodes* and *Umbilicaria polyphylla*. Br. J. Biomed. Sci. 2007; 64(4): 143-148.
- Ranković, B (Editor) . Lichen Secondary Metabolite Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential. Serbia : Springer. 2015
- Russo A, Piovano M, Lombardo L, Garbarino JV, Cardile. Lichen Metabolites Prevent UV Light and Nitric Oxide Mediated Plasmid DNA Damage and Induce Apoptosis in Human Melanoma Cells. Life. Sci. 2008; 83(13-14): 468-474.
- Sarker SD, Latif Z, Gray AI. Natural products isolation. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. Natural Products Isolation. 2nd ed. Totowa (New Jersey). Humana Press Inc. hal. 6-10, 18. 2006
- Seidel V. Initial and bulk extraction. In: Sarker SD, Latif Z, & Gray AI, editors. Natural Products Isolation. 2nd ed. Totowa (New Jersey) : Humana Press Inc. hal. 31-5. 2006.
- Setiabudy R. Farmakologi dan Terapi Jakarta : Balai Penerbit FK UI. 2009
- Solhaug KA, Lind M, Nybakken L. Possible Functional roles Of Corticol depsides and Medullary depsidones in the Foliose *Hypogymnia physodes*. Flora. 2009
- Stocker–Worgotter E. Metabolic Diversity Of Lichen-Forming Ascomycetous Fungi : Culturing Polyketide and Shikimate Metabolite Production and PKS genes. Nat Prod Rep. 2008; 25:188-200.
- Sudigdoadi S. Mekanisme Timbulnya Resistensi Antibiotik Pada Infeksi Bakteri : Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran
- Suleyman H, Odabasoglu F, Aslan A, Cakir A, Karagoz Y, Gocer F, Halici M, Bayir Y. Anti-inflammatory and Antiulcerogenic Effects of the Aqueous Extract of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. Phytomedicine. 2003; 10(6-7): 552-557.

- Stahl E. Apparatus and general techniques in TLC. Dalam : Stahl, E. (ed). Thin layer chromatography a laboratory handbook. Terj. dari Dunnschicht chromatographie, oleh Ashworth, M.R.F. Berlin: Springer-Verlag, 61-77. 1969
- Tanas S, Odabasoglu F, Halici Z, Cakir A, Aygun H, Aslan A, Suleyman H. Evaluation of Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of *Peltigera rufescens* Lichen Species in Acute and Chronic Inflammation Models. *J. Nat. Med.* 2010; 64(1): 42-49.
- Touchstone JC, Dobbins MF. Practice of thin layer chromatography. Canada: John Wiley & Sons, 2-12. 1983
- Turk AÖ, Yilmaz, Kivanc M, Turk H. The Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen *Cetraria aculeata* and Its Protolichesterinic Acid Constituent. *Z. Naturforsch. C.* 2003; 58(11/12): 850-854.
- Tokiwano T, Satoh H, Obara T, Hirota H, Yoshizawa Y, Yamamoto Y. A Lichen Substance as an Antiproliferative Compound Against HL-60 Human Leukemia Cells: 16-OAcetyl-leucotylic Acid Isolated from *Myelochroa aurulenta* (Note). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2009; 73(11): 2525-2527.
- Vijayakumar CS, Viswanathan S, Reddy MK, Parvathavarthini S, Kundu SB, Sukumar E. Anti-inflammatory Activity of (+) Usnic Acid. *Fitoterapia.* 2000; 71(5): 564-566.
- Waksmundzka-Hajnos, Sherma MJ, Kowalska T. Overview of the field of TLC in phytochemistry and the structure of the book. Dalam: Waksmundzka-Hajnos, M., J. Sherma & T. Kowalska (eds). 2008. Thin layer chromatography in phytochemistry. Boca Raton: CRC, 1-6. 2008
- WHO. Top 10 Causes of Death. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/ diakses 16 Januari 2017, 2011



Lampiran 1. Foto-foto penelitian