

**KAJIAN ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR MOLEKUL
SENYAWA KIMIA DARI TALUS LICHEN *Usnea dasypoga*
(Ach.) Nyl. DAN *Peltigera polydactyla* (Neck.) Hoffm.
SERTA PENENTUAN UJI BIOAKTIVITASNYA**

DISERTASI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Doktor Sains

O l e h:

SRI WINIATI

8302180067



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM DOKTOR ILMU KIMIA
DEPOK
2008**

LEMBAR PERSETUJUAN

**Judul: KAJIAN ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR MOLEKUL
SENYAWA KIMIA DARI TALUS LICHEN *Usnea dasypoga*
(Ach.) Nyl. DAN *Peltigera polydactyla* (Neck.) Hoffm. SERTA
PENENTUAN UJI BIOAKTIVITASNYA**

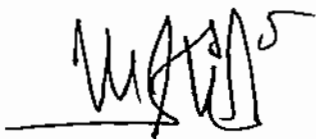
NAMA: SRI WINIATI

NPM : 8302180067

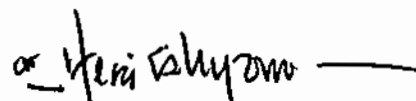
MENYETUJUI



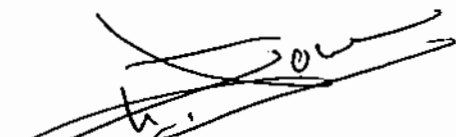
Prof. Dr. Wahyudi Priyono Suwarso
Promotor



Dr. Muhammad Hanafi
Ko-promotor



Dr. Herry Cahyana
Ko-promotor



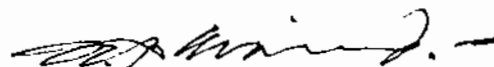
Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc.
Penguji



Prof. Dr. Sumi Hudiono
Penguji



Dr. Emil Budianto
Penguji



Dr. Riskiono Slamet, M Sc
Penguji



**Ketua Program Studi Ilmu Kimia
PPS - FMIPA - UI**


Dr. Jannuzi Gunlazuardi

**Ketua Program Pasca Sarjana
Dekan FMIPA - UI**


Dr. Adi Basukriadi, M. Sc.

ABSTRAK

KAJIAN ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR MOLEKUL SENYAWA KIMIA DARI TALUS LICHEN *Usnea dasypoga* (Ach.) Nyl. dan *Peltigera polydactyla* (Neck.) Hoffm. SERTA PENENTUAN UJI BIOAKTIVITASNYA.

Talus Lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. diambil dari pegunungan Malino, kecamatan Tinggi Moncong, kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan, dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. dikumpulkan dari Gunung Halimun, Jawa barat. Mula-mula kedua talus dikeringkan, dihaluskan dan dimaserasi dalam pelarut aseton. Ekstrak hasil maserasi, dari masing-masing talus, mula-mula dipisahkan melalui kromatografi kolom cepat menggunakan eluen *n*-heksana dan etil asetat, secara gradien. Dari hasil kolom kromatografi cepat, diperoleh fraksi-fraksi, beberapa fraksi yang sama digabungkan. Kemudian dilakukan kolom kromatografi gravitasi secara berulang kali, direkristalisasi, sampai diperoleh senyawa murni, ditentukan struktur molekulnya dengan menggunakan data sifat fisika, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer infra merah (IR), spektrometer resonansi magnetik inti proton dan karbon (^1H dan ^{13}C -NMR), mencakup HMQC (^1H - ^{13}C), HMBC (^1H - ^{13}C) serta spektrometer massa (MS). Dari pemisahan melalui kolom kromatografi cepat terhadap ekstrak *U. dasypoga* (Ach.) Nyl., diperoleh tiga senyawa, yaitu: kristal berwarna kuning, berbentuk jarum dengan titik leleh 202 – 205 °C adalah: (-)-asam usnat (senyawa A). Kemudian eluen dari kolom kromatografi gravitasi diganti dengan *n*-heksana : etil asetat = 4 : 1, diperoleh kristal warna kuning tua, dengan titik leleh 248 - 251 °C, yaitu: eumitrin A₁ (senyawa B). Dari fraksi lain dilakukan kromatografi kolom gravitasi dengan eluen kloroform dan metanol, didapat serbuk putih, dengan titik leleh 229 – 232 °C, yaitu: asam-3-asetil-12-ursanen-28-oat (senyawa C). Dari pemisahan melalui kolom kromatografi cepat ekstrak *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.,

diperoleh dua senyawa, yaitu: kristal berbentuk jarum berwarna putih, dengan titik leleh 199 °C, yaitu: asetil gammaseranol (senyawa D). Rekristalisasi fraksi lainnya, diperoleh serbuk berwarna kuning muda, dengan titik leleh 212 – 215 °C, yaitu: 2,4-dihidroksi-6-metil-benzoat-metil ester (senyawa E). Senyawa asam-3-asetil-12-ursanen-28-oat (senyawa C) dan asetil gammaseranol (senyawa D), merupakan senyawa yang diusulkan sebagai senyawa baru yang diisolasi dari tumbuhan lichen. Hasil uji aktivitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) didapat untuk senyawa (-)-asam usnat, $LC_{50} = 39,62 \mu\text{g/mL}$, sangat potensial, untuk senyawa eumitrin A₁, $LC_{50} = 2,25 \mu\text{g/mL}$, aktif dan untuk senyawa asetil gammaseranol, $LC_{50} = 56,00 \mu\text{g/mL}$, tidak aktif. Hasil uji antioksidan terhadap senyawa (-) – asam usnat diperoleh harga $IC_{50} = 910 \text{ ppm}$, berarti tidak aktif. Sedangkan dari hasil bioassay sitotoksik terhadap sel Murine Leukemia P-388, diperoleh hasil untuk senyawa (-)-asam usnat, dengan $IC_{50} = 6,5 \mu\text{g/mL}$, dikategorikan kurang aktif, untuk senyawa eumitrin A₁, dengan $IC_{50} = 3,2 \mu\text{g/mL}$, dikategorikan aktif dan untuk senyawa asetil gammaseranol, dengan $IC_{50} = 62,5 \mu\text{g/mL}$, dikategorikan tidak aktif.

Kata kunci: *U. dasypoga*. (Ach.) Nyl., *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm., aseton, (-)-asam usnat, eumitrin A₁, asam-3-asetil-12-ursanen-28-oat, asetil gammaseranol, 2,4-dihidroksi-6-metil-benzoat metil ester, BSLT, antioksidan, Murine Leukemia P-388.

xvi + 161 hlm ; gbr ; bgn ; tab ; lamp.

Pustaka: 43 (1970 – 2007).

ABSTRACT

ISOLATION STUDY and STRUCTURE ELUCIDATION of CHEMICAL CONSTITUENS from THALLUS LICHEN *Usnea dasypoga* (Ach.) Nyl. and *Peltigera polydactyla* (Neck.) Hoffm. as well as ITS BIOACTIVITY TEST.

The thallus of lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl are collected from Malino mount, Tinggi Moncong region, Gowa, Province of South Sulawesi and thallus *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm., are collected from Halimun mount, West Java. First, thallus lichen are air dried, then maserationed using acetone as eluent. Resulted raw extracts, than are separated over fast coloumn chromathography using mixed eluent of *n*-heksane and ethyl acetate through gradient technique. From the TLC result of fractions, fraction with same spot, then are combined and to the combined fractions are conducted separations over gravitation coloumn chromathography. The crystal yielded from this coloumn chromathography is than measured its physical properties (colour and melting point) and structure elucidated by using spectroscophical data : UV – Vis, IR, ¹H and ¹³C – NMR, 2D – NMR (HMBC and HMQC) as well as mass spectrometer (MS). From the extract thallus of *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. can be isolated yellow needle crystal with melting point 200 ° – 205 ° C, characterized as (-)-usnic acid (compound A), dark yellow crystal, characterized as Eumitrin A₁ (compound B) and white powder, characterized as 3-acetyl-12-ursanen-28-oic acid (compound C). From extract thallus *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. can be isolated white needle crystal, characterized as acetyl gammaceranol (compound D) and light yellow powder, characterized as 2,4-dihydroxy-6-methyl-benzoic methyl ester.(compound E). 3-acetyl-12-ursanen-28-oic acid (compound C) and acetyl gammaceranol (compound D) are proposed as new compounds isolated from lichen. The result of BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) for

compound (-)-usnic acid showed its $LC_{50} = 39,82 \mu\text{g/mL}$, potensial, for compound eumitrin A_1 showed its $LC_{50} = 2,25 \mu\text{g/mL}$, active and for compound acetyl gammaceranol showed its $LC_{50} = 56,00 \mu\text{g/mL}$, not active. The result of antioxidant test from (-)-usnic acid showed its $IC_{50} = 910 \text{ ppm}$, not active and the result of bioassay cytotoxic test against Murine Leukemia P-388 cell line showed for (-)-usnic acid with $IC_{50} = 6,5 \mu\text{g/mL}$, classified as moderat, for compound eumitrin A_1 with $IC_{50} = 3,2 \mu\text{g/mL}$, classified as active and for compound acetyl gammaceranol with $IC_{50} = 62,5 \mu\text{g/mL}$, classified as not active.

Keyword : *U. dasypoga* (Ach.) Nyl., *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm., acetone, (-)-usnic acid, eumitrin A_1 , 3-acetyl-12-ursan-28-oic acid, acetyl gammaceranol, 2,4-dihydroxy-6-methylbenzoate methyl ester, BSLT, antioxidant, Murine Leukemia P-388.

xvi + 161 p, cht, fig, tab, app

Bibliografi: 43 (1970 – 2007)

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini, yang merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan Program Doktor Ilmu Kimia Program Pascasarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih yang tidak terhingga kepada Bapak Prof. Dr. Wahyudi Priyono Suwarso selaku promotor, Bapak Dr. M. Hanafi dan Bapak Dr. A. Herry Cahyana selaku ko-promotor, yang telah banyak meluangkan waktu untuk membantu dan memberikan petunjuk serta saran dalam menyelesaikan penelitian ini.

Demikian pula rasa hormat dan ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Soleh Kosela, M.Sc, selaku Koordinator Program Doktor Ilmu Kimia Program Pascasarjana Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia (periode tahun 1999 – 2008) beserta seluruh Staf Pengajar Program Doktor Ilmu Kimia PPs – FMIPA - UI.
2. Bapak Dr. Jamuzi Gunlazuardi, selaku Ketua dan Ibu Dr. Ivandini Tribidasari A, selaku Sekretaris Program Doktor Ilmu Kimia PPs – FMIPA - UI (periode 2008 – 2012).

3. Pengelola Program Due Like Jurusan Kimia FMIPA - UNJ yang telah membantu membiayai untuk mengikuti studi pada Program Doktor Ilmu Kimia PPs - FMIPA - UI.
4. Pengelola Beasiswa Program Pasca Sarjana (BPPS) - DIKTI Departemen Pendidikan Nasional yang telah membantu membiayai penyelesaian studi pada Program Doktor Ilmu Kimia PPs - FMIPA - UI.
5. Pimpinan Universitas Negeri Jakarta (UNJ), Jakarta yang telah membantu membiayai dan memberi izin untuk mengikuti studi pada Program Doktor Ilmu Kimia PPs – FMIPA - UI.
6. Pimpinan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam – UNJ, Jakarta yang telah memberikan izin dan fasilitas untuk menggunakan laboratorium selama melakukan penelitian.
7. Prof. H. Asakawa PhD dari Tokushima Bunry University, yang telah memberi kesempatan pada penulis untuk bekerja pada laboratorium kimia di Tokushima Bunry University – Jepang.
8. Prof. Dr. Zuriati Zakaria, Prof. Dr. Laily bin Din, Prof. Dr. Musa Ahmad dari Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), yang telah memberi kesempatan pada penulis bekerja pada laboratorium kimia di UKM – Selangor – Malaysia.
9. Prof. Dr. Buchori Yamin dan Dr. Jalipah dari Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), yang telah membantu penulis mengukur X-ray kristalografi dan $^1\text{H-NMR}$ serta $^{13}\text{C-NMR}$, senyawa A dan B.

10. Pimpinan dan staf Herbarium Bogoriense, Balitbang Botani, Puslitbang Biologi – LIPI, Bogor, yang telah melakukan determinasi tumbuhan lichen yang diteliti.
11. Suami tercinta dan terkasih, Mas Mamo serta ananda tersayang Indra dan Indri, yang selalu memberi bantuan, semangat dan perhatian yang tidak terhingga semasa mengikuti perkuliahan sampai tahap penulisan disertasi ini.
12. Bu Hastini, Bu Pratiwi P.A dan Pak Heri Suwito yang telah memberikan lichen *Usnea dasypoga* (Ach.) Nyl. dan *Peltigera polydactyla* (Neck.) Hoffm, pada penulis untuk penelitian ini.
13. Ibu Puspa D. N. Lotulung yang telah mengukur LC – MS di P₂K Kimia LIPI Serpong.
14. Bu Sondang N.S, Bu Rosita, Pak Riskiono S yang telah banyak membantu memberikan dorongan moril pada penyelesaian studi ini..
15. Ananda Eva Ariyanti, Odilia Galuh dan Dwiana Yulianita yang telah banyak membantu merapikan disertasi ini.
16. Semua pihak yang telah membantu, baik langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan disertasi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran agar disertasi ini menjadi lebih sempurna dan dapat bermanfaat bagi pembaca, khususnya peminat ilmu kimia bahan alam.

Jakarta, 24 Juli 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	5
1.3. Hipotesis Penelitian	5
1.4. Tujuan Penelitian	6
1.5. Manfaat Penelitian	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tumbuhan Lichen (lumut kerak)	7
2.1.1. Pembentukan Tumbuhan Lichen	7
2.1.1.1. Kelas <i>Ascolichenes</i>	10
2.1.1.2. Kelas <i>Basidiolichenes</i>	11
2.1.2. Penggolongan Lichen Berdasarkan Bentuk Talus	12
2.1.3. Jalur Biosintesis Lichen	14
2.1.4. Kegunaan Beberapa Jenis Lichen	16
2.2. Tumbuhan Lichen <i>Usnea dasypoga</i> (Ach.) Nyl	18
2.2.1. Ciri-ciri dan Taksonomi <i>U. dasypoga</i> . (Ach.) Nyl	18
2.2.2. Morfologi <i>U. dasypoga</i> . (Ach.) Nyl	20
2.2.3. Senyawa-senyawa Dalam Tumbuhan Lichen	
<i>Usnea sp.</i>	20
2.2.4. Manfaat Tumbuhan Lichen <i>Usnea sp.</i>	32

2.3. Tumbuhan Lichen <i>Peltigera polydactyla</i> (Neck.) Hoffm..	33
2.3.1. Ciri-ciri dan Taksonomi <i>P. polydactyla</i> (Neck.) Hoffm .	33
2.3.2. Morfologi <i>P. polydactyla</i> (Neck.) Hoffm	34
2.3.3. Senyawa-senyawa Dalam Tumbuhan Lichen	
<i>Peltigera sp</i>	35
2.3.4. Manfaat Tumbuhan Lichen <i>Peltigera sp</i>	36
2.4. Uji Bioaktivitas (bioassay)	36
2.4.1. Uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT)	37
2.4.1.1. Daur hidup <i>A. salina</i> Leach	37
2.4.1.2. Manfaat <i>A. salina</i> Leach	39
2.4.2. Uji Antioksidan	40
2.4.2.1. Pengertian Antioksidan	40
2.4.2.2. Metode Pengukuran Aktivitas Antioksidan	42
2.4.3. Uji Anti Kanker	43
BAB III. METODE DAN HASIL PENELITIAN	44
3.1. Bahan Kimia dan Alat –alat Yang Digunakan	44
3.1.1. Bahan-bahan Kimia Yang Digunakan	44
3.1.2. Alat-alat Yang Digunakan	45
3.2. Tahapan Penelitian	45
3.2.1. Rancangan Percobaan	46
3.2.2. Penyiapan Sampel dan Pembuatan Ekstrak	46
3.2.3. Skema Isolasi Sampel	47
3.2.4. Isolasi Sampel	48
3.2.5. Penentuan Struktur Molekul	50
3.3. Prosedur dan Hasil Penelitian	50
3.3.1. Prosedur dan Hasil Pemeriksaan Kimia Serbuk	
Simplisia (penapisan fitokimia)	50
3.3.2. Prosedur dan Hasil Pewarnaan Khusus Lichen	55
3.3.3. Prosedur dan Hasil Isolasi	64
3.3.4. Uji Bercak	68
3.3.5. Data Sifat Fisika dan Data Spektroskopi.....	70
3.3.5.1. Senyawa A (SW-1).....	71

3.3.5.2. Senyawa B (SW-2).....	73
3.3.5.3 Senyawa C (SW-3)	75
3.3.5.4. Senyawa D (SW-4)	78
3.3.5.5 Senyawa E (SW-5).....	80
3.3.6. Prosedur dan Hasil Uji Aktivitas (Bioassay)	82
3.3.6.1 Uji Aktivitas <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT).....	82
3.3.6.2 Uji Aktivitas Antioksidan	85
BAB IV. PEMBAHASAN	89
4.1. Uji Pendahuluan.....	89
4.1.1. Penentuan Struktur Senyawa A	90
4.1.2. Penentuan Struktur Senyawa B	94
4.1.3. Penentuan Struktur Senyawa C	101
4.1.4. Penentuan Struktur Senyawa D	104
4.1.5. Penentuan Struktur Senyawa E	110
4.2. Hasil Uji Aktivitas (Bioassay)	114
4.2.1. Hasil uji aktivitas <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) ...	114
4.2.2. Hasil uji aktivitas antioksidan senyawa A (SW-1).....	115
4.2.3. Hasil uji aktivitas P-388 terhadap senyawa A (SW-1).....	116
4.2.4. Hasil uji aktivitas P-388 terhadap senyawa B (SW-2).....	116
4.2.5. Hasil uji aktivitas P-388 terhadap senyawa D (SW-4)	116
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	117
5.1. Kesimpulan	117
5.2. Saran	118

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Lichen Crustosa.....	12
2. Lichen Foliosa.....	13
3. Lichen Frutikosa.....	13
4. Jalur biosintesis lichen.....	15
5. Lichen <i>U. dasypoga</i> (Ach.) Nyl.....	19
6. Lichen <i>P. polydactyla</i> (Neck.) Hoffm.....	34
7. Daur hidup <i>A. salina</i> Leach.....	39
8. Molekul antioksidan alami.....	41
9. Molekul antioksidan sintetik.....	41
10. Mekanisme reaksi <i>radical scavenger</i>	42
11. Skema isolasi <i>U. dasypoga</i> (Ach.) Nyl.....	47
12. Skema isolasi <i>P. polydactyla</i> (Neck.) Hoffm.....	48
13. Kromatogram lapis tipis ekstrak aseton dengan eluen toluena : asam asetat = 100 : 15 dari <i>U. dasypoga</i> (Ach.) Nyl.....	69
14. Kromatogram lapis tipis ekstrak aseton dengan eluen toluena : asam asetat = 100 : 15 dari <i>P. polydactyla</i> (Neck.) Hoffm.....	69
15. Hasil uji aktivitas antioksidan (-)-asam usnat dengan metode <i>radical scavenger</i>	86
16. Grafik antara konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi pada menit Ke 60.....	88
17. Grafik antara konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi pada menit ke 60.	89
18. Struktur molekul asam usnat dan nilai geseran kimianya.....	93
19. Korelasi jarak jauh (HMBC) untuk senyawa A.....	94

20. X-ray kristalografi (-)-(12S)-asam usnat.....	95
21. Struktur molekul B dan nilai geseran kimia.....	99
22. Struktur Molekul B dan Ringkasan Korelasi Jarak Jauh ^1H - ^{13}C (HMBC).....	100
23. Hasil Prediksi Nilai Geseran Kimia Senyawa Eumitrin A ₁	101
24. Struktur Molekul Senyawa C (asam 3-Asetil-12-ursanen-28-olat).....	103
25. Ringkasan Korelasi Jarak Jauh untuk Senyawa C.....	104
26. Struktur Molekul Asetil Gammaseranol (senyawa D).....	107
27. Ringkasan Korelasi Jarak Jauh untuk Senyawa D.....	108
28. Nilai Prediksi Geseran Kimia ^1H dan ^{13}C -NMR Asetil gammaseranol.....	109
29. Nilai Geseran Kimia dan Korelasi Jarak Jauh (HMBC) untuk Senyawa E.....	112
30. Prediksi Nilai Geseran Kimia untuk Senyawa E.....	113
31. Struktur Molekul Metil Giroporat.....	114

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil penapisan fitokimia lichen <i>U. dasypoga</i> (Ach.) Nyl.....	54
2. Hasil penapisan fitokimia lichen <i>P. polydactyla</i> (Neck.) Hoffm.....	55
3. Hasil uji dengan reaksi pewarnaan khusus lichen.....	63
4. Sistem gradien yang digunakan pada ekstrak aseton <i>U. dasypoga</i> (Ach.) Nyl.....	65
5. Sistem gradien yang digunakan pada ekstrak aseton <i>P. polydactyla</i> (Neck.) Hoffm.....	67
6. Sifat-sifat fisika senyawa A.....	70
7. Data spektrum 2D-HMQC (^1H - ^{13}C).....	72
8. Sifat-sifat fisika senyawa B.....	73
9. Data spektrum 2D-HMQC (^1H - ^{13}C).....	74
10. Sifat-sifat fisika senyawa C.....	75
11. Data spektrum 2D-HMBC dan HMQC (^1H - ^{13}C).....	77
12. Sifat-sifat fisika senyawa D.....	78
13. Korelasi antara proton dan karbon (^1H - ^{13}C).....	79
14. Sifat-sifat fisika senyawa E.....	80
15. Data spektrum 2D-HMBC (^1H - ^1H) senyawa E.....	81
16. Korelasi antara proton dan karbon (^1H - ^{13}C).....	82
17. Hasil uji senyawa A terhadap <i>A. salina</i> Leach.....	84
18. Hasil uji senyawa B terhadap <i>A. salina</i> Leach.....	84
19. Hasil uji senyawa D terhadap <i>A. salina</i> Leach.....	85
20. Hasil perhitungan IC_{50} senyawa A.....	87

21. % inhibisi BHT pada menit ke-60.....	88
22. Pita-pita serapan di dalam spektrum IR senyawa A.....	90
23. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa (-)-asam usnat (CDCl ₃) hasil penelitian dan dari prediksi.....	92
24. Pita-pita serapan di dalam spektrum IR senyawa B.....	95
25. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa eumitrin A ₁ (CDCl ₃) hasil penelitian dan dari prediksi.....	97
26. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa (CDCl ₃) asam 3-asetil-12-ursanen-28-oat hasil penelitian dan dari prediksi.....	103
27. Pita-pita serapan di dalam spektrum IR senyawa D.....	104
28. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa (CDCl ₃) asetil- gammaseranol hasil penelitian dan dari prediksi.....	109
29. Perbandingan nilai geseran kimia untuk senyawa (CDCl ₃) (2,4-dihidroksi-6-metil)-benzoat metil ester hasil penelitian dan dari prediksi.....	112

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil identifikasi tumbuhan lichen <i>U. dasypoga</i> (Ach.) Nyl.....	124
2. Hasil identifikasi tumbuhan lichen <i>P. polydactyla</i> (Neck.) Hoffm.....	125
3. Spektrum infra merah senyawa A.....	126
4. Spektroskopi UV senyawa A.....	127
5. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$) senyawa A.....	128
6. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^{13}\text{C-NMR}$) senyawa A.....	129
7. Spektrum 2D-HMQC ($^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$) senyawa A.....	130
8. Spektrum 2D-HMBC ($^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$) senyawa A.....	131
9. Spektrum massa senyawa A.....	132
10. Spektrum infra merah senyawa B.....	133
11. Spektroskopi UV senyawa B.....	134
12. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$) senyawa B.....	135
13. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^{13}\text{C-NMR}$) senyawa B.....	136
14. Spektrum 2D-HMQC ($^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$) senyawa B.....	137
15. Spektrum 2D-HMBC ($^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$) senyawa B.....	138
16. Spektrum massa senyawa B.....	139
17. Spektrum infra merah senyawa C.....	140
18. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$) senyawa C.....	141
19. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^{13}\text{C-NMR}$) senyawa C.....	142
20. Spektrum 2D-HMQC ($^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$) senyawa C.....	143
21. Spektrum 2D-HMBC ($^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$) senyawa C.....	144

22. Spektrum massa senyawa C.....	145
23. Spektrum infra merah senyawa D.....	146
24. Spektroskopi UV senyawa D.....	147
25. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$) senyawa D.....	148
26. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^{13}\text{C-NMR}$) senyawa D.....	149
27. Spektrum 2D-HMQC ($^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$) senyawa D.....	150
28. Spektrum massa senyawa D.....	151
29. Spektrum infra merah senyawa E.....	152
30. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$) senyawa E.....	153
31. Spektrum resonansi magnetik inti proton ($^{13}\text{C-NMR}$) senyawa E.....	154
32. Spektrum 2D-HMQC ($^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$) senyawa E.....	155
33. Spektrum 2D-HMBC ($^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$) senyawa E.....	156
34. Spektrum massa senyawa E.....	157
35. Hasil pengukuran uji antioksidan senyawa A.....	158
36. Hasil bioassay sitotoksik P-388 senyawa B.....	159
37. Hasil bioassay sitotoksik P-388 senyawa D.....	160

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki keaneka ragaman hayati nomor dua terbesar di dunia setelah Brazil, berada di daerah tropis yang dilalui garis katulistiwa, dan mempunyai hutan tropis yang luas. Dengan kekayaan yang ada pada hutan tropis tersebut, banyak tumbuhan berpotensi sebagai obat, yang belum diteliti dan diketahui kegunaannya.

Berdasarkan morfologinya tumbuhan dikelompokkan dalam dua bagian besar, yaitu tumbuhan suku tinggi dan tumbuhan suku rendah. Tumbuhan suku tinggi mempunyai ciri-ciri antara lain, mempunyai kelengkapan: akar, batang, daun, dan batang berkayu, sedangkan tumbuhan suku rendah tidak mempunyai kelengkapan: akar, batang, dan daun. Contoh: lichen.

Tumbuhan lichen (lumut kerak) adalah tumbuhan unik, karena merupakan persekutuan (*simbiosis*) antara cendawan atau jamur (*fungi*) dan ganggang (*algae*). Lichen termasuk tumbuhan suku rendah, sebab tidak mempunyai kelengkapan seperti tumbuhan suku tinggi, seperti akar, batang, daun. Batang tubuh lichen disebut talus.

Metabolit yang dihasilkan oleh mikroorganisme, terutama jamur, misalnya penisilin pada jamur *Penicillium notatum*, berkhasiat antibiotik, merupakan sumber dari bahan alam yang telah diakui potensi terapeutiknya. Secara umum potensi jamur masih belum ditelusuri dan

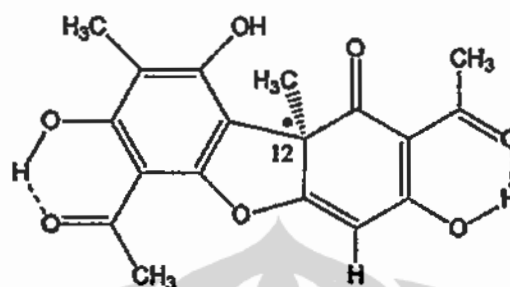
dieksploitasi. Baru kira-kira 20% dari semua spesies jamur yang sudah diketahui dan merupakan *simbion obligat* pada lichen (lumut kerak)⁽¹⁾.

Simbion obligat berasal dari kata *simbiosis*, yang berarti hidup bersama antara dua organisme yang berlainan jenis, sedangkan *simbion* adalah masing-masing organisme itu sendiri dan *obligat* adalah terbatas pada satu cara hidup. Karena lichen merupakan persekutuan antara jamur dan ganggang, maka baik jamur maupun ganggang dalam hal ini dapat disebut sebagai *simbion obligat*. Komponen jamur pada lichen juga disebut *mikobion*, sedangkan komponen mikroalgaenya disebut *fotobion*.

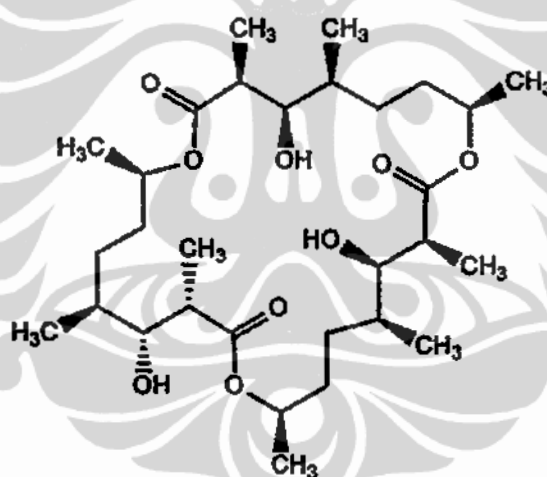
Di alam terdapat lebih kurang 20.000 jenis lichen⁽²⁾, di antaranya adalah dari genus: *crustase*, *lecanora*, *parmelia*, *ramalina*, *peltigera*, *usnea* dan lain-lain. Beberapa jenis lichen yang telah diketahui mempunyai khasiat sebagai tanaman obat, misalnya: *Usnea barbata* dan *Usnea dasypoga*, digunakan sebagai salah satu bahan ramuan untuk pembuatan obat tradisional. Dalam genus *usnea* dihasilkan suatu senyawa yang bersifat antibiotika, yaitu: asam usnat (asam usnin) yang berkhasiat sebagai anti tuberculosis⁽²⁾.

Penelitian mengenai lichen yang telah dilakukan, antara lain penelitian tentang: Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia Yang Dikandung Oleh Tumbuhan *Usnea dasypoga*, Rohl. oleh Layla Gani, R⁽³⁾. Pada penelitian ini, lichen *U. dasypoga*, Rohl diambil dari Taman Botani Gunung Seblat di Gunung Kerinci, Propinsi Jambi. Hasil isolasi yang diperoleh adalah senyawa (+)-asam usnat (**1**) dan senyawa siklis

alkohol ester dengan rumus molekul $C_{30}H_{54}O_9$ yang dinamakan dasypoga lakton (2), struktur molekul sebagai berikut:



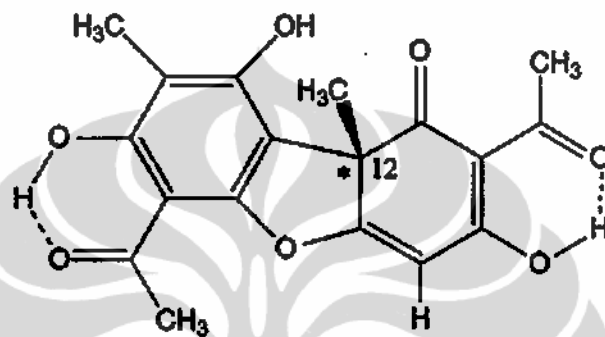
(+)-Asam usnat (1)



Dasypogalakton (2)

Kedua senyawa tersebut diuji aktivitas anti bakterinya terhadap kuman uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, didapat bahwa senyawa (+)-asam usnat mempunyai aktivitas anti bakteri terhadap kedua kuman uji, sedangkan senyawa kedua tidak. Penelitian lain, yaitu: Isolasi (-)- asam usnat Dari Tumbuhan *Usnea dasypoga* (Ach.) Nyl. serta Uji Aktivitas Antioksidan oleh Hastini⁽⁴⁾. Dari penelitian ini didapat bahwa

senyawa (-)- asam usnat mempunyai aktivitas antioksidan dengan IC_{50} yang cukup besar dibandingkan dengan BHT (Butylated Hydroxy Toluena). Jadi (-)-asam usnat belum dapat menggantikan antioksidan sintetik, misalnya BHT⁽⁴⁾. Adapun struktur dari (-)-asam usnat (3) adalah sebagai berikut:



(-)-Asam usnat (3)

Dari beberapa contoh di atas, dapat ditarik suatu kesimpulan bahwa pada tumbuhan lichen terdapat senyawa kimia yang mempunyai bioaktivitas, misalnya anti bakteri dan antioksidan.

Sampai saat ini belum ada laporan penelitian tentang kandungan senyawa kimia yang mempunyai bioaktivitas anti kanker, anti oksidan dari tumbuhan lichen spesies *U. dasyopoga* (Ach.) Nyl. yang berasal dari hutan pinus di Malino pulau Sulawesi dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. yang berasal dari gunung Halimun Jawa Barat. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dicoba untuk mengisolasi senyawa kimia dari talus tumbuhan lichen *U. dasyopoga* (Ach.) Nyl. dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm., kemudian dilakukan penentuan struktur molekulnya dan diuji berbagai bioaktivitasnya, termasuk anti oksidan dan anti kanker.

1.2. Perumusan Masalah

Dari latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Senyawa-senyawa kimia apakah yang dapat diperoleh dari hasil isolasi talus lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl.?
2. Bagaimana struktur molekul dari senyawa-senyawa kimia hasil isolasi dari talus lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl.?
3. Senyawa-senyawa kimia apakah yang dapat diperoleh dari hasil isolasi talus lichen *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.?
4. Bagaimana struktur molekul dari senyawa-senyawa kimia hasil isolasi dari talus lichen *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.?
5. Apakah senyawa-senyawa hasil isolasi dari lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm, tersebut mempunyai bioaktivitas antioksidan dan anti kanker?

1.3. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

Dengan melakukan isolasi pada tumbuhan tingkat rendah lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. akan ditemukan senyawa baru atau senyawa yang sudah pernah ditemukan sebelumnya dan mempunyai aktivitas antioksidan serta anti kanker.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengisolasi senyawa kimia yang terdapat dalam talus lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl.
2. Menentukan struktur molekul dari senyawa-senyawa kimia hasil isolasi talus lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl.
3. Mengisolasi senyawa kimia yang terdapat dalam talus lichen *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.
4. Menentukan struktur molekul dari senyawa-senyawa kimia hasil isolasi talus lichen *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.
5. Menguji aktivitas anti oksidan serta anti kanker dari senyawa-senyawa hasil isolasi talus lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan informasi tentang senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam talus lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.
2. Menggali potensi bahan alam nabati Indonesia yang berkhasiat obat.
3. Menambah khasanah ilmu pengetahuan tentang bahan alam nabati Indonesia yang berpotensi berkhasiat obat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan Lichen (lumut kerak)⁽⁵⁾

2.1.1. Pembentukan tumbuhan lichen (lumut kerak)

Tumbuhan lichen (lumut kerak) termasuk tumbuhan suku rendah, yaitu tumbuhan yang tidak mempunyai kelengkapan seperti halnya tumbuhan tinggi, misalnya akar, batang dan daun. Batang tubuhnya disebut: talus. Tumbuhan lichen adalah persekutuan (*simbiosis*) antara cendawan atau jamur (*fungi*) dan ganggang (*algae*).

Komponen cendawan pada lumut kerak disebut *mikobion*, biasanya adalah *ascomyetes* (terutama *discomycetales* dan kadang-kadang *pyrenomycetales*), tetapi ada pula yang berasal dari *basidiomycetes*. Sedangkan komponen mikroalgae dan atau sianobakteri disebut *fotobion*, kebanyakan adalah ganggang biru (*cyanophyceae*), antara lain: *chroococcus* dan *nostoc*, kadang-kadang juga ganggang hijau (*chlorophyceae*), misalnya: *cystococcus* dan *trentepholia*.

Kebanyakan cendawan-cendawan tertentu bersimbiosis dengan ganggang tertentu pula. Talus lichen baru dapat terbentuk, jika cendawan tertentu bertemu dengan jenis ganggang yang tepat. Jenis ganggang yang berbeda akan menghasilkan jenis lichen yang berbeda pula. Jadi jenis lichen tergantung pada tipe cara hidup bersama antara kedua macam organisme yang menyusunnya.

Hidup bersama antara dua organisme yang berlainan jenis umumnya disebut *simbiosis*. Sedangkan masing-masing organisme itu disebut *simbion* atau *simbion obligat*. *Simbion obligat* berasal dari kata *simbiosis* dan *obligat* yang berarti terbatas pada satu cara hidup, maka pada lichen, baik cendawan maupun ganggang/*algae*-nya dapat disebut sebagai *simbion obligat*.

Simbiosis antara *fungi* dan *algae* pada lichen dapat memberikan dua penafsiran yang berbeda, yaitu:

- a. Disebut *simbiosis mutualisme*, bila dipandang kedua *simbion* dapat memperoleh keuntungan dari hidup bersama itu. Pada *simbiosis* tersebut: ganggang memberikan hasil-hasil fotosintesisnya, terutama yang berupa karbohidrat (gula) kepada cendawan, dan sebaliknya cendawan memberikan air dan garam-garam kepada ganggang.
- b. Disebut *helotisme*, bila keuntungan yang timbal balik itu hanya sementara, yaitu pada permulaan saja, tetapi akhirnya ganggang diperalat oleh cendawan, hubungan tersebut menyerupai hubungan seorang majikan dengan budaknya (*heloot*).

Pada penampang lintang talus lichen seringkali tampak *hifa* cendawan membalut sel-sel ganggang. Bahkan ada yang memasukkan *haustorium* ke dalam sel-sel ganggang. Ganggang tetap hidup, tetapi tidak dapat membiak dengan sel-sel lembaganya sendiri. Dalam hal ini bentuk cendawan yang akan sangat menentukan bentuk lichennya. Ada pula *miselium* cendawannya yang hanya masuk ke dalam selaput lendir sel-sel ganggang. Dalam hal ini bentuk gangganglah yang akan sangat

menentukan bentuk lichennya. Pada umumnya *miselium* cendawan yang lebih banyak menentukan bentuk lichen.

Kebanyakan lichen berkembang biak secara *vegetatif*, yaitu: bila sebagian talus terpisah, talus tersebut dapat tumbuh menjadi individu baru. Pada beberapa jenis lichen, pembiakan dapat berlangsung dengan perantaraan *soredium*, yaitu kelompok sel-sel kecil ganggang yang sedang membelah dan diselubungi benang-benang *miselium*, kemudian menjadi suatu badan yang dapat terlepas dari induknya. Dengan robeknya dinding talus *soredium*, selanjutnya spora-spora tersebar seperti debu yang ditiup angin. Spora-spora tersebut dapat tumbuh di tempat lain dan menjadi tumbuhan lichen baru.

Pada talus lichen, cendawan dapat membentuk batang tubuh. Hal tersebut terjadi berdasarkan jenis cendawannya, dapat berupa *apotesium* atau *peritesium*. Tubuh buah baru terbentuk setelah mengadakan pertumbuhan *vegetatif* selama bertahun-tahun. Spora yang dilepaskan di tempat baru dapat berkembang menjadi lichen baru, jika menjumpai jenis ganggang yang tepat, yaitu sama dengan jenis ganggang pada talus induknya.

Berdasarkan cendawan penyusunnya, lichen dapat diklasifikasikan menjadi dua kelas, yaitu: kelas *ascolichenes* dan kelas *basidiolichenes*.⁽²⁾

2.1.1.1. Kelas *Ascolichenes*

Adalah lichen yang cendawan penyusunnya terutama *discomycetales* dan kadang-kadang *pyrenomycetales*. Jika cendawan yang menyusunnya tergolong dalam *discomycetales*, maka tubuh buah yang dihasilkan berupa *apotesium*. Jika cendawan yang menyusunnya tergolong dalam *pyrenomycetales*, maka tubuh buah yang dihasilkan berupa *peritesium*.

Pada *discomycetales* yang hidup bebas, *apotesiumnya* hanya berumur pendek. Pada lichen yang cendawan penyusunnya tergolong *discomycetales*, *apotesiumnya* berumur panjang, bersifat seperti tulang rawan dan mempunyai *askus* yang berdinding tebal. Yang termasuk golongan ini adalah:

a. ***Usnea***

Umumnya berbentuk semak kecil, banyak terdapat pada pohon-pohon dalam hutan, terutama di daerah pegunungan. Misal: *U. barbata* dan *U. dasypoga*, di Indonesia biasa digunakan sebagai campuran ramuan obat tradisional.

b. ***Rocella tinctoria***

Digunakan untuk pembuatan lakmus.

c. ***Cladonia rangiferina***

Banyak terdapat di daerah tundra di Kutub Utara dan merupakan makanan utama rusa kutub.

a. *Cetaria islandica*

Banyak terdapat di pegunungan Eropa dan mempunyai khasiat obat.

b. *Parmelia acetabulum* dan *Lobaria pulmonaria*

Berupa lembaran-lembaran seperti kulit, hidup pada pohon-pohon dan batu-batuan.

2.1.1.1. Kelas *Basidiolichenes (Hymenolichenes)*

Lichen kelas ini umumnya mempunyai talus yang berbentuk lembaran-lembaran. Pada tubuh buah terbentuk lapisan *himenium* yang mengandung *basidium*, yaitu lichen yang mempunyai batang tubuh *hymenomyetales*, contoh: *Corapavonia*.

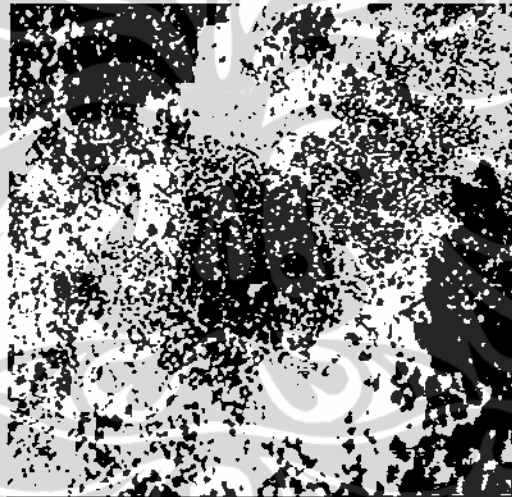
Lichen hidup sebagai *epifit* pada pohon-pohonan, dapat juga hidup di atas tanah, terutama di daerah tundra di Kutub Utara. Ada pula yang hidup di atas batu pada bagian pinggirnya. Tempat hidup lichen tidak terikat pada tingginya tempat di atas permukaan laut, lichen dapat dijumpai dari tepi pantai sampai di atas gunung. Lichen tergolong dalam tumbuhan perintis, karena dapat hidup di tempat-tempat yang masih belum dapat dihuni makhluk hidup lain. Lichen dapat tumbuh di daerah gersang dan secara berangsur-angsur mengubah lingkungan tempat tersebut, sehingga dapat dihuni oleh makhluk hidup lain.

Lichen tidak memerlukan syarat-syarat hidup yang tinggi dan tahan kekurangan air dalam waktu lama. Karena panas yang terik, lichen

yang hidup pada batu-batuan dan menjadi kering, tetapi tidak mati, jika turun hujan lichen dapat hidup kembali. Pertumbuhan talusnya sangat lambat, dalam waktu satu tahun pertumbuhannya kurang dari 1 cm.

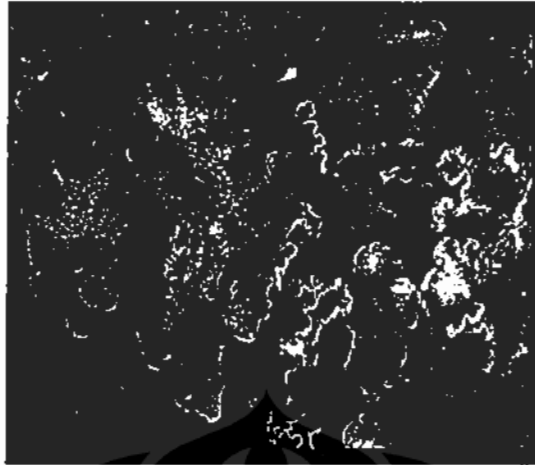
2.1.2. Penggolongan Lichen Berdasarkan Bentuk Talus

Berdasarkan bentuk talusnya, lichen dibagi dalam 3 kelompok, yaitu lichen *Crustosa* (Gambar 1), lichen *Foliosa* (Gambar 2) dan lichen *Frutikosa* (Gambar 3).



Gambar 1. Lichen *Crustosa*

Lichen *Crustosa* berbentuk kerak, berwarna putih, abu-abu atau orange. Talusnya terdiri dari hifa pada lapisan korteks atas dan filamen fungus pada medula lapisan bawah yang melekat erat pada substrat, menyebabkan lichen sukar dipisahkan dari substratnya. Contoh lichen *Crustosa*: lichen genus *Lepraria lecanora* yang terdapat pada kulit batang pohon, di atas batu atau tanah.



Gambar 2. Lichen *Foliosa*

Lichen *Foliosa* berbentuk daun atau sisik dan melekat pada substrat. Korteksnya mempunyai hifa di permukaan atas dan mempunyai rizin pada lapisan korteks bawah yang melekat pada substrat. Talus *Foliosa* hampir sama dengan *Crustosa*, dimana keduanya hanya dapat dibedakan dari bentuk lapisan korteks pada lapisan bawah. Pada lichen *Foliosa* medula berwarna gelap dan mempunyai rizin yang melekat erat pada substrat. Bila akarnya berbentuk benang, maka lichen tersebut tidak melekat erat pada permukaan substrat. Contoh lichen *Foliosa* adalah genus *Cetraria*, *Parmelia* dan *Peltigera*.



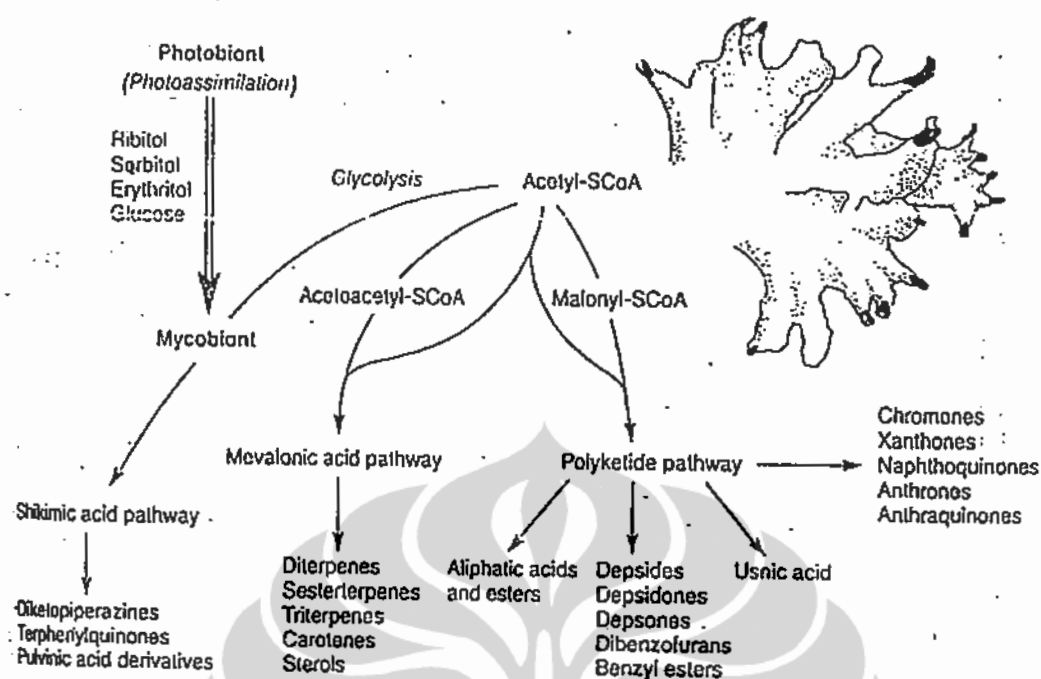
Gambar 3. Lichen *Frutikosa*

Lichen *Frutikosa* berbentuk rambut atau akar serabut dengan ukuran dan warna yang berbeda, talus tumbuh tegak atau berjuntai tergantung pada kedudukan substratnya. Contoh lichen *Frutikosa*: lichen genus *Usnea sp* dan *Cladonia sp.*⁽⁵⁾

2.1.3. Jalur Biosintesis Lichen

Lichen merupakan sumber senyawa-senyawa (*metabolit*) untuk obat-obatan atau penyedia metabolit bagi industri bioteknologi lainnya. Talus lichen mempunyai struktur yang lebih rumit daripada *fungi* dan *algae* serta mempunyai kemampuan untuk melakukan *fotosintesis*, yaitu mengubah senyawa anorganik sederhana menjadi senyawa organik kompleks, misalnya karbohidrat pada *mikroalgae*. Hasil fotosintesis tersebut, selanjutnya digunakan untuk pertumbuhan sel dan produksi metabolit sekunder pada cendawan. Jenis cendawan yang *bersimbiosis* dengan *algae* akan menentukan pula jenis produk *metabolit* sekundernya.

Pembentukan *metabolit* sekunder, diawali dari *fotoasimilasi* (*fotobion*), yang mengubah CO₂ (karbon dioksida) dan air dengan bantuan sinar matahari menjadi glukosa, eritritol, sorbitol atau ribitol. Kemudian sumber karbon dan sumber energi ini oleh mikobion dibuat bermacam-macam metabolit sekunder, melalui tiga jalur biosintesis, yaitu jalur shikimat, jalur asam mevalonat dan jalur poliketida.⁽⁶⁾



Gambar 4. Jalur biosintesis lichen.⁽⁶⁾

Pertama, melalui jalur asam shikimat, akan dibentuk senyawa-senyawa seperti, diketopiperazin, terfenilkuinon dan turunan asam pulvinat. **Kedua**, melalui jalur asam mevalonat, akan diproduksi senyawa-senyawa seperti, diterpena, sesterterpena, triterpena, karotenoida dan sterol. **Ketiga**, melalui jalur poliketida, akan dihasilkan Senyawa-senyawa seperti, asam lemak atau asam alifatik dan esternya, depsida, depsidon, depson, dibenzofuran, benzilester, asam usnat, khromon, ksanthon, naphthokuinon, anthron dan anthrakuinon.

Gabungan antara jalur asam shikimat dan poliketida menghasilkan senyawa golongan flavonoida.⁽⁵⁾ Kebanyakan metabolit sekunder dalam lichen dihasilkan melalui jalur poliketida. Sebagian besar dari jalur biosintesis metabolit sekunder tersebut menghasilkan Senyawa-senyawa yang berguna sebagai bahan-bahan obat atau obat tradisional.

2.1.4. Kegunaan Beberapa Jenis Lichen

Beberapa jenis lichen yang telah diketahui kegunaannya, antara lain adalah:

a. *Usnea misaminensis*⁽¹⁾

Disebut juga kayu angin atau jenggot resi (Jawa) dan jenggot rabion (Batak). Mempunyai khasiat untuk obat anti diare, obat influenza dan obat batuk. Digunakan dengan cara meminum air rebusan dari talus.

b. *Usnea barbata*⁽²⁾

Digunakan sebagai salah satu ramuan dalam pembuatan obat tradisional. Karena *usnea* menghasilkan suatu antibiotika, yaitu asam usnat yang berkhasiat sebagai anti tuberculosis.

c. *Cetraria islandica (Iceland Moss.)*⁽²⁾

Terdapat di daerah pegunungan Eropa, berkhasiat obat dan digunakan sebagai *expectorant* (obat untuk membuang lendir). Merupakan bahan baku pada obat-obatan Cina.

d. *Cladonia rangiferina*⁽²⁾

Banyak dijumpai di daerah tundra, Kutub Utara, merupakan makanan utama rusa kutub.

e. *Raccella tinctoria*⁽²⁾

Merupakan bahan baku pada pembuatan lakmus.

f. **Raindeer Mosses** (contoh: *Cladonia rangiferina*, *Cladonia evansii*)⁽⁷⁾

Di Jepang umumnya digunakan untuk membuat tanaman, pohon-pohon tiruan dalam bentuk mini yang sangat mirip dengan aslinya (*faksimile*), biasanya dipakai sebagai pohon atau tanaman pada taman dalam bentuk mini (maket). Selain itu, juga dimanfaatkan pada seni merangkai bunga (*ikebana*). Agar menjadi mudah dilipat (*pliable*), lichen tersebut dicampur dengan gliserin, dan dikeringkan dengan warna hijau atau merah.

g. **Umbilicaria**⁽⁷⁾

Biasanya tumbuh pada batu-batuan dan mempunyai nilai sebagai makanan. Misalnya, digunakan sebagai bubur makan pagi atau direbus untuk diambil ekstrak gelatinnya atau digoreng.

Di Eropa ada yang disebut lichen kuning, yaitu lichen yang hampir seluruhnya dari jenis *cladonia*. Lichen ini diekstraksi untuk memperoleh asam usnat, yang kemudian digunakan sebagai bahan dasar antibiotik yang ekonomis dan efektif. Di Eropa juga terdapat lichen jenis lain yang diekstraksi kandungan minyaknya untuk digunakan sebagai bahan dasar parfum. Sedangkan suku-suku di padang pasir Afrika Utara menggunakannya untuk campuran bahan baku rokok.

Lichen dapat digunakan sebagai tolok ukur adanya polusi udara, karena lichen sangat peka terhadap polusi udara, khususnya terhadap gas sulfur dioksida (SO₂). Pola munculnya tingkat-tingkat polusi udara di suatu daerah, dapat dilihat dari peta penyebaran dan jenis-jenis lichen yang tumbuh di daerah tersebut. Pengukuran dilakukan dengan cara mendata jenis-jenis lichen yang tumbuh di daerah tersebut, survey beberapa tahun berikutnya dapat menunjukkan daerah mana yang sedang mengalami polusi. Hal itu diketahui dengan tidak bertambahnya pertumbuhan lichen di daerah tersebut.

2.2. Tumbuhan Lichen *Usnea dasypoga* (Ach.) Nyl

2.2.1. Ciri dan Taksonomi *U. dasypoga* (Ach.) Nyl

Termasuk lichen *frutikosa* yang berbentuk rambut, tumbuh menempel pada kulit batang pohon. Ciri-ciri dari lichen *U.dasypoga* (Ach.) Nyl. adalah:

- Talus berbentuk benang
- Warna talus hijau keabu-abuan, hijau kekuningan, hijau merah kecoklatan.
- Hidup pada ketinggian 1000 – 1700 m di atas permukaan laut.
- Tumbuh pada kulit dahan pohon pinus yang terkena matahari langsung.
- Apotesium berbentuk perisai agak bercahaya.

Taksonomi dari tumbuhan *U.dasypoga* (Ach.) Nyl. yang diteliti adalah sebagai berikut:

Divisio : Thallophyta
Sub-divisio : Lichenes
Ordo : Ascolichenes
Familia : Usneaceae
Genus : Usnea
Species : *Usnea dasypoga* (Ach.) Nyl.



Gambar 5. Lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl.

U. dasypoga (Ach.) Nyl. memiliki daerah penyebaran yang luas mulai dari kawasan bersuhu rendah sampai kawasan tropik, baik di hutan terbuka maupun lingkungan hutan hujan.

2.2.2. Morfologi *U. dasypoga* (Ach.) Nyl.

U. dasypoga (Ach.) Nyl. merupakan lichen frutikosa yang tumbuh menempel pada kulit pohon. Tumbuhan ini banyak terdapat di daerah Provinsi Sulawesi Selatan pada ketinggian 1500 – 1700 m di atas permukaan laut, dan mendapat sinar matahari langsung. Pohon dimana *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. ini menempel adalah pohon pinus. *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. ini berjurai ke bawah, panjangnya mencapai 30 cm atau lebih. Talusnya berbentuk benang, pada umumnya bulat memanjang, cabang-cabang bervariasi, seringkali kasar, berwarna hijau kelabu, atau hijau kekuningan dan merah kecoklatan. Apotesium sedang, tumbuh ke arah sisi atau ke tengah, berbentuk perisai agak bercahaya pada umumnya berambut pada tepinya yang kecil, berbentuk lonjong dan sederhana.^(3,8,9)

2.2.3. Senyawa-senyawa Dalam Tumbuhan Lichen *Usnea sp.*^(22,24)

Lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. disebut juga dengan *U. cornuta* Korb. Dari spesies *U. dasypoga* (Ach.) Rohl. yang sudah diteliti didapat beberapa senyawa kimia sebagai berikut: (+)-asam usnat, asam salazinat, asam askorbat, asam barbatolat (asam alektorat), asam tamnolat (asam hirtelat), asam fumarprotosetrarat, atranorin, kloroatranorin, asam barbatat, asam norstiktat, asam evernat, asam 4-O-demetilbartat, asam stiktat, asam psoromat, eumitrin A₁, eumitrin A₂, eumitrin B, asam protosetrarat, asam difraktat, ergosterol, asam galbinat, canarion, diasetil canarion, metil canarion, β – orsinol karboksilat, dasypogalakton.

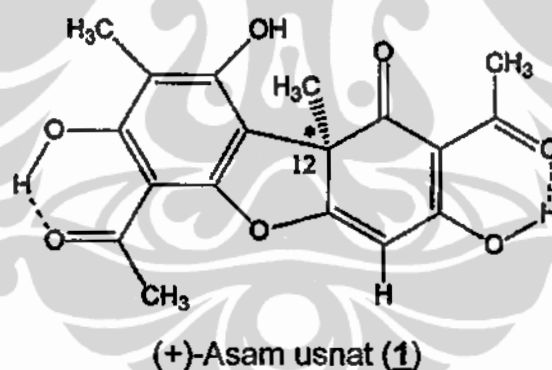
Senyawa-senyawa dalam tumbuhan lichen *Usnea* yang telah diteliti antara lain :

1) Asam usnat (C₁₈H₁₆O₇)^(22,23)

Asam usnat terdiri dari (+)-asam usnat dan (-)-asam usnat. Yang telah ditemukan dalam tumbuhan lichen *Usnea* adalah (+)-asam usnat.

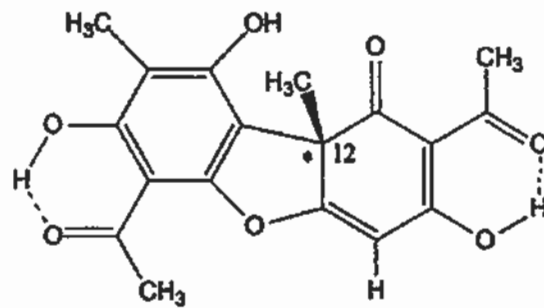
▪ **(+)-Asam usnat⁽⁸⁾**

Mempunyai titik leleh 203 – 204°C. Merupakan kristal berwarna kuning, berbentuk jarum dan mempunyai putaran optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = + 495^\circ$ (CHCl₃), dengan struktur molekul sebagai berikut:



▪ **(-)-Asam usnat^(22,23)**

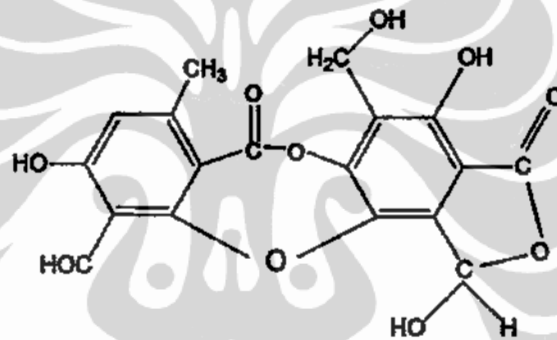
Mempunyai titik leleh 203°C. Merupakan kristal berwarna kuning, berbentuk jarum atau prisma dan mempunyai putaran optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = - 495^\circ$ (CHCl₃), dengan struktur molekul sebagai berikut:



(-)-Asam usnat (3)

2) Asam salazinat⁽²²⁾ (C₁₈H₁₂O₁₀)

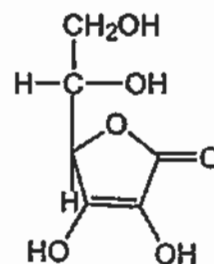
Mempunyai titik leleh 260 – 263°C. Sekarang dikenal sebagai asam norstaktik. Dengan struktur molekul sebagai berikut:



Asam salazinat (4)

3) Asam askorbat (vitamin C)⁽²²⁾ (C₆H₈O₆)

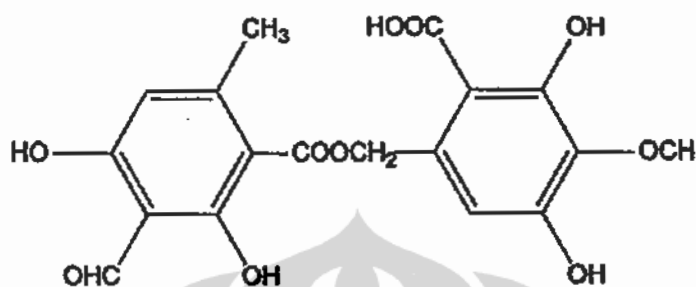
Mempunyai titik leleh 190 – 192°C, berbentuk kristal dengan putaran optik spesifik $[\alpha]_D^{25} = + 48^\circ$ (MeOH). Berikut ini struktur molekulnya:



Asam askorbat (5)

4) **Asam barbatolat (Asam alektorat) ⁽²²⁾ (C₁₈H₁₄O₁₀)**

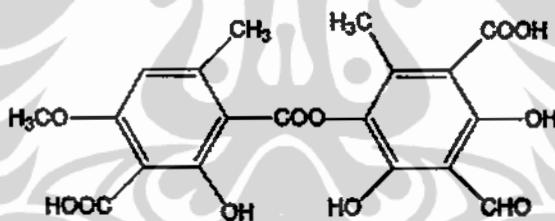
Mempunyai titik leleh 206 – 207°C dengan struktur molekul sebagai berikut:



Asam barbatolat (6)

5) **Asam tamnolat (asam hirtelat) ⁽²²⁾ (C₁₉H₁₆O₁₁)**

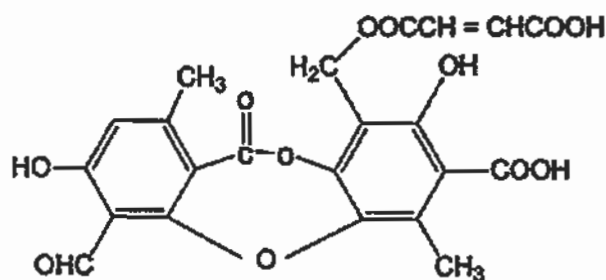
Mempunyai titik leleh 223°C dengan struktur molekul sebagai berikut:



Asam tamnolat (7)

6) **Asam Fumarprotosetrarat ⁽²²⁾ (C₂₂H₁₆O₁₂)**

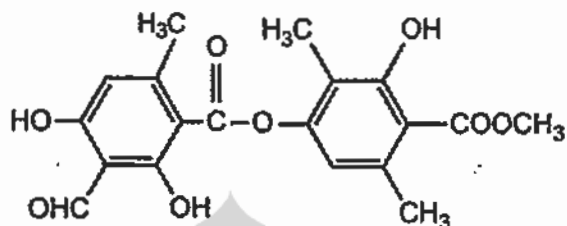
Mempunyai titik leleh 250 – 260°C (aseton) dan merupakan kristal tidak berwarna. Struktur molekulnya sebagai berikut:



Asam Fumarprotosetrarat (8)

7) **Atranorin** ⁽²²⁾ ($C_{19}H_{18}O_8$)

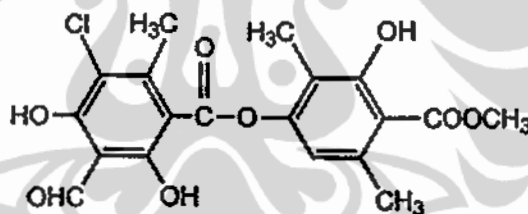
Mempunyai titik leleh $196^{\circ}C$ (aseton) dan merupakan kristal berwarna putih, dan struktur molekulnya sebagai berikut:



Atranorin (9)

8) **Kloroatranorin** ⁽²²⁾ ($C_{19}H_{17}ClO_8$)

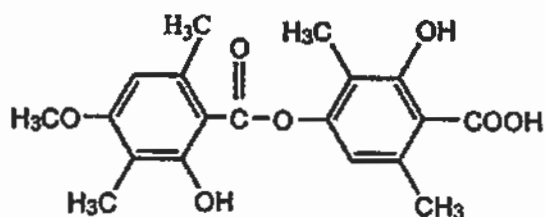
Mempunyai titik leleh $208 - 208,5^{\circ}C$ (aseton) dan merupakan kristal berwarna putih. Struktur molekulnya sebagai berikut:



Kloroatranorin (10)

9) **Asam Barbatat** ⁽²²⁾ ($C_{10}H_{20}O_7$)

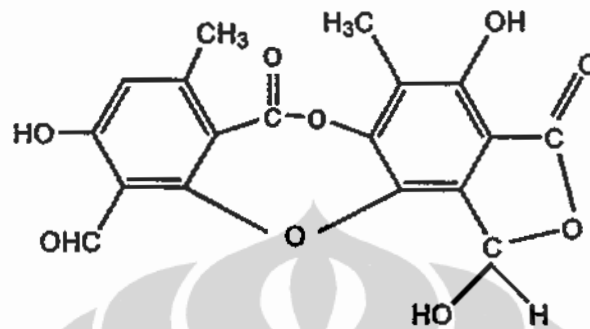
Mempunyai titik leleh $187^{\circ}C$ (benzena). Struktur molekulnya sebagai berikut:



Asam Barbatat (11)

10) Asam Norstiktat ⁽²²⁾ (C₁₈H₁₂O₉)

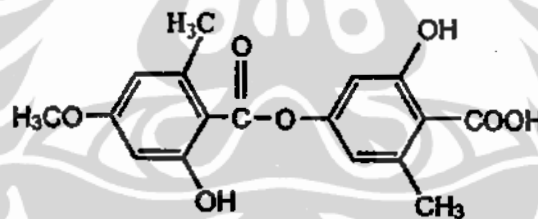
Mempunyai titik leleh 286 – 287°C (benzena) dan merupakan kristal berwarna putih. Struktur molekulnya sebagai berikut:



Asam Norstiktat (12)

11) Asam Evernat ⁽²²⁾ (C₁₇H₁₆O₇)

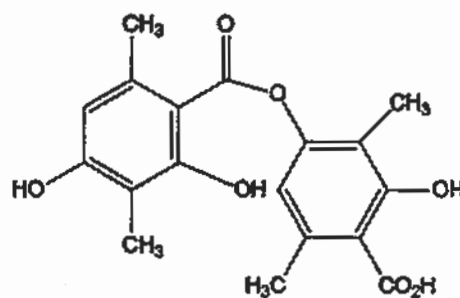
Mempunyai titik leleh 270 – 272°C (aseton) dan merupakan kristal berbentuk jarum. Struktur molekulnya sebagai berikut:



Asam Evernat (13)

12) Asam 4-O-demetilbarbartat ⁽²²⁾ (C₁₈H₁₈O₇)

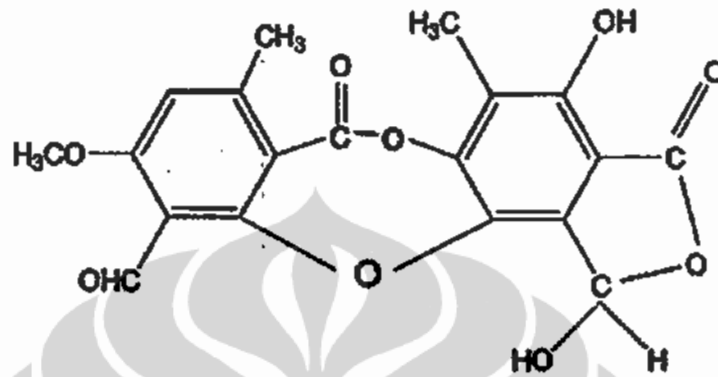
Mempunyai titik leleh 176 – 177°C (metanol - air) dan merupakan kristal berbentuk jarum. Struktur molekulnya sebagai berikut:



Asam 4-O-demetilbarbartat (14)

13) Asam Stiktat⁽²²⁾ (C₁₉H₁₄O₉)

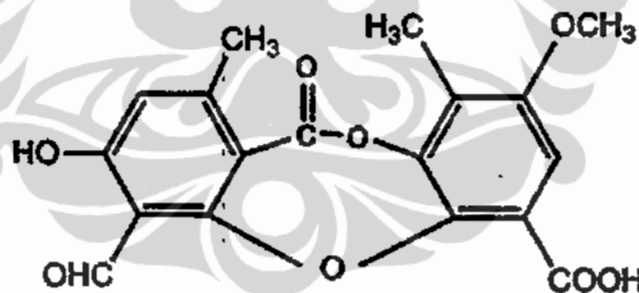
Mempunyai titik leleh 270 – 272°C (aseton) dan merupakan kristal tidak berwarna. Struktur molekulnya sebagai berikut:



Asam Stiktat (15)

14) Asam Psoromat⁽²²⁾ (C₁₈H₁₄O₈)

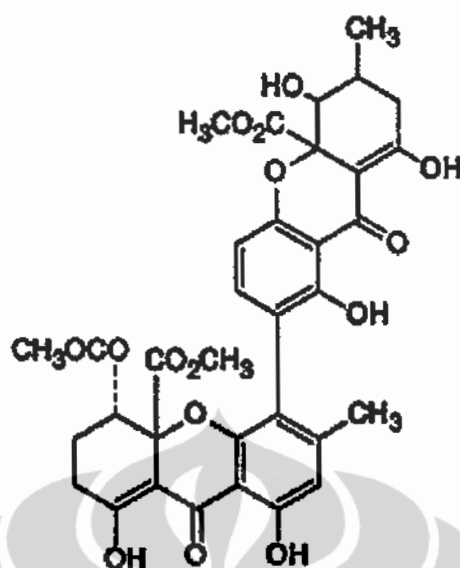
Mempunyai titik leleh 265°C (aseton) dan merupakan kristal berbentuk jarum. Struktur molekulnya sebagai berikut:



Asam Psoromat (16)

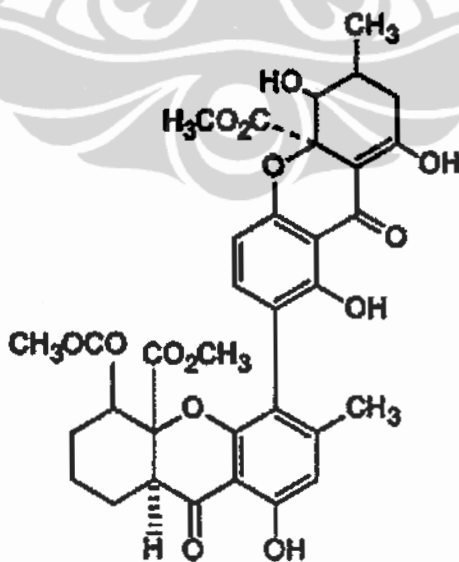
15) Eumitrin A₁⁽²³⁾ (C₃₄H₃₂O₁₅)

Mempunyai titik leleh 249 – 252°C, merupakan kristal pipih berwarna kuning dan mempunyai putaran optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = -54,2^\circ$ (dioksan). Struktur molekulnya sebagai berikut:

Eumitrin A₁ (17)

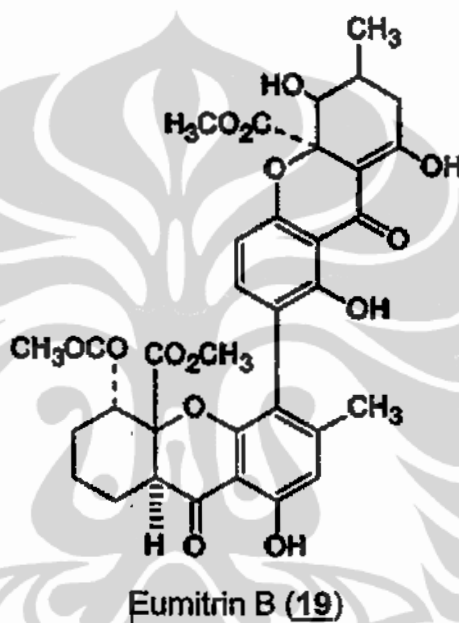
16) Eumitrin A₂⁽²³⁾ (C₃₄H₃₄O₁₄)

Mempunyai titik leleh 216 – 220°C, merupakan kristal pipih berwarna kuning dan mempunyai putaran optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = -76,7^\circ$ (dioksan). Struktur molekulnya sebagai berikut:

Eumitrin A₂ (18)

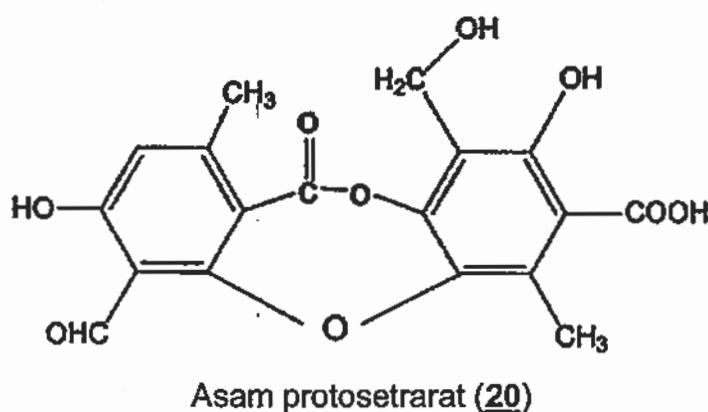
17) Eumitrin B ⁽²³⁾ (C₃₄H₃₄O₁₄)

Mempunyai titik leleh 234 – 240°C (etanol-benzena, 5:1 v/v), merupakan kristal berbentuk prisma berwarna kuning dan mempunyai putaran optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = -33,3^\circ$ (dioksan). Struktur molekulnya sebagai berikut:



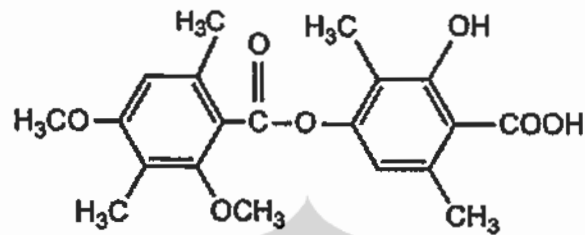
18) Asam protosetarat ⁽²²⁾ (C₈H₁₄O₉)

Mempunyai titik leleh 245 – 250°C (aseton) dan merupakan kristal tidak berwarna. Struktur molekulnya sebagai berikut:



19) Asam difraktat⁽²²⁾ (C₂₀H₂₂O₇)

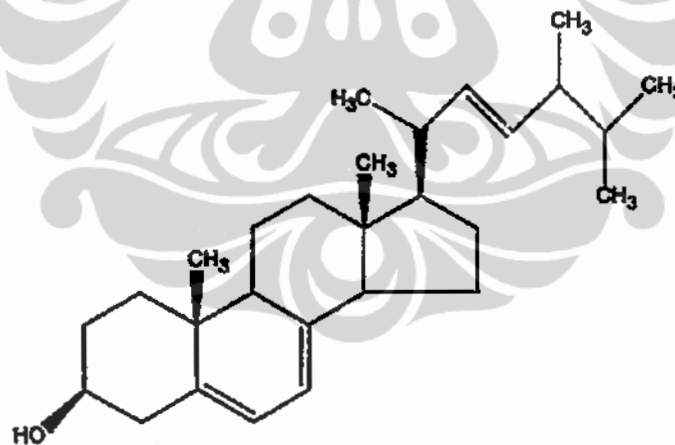
Mempunyai titik leleh 189 – 190°C (benzena). Struktur molekulnya sebagai berikut:



Asam difraktat (21)

20) Ergosterol⁽²²⁾ (C₂₈H₄₄O)

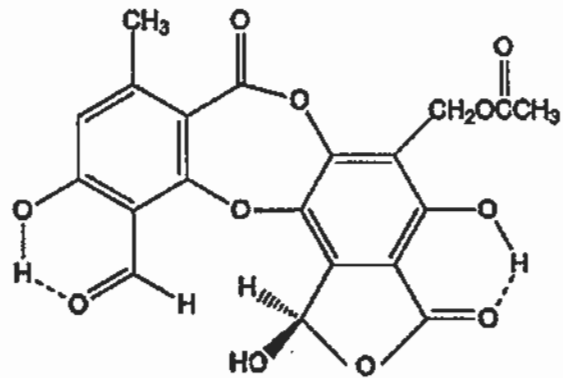
Merupakan kristal berwarna putih dengan titik leleh 160 – 163°C (etanol atau eter), dan mempunyai putaran optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = 133^\circ$ (CHCl₃). Struktur molekulnya sebagai berikut:



Ergosterol (22)

21) Asam galbinat⁽²²⁾ (C₂₀H₁₄O₁₁)

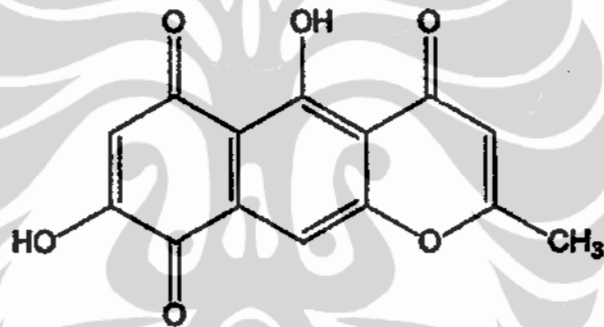
Merupakan kristal tidak berwarna, dengan titik leleh 270 – 273°C (aseton). Struktur molekulnya sebagai berikut:



Asam galbinat (23)

22) Canarion⁽²²⁾ (C₁₄H₉O₆)

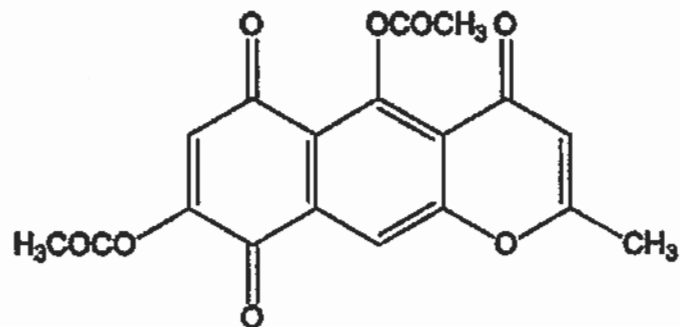
Struktur molekulnya sebagai berikut:



Canarion (24)

23) Diasetil canarion⁽²²⁾ (C₁₈H₁₂O₈)

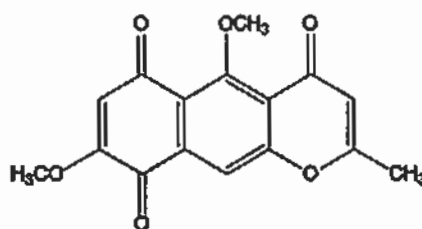
Struktur molekulnya sebagai berikut:



Diasetil canarion (26)

24) Metil canarion⁽²²⁾ (C₁₆H₁₂O₆)

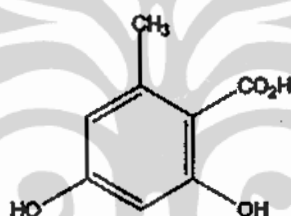
Struktur molekulnya sebagai berikut:



Metil canarion (27)

25) β – Orsinol karboksilat⁽²²⁾ (C₈H₁₅O₄)

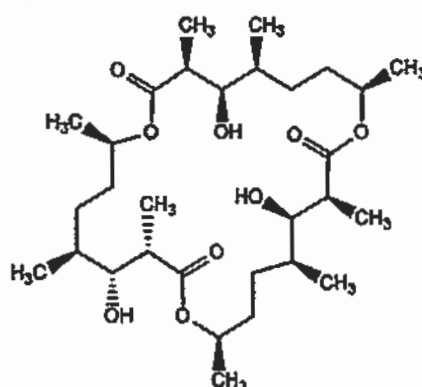
Struktur molekulnya sebagai berikut:



β – Orsinol karboksilat (28)

26) *Dasyvogalakton*⁽²⁴⁾ (C₃₀H₅₄O₉)

Senyawa ini berhasil diisolasi dari tumbuhan *U. dasyoga* Rohl yang berasal dari provinsi Jambi. Mempunyai titik leleh 108-110°C (kloroform - aseton) dan merupakan kristal yang berwarna putih. Struktur molekulnya sebagai berikut:



Dasyvogalakton (2)

2.2.4. Manfaat Tumbuhan Lichen *Usnea sp.* ^(7,23,24)

Tumbuhan ini sejak zaman dahulu sudah dikenal untuk pengobatan tradisional, antara lain digunakan sebagai obat tuberkulosa, obat disentri, obat sariawan, untuk pengobatan sakit perut, seperti mencret, dan mules. Selain itu, juga digunakan untuk obat masuk angin (sesuai dengan namanya rasuk angin), influenza, dan pegal linu. Juga digunakan sebagai bahan tambahan pada beberapa ramuan jamu yang digunakan untuk mengatasi gangguan haid, memperlancar persalinan, kejang-kejang dan kandungan kemih tertekan. Di India, *Usnea sp* ini digunakan untuk pengobatan asma, gangguan pernafasan, alergi, dan retak tulang.

Selain manfaat yang diuraikan di atas, manfaat lain yang dapat diperoleh dari tumbuhan ini adalah sebagai zat pewarna alami untuk serat wool dan zat warna pada kertas lakmus, sebagai bahan baku pada industri parfum, mampu menghambat pertumbuhan kanker dan dipakai sebagai campuran ransum pakan ternak.

Cara penggunaan tumbuhan *Usnea sp* sebagai obat tradisional, yaitu dengan merebus tumbuhan tersebut secara utuh (keseluruhan) dengan menggunakan air, kemudian diberi campuran tanaman obat tradisional lainnya seperti jahe, sirih, kunyit, dan selanjutnya air rebusan tersebut diminum. Juga tumbuhan ini dapat dipakai untuk luluran (mandi rempah) bagi wanita dan berguna sebagai bedak untuk mempercantik dan menghaluskan kulit.

2.2. Tumbuhan Lichen *Peltigera polydactyla* (Neck.) Hoffm.^(22,23,24)

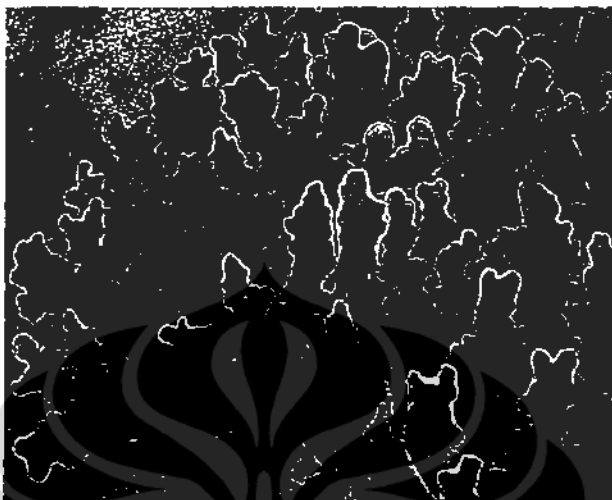
2.2.1. Ciri-ciri dan Taksonomi *P. Polydactyla* (Neck.) Hoffm.

Tumbuhan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm tergolong tumbuhan suku rendah, dikelompokkan ke dalam lichen (lumut kerak) foliosa yang berbentuk daun atau sisik. Adapun ciri-ciri dari *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. yang diteliti adalah sebagai berikut:

- Talus berbentuk lebar seperti jamur kuping.
- Warna talus abu-abu – coklat.
- Hidup pada ketinggian 1200 di atas permukaan laut.
- Apotesia berbentuk seperti kaki rusa.
- Tumbuh di atas tanah berdekatan dengan lumut, di tempat yang lembab di tepi sungai.

Taksonomi dari *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm, yang diteliti adalah sebagai berikut^(2,6):

Divisio	: Eukaryota.
Sub-divisio	: Ascomycota.
Classis	: Ascomycetes.
Subclass	: Lecanoromycetidae.
O r d o	: Peltigerales.
Familia	: Peltigeraceae.
Genus	: Peltigera.
Spesies	: <i>Peltigera Polydactyla</i> .(Neck.) Hoffm.



Gambar 6. Lichen *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.

2.2.2. Morfologi *P. Polydactyla* (Neck.) Hoffm.

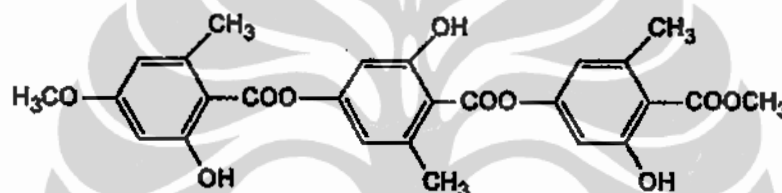
P. polydactyla (Neck.) Hoffm. merupakan lichen foliosa yang tumbuh di atas tanah. Tumbuhan ini banyak terdapat di daerah tepi sungai cagar alam gunung Halimun, Provinsi Jawa Barat, pada ketinggian 1400 – 1700 m di atas permukaan air laut, dan mendapat sinar matahari langsung. Talus berbentuk daun atau sisik melekat pada substrat yang berwarna hijau kelabu. Korteksnya mempunyai hifa di permukaan atas dan mempunyai rizin pada lapisan korteks bawah, yang melekat pada substrat. Bila akarnya berbentuk benang tidak melekat erat pada permukaan substrat.^(7,8)

2.3.3. Senyawa-senyawa Dalam Tumbuhan Lichen *Peltigera sp.* ⁽²²⁾

Dalam beberapa penelitian yang telah dilakukan pada genus *Peltigera*, baru beberapa spesies saja yang telah diisolasi senyawa kimia yang terkandung di dalamnya, yaitu tenuiorin, dolichorrhizin, zeorin, mannitol, peltidactylin, polydactylin, enzim.

1) Tenuiorin. ⁽²²⁾ (C₂₆H₂₄O₁₀)

Mempunyai titik leleh 178 – 180°C dengan struktur molekul sebagai berikut:



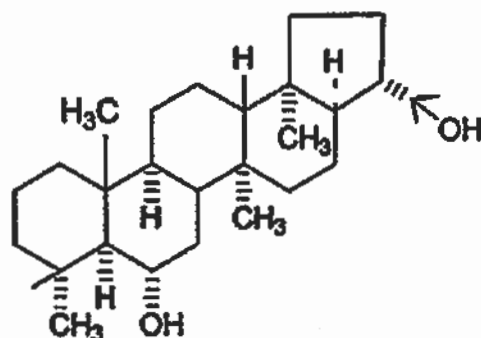
Tenuiorin (29)

2) Dolichorrhizin. ⁽²²⁾

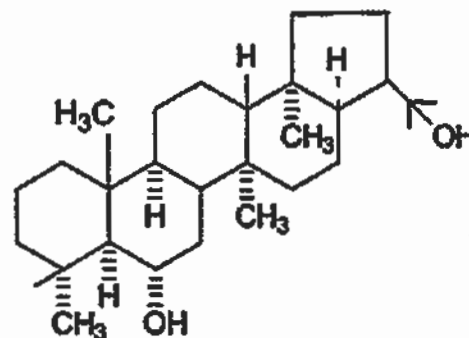
Mempunyai titik leleh 200°C, sedangkan strukturnya belum diketahui.

3) Zeorin. ⁽²²⁾ (C₃₀H₅₂O₂)

Zeorin (30a) mempunyai titik leleh: 245 – 253°C, zeorin (30b): 223 – 227°C dengan struktur molekul sebagai berikut:



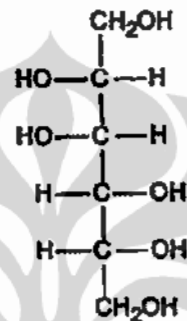
Zeorin (30a)



Zeorin (30b)

4) D-Mannitol. ⁽²²⁾ (C₆H₁₄O₆)

Mempunyai titik leleh 166-167°C (H₂O), perputaran optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = +28,3^\circ$ (Satd. Na₂B₄O₇). Senyawa ini banyak terkandung pada tumbuhan tingkat tinggi, ganggang, dan tumbuhan bukan lichen. Dengan struktur molekul sebagai berikut:



D-Mannitol (31)

5) Enzyme. ⁽²²⁾

Di antaranya: asparaginase, catalase, cellulose, depside hydrolyzing esterase.

2.3.4. Manfaat Tumbuhan Lichen *Peltigera sp.*

Manfaat tumbuhan lichen *Peltigera sp.*, secara khusus sampai saat ini belum banyak diketahui.

2.4. Uji Bioaktivitas (Bioassay)

Bioassay (*Biological assay*) diartikan sebagai suatu metode yang digunakan untuk menentukan potensi atau aktivitas suatu materi atau senyawa terhadap organisme hidup^(25,26). Bioassay mempunyai 3 komponen yaitu stimulus (perangsang), subyek dan respon. Stimulus

merupakan suatu perlakuan yang diberikan pada subyek hidup, misal: mikroorganisme, tumbuhan, hewan, jaringan tumbuhan atau jaringan hewan. Besarnya stimulus dinyatakan sebagai dosis. Respon subyek terhadap dosis yang diberikan dapat diamati dari perubahan atau kelangsungan hidup dari subyek tersebut.⁽²⁷⁾

Pengujian bioaktivitas antara lain, yaitu: uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), uji antioksidan dan uji anti kanker.

2.4.1 Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)^(10,11,12,25,26,27)

2.4.1.1. Daur Hidup *Artemia Salina* Leach

A. salina Leach merupakan salah satu *Crustaceae* tingkat rendah yang mempunyai taksonomi sebagai berikut:

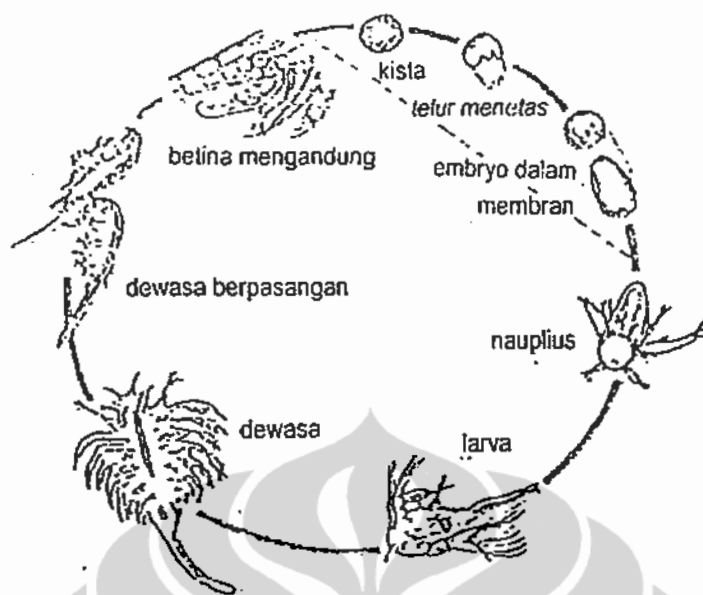
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustaceae
Sub Kelas	: Branchiopoda
Ordo	: Anostraca
Famili	: Artemidae
Genus	: Artemia
Spesies	: <i>Artemia salina</i> Leach.

Nama spesies ini diberikan oleh Schlosser, yang menemukan *A. salina* pertama kali di danau air asin pada tahun 1955⁽¹⁰⁾.

Siklus hidup *A. Salina* memerlukan waktu berkisar 25 hari. Siklus hidup ini dipengaruhi oleh suhu, pH, dan salinitas air. Suhu optimum pertumbuhannya antara 23-30°C, adapun salinitas optimum

pada saat penetasan adalah 35%, sedangkan kisaran pH terbaik bagi pertumbuhannya adalah 8-18,5^(10,11). Siklus hidup *A. Salina* adalah sebagai berikut:

- a. Telur atau kista *A. salina* berwarna coklat, dimana dalam keadaan kering berbentuk bulat berlekuk, sedangkan dalam keadaan basah berbentuk bulat penuh dan berdiameter 2,0 – 3,0 mm, beratnya berkisar antara 1,60 – 2,20 µg. Telur ini dapat disimpan selama bertahun-tahun di tempat yang tidak berhubungan langsung dengan udara dan tidak terkena sinar matahari. Untuk menetas telur *A. salina* digunakan air laut dengan salinitas antara 5 – 70%, dimana setelah 24 – 48 jam cangkang telur akan pecah dan timbul embrio yang masih terbungkus selaput.
- b. *Nauplius* atau anak udang atau nener *A. salina* terbentuk setelah selaput robek. Mempunyai panjang antara 4,70 – 4,75 mm, dan dapat berenang, berwarna kuning kecoklatan kerana masih mengandung kuning telur.
- c. Umur *A. salina* dewasa berkisar antara 7 – 15 hari, bergantung pada lingkungannya, mempunyai mata majemuk dan bertangkai *antenulae*, alat cerna yang memanjang serta 11 pasang *thoracopoda*. *A. salina* di alam makanannya adalah fitoplankton dan bakteri, sedangkan di laboratorium makanannya dedak halus atau tepung terigu. Gambar daur hidup *A. salina* Leach adalah sebagai berikut:^(10,11)



Gambar 7. Siklus hidup *A. salina* Leach

2.4.1.2. Manfaat *A. salina* Leach

- ❖ *A. salina* merupakan makanan yang ideal bagi ikan dan udang, karena kandungan gizinya yang tinggi dan dapat juga untuk melakukan uji pendahuluan efek biologis secara umum dari ekstrak atau senyawa hasil isolasi suatu bahan alam. Dasar dari pengujian *A. salina* sebagai bahan uji efek biologis, yaitu suatu kenyataan, bahwa senyawa yang bersifat aktif, biasanya bersifat racun/toksik terhadap sel hidup pada konsentrasi tinggi dan diharapkan dapat berkhasiat sebagai obat pada konsentrasi yang tepat.
- ❖ *A. salina* Leach digunakan untuk uji bioaktivitas secara umum bagi abstrak tumbuh-tumbuhan, dan dilakukan untuk pertama kali oleh Meyer dan Ferrigni pada Institut Kanker di Amerika^(10,11).

A. *salina* Leach banyak digunakan sebagai bahan uji pendahuluan bioaktivitas, karena caranya mudah, murah, cepat, mudah didapat, sampel yang digunakan sedikit, hasilnya dapat dipercaya dan bersifat umum serta tidak memerlukan laboratorium yang khusus.^(11,12)

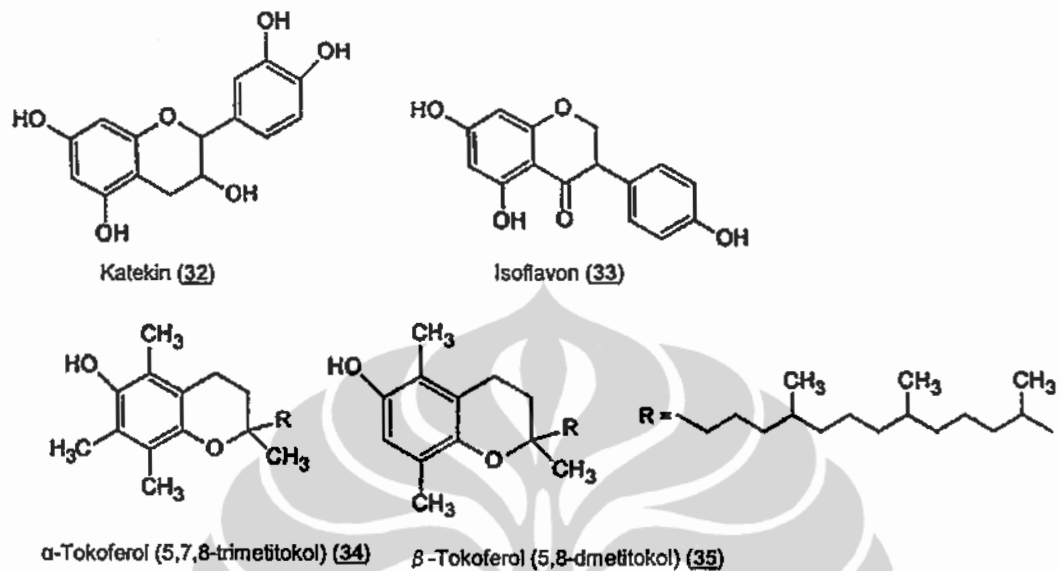
2.4.2. Uji Antioksidan

2.4.2.1. Pengertian Antioksidan

Antioksidan antara lain didefinisikan sebagai zat yang pada konsentrasi lebih rendah dari substratnya, secara nyata dapat menunda atau mencegah reaksi oksidasi dengan cara menghentikan reaksi berantai akibat timbulnya radikal bebas⁽¹⁵⁾. Antioksidan juga diistilahkan sebagai zat peredam atau pemerangkap (*scavenger*) radikal bebas, yaitu substansi atau molekul yang dapat bereaksi dengan radikal bebas dan berfungsi menetralkan radikal bebas tersebut.⁽¹⁶⁾

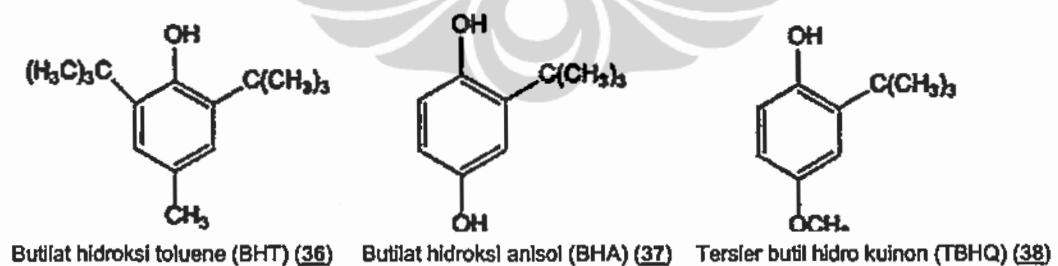
Antioksidan biasanya digunakan pada senyawa-senyawa kimia yang mudah teroksidasi, misalnya sel hidup, makanan dan produk yang mudah teroksidasi. Antioksidan yang sering digunakan pada bahan makanan adalah antioksidan sintesis seperti BHT (Butylated Hydroxy Toluena) dan BHA (Butylated Hidroxy Anisol), tetapi antioksidan ini dapat menimbulkan efek-efek negatif, sama halnya dengan bahan tambahan makanan sintetik lainnya, yaitu bersifat toksik/racun. Untuk menghindarkan hal tersebut, diperlukan antioksidan yang berasal dari alam sebagai alternatif dalam pencegahan efek negatif yang

ditimbulkan⁽¹⁷⁾. Beberapa contoh antioksidan alami adalah katekin, isoflavon, α - dan β -tokoferol, dengan struktur molekul sebagai berikut:



Gambar 8. Molekul antioksidan alami⁽¹⁷⁾

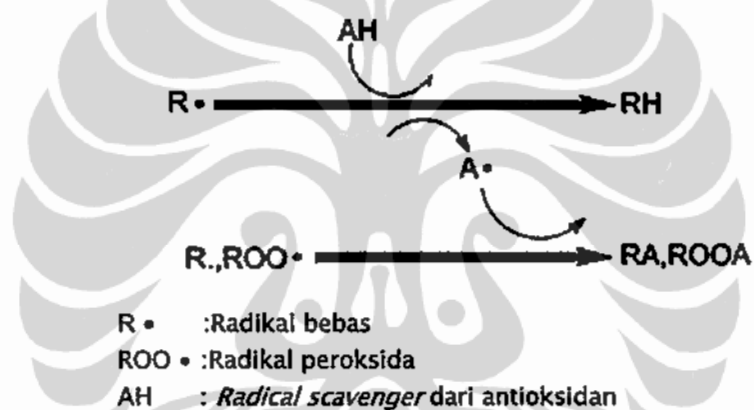
Adapun contoh antioksidan sintetik adalah BHA, BHT, dan TBHQ (Tersier Butil Hidro Kuinon) dengan struktur molekul sebagai berikut:



Gambar 9. Molekul antioksidan sintetik⁽¹⁷⁾

2.4.2.2. Metode Pengukuran Aktivitas Antioksidan.

Salah satu metode pengukuran aktivitas antioksidan adalah Metode *Radical Scavenger*. Suatu antioksidan dapat bertindak sebagai donor hidrogen atau akseptor elektron. Penyerahan atom hidrogen oleh antioksidan yang bertindak sebagai donor hidrogen, merupakan tahap awal dari mekanisme antioksidan melalui metode *radical scavenger* (pemerangkap). Adapun mekanisme reaksi *radical scavenger* adalah sebagai berikut:



Gambar 10: Mekanisme reaksi *radical scavenger*⁽⁴⁾.

Pada mekanisme *radical scavenger*, bila asam lemak diberi suatu inisiator seperti cahaya, panas, enzim, atau logam berat, maka akan terjadi tahap reaksi inisiasi, sehingga terbentuk radikal bebas ($R\cdot$). Selanjutnya radikal bebas ini akan bereaksi dengan oksigen (O_2) membentuk radikal peroksida ($ROO\cdot$) yang sangat reaktif. Radikal-radikal yang terbentuk dapat dideaktivasi menggunakan senyawa yang dikenal sebagai *radical scavenger*. Pada tahap awal, mekanisme *radical scavenger* ini akan bertindak sebagai donor hidrogen pada radikal bebas, sehingga terjadi penghambatan dalam pembentukan radikal peroksida.

2.4.4. Uji Anti Kanker

Uji anti kanker yang digunakan adalah uji aktivitas sitotoksik terhadap sel murni leukemia P – 388 mengikuti standar NCI (National Cancer Institute) yaitu berdasarkan metode Alley⁽²⁸⁾. Efek sitotoksik terhadap sel uji tumor (*malignant cell lines*) secara in vitro menurut Alley dikategorikan sangat aktif (++) untuk nilai $IC_{50} < 2 \mu\text{g/mL}$, aktif (+) bila $IC_{50} = 2 - 4 \mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif bila $IC_{50} > 4 \mu\text{g/mL}$. Kategori berdasarkan satuan $\mu\text{g/mL}$ memiliki kelemahan, karena tidak memperhatikan ukuran (berat) molekul.

Kategori Ito *et al.*⁽²⁹⁾, yaitu berdasarkan hasil kerja sitotoksik terhadap beberapa sel uji kanker dari senyawa-senyawa oligomer resveratrol, dinyatakan bahwa senyawa sangat aktif (++) bila memiliki $IC_{50} < 10 \mu\text{M}$, aktif (+) bila memiliki nilai $IC_{50} 10 - 20 \mu\text{M}$, dan tidak aktif mulai $IC_{50} > 20 \mu\text{M}$.

BAB III

METODE DAN HASIL PENELITIAN

3.1. Bahan Kimia dan Alat-alat Yang Digunakan

Tumbuhan yang diteliti adalah talus *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. yang diambil dari pegunungan Malino, kecamatan Tinggi Moncong, kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan, pada tahun 2006. Sedangkan talus *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. diambil dari Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat, pada tahun 2006. Identifikasi dilakukan pada Herbarium Bogorienses, Bogor.

3.1.1. Bahan-bahan Kimia Yang Digunakan

Dalam penelitian ini digunakan bahan-bahan kimia, yaitu:

<i>n</i> -heksana	Natrium asetat
Amilalkohol	Natrium hidroksida
Ammonia	Pereaksi dragendorf
Aseton	Toluena
Asam asetat	Etil asetat
Asam klorida	Serbuk magnesium
Asam sulfat pekat	Pereaksi Stiasny
Aquadest	Kalsium hipoklorit
Barium klorida	Kalium hidroksida
Besi (iii) klorida	Kloroform
Bismut nitrat	Kalium iodida

Formaldehida

Pereaksi Mayer

Merkuri klorida

3.1.2. Alat-alat Yang Digunakan

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Peralatan maserasi
- b. Rotary evaporator (penguap putar)
- c. Peralatan kromatografi kolom
- d. Peralatan kromatografi lapis tipis
- e. Spektrofotometer infra merah (FT-IR)
- f. Spektrofotometer ultra lembayung (UV)
- g. Spektrometer Liquid Chromatography- Massa (LC - MS)
- h. Spektrometer resonansi magnetik inti (NMR)
- i. Peralatan gelas
- j. Lampu UV
- k. Melting point apparatus
- l. Polarimeter.

3.2. Tahapan Penelitian

Isolasi dan penentuan struktur molekul senyawa kimia serta pengujian bioaktivitas pada talus lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm., dilakukan melalui rancangan penelitian, yang meliputi: penyiapan sampel dan pembuatan ekstrak, isolasi senyawa, penentuan struktur molekul dan uji bioaktivitas.

3.2.1. Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan dalam penelitian ini adalah:

- a. Penyiapan sampel
- b. Pemeriksaan kimia serbuk simplisia (penapisan fitokimia)
- c. Uji pewarnaan khusus lichen
- d. Maserasi dan isolasi
- e. Uji bercak
- f. Penentuan sifat-sifat fisika
- g. Analisis data spektra
- h. Uji aktivitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), antioksidan dan anti kanker

3.2.2. Penyiapan Sampel dan Pembuatan Ekstrak

Talus tumbuhan lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl, sebanyak 1 kg dibersihkan, dicuci dengan air, kemudian diangin-anginkan sampai kering. Setelah kering, simplisia dihaluskan dengan menggunakan blender, sampai halus. Kemudian ditimbang, didapat ± 700 g, dan selanjutnya dimaserasi, selama 72 jam. Sebagai eluen digunakan pelarut aseton, pemilihan pelarut aseton karena senyawa lichen yang diharapkan mempunyai kepolaran yang sama dengan aseton (semi polar). Dari hasil ekstrak yang diperoleh, selanjutnya pelarut diuapkan dengan menggunakan penguap putar (rotavapor). Didapat ekstrak kasar *U. dasypoga* dalam aseton yang berwarna coklat-kuning.

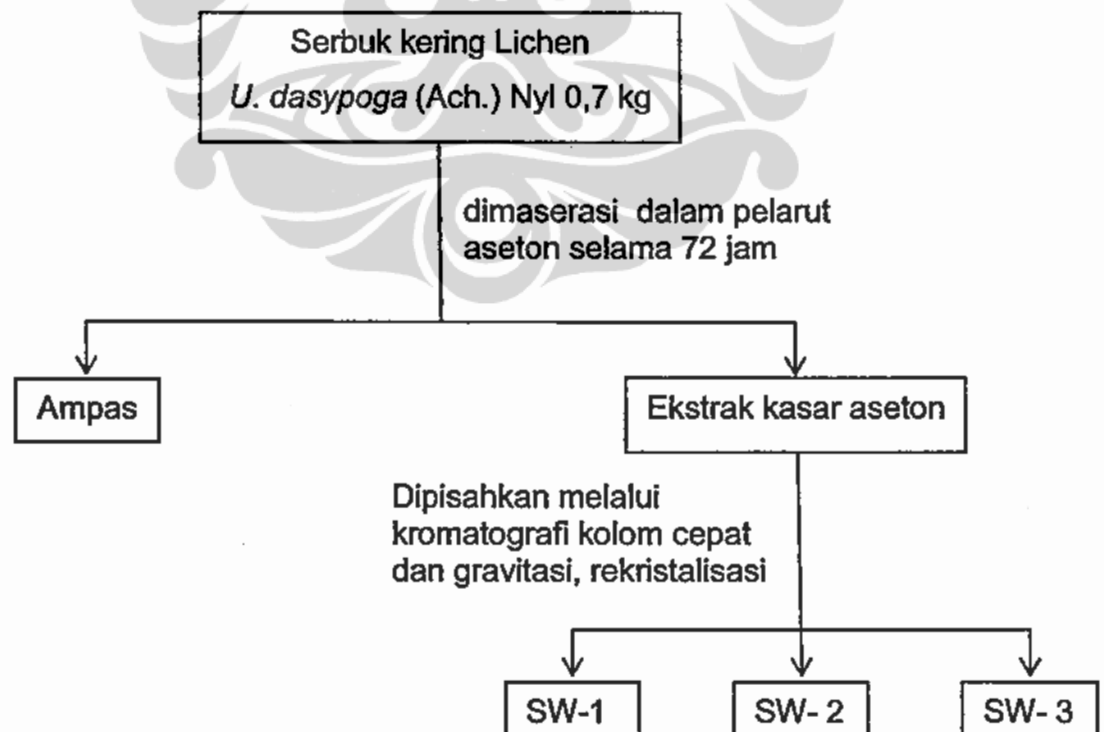
Talus tumbuhan lichen *P. polydactyla* sebanyak 2 kg dibersihkan dari pengotomnya yang melekat, dan dicuci dengan air,

kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering, simplisia diblender, sampai halus. Kemudian ditimbang, didapat $\pm 1,5$ kg, dimaserasi, selama 72 jam. Sebagai eluen digunakan pelarut aseton, hasil ekstrak yang diperoleh pelarutnya diuapkan dengan menggunakan penguap putar (rotavapor). Didapat ekstrak kasar *P. polydactyla* dalam aseton yang berwarna coklat tua.

3.2.3. Skema Isolasi Sampel

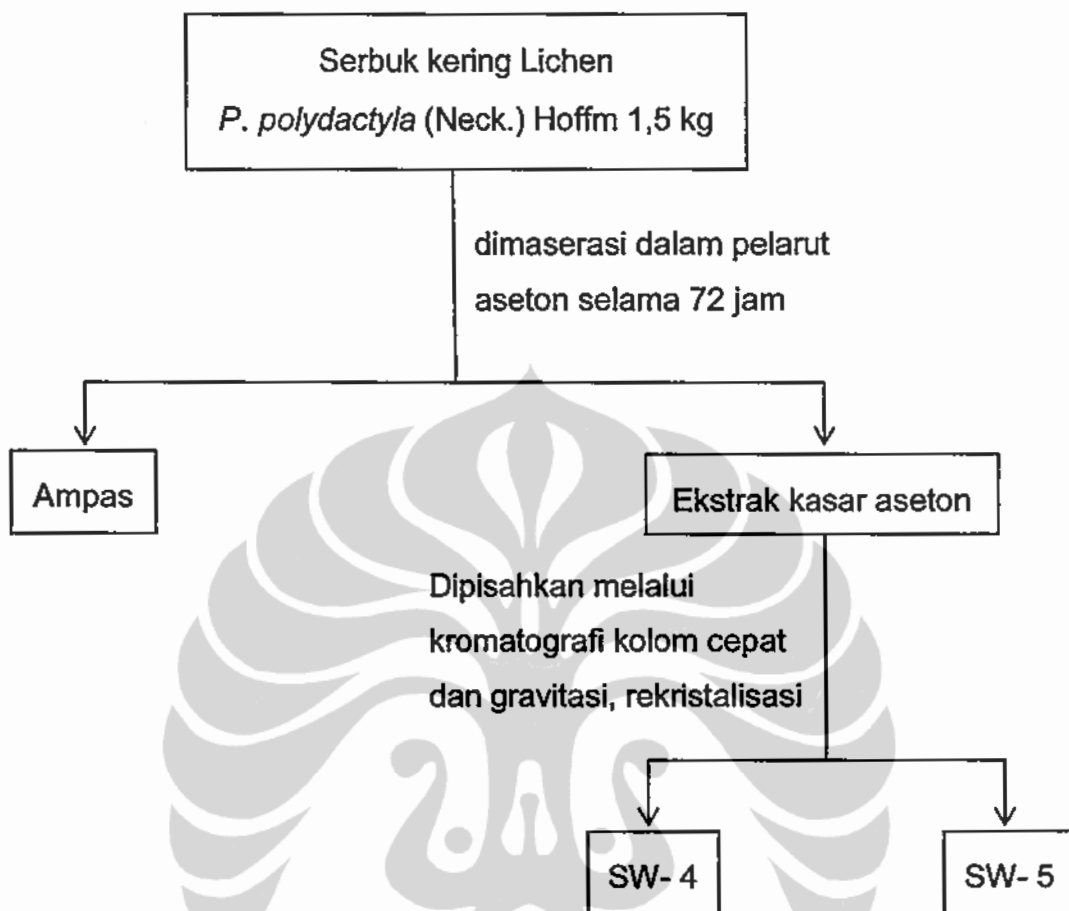
Sebelum isolasi sampel, terlebih dahulu dilakukan penapisan fitokimia dan uji pewarnaan khusus lichen. Urutan proses isolasi senyawa dapat dilihat pada gambar berikut:

a. Skema Isolasi *U. dasypoga* (Ach.) Nyl



Gambar 11. Skema isolasi *U. dasypoga* (Ach.) Nyl.

b. Skema Isolasi *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.



Gambar 12. Skema isolasi *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.

3.2.4. Isolasi Sampel

Dari ekstrak kasar aseton yang diperoleh, dikeringkan dan ditimbang. Terhadap masing-masing ekstrak kasar dilakukan pemeriksaan noda (uji bercak) dengan metoda kromatografi lapis tipis (KLT), untuk mengetahui jumlah komponen yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Ada tiga sistem pelarut yang dapat digunakan sebagai fasa gerak dalam *chamber* yaitu:

Sistem A : toluena / dioksana / asam asetat (180 / 45 / 5)mL.

Sistem B : *n*-heksana / dietil eter / asam format (130 / 80 / 20)mL.

Sistem C : toluena / asam asetat (100 / 15)mL.^(13,14)

Untuk homogenitas fasa gerak, digunakan sehelai kertas yang diletakkan pada dinding *chamber* dan ditutup, sebelum plat kromatografi lapis tipis (KLT) dimasukkan. Dari uji yang dilakukan pada ketiga sistem pelarut di atas, didapat sistem C yang menunjukkan pemisahan komponen yang terbaik. Setelah pengujian di atas, kemudian dilakukan isolasi senyawa dengan menggunakan metode kromatografi kolom.

Masing-masing ekstrak kasar dipisahkan melalui kromatografi kolom cepat dengan fasa diam Kiesel gel 60 F.235, dengan eluen *n*-heksana – etil asetat. Cairan yang didapat dipisahkan berdasarkan fraksi-fraksinya. Setiap fraksi yang diperoleh, dikisatkan pelarutnya dengan menggunakan rotavapor, diperiksa uji bercak dengan KLT dan fraksi-fraksi yang mempunyai harga R_f yang sama digabungkan.

Bila belum didapat satu noda, dapat dilakukan kembali pemisahan dengan kolom kromatografi gravitasi, dipisahkan berdasarkan fraksi-fraksinya, dan pelarutnya diuapkan dengan rotavapor. Perlakuan di atas dapat dilakukan berkali-kali sampai didapat satu noda atau dilakukan rekristalisasi dengan menggunakan berbagai pelarut, dengan metode *trial and error*, sampai didapat senyawa murni. Pemurnian tersebut dilakukan pada masing-masing ekstrak kasar yang diperoleh.

3.2.5. Penentuan Struktur Molekul

Senyawa-senyawa murni yang didapat dari hasil isolasi, ditentukan sifat fisiknya. Untuk menentukan struktur molekulnya dilakukan analisis spektroskopi menggunakan spektrofotometer infra merah (FT-IR), spektrofotometer UV-VIS, spektrometer resonansi magnetik inti proton, spektrometer resonansi magnetik inti karbon, mencakup HMQC ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$), HMBC ($^1\text{H} - ^{13}\text{C}$) dan spektrometer LC - MS, polarimeter, melting point apparatus dan lain-lain.

3.3. Prosedur dan Hasil Penelitian

3.3.1. Prosedur dan Hasil Pemeriksaan Kimia Serbuk Simplisia (penapisan fitokimia)⁽¹⁸⁾

Prosedur dan hasil dari penapisan fitokimia adalah sebagai berikut:

a. Identifikasi Alkaloida

Serbuk simplisia sebanyak 2 g dilembabkan dengan 5 mL ammonia (NH_3) 30%, dan selanjutnya digerus dalam montar, kemudian ditambahkan 20 mL kloroform (CHCl_3) dan digerus kembali dengan kuat. Campuran tersebut disaring, filtrat larutan organik diambil sebagai larutan A, kemudian diekstraksi dengan larutan asam klorida (HCl) 1 : 10, sehingga diperoleh larutan B. Larutan A ditetaskan pada kertas saring dan disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Bila terbentuk warna merah atau jingga pada kertas saring, menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloida. Hasil yang diperoleh, tidak menyebabkan terjadi perubahan warna.

Larutan B dimasukkan dalam dua tabung reaksi, masing-masing tabung ditambahkan pereaksi Dragendorff dan Meyer. Bila terbentuk endapan merah bata dengan pereaksi Dragendorff atau endapan putih dengan pereaksi Meyer, menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloida. Hasil yang diperoleh tidak menyebabkan terbentuk endapan merah bata dengan pereaksi Dragendorff maupun endapan putih dengan pereaksi Meyer, maka kesimpulannya bahwa di dalam larutan uji tidak ditemukan senyawa alkaloida.

1. Pereaksi Dragendorff⁽¹⁹⁾

❖ Pembuatan Larutan A

1,7 g bismuth nitrat basa dalam 20mL asam asetat, ditambah 80mL air dan larutan 40 g kalium iodida dalam 100mL air serta 200mL asam asetat. Selanjutnya campuran di atas diencerkan dengan air secukupnya sampai volume 1000 mL.

❖ Larutan B adalah:

Larutan barium klorida 20%.

❖ Pembuatan Pereaksi Semprot

Dicampurkan larutan A dan B dengan perbandingan volume 2 : 1, dan larutan setiap kali dibuat baru bila hendak digunakan.

2. Pereaksi Meyer⁽²⁰⁾, pembuatannya sebagai berikut:

1,36 g merkuri klorida (HgCl_2) dalam 50 mL air, ditambah 3 g kalium iodida (KI) kemudian ditambah air sampai volume 100 mL.

b. Identifikasi Flavonoida⁽¹⁸⁾

1 g serbuk simplisia ditambah dengan 100 mL air panas, selanjutnya dididihkan selama 5 menit. Setelah disaring, filtrat digunakan sebagai larutan percobaan. Ke dalam 5 mL larutan percobaan ditambahkan serbuk atau lempeng Magnesium dan 1 mL asam klorida (HCl) pekat. Kemudian ditambahkan amilalkohol, dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga terjadi pemisahan. Terbentuknya warna dalam amilalkohol, menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoida. Hasil yang diperoleh, ternyata tidak menunjukkan terjadinya perubahan warna, maka disimpulkan bahwa di dalam larutan uji tidak terdapat senyawa flavonoida.

c. Identifikasi Saponin⁽¹⁸⁾

1 g serbuk simplisia ditambah 100 mL air panas, selanjutnya dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring, dan filtratnya digunakan sebagai larutan percobaan. Sebanyak 10 mL larutan percobaan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok secara vertikal selama 10 detik. Selanjutnya dibiarkan selama 10 menit. Terbentuknya busa yang stabil dalam tabung reaksi, menunjukkan adanya senyawa golongan saponin, meskipun ditambah dengan 1 tetes asam klorida (HCl) 1%. Ternyata dari pemeriksaan sampel

menghasilkan busa yang stabil, maka berarti ekstrak mengandung saponin.

d. Identifikasi Tanin⁽¹⁸⁾

Sebanyak 10 g serbuk simplisia dan 100 mL air dididihkan selama 14 menit, setelah dingin disaring dan filtratnya dibagi dua. Ke dalam filtrat yang pertama ditambahkan larutan besi (III) klorida (FeCl_3) 1%. Terbentuknya warna biru tua dan hijau kehitaman, menunjukkan adanya senyawa golongan tanin. Ke dalam filtrat yang kedua ditambahkan 15 mL pereaksi Stiasny, yaitu: formaldehida (HCHO) 30% dan asam klorida (HCl) pekat (2 : 1), dipanaskan dalam pemanas air. Terbentuknya endapan warna merah muda menunjukkan adanya taninkatekuat. Selanjutnya endapan disaring, filtrat dijenuhkan dengan natrium asetat (CH_3COONa), ditambahkan beberapa tetes besi (III) klorida (FeCl_3) 1%. Terbentuknya warna biru tinta menunjukkan adanya tanin galat. Hasil yang diperoleh tidak menunjukkan terjadinya perubahan warna, maka dapat disimpulkan bahwa di dalam ekstrak tidak terdapat senyawa tanin.

e. Identifikasi Kuinon⁽¹⁸⁾

1 g serbuk simplisia dan 100 mL air panas dididihkan selama 5 menit. Kemudian disaring, filtratnya digunakan sebagai larutan percobaan. Pada larutan percobaan ditambahkan beberapa tetes larutan natrium hidroksida (NaOH) 1 N. Terbentuknya warna merah, menunjukkan adanya senyawa golongan kuinon. Hasil

yang diperoleh memperlihatkan terbentuknya warna merah, berarti di dalam ekstrak terdapat senyawa kuinon.

f. Identifikasi Steroida dan Triterpenoida⁽¹⁸⁾

1 g serbuk simplisia dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam, sesudah itu disaring dan diambil filtratnya. Dari filtrat tersebut, diambil sebanyak 5 mL, kemudian diuapkan di dalam cawan penguap, hingga diperoleh residu. Selanjutnya ke dalam residu tersebut ditambahkan 2 tetes anhidrida asetat, dan kemudian 1 tetes asam sulfat (H_2SO_4) pekat. Terbentuknya warna merah atau hijau menunjukkan adanya senyawa golongan Steroida atau triterpenoida. Hasil yang diperoleh memperlihatkan terbentuknya warna hijau, berarti pada ekstrak terdapat senyawa dari golongan triterpenoida.

Hasil penapisan fitokimia dari serbuk simplisia *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl.

Jenis Senyawa	Hasil Uji
a. Alkaloida	Negatif
b. Flavonoida	Negatif
c. Saponin	Positif
d. Tannin	Negatif
e. Kuinon	Positif
f. Steroida dan Triterpenoida	Positif

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia lichen *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.

Jenis Senyawa	Hasil Uji
a. Alkaloida	Negatif
b. Flavonoida	Negatif
c. Saponin	Positif
d. Tannin	Negatif
e. Kuinon	Negatif
f. Steroida dan Triterpenoida	Positif

3.3.2. Prosedur dan Hasil Pewarnaan Khusus Lichen. ⁽³²⁾

Identifikasi secara umum senyawa yang terdapat dalam tumbuhan lichen dapat dilakukan dengan menggunakan reaksi pewarnaan. Ada tiga jenis pereaksi penting yang digunakan untuk reaksi pewarnaan tersebut, yaitu :

- Kalsium hipoklorit, $\text{Ca}(\text{OCI})_2$ atau kaporit, disingkat dengan pereaksi C.
- Kalium hidroksida, KOH, disingkat pereaksi K.
- p-Fenilindiamina, $2\text{HNC}_6\text{H}_4\text{NH}_2$, disingkat dengan pereaksi PD atau P.

Pereaksi C dan K diperkenalkan untuk pertama kalinya oleh Nylander pada tahun 1866, sedangkan pereaksi PD diperkenalkan oleh Asahina untuk pertama kalinya pada tahun 1934.

Penyediaan bahan percobaan pengujian warna

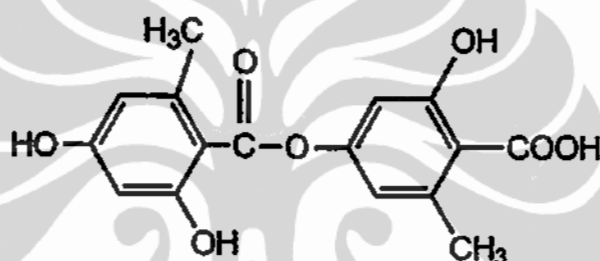
Reaksi identifikasi dengan cara reaksi pewarnaan ini, dikerjakan langsung terhadap talus atau bagian tumbuhan lichen lainnya. Pada apotesia akan memberikan hasil reaksi pewarnaan yang berbeda,

jika dibandingkan dengan hasil reaksi pewarnaan yang dilakukan terhadap talusnya. Mula-mula talus lichen atau bagian tumbuhan lichen lainnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian dijadikan serbuk atau dihancurkan. Terutama apabila talusnya berwarna agak gelap, maka reaksi pewarnaan ini dapat dilakukan dengan metode kertas saring, yaitu dengan cara; serbuk atau hancuran talus lichen diletakkan di atas kertas saring, kemudian ditetaskan aseton di atasnya. Tetesan aseton tersebut dibiarkan menguap dengan sendirinya hingga kering. Penetasan dan pengeringan tersebut dapat dilakukan berulang kali, sampai jumlah senyawa yang dapat terekstraksi secara mikro ekstraksi cukup, dan membentuk lingkaran di sekitar serbuk atau hancuran lichen yang diuji, di atas kertas saring yang digunakan. Kemudian, serbuk atau hancuran talus lichen yang sudah diekstraksi tersebut, disingkirkan dari atas kertas saring dan reaksi pewarnaan dikerjakan di atas kertas saring tersebut. Kertas saring di atas, merupakan bahan dasar dalam pengerjaan reaksi pewarnaan dan selanjutnya digunakan untuk identifikasi secara umum terhadap kandungan senyawa yang ada dalam lichen.

a. Perekasi C

Perekasi C, yaitu kalsium hipoklorit, $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, disebut juga kaporit atau dapat juga digunakan larutan pemutih (*bleaching solution*). Digunakan dalam bentuk larutan jenuh, disimpan dalam botol berwarna gelap dan hanya dapat digunakan/bertahan untuk satu hari saja. Digunakan larutan *fresh* (larutan yang baru dibuat bila hendak digunakan). Disarankan dilakukan tes pendahuluan/

percobaan dengan talus lichen yang sudah dikenal hasil reaksi pewarnaannya, misalnya: talus *Umbilliciaea pustulata*, dengan pereaksi C akan memberikan warna jingga. Bila hasil reaksi pewarnaan memberikan warna jingga hingga merah, berarti hasilnya positif. Sebagai contoh: suatu contoh lichen dengan pereaksi C akan memberikan warna merah, berarti di dalam lichen tersebut mengandung asam lekanorat, yaitu senyawa aromatik dengan gugus hidroksi fenolik bebas pada posisi meta.



Asam lekanorat (39)

Tetapi bila posisi di antara kedua gugus fenolik bebas tersebut tersubstitusi oleh gugus alkil atau gugus yang sejenisnya/mirip, maka dengan pereaksi C akan memberikan hasil negatif, contoh pada senyawa atranorin.

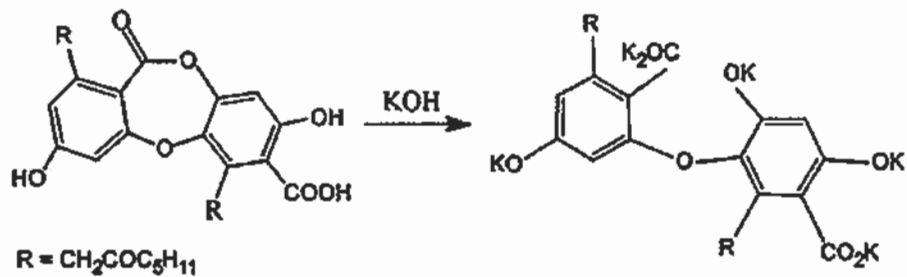
Senyawa turunan dibenzofuran, dengan pengecualian asam schizopeltat, akan memberikan hasil reaksi pewarnaan yang positif dengan pereaksi C, yaitu memberikan warna hijau, dan kadang-kadang hasil reaksi pewarnaan tersebut sulit untuk dikenali, oleh karena warnanya hijau muda sekali. Pada reaksi pewarnaan dengan pereaksi C, senyawa fenolik akan terklorinasi menjadi monomer yang berwarna atau bersenyawa fenolik tersebut teroksidasi menjadi dimer

kuinon. Hasil yang diperoleh, bila dengan penambahan pereaksi C tidak memberikan perubahan warna, berarti pada talus tidak terdapat senyawa dari turunan dibenzofuran atau senyawa aromatik dengan gugus hidroksi fenolik bebas pada posisi *meta*.

b. Pereaksi K

Pereaksi K adalah larutan kalium hidroksida, KOH, dengan konsentrasi antara 5% hingga 25%, yang harus disimpan dalam botol yang tertutup rapat. Pereaksi K dengan senyawaan yang berasal dari lichen yang berwarna dan senyawa turunan kuinon, misalnya parietin, akan memberikan hasil pewarnaan yang positif, yaitu memberi warna merah tua hingga ungu. Sedangkan asam tetionat, ksanton dan asam usnat dengan pereaksi K, memberikan hasil yang negatif. Banyak senyawa turunan dari Depsida atau Depsidon yang tidak berwarna, dengan pereaksi K memberikan hasil reaksi pewarnaan yang positif, yaitu memberikan warna kuning hingga merah. Reaksi kimia yang terjadi dengan pereaksi K tersebut, disebabkan karena terjadinya pembentukan garam kalium yang berwarna.

Walaupun hasil reaksi pewarnaan dengan pereaksi K atau pereaksi C adalah negatif, tetapi masih bisa dilakukan reaksi pewarnaan kombinasi, yaitu mula-mula dengan pereaksi K, berikutnya baru dilakukan dengan pereaksi C (disebut pereaksi KC). Sebagai contoh asam alektonorat, dengan pereaksi KC memberikan hasil reaksi pewarnaan yang positif, yaitu memberikan warna merah.



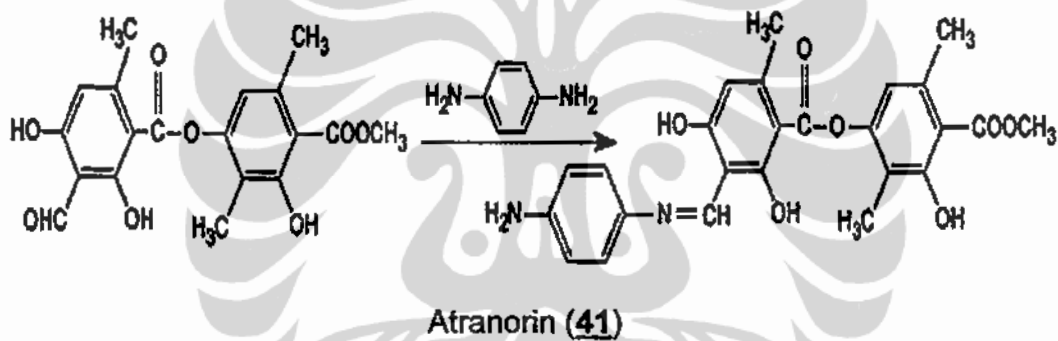
Asam alektonorat (40)

Pereaksi K yang digunakan, terlebih dahulu menyebabkan gugus ester yang ada dalam senyawa turunan Depsida atau Depsidon yang diuji, akan terhidrolisis atau tersabunkan menjadi gugus karboksil dan gugus hidroksil bebas. Dengan demikian, akan terbentuk gugus hidroksi fenolik tambahan, artinya juga akan ada dua gugus hidroksi fenolik bebas di dua posisi cincin/lingkar dari senyawa turunan Depsida dan Depsidon tersebut. Selanjutnya dengan dilakukan reaksi pewarnaan dengan pereaksi C, maka struktur molekul dari senyawa yang diuji, sebagai hasil reaksi dengan pereaksi K tersebut, akan memberikan hasil reaksi pewarnaan yang positif, yaitu warna merah. Hasil yang diperoleh, dengan penambahan pereaksi K, memberikan warna merah tua hingga ungu, berarti pada talus terdapat senyawa dari turunan kuinon.

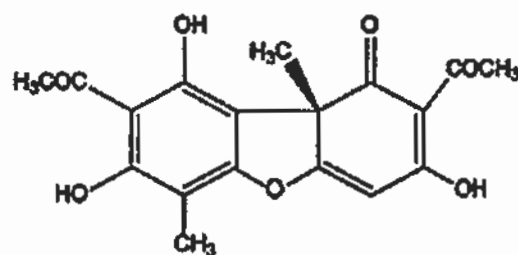
c. Pereaksi PD

Pereaksi PD adalah larutan alkoholis dengan konsentrasi 0,1%, tetapi kestabilan pereaksi ini terbatas. Dengan suatu larutan pereaksi PD yang stabil dapat dibuat sebagai berikut: 1 g p-fenilendiamina ditambah dengan 10 g natrium sulfat (Na_2SO_4) dan suatu larutan pengikat, misalnya sabun cair sebanyak 1 mL di dalam 100mL

aquadest. Hasil reaksi pewarnaan dengan pereaksi PD yang positif dengan memberikan warna kuning hingga merah, akan terjadi pada senyawa aromatik yang mengandung gugus aldehida. Reaksi pewarnaan yang terjadi, disebabkan karena pembentukan basa Schiff. Misal: atranorin dengan pereaksi PD memberikan warna kuning. Pereaksi lain yang dapat digunakan sebagai pengganti pereaksi PD adalah senyawa aromatik diamina lainnya, misalnya: o-dianisida, juga akan memberikan hasil reaksi pewarnaan yang mirip dengan hasil reaksi pewarnaan dengan pereaksi PD.

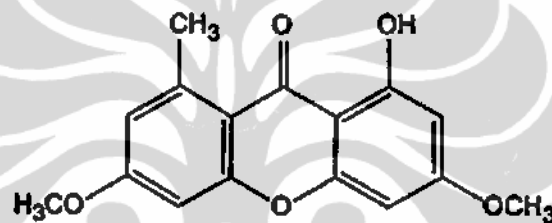


Untuk senyawa asam usnat atau asam isousnat akan memberikan hasil reaksi pewarnaan yang positif dengan larutan titan klorida (TiCl_3) 10%, yaitu memberikan warna kuning kehijauan hingga hijau. Demikian juga akan memberikan hasil reaksi pewarnaan yang positif dengan larutan kloramin T, yaitu warna kuning tua.



Asam isousnat (42)

Ksanton dan Kromon yang mengandung gugus hidroksil bebas, yang terletak berdampingan dengan gugus karboksil, akan memberikan hasil reaksi pewarnaan yang positif dengan larutan Dimroth, yaitu warna fluoresensi kuning dari lichenksanton, apabila disinari dengan sinar UV. Pereaksi Dimroth dibuat dari 10 g asam Borat (H_3BO_4), ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam 100 mL larutan anhidrida asetat, selanjutnya dipanaskan dan setelah dingin disimpan di dalam botol berwarna yang tertutup rapat.



Lichenksanton (43)

Pereaksi PD tidak dicobakan pada talus uji, karena kesukaran untuk mendapatkan p-fenilindiamina. Sedangkan hasil penambahan dengan pereaksi Dimroth memberikan hasil positif, yaitu warna fluoresensi kuning. Berarti pada talus uji terdapat senyawa Ksanton dan Kromon.

Beberapa senyawa dari lichen yang memberikan hasil reaksi pewarnaan positif dengan salah satu atau beberapa pereaksi pewarnaan yang disebutkan di atas, adalah sebagai berikut:

a. Senyawa lichen yang tidak berwarna

- ❖ PD+: kuning kemerahan, K+: merah kekuningan: Atranorin, asam Baeomysat, Kloratranorin, asam Dikarboksilthamnolat, asam Hemathamnolat, asam Thamnolat, asam Norstiktat, asam

Fumarprotosetrarat, asam Protosetrarat, asam Salazinat, asam Barbatolat, asam Alektorialat, asam Virensat, dan asam Konstinktinat.

❖ PD+: kuning kemerahan, K-:

Asam Penarat, asam Psoronat (asam Fumarprotosetrarat), dan asam Virensat.

❖ C+: merah, K+: kuning kemerahan, PD-:

Asam Hiasat, asam Kriptoklorophaeat, asam Ramalinolat, Strobikulen, dan asam Hypothamnolat.

❖ C+: merah, K-:

β -Orsenilmetilester, Montagnetol, asam Aziat, Erithrin, asam Gyrophorat, asam Lekanorat, 3,5-Diklorolekanorilmetilester, asam Olivetorat, asam 4-o-Demetilbarbatat, dan asam Stipulat.

❖ C+: hijau, K-, PD-:

Asam Didimat, asam Panarat, asam Porfirilat, dan Streosilin.

❖ C+: biru, K-, PD-:

Asam Diploschistesat

❖ K+: merah, C-, PD-:

Asam Gloneliferat, asam Mikrofinillat, asam Alektonorat, asam α -Kollatolat, asam Lobarat, asam 4-o-Metilfisolat, Norlobaridon, asam Fisolat, dan asam Pikrolicheninat.

b. Senyawa lichen yang berwarna

❖ K+: merah-ungu:

Anthrakuinon, Bis-Anthrakuinon, Terfenilkuinon, Piksiferin, dan Naphthokuinon.

❖ K-, Dimroth +:

Ksanthon, dan Sordiden.

❖ K-, TiCl_3 +: asam Usnat dan asam Isousnat

Hasil uji dengan pereaksi pewarnaan khusus lichen simplisia *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. adalah sebagai berikut:

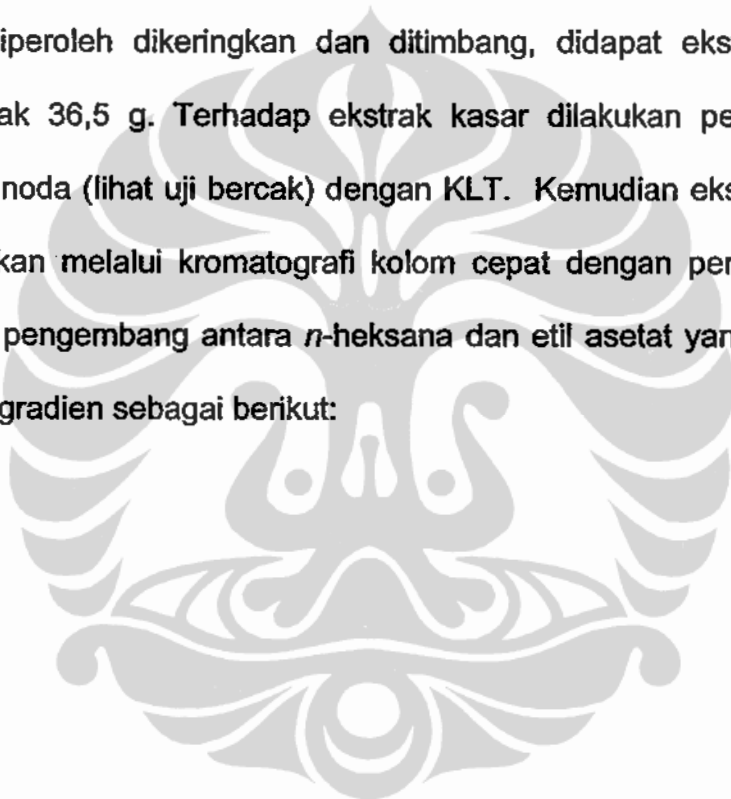
Tabel 3. Hasil uji dengan reaksi pewarnaan khusus lichen

Jenis Pereaksi	Hasil Uji <i>U. dasypoga</i> (Ach.) Nyl.	Hasil Uji <i>P. polydactyla</i> (Neck.) Hoffm.
a. Pereaksi C	Positif	Positif
b. Pereaksi K	Negatif	Negatif
c. Pereaksi PD	Tidak dicoba	Tidak dicoba
d. Pereaksi Dimroth	Positif	Negatif

Jadi kesimpulan dari uji diatas, baik pada *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. maupun *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. terdapat senyawa dari turunan dibenzofuran atau senyawa aromatik dengan gugus hidroksi fenolik bebas pada posisi meta serta senyawa dari turunan kuinon. Dan pada *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. terdapat senyawa ksanton dan kromon, sedangkan pada *P. polydactyla* tidak.

3.3.3. Prosedur dan Hasil Isolasi

- a. 700 g (0,7 Kg) serbuk hijau kuning talus lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl, dimaserasi (direndam) dengan pelarut aseton selama 3×24 jam (72 jam). Dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali, pengerjaan selanjutnya adalah: ekstrak yang diperoleh dari fraksi aseton, pelarutnya diuapkan dengan menggunakan rotavapor. Ekstrak kasar yang diperoleh dikeringkan dan ditimbang, didapat ekstrak kasar sebanyak 36,5 g. Terhadap ekstrak kasar dilakukan pemeriksaan bercak noda (lihat uji bercak) dengan KLT. Kemudian ekstrak kasar dipisahkan melalui kromatografi kolom cepat dengan perbandingan larutan pengembang antara *n*-heksana dan etil asetat yang berubah secara gradien sebagai berikut:



Tabel 4. Sistem gradien yang digunakan pada ekstrak aseton *U. dasypoga* (Ach.) Nyl.

Sistem Pelarut	Volume Pelarut	Warna Larutan	Warna Endapan
<i>n</i> - heksana	4 × 100 mL	Jernih	-
2% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Jernih	-
5% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Kuning muda	-
6% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Kuning muda	-
7% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Kuning muda	-
8% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Kuning muda	-
10% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Kuning muda	Kuning
12% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Kuning muda	Kuning
15% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau	Kuning
20% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau	Kuning
25% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau	Kuning
30% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau	Kuning
35% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau	Kuning
40% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Kuning orange	-
45% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Kuning	-
50% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Kuning	-
60% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Hijau Kuning	-
70% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Hijau Kuning	-
80% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Coklat	-
90% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Coklat	-
etil asetat	2 × 100 mL	Coklat	-
metanol	4 × 100 mL	Coklat	-

Dari kromatografi kolom cepat diatas, diperoleh hasil 22 fraksi, dan dari masing-masing fraksi dikisatkan dengan evaporator, kemudian dilakukan uji noda dengan KLT, agar dapat diketahui senyawa-senyawa yang mempunyai Rf yang sama untuk digabung.

Ternyata, fraksi nomor 2 sampai 20 terdapat endapan, maka antara fraksi endapan dan yang berwujud cair dipisahkan. Kemudian masing-masing dilakukan uji noda dengan KLT. Fraksi endapan (A) adalah 15 dan 16 serta 17 dan 18 digabung, dan ditambah pelarut

kloroform, dipisahkan kemudian didinginkan, didapat Kristal berwarna kuning emas berbentuk jarum yang diberi kode SW-1.

Fraksi yang berwujud cair (B) adalah no 13 sampai 20 digabung, didapat 3,5 g senyawa, dan dipisahkan melalui kolom kromatografi gravitasi dengan diameter 2,5 cm dan tinggi silika gel yang dimasukkan adalah 30 cm. Sebagai eluen digunakan adalah pelarut *n*-heksana dan etil asetat (2 : 1), ditampung setiap 30 mL (5 x 30 mL).

Kemudian eluen diganti dengan 20% etil asetat dalam *n*-heksana (*n*-heksana : etil asetat = 4:1), setiap fraksi ditampung setiap 30 mL (18 x 30 mL), pada fraksi ke 36 didapat kristal berwarna kuning tua SW-2.

Bila digunakan pengujian dengan tiga macam perbandingan eluen yang berbeda didapat noda yang tetap tunggal dan bulat, maka dapat dipastikan telah didapat senyawa yang murni.

Fraksi nomor 19 yang berwujud endapan (A) sebanyak 1 g dimasukkan dalam kolom kecil berdiameter 1 cm diberi silika gel sepanjang 20 cm. Eluen yang digunakan ialah kloroform (6 x 30 mL) dan eluen 3% metanol dalam kloroform (3 x 30 mL), serta 4% metanol dalam kloroform (4 x 30 mL). Di dalam fraksi nomor 14 sampai 16, terdapat endapan berwarna putih, disaring dengan bantuan vakum, didapat endapan putih (tipis), diberi kode SW-3.

b. 1,5 kg serbuk kering talus *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. dimaserasi dengan pelarut aseton selama 3 x 24 jam (72 jam) dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Pengujian selanjutnya adalah:

Ekstrak yang diperoleh dari fraksi aseton, pelarutnya diuapkan dengan menggunakan rotavapor, dan diperoleh ekstrak kasar *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. dalam aseton, ditimbang, yaitu seberat 25 g. Kemudian dilakukan pemeriksaan bercak noda (uji bercak) dengan KLT, untuk mengetahui jumlah senyawa yang terdapat pada ekstrak tersebut. Selanjutnya ekstrak kasar dipisahkan melalui kromatografi kolom cepat dengan perbandingan larutan pengembang antara *n*-heksana dengan etil asetat yang berubah secara gradient, sebagai berikut:

Tabel 5. Sistem gradien yang digunakan pada ekstrak aseton *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.

Sistem Pelarut	Volume Pelarut	Warna Larutan	Warna Endapan
4 × 100 mL		Jernih	-
2% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Jernih	-
5% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Kuning	-
6% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Orange	-
7% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Orange Kuning	-
8% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Kuning tua +	Putih
10% etil asetat - <i>n</i> -heksana	4 × 100 mL	Kuning tua ++	Putih
12% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Kuning coklat	Putih
15% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Kuning hijau	Putih
20% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau	Putih
25% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau	Putih
30% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau	Putih
35% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau	Putih
40% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau kuning	Putih
45% etil asetat - <i>n</i> -heksana	3 × 100 mL	Hijau kuning	Putih
50% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Hijau kuning	-
60% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Hijau Kuning	-
70% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Hijau Kuning	-
80% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Hijau kuning	-
90% etil asetat - <i>n</i> -heksana	2 × 100 mL	Hijau kuning	-
etil asetat	2 × 100 mL	Hijau kuning	-
metanol	4 × 100 mL	Hijau hitam	-

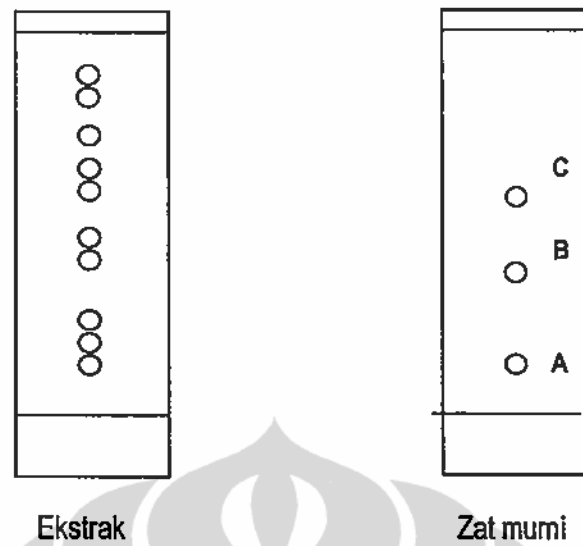
Dari pemisahan melalui kromatografi didapat 22 fraksi, hasil masing-masing fraksi dikisatkan dengan evaporator dan dilakukan uji noda dengan KLT untuk mengetahui senyawa-senyawa yang mempunyai R_f yang sama, agar dapat digabung.

Ternyata pada fraksi nomor 9 dan 10 terdapat endapan putih, dan setelah dicuci dengan etil asetat larut, kemudian ditambah dengan pelarut *n*-heksana, penambahan dilakukan secara berulang kali, sampai akhirnya didapat kristal putih berbentuk jarum diberi kode SW-4.

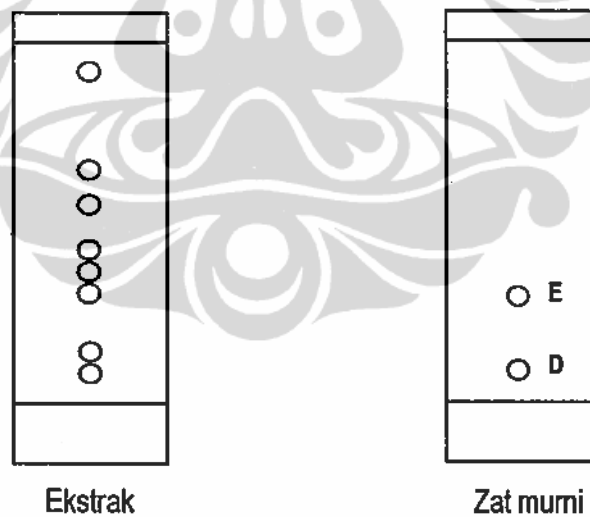
Fraksi nomor 7, setelah dilarutkan dalam kloroform dan diberi pelarut *n*-heksana secara berulang, sampai didapat senyawa berwarna kuning muda dan diberi kode SW-5.

3.3.4. Uji Bercak

Untuk mengetahui jumlah komponen yang terdapat di dalam ekstrak fraksi aseton, dilakukan uji bercak yang dilakukan menggunakan sistem C, karena menunjukkan pemisahan komponen yang terbaik bagi lichen. Sebagai larutan penampak noda digunakan campuran 10% asam sulfat dalam metanol. Kromatogram lapis tipis dari fraksi aseton untuk *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. (a) dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. (b) dapat dilihat pada Gambar 13 berikut ini:



Gambar 13. Kromatogram lapis tipis ekstrak aseton dengan eluen toluena : asam asetat = 100 : 15 dari *U. Dasypoga* (Ach.) Nyl.



Gambar 14. Kromatogram lapis tipis ekstrak aseton dengan eluen toluena : asam asetat = 100 : 15 dari *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm.

3.3.5. Data Sifat Fisika dan Data Spektroskopi.

Senyawa A, B, C, D dan E, ditentukan struktur molekulnya dengan menggunakan data UV-Vis, spektrofotometer infra merah (IR), spektrometer resonansi magnetik inti proton dan karbon ($^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$), mencakup juga HMQC ($^1\text{H-}^{13}\text{C}$), HMBC ($^1\text{H-}^{13}\text{C}$) serta spektrometer massa (MS).

Spektrum infra merah digunakan untuk menentukan jenis-jenis gugus fungsi yang terdapat dalam molekul yang dianalisis.³⁵ Spektrum resonansi magnetik inti proton digunakan untuk menentukan letak dan jumlah proton dalam molekul serta untuk menentukan gugus yang berdekatan dengan setiap atom hidrogen. Sedangkan spektrum resonansi magnetik inti karbon, digunakan untuk menentukan jumlah atom karbon dan jenis atom karbon yang berbeda posisi dalam molekul yang dianalisis.³³ Selanjutnya spektrum massa digunakan untuk menentukan massa molekul serta pola fragmentasi dari masing-masing molekul.³⁴

Data pengukuran senyawa hasil isolasi adalah sebagai berikut:

3.3.5.1. SENYAWA A (SW-1).

a. Sifat fisika senyawa A (SW-1).

Tabel 6. Sifat fisika senyawa A.

Jenis Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
a. Titik leleh	202 – 205° C
b. Bentuk fisik	Kristal Jarum
c. Warna Kristal	Kuning terang
d. Kelarutan	Aseton, diklorometana, kloroform
e. Rotasi optik spesifik, $[\alpha]_D^{25}$	-496° (CHCl_3)

b. Data spektroskopi infra merah

Spektrum infra merah diukur dalam bentuk pellet KBr, memberikan pita-pita serapan pada daerah bilangan gelombang, ν (cm^{-1}). 3090; 3008; 2932; 1691; 1542; 1456; 1358; 1290; 1191; 1144; 1119; 1070.

Spektrum infra merah dapat dilihat pada Lampiran 3.

c. Data spektroskopi UV.

Spektrum ultra violet diukur pada panjang gelombang antara 200 nm sampai dengan 400 nm. Memberikan serapan maksimum (dalam kloroform) pada panjang gelombang $\lambda = 241$ dan 284 nm.

Spektrum UV dapat dilihat pada Lampiran 4.

d. Data spektroskopi resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$).

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz), dalam pelarut CDCl_3 dan standar dalam TMS, memberikan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia, δ_{H} (ppm) sebagai berikut:

13,37 (s, 1H); 11,03 (s, 1H); 5,97 (s, 1H); 2,67 (s, 3H); 2,65 (s, 3H); 2,10 (s, 3H); 1,75 (s, 3H).

Spektrum resonansi magnetik inti proton dapat dilihat pada Lampiran 5.

e. Data spektroskopi Resonansi Magnetik Inti Karbon-13 ($^{13}\text{C-NMR}$).

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dengan pelarut CDCl_3 dan standar dalam TMS, memberikan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia, δ_{C} (ppm) sebagai berikut:

201,91; 200,46; 198,13; 191,91; 179,46; 157,57; 155,28; 109,32; 104,04;
101,60; 98,44; 59,16; 32,24; 31,42; 28,05; 7,76.

Spektrum serapan magnetik inti karbon dapat dilihat pada Lampiran 6.

f. Data spektrum dua dimensi 2D-HMQC (^1H - ^{13}C)

Spektrum dua dimensi HMQC (^1H - ^{13}C), memberikan gambaran proton atau proton-proton yang terikat pada suatu atom karbon. Beberapa korelasi dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 7. Data spektrum 2D-HMQC (^1H - ^{13}C)

PROTON (^1H) (ppm)	KARBON (^{13}C) (ppm)
5,97	98,44
2,65	32,24
2,67	31,42
1,75	28,05

Data spektrum 2D-HMQC senyawa A dapat dilihat pada Lampiran 7.

g. Data spektroskopi massa.

Analisis dengan spektrometer massa memberikan puncak ion molekul pada $m/z = 344$ (M^+) dan puncak fragmentasi lainnya sebagai berikut: 260 (8,4%), 233 (21,0%), 129 (12,6%), 73 (48,4%) dan 43 (100%).

Spektrum massa senyawa A dapat dilihat pada Lampiran 9.

3.3.5.2. Senyawa B (SW-2)

a. Sifat fisika senyawa B (SW-2).

Tabel 8. Sifat fisika senyawa B

Jenis Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
a. Titik leleh	248 – 251 ° C
b. Bentuk fisik	Kristal kotak
c. Warna Kristal	Kuning tua
d. Kelarutan	Kloroform, aseton.

b. Data spektroskopi infra merah.

Spektrum infra merah diukur dalam bentuk pellet KBr, memberikan pita-pita serapan pada daerah bilangan gelombang, ν (cm^{-1}): 3493; 2958; 1741; 1613; 1437; 1365; 1322; 1237; 1167 dan 1093.

Spektrum infra merah senyawa B dapat dilihat pada Lampiran 10.

c. Data spektroskopi UV.

Spektrum ultra violet diukur pada panjang gelombang antara 200 nm sampai dengan 400 nm, memberi serapan maksimum (dalam kloroform) pada panjang gelombang $\lambda = 223, 279$ dan 333 nm.

Spektrum UV dapat dilihat pada Lampiran 11.

d. Data spektroskopi resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$).

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz), dalam pelarut CDCl_3 dan standar dalam TMS, memberikan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia, δ_{H} (ppm) sebagai berikut:

13,93 (s, 1H); 13,85 (s, 1H); 12,02 (s, 1H); 11,59 (s, 1H); 11,25 (s, 1H); 7,25 (d, 1H); 6,60 (d, 1H); 6,47 (s, 1H); 5,35 (s, 1H); 4,17 (s, 1H); 3,75 (s, 3H); 3,68 (s, 3H); 2,61 (d, 2H); 2,60 (dd, 2H); 2,40 (dd, 2H); 2,06 (s, 1H); 1,85 (s, 1H); 1,80 (s, 3H); 1,62 (s, 3H).

Spektrum resonansi magnetik inti proton dapat dilihat pada Lampiran 12.

e. Data spektroskopi resonansi inti karbon-13 (^{13}C -NMR)

Spektrum ^{13}C -NMR dengan pelarut CDCl_3 dan standar dalam TMS, memberikan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia, δ_{C} (ppm) sebagai berikut: 188,00; 187,26; 179,55; 177,45; 171,34; 170,94; 169,09; 162,16; 161,22; 159,54; 157,35; 149,90; 141,86; 140,21; 139,93; 117,71; 115,97; 111,49; 108,00; 107,83; 100,61; 100,28; 84,93; 84,90; 81,47; 77,12; 76,86; 71,43; 66,09; 65,77; 53,68; 53,57; 32,65; 28,60; 22,65; 21,21; 20,53; 17,623.

Spektrum resonansi magnetik inti karbon dapat dilihat pada Lampiran 13.

f. Data spektrum dua dimensi 2D-HMQC (^1H - ^{13}C)

Spektrum dua dimensi HMQC (^1H - ^{13}C), memberi gambaran proton atau proton-proton yang terikat pada suatu atom karbon. Beberapa korelasi dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 9. Data spektrum 2D-HMQC (^1H - ^{13}C)

PROTON (^1H) (ppm)	KARBON(^{13}C) (ppm)
5,34	65,78
4,16	71,43
3,75	84,94

2,61	24,63
2,54	28,61
2,38	32,65

Data spektrum 2D-HMQC (^1H - ^{13}C) senyawa B dapat dilihat pada Lampiran 14.

g. Data spektroskopi massa

Analisis dengan spektrometer massa LC-MS memberikan puncak ion molekul pada $m/z = 682 (M^+ + 2)$.

Spektrum massa senyawa B dapat dilihat pada Lampiran 16.

3.3.5.3. SENYAWA C (SW-3).

a. Sifat fisika senyawa C (SW-3).

Tabel 10. Sifat fisika senyawa C.

Jenis Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
a. Titik leleh	229 – 232° C
b. Bentuk fisik	Serbuk
c. Wama Kristal	Putih
d. Kelarutan	Kloroform

b. Data spektroskopi infra merah.

Spektrum infra merah diukur dalam bentuk pellet KBr, memberikan pita-pita serapan pada daerah bilangan gelombang, ν (cm^{-1}) 1720 dan 1240 cm^{-1} , yang menunjukkan adanya gugus ester ($-\text{COOR}$), dan pada bilangan gelombang, $\nu = 1550 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan

rangkap (-C=CH-), serta pada bilangan gelombang, $\nu = 2900 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus alifatik (CH_3 , CH_2 dan CH).

Spektrum infra merah dapat dilihat pada Lampiran17.

c. Data spektroskopi resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$)

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz), dalam pelarut CDCl_3 dan standar dalam TMS. Memberikan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia, δ_{H} (ppm) sebagai berikut: 13,32; 11,04; 7,45; 7,25; 7,04; 5,97; 5,25; 5,24 (t); 4,50; 4,49 (dd); 4,48; 3,74; 3,72; 3,71; 2,67; 2,65; 2,10; 2,04 (s, 3H); 1,75 (s); 1,24 (d); 1,06 (s); 0,94 (s); 0,86; 0,85 (d); 0,84 (s); 0,77 (s).

Spektrum resonansi magnetik inti proton dapat dilihat pada Lampiran 18.

d. Data spektroskopi resonansi magnetik inti karbon-13 ($^{13}\text{C-NMR}$).

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dengan pelarut CDCl_3 dan standar dalam TMS, memberikan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia, δ_{C} (ppm) sebagai berikut: 181,57; 137,98; 125,93; 123,27; 123,12; 117,91; 97,31; 81,11; 77,44; 77,19; 76,93; 58,68; 52,82; 48,07; 47,62; 42,14; 39,20; 37,86; 37,06; 28,24; 23,70; 21,52; 21,36; 17,25; 17,20; 16,89; 15,71; 7,64.

Spektrum resonansi magnetik inti proton dapat dilihat pada Lampiran19.

e. Data spektroskopi 2D- HMQC ($^1\text{H-}^{13}\text{C}$).

Spektrum dua dimensi HMQC ($^1\text{H-}^{13}\text{C}$) memberikan gambaran proton atau proton-proton yang terikat pada suatu atom karbon. Beberapa korelasi dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 11 . Data spektrum 2D- HMQC (^1H - ^{13}C).

PROTON (^1H) (ppm)	KARBON(^{13}C) (ppm)
2,02	21,80
1,91	24,40
1,75	32,60
1,62	24,20
1,25	30,00
1,80	23,70

Data spektrum 2D-HMQC senyawa C dapat dilihat pada Lampiran 20.

f. Data spektroskopi massa

Analisis dengan spektroskopi massa memberikan puncak ion molekul pada $m/z = 280$ (M^+).

Spektrum massa senyawa C dapat dilihat pada Lampiran 22.

3.3.5.4. SENYAWA D (SW- 4)

a. Data sifat fisika.

Tabel 12. Sifat fisika senyawa D

Jenis Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
a. Titik leleh	199° C
b. Bentuk fisik	Kristal
c. Warna Kristal	Putih
d. Kelarutan	Kloroform

b. Data spektroskopi infra merah

Data apektrum infra merah diukur dalam bentuk pellet KBr, memberikan pita-pita serapan pada daerah bilangan gelombang, ν (cm^{-1}): 3524; 3398; 3262; 2947; 1708; 1645; 1458; 1376; 1275; 1170 dan 1108, 1024.

Spektrum infra merah senyawa D dapat dilihat pada Lampiran 23.

c. Data spektroskopi UV

Spektrum ultra violet diukur pada panjang gelombang (λ) antara 200 nm sampai dengan 320 nm, memberi serapan maksimum (dalam kloroform) pada panjang gelombang, $\lambda = 215$ nm.

Spektrum UV dapat dilihat pada Lampiran 24.

d. Data spektroskopi resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$).

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz), dalam pelarut CDCl_3 dan standar dalam TMS, menampakkan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia, δ_{H} (ppm) sebagai berikut: 5,24 (t); 4,99 (dd); 4,98; 2,24 (s); 2,22; 2, 15; 1,96; 1,77; 1,76 (s); 1,66; 1,61; 1,54; 1,52; 1,51; 1,49; 1,33; 1,23; 1,17; 1,07; 1,01; 0,94 (s); 0,82 (s); 0,78 (s); 0,77; 0,75.

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa D dapat dilihat pada Lampiran 25.

e. Data spektroskopi resonansi magnetik inti karbon-13 ($^{13}\text{C-NMR}$)

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dengan pelarut CDCl_3 dan standar dalam TMS, memberikan sinyal-sinyal pada δ_{C} (ppm) sebagai berikut:

170,19; 77,50; 77,26; 77,05; 77,00; 55,72; 50,62; 50,58; 50,32; 49,18; 44,17; 40,96; 40,60.

Spektrum ^{13}C -NMR senyawa D dapat dilihat pada Lampiran 26.

f. Data spektrum 2D - HMQC (^1H - ^{13}C).

Spektrum 2D - HMQC memberikan gambaran adanya ikatan dan korelasi antara proton dan karbon. Beberapa korelasi dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 13 . Korelasi antara proton dan karbon pada spektrum 2D - HMQC (^1H - ^{13}C)

PROTON (^1H) (ppm)	KARBON (^{13}C) (ppm)
2,40	21,80
1,92	23,80
1,76	32,50
1,62	24,20
1,25	31,00

Spektrum 2D - HMQC dapat dilihat pada Lampiran 27

g. Data spektroskopi massa.

Data spektroskopi massa memberikan puncak ion molekul pada $m/z = 191 (M^+)$.

Spektrum massa senyawa D dapat dilihat pada Lampiran 28.

3.3.5.5. SENYAWA E (SW-5)

a. Data sifat fisika.

Tabel 14. Sifat fisika senyawa E.

Jenis Pemeriksaan	Hasil Pengamatan
a. Titik leleh	212 – 215° C
b. Bentuk fisik	Serbuk
c. Warna Kristal	Kuning muda
d. Kelarutan	Kloroform

b. Data spektroskopi infra merah.

Data spektrum infra merah diukur dalam bentuk pellet KBr, memberikan pita-pita serapan pada daerah bilangan gelombang ν (cm^{-1}) adalah sebagai berikut: 3400 (b); 1740; 1250 dan 1610 cm^{-1} .

Spektrum infra merah dapat dilihat pada Lampiran 29.

c. Data spektroskopi resonansi magnetik inti proton ($^1\text{H-NMR}$)

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz) dalam pelarut CDCl_3 dan standar dalam TMS, menampakkan sinyal-sinyal pada pergeseran kimia, δ_{H} (ppm) adalah sebagai berikut: 11,78 (s); 6,28 (d); 6,27 (d, 1H); 6,23 (d, 1H); 5,69 (s); 3,92 (s, 3H); 2,48 (s)

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa E dapat dilihat pada Lampiran 30.

d. Data spektroskopi resonansi magnetik inti karbon-13 ($^{13}\text{C-NMR}$)

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dengan pelarut CDCl_3 dengan standar dalam TMS Memberikan sinyal-sinyal pada δ_{C} (ppm) sebagai berikut:

172,33; 165,42; 160,53; 144,19; 111,56; 105,77; 101,42; 77,45; 77,30;
76,94; 52,08; 24,45.

Spektrum ^{13}C -NMR senyawa E dapat dilihat pada Lampiran 31.

e. Data spektrum 2D-HMBC (^1H - ^{13}C).

Spektrum 2D-COSY (^1H - ^1H), menunjukkan "coupling" (pasangan interaksi antara 2 proton / lebih), baik dalam satu atom karbon atau antara 2 atom karbon yang bertetangga. Korelasi "coupling" tersebut dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 15 . Data spektrum 2D-HMBC (^1H – ^1H) senyawa E.

PROTON (^1H) (ppm)	KARBON (^{13}C) (ppm)
11,75	166,00
11,75	106,00
11,75	102,00
6,30	106,00
3,90	172,00
2,50	146,00
2,50	112,00
2,50	106,00

Spektrum 2D-HMBC (^1H - ^1H) senyawa E dapat dilihat pada Lampiran 33.

f. Data spektrum 2D-HMQC (^1H - ^{13}C).

Spektrum 2D-HMQC memberikan gambaran adanya ikatan dan korelasi antara proton dan karbon. Beberapa korelasi dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 16. Korelasi antara proton dan karbon pada spektrum 2D - HMQC (^1H - ^{13}C)

PROTON (^1H) (ppm)	KARBON (^{13}C) (ppm)
6,25	102,00
6,22	112,00
3,92	53,00
2,50	2,50

Spektrum 2D - HMQC dapat dilihat pada Lampiran 32.

g. Data spektroskopi massa.

Data spektroskopi massa memberikan puncak ion molekul pada $m/z = 183 (M^+)$.

Spektrum massa senyawa E dapat dilihat pada Lampiran 34.

3.3.6. Prosedur dan Uji Aktivitas (Bioassay)

3.3.6.1. Uji Aktivitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).^(4,16)

Hasil isolasi ekstrak aseton dari tumbuhan lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. yaitu: senyawa A, senyawa B dan senyawa D, diuji aktivitasnya dengan *Brine Shrimp Lethality Test*

(BSLT) dikenal juga dengan uji aktivitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Pada penelitian ini, mula-mula larva udang *Artemia salina* Leach, ditetaskan dalam air laut selama 48 jam, dalam tempat/cawan yang mempunyai sekat dan bagian bawah sekat mempunyai rongga, serta disinari lampu neon 15 watt. Larva udang dimasukkan pada salah satu bagian dari tempat/cawan yang bersekat. Sesudah 24 jam pertama penetasan, larva udang yang hidup akan bergerak diantaranya melalui rongga bawah sekat menuju bagian cawan yang lain. Larva yang hidup pada bagian cawan yang lain tersebut diambil dengan pipet, dipindahkan ke dalam ke dalam cawan baru yang telah diberi air laut. Disinari lampu neon selama 24 jam, jadi keseluruhan penyinaran 48 jam, larva siap untuk digunakan.

Senyawa A, senyawa B dan senyawa D, masing – masing ditimbang 4 mg, ditambah 10 μ L DMSO dan 2000 μ L (2mL) air laut (= 2000 ppm). Kemudian masing – masing dijadikan sampel dijadikan: 20, 200 dan 2000 ppm. Pada pelat berlubang, diberi air laut dan larva udang, dibuat sehingga konsentrasi dalam pelat berlubang menjadi 5,0; 12,5; 25,0; 50,0 μ g/mL, kemudian didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya dihitung berapa larva udang yang mati, dimasukkan dalam tabel, sebagaimana terlihat pada tabel berikut:

Tabel 17. Hasil uji senyawa A terhadap *A. salina* Leach.

Dosis ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah <i>A. salina</i> Leach yang mati (ekor)		
	Simplo	Duplo	Rerata
50	6	5	5,5
25	4	2	3
12,5	5	6	5,5
10	6	6	6
5	3	2	2,5
0	2	1	1,5

Setelah melakukan analisis dengan menggunakan Statistik Program for Social Science (SPSS) for window 10,0 terhadap rerata, diperoleh harga $LC_{50} = 39,62 \mu\text{g/mL}$.

Tabel 18. Hasil uji senyawa B terhadap *A. salina* Leach.

Dosis ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah <i>A. salina</i> Leach yang mati (ekor)		
	Simplo	Duplo	Rerata
50	8	6	7
25	7	5	6
12,5	9	7	8
5	7	6	6,5
0	2	2	2

Kemudian dilakukan analisis menggunakan Statistik Program for Social Science (SPSS) for window 10,0 terhadap rerata, diperoleh harga $LC_{50} = 2,25 \mu\text{g/mL}$.

Tabel 19. Hasil uji senyawa D terhadap *A. salina* Leach.

Dosis ($\mu\text{g/mL}$)	Jumlah <i>A. salina</i> Leach yang mati (ekor)		
	Simplo	Duplo	Rerata
50	6	3	4,5
25	3	3	3
12,5	2	1	1,5
5	5	3	4
0	2	1	1,5

Kemudian dilakukan analisis menggunakan Statistik Program for Social Science (SPSS) for window 10,0 terhadap rerata, diperoleh harga $LC_{50} = 56,10\mu\text{g/mL}$.

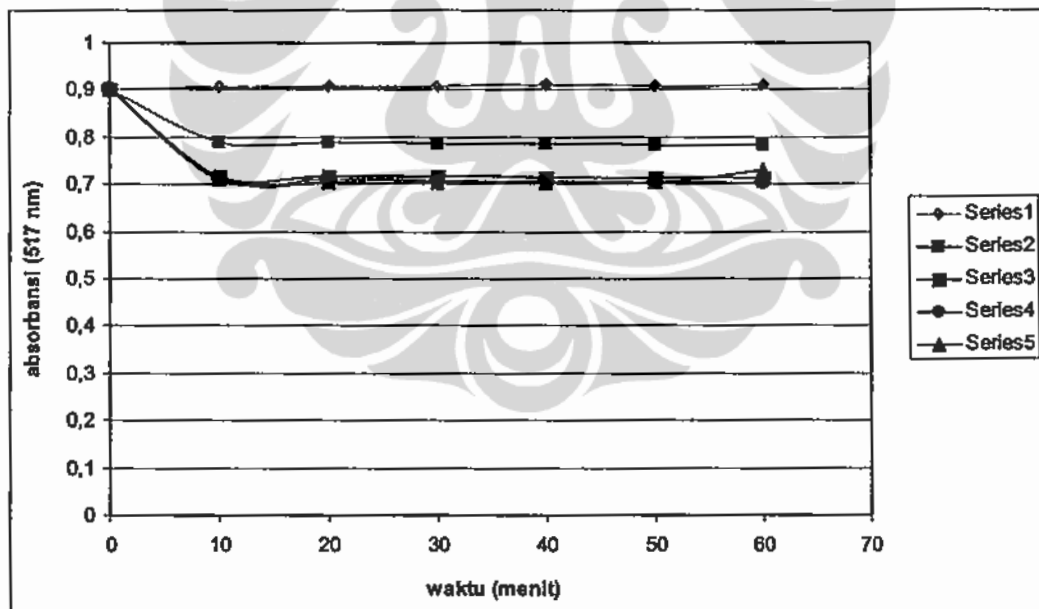
3.3.6.2. Uji Aktivitas Antioksidan. ^(4,16)

Hasil isolasi ekstrak aseton dari tumbuhan lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. yaitu (-)-asam usnat (senyawa A) diuji aktivitas antioksidannya dan dibandingkan dengan antioksidan sintetik yaitu BHT (butil hidroksi toluena).

Dalam penelitian ini metode uji aktivitas antioksidan yang digunakan adalah metode *radical scavenger* (uji DPPH). Dengan prosedur sebagai berikut:

- a. Penyiapan larutan pereaksi DPPH dalam pelarut metanol destilat dengan konsentrasi $39,43\mu\text{g/mL}$.
- b. Penyiapan larutan uji (-)-asam usnat dalam pelarut dikloro metan dengan konsentrasi 25; 50; 100; 200 ppm.

- c. Penyiapan larutan standar BHT dalam pelarut metanol dengan konsentrasi 10; 40; 80; 120; 160; dan 200 ppm.
- d. Pengukuran absorbansi peredaman radikal bebas DPPH dengan larutan uji 200 μL ditambah 800 μL larutan pereaksi DPPH dalam kuvet kering, dikocok hingga homogen dan dilakukan pengamatan absorbansinya pada panjang gelombang, $\lambda = 517 \text{ nm}$ setiap 10 menit selama 60 menit (1 jam). Sebagai blangko digunakan metanol 200 μL ditambah 800 μL larutan pereaksi DPPH. Hasil pengukuran absorbansinya dapat dilihat pada Lampiran 35.
- e. Aktivitas antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel, dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 15. Grafik hasil uji aktivitas antioksidan (-)-asam usnat dengan metode *radical scavenger*

Dari grafik di atas tampak adanya penurunan nilai absorbansi DPPH yang diberi sampel uji terhadap kontrol pada setiap kenaikan

konsentrasi. Penurunan ini berarti, bahwa terjadi penangkapan radikal DPPH oleh sampel uji dan nilai absorbansi mulai konstan pada menit ke-40. Jadi radikal DPPH sudah habis bereaksi dengan sampel uji pada menit ke-40.

f. Nilai separan larutan DPPH terhadap sampel uji adalah sebagai persen inhibisi (% inhibisi), dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A \text{ blangko} - A \text{ sampel})}{A \text{ blangko}} \times 100 \%$$

Keterangan, A blangko = absorban blangko

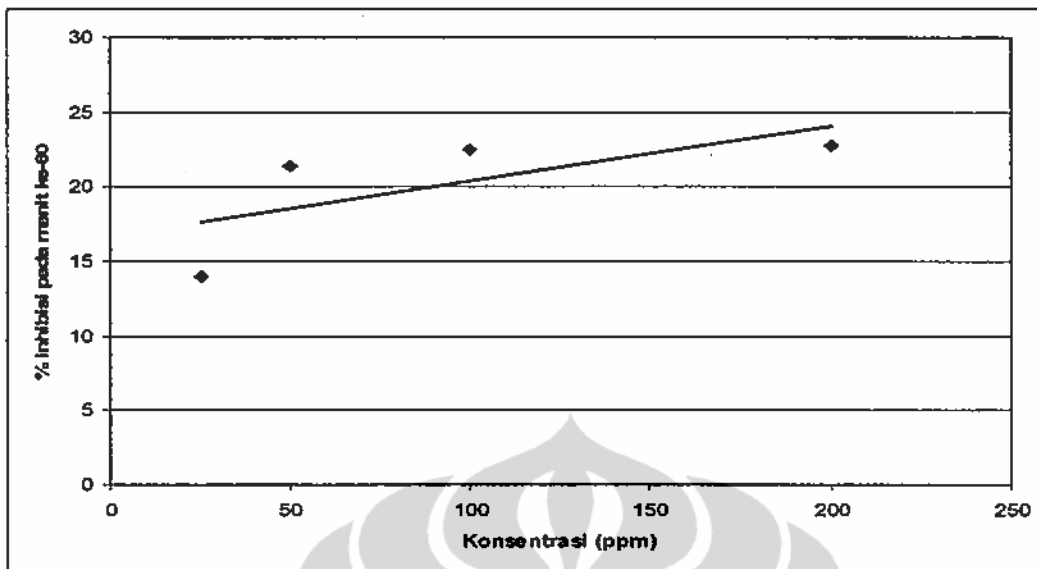
A sampel = absorban sampel

Nilai hasil perhitungan dengan rumus di atas dimasukkan ke dalam persamaan linier:

$$Y = bx + a$$

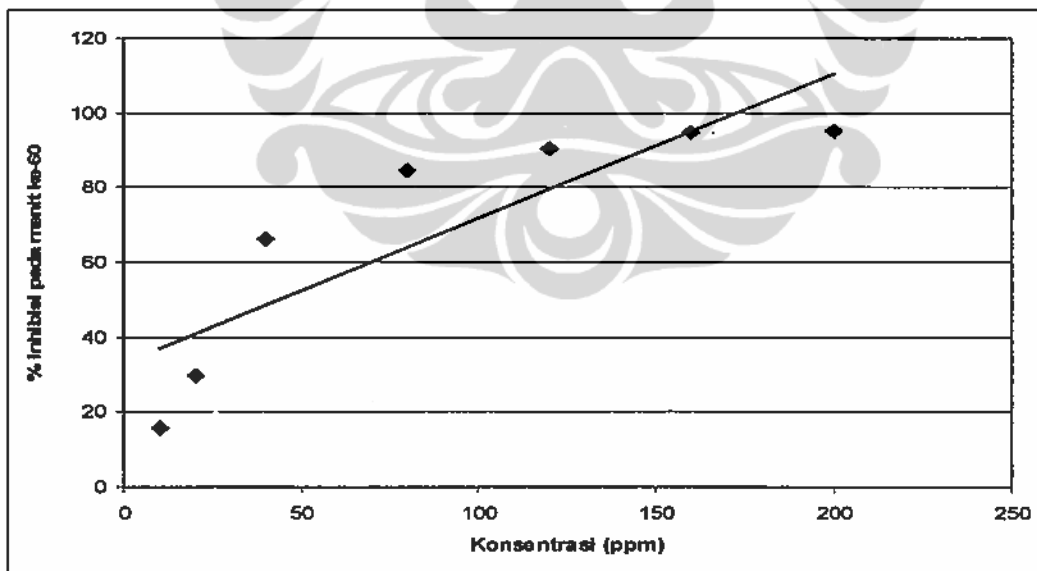
Dengan konsentrasi sebagai absis (sumbu x) dan nilai persen inhibisi sebagai ordinat (sumbu y), untuk mendapatkan nilai IC₅₀ (Inhibitory Concentration). Nilai IC₅₀ konsentrasi sampel uji untuk menghasilkan persen inhibisi sebesar 50%.

Data perhitungan IC₅₀ untuk senyawa (-)asam usnat (senyawa A) dapat dilihat pada lampiran 35, dalam bentuk grafik adalah sebagai berikut:



Gambar 16. Grafik antara konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi pada menit Ke 60.

Data perhitungan IC_{50} untuk BHT (Butil Hidroksi Toluena) dapat dilihat pada lampiran 35, dalam bentuk grafik sebagai berikut:



Gambar 17. Grafik antara konsentrasi (ppm) dengan % inhibisi pada menit ke 60.

Berdasarkan prosedur di atas didapat hasil uji aktivitas antioksidan, yaitu: IC_{50} (-)-asam usnat = 910 ppm. IC_{50} BHT = 43,5 ppm.

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1. Uji Pendahuluan.

Hasil penelitian uji pendahuluan fitokimia terhadap ekstrak *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. dari fasa aseton memberikan gambaran adanya gugus kuinon yang ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah. Pada identifikasi saponin juga menunjukkan hasil positif dengan dihasilkannya busa yang stabil. Demikian juga untuk identifikasi steroida dan triterpenoida menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau.

Hasil penelitian uji pendahuluan fitokimia terhadap ekstrak *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. dari fasa aseton memberikan gambaran adanya saponin dengan hasil positif, ditunjukkan dengan busa yang stabil. Demikian juga untuk identifikasi steroida dan triterpenoida menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau.

Hasil pewarnaan khusus lichen dengan pereaksi C baik *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. maupun *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. menunjukkan hasil positif berarti ada gugus aromatik. Dengan pereaksi dimroth hanya *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. yang menunjukkan hasil positif berarti terdapat senyawa ksanton atau kromon.

4.1.1. Penentuan Struktur Senyawa A (SW-1)

Senyawa A merupakan kristal jarum berwarna kuning dengan titik leleh 202 – 205°C. Rotasi optik $[\alpha]_D^{25}$ -496° , sedangkan serapan maksimum (dalam kloroform) pada spektrum UV terlihat pada panjang gelombang, $\lambda = 241$ dan 284 nm.

Spektrum infra merah

Pengukuran dengan spektroskopi infra merah menunjukkan adanya pita-pita serapan pada daerah bilangan gelombang, ν (cm^{-1}) sebagai berikut:

Tabel 22. Pita-pita serapan di dalam spektrum IR senyawa A

Bilangan gelombang ν (cm^{-1})	Keterangan
3090	Merupakan vibrasi ulur/regang, overtone karena adanya jembatan H ($3000 \text{ cm}^{-1} - 3750 \text{ cm}^{-1}$)
3008	
2932	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan CH dari CH_3 ($2700 \text{ cm}^{-1} - 3000 \text{ cm}^{-1}$)
1691	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan C=O dari keton ($1650 \text{ cm}^{-1} - 1900 \text{ cm}^{-1}$)
1542	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan C=C dari aromatik ($1500 \text{ cm}^{-1} - 1675 \text{ cm}^{-1}$)
1456	Merupakan vibrasi lentur/tekuk dari ikatan C – H dari CH_2 ($1300 \text{ cm}^{-1} - 1475 \text{ cm}^{-1}$)
1358	Merupakan vibrasi lentur/tekuk ikatan C – H dari CH_3 ($1300 \text{ cm}^{-1} - 1475 \text{ cm}^{-1}$)
1290	Merupakan vibrasi lentur/tekuk dari ikatan C–O–C dari eter ($1050 \text{ cm}^{-1} - 1300 \text{ cm}^{-1}$)
1191	
1144	

1119	Merupakan vibrasi lentur/tekuk dari ikatan C—O—C dari eter ($1050\text{ cm}^{-1} - 1300\text{ cm}^{-1}$)
1070	

Jadi, senyawa A mengandung gugus CH dari CH_3 ; $\text{C}=\text{O}$; $\text{C}=\text{C}$; CH dari CH_2 ; dan gugus C—O—C.

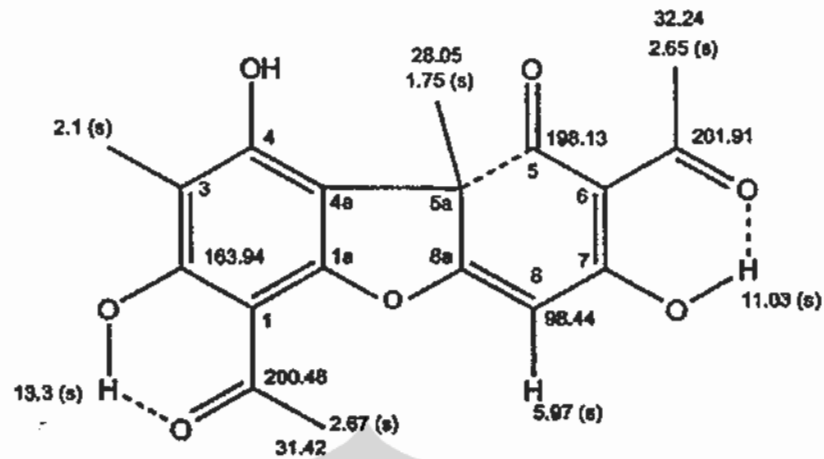
Spektroskopi massa

Berdasarkan hasil analisis spektrometer massa didapat puncak ion molekul pada $m/z = 344$ (M^+).

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$

Hasil pengukuran spektrum ^1H dan $^{13}\text{C-NMR}$ memperkuat dugaan gugus fungsi tersebut di atas. Puncak serapan pada δ_{H} (ppm) = 13,31 (s) dan 11,03 (s) mengindikasikan adanya 2 gugus hidroksi yang membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karbonil ($-\text{C}=\text{O}$), sedangkan pada pengukuran spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ memperkuat adanya 2 gugus karbonil pada 200,46 dan 201,91, serta 1 karbonil pada 198,13. Adanya proton olefinik muncul pada δ_{H} (ppm) 5,97 (s) dalam spektrum $^1\text{H-NMR}$, sedangkan adanya 2 puncak serapan metil singlet ($-\text{CH}_3$, s) terlihat pada δ_{H} (ppm) = 1,75 (s) dan 2,1 (s).

Selanjutnya berdasarkan hasil pengukuran korelasi H-C melalui HMQC diketahui korelasi nilai geseran kimia H dan C seperti pada Gambar 18. dan Tabel 23, dengan $m/z = 344$ (M^+), dan berdasarkan penelusuran keprediksian, dianalisis senyawa hasil penelitian merupakan senyawa asam usnat.



Gambar 18. Struktur molekul asam usnat dan nilai geseran kimianya

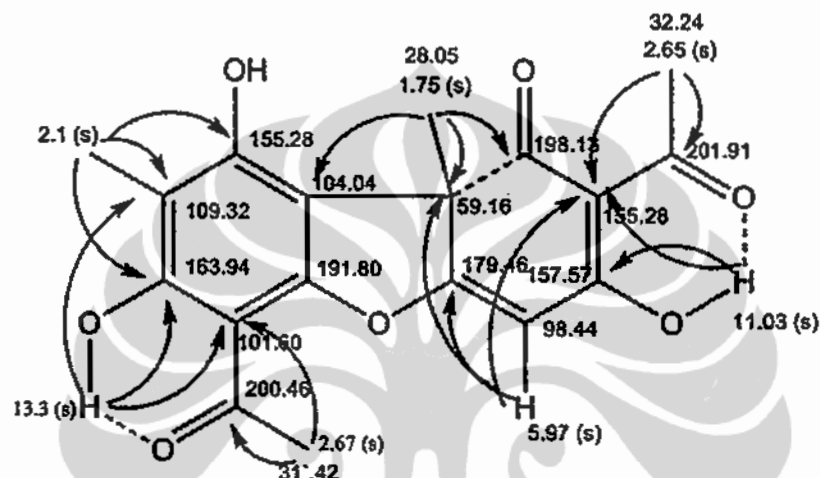
Untuk melengkapi nilai geseran kimia dengan lebih tepat dan sempurna, maka dilakukan pengukuran korelasi jarak jauh (HMBC), seperti diuraikan secara ringkas pada Gambar 15, dan nilai geseran kimia asam usnat hasil penelitian dibandingkan dengan nilai geseran kimia asam usnat dari prediksi.

Tabel 23. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa asam usnat (CDCl_3) hasil penelitian dan dari prediksi.

No	δ_{H} (ppm, J dalam Hz) Hasil penelitian	δ_{C} (ppm)	Nilai Geseran Kimia Asam usnat (prediksi)	
			δ_{H} (ppm, J dalam Hz)	δ_{C} (ppm)
1		101,60		101,50
1a		191,80		191,70
3		109,32		109,30
4		155,28		154,26
4a		104,04		104,04
5		198,13		198,10
5a		59,16		59,16
6		155,28		155,28
7		157,57		157,57
8	5,97 (s)	98,44	5,66 (s)	98,44
8a		179,46		177,16
3- CH_3	2,1 (s)	7,76	2,35 (s)	7,66
5a- CH_3	1,75 (s)	28,05	1,75 (s)	28,05
1- CH_3CO	2,67 (s)	31,42	2,55 (s)	30,41
1- CH_3CO		200,46		200,46

6-CH ₃ CO	2,65 (s)	32,24	2,30 (s)	32,20
6-CH ₃ CO		201,91		401,92
2-OH	13,37 (s)		10,68 (s)	
7-OH	11,03 (s)		9,83 (s)	

Pengukuran hasil korelasi jarak jauh (HMBC) dari senyawa A, adalah sebagai berikut:

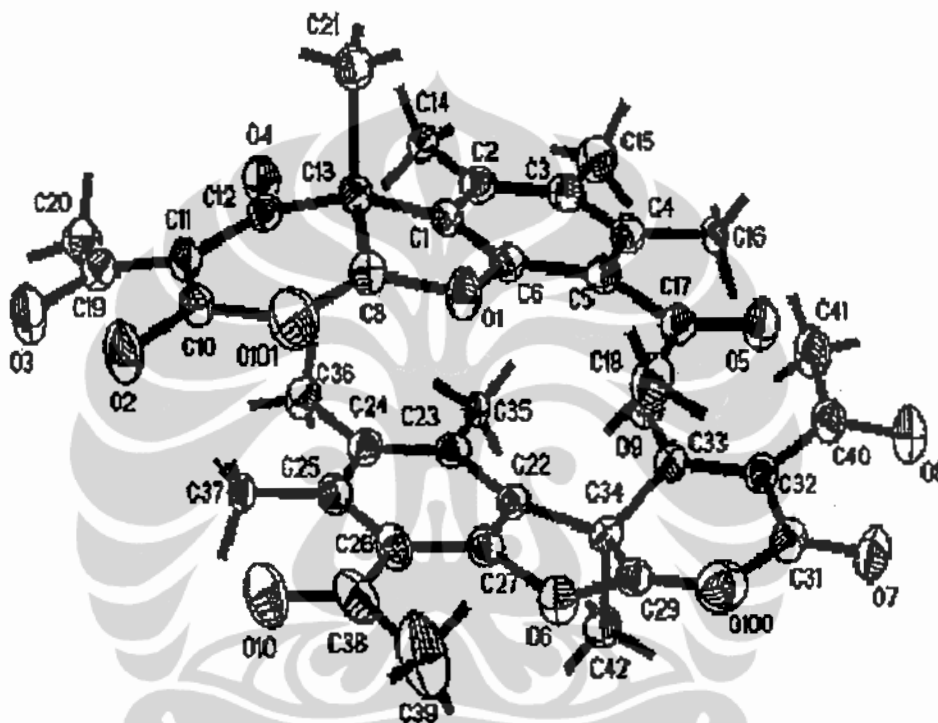


Gambar 19. Korelasi jarak jauh (HMBC) untuk senyawa A

Posisi gugus metil pada δ_H (ppm) 2,1 (s) terletak pada C-3 dengan diperlihatkan adanya korelasi jarak jauh (HMBC) dengan δ_C (ppm) pada 109,32 (s), 155,28 (s) dan 163,94 (s). Kedua gugus metil keton pada δ_H (ppm) 2,67 (s) dan 2,65 (s) terletak pada C-1 dan C-6, masing-masing dengan adanya korelasi jarak jauh dengan δ_C (ppm) pada 101,60 dan 155,28. Posisi gugus hidroksi pada δ_H (ppm) 13,31 terletak pada C-2 dengan adanya korelasi jarak jauh dengan C-2 (163,94), C-3 (109,32) dan C-1 (101,60). Sedangkan posisi hidroksi pada δ_H (ppm) 11,03 (s) terletak pada C-7 dengan adanya korelasi jarak jauh dengan C-7 (157,57), dan C-6 (155,28). Untuk proton dari ikatan rangkap menunjukkan korelasi jarak jauh dengan C-5a (59,16), C-8a (179,46) dan C-6 (155,28). Berdasarkan

hasil di atas dapat dipastikan senyawa A adalah (-)-asam usnat ($C_{18}H_{16}O_7$).

Data di atas diperkuat dengan adanya hasil pengukuran X-Ray senyawa A, adalah sebagai berikut:



Gambar 20. X-ray kristalografi (-)-asam usnat

4.1.2. Penentuan Struktur Senyawa B (SW-2)

Senyawa B merupakan kristal berwarna kuning tua berbentuk kotak, titik leleh 210 – 213°C, mempunyai serapan maksimum (dalam kloroform) pada spektrum UV, tampak pada panjang gelombang, $\lambda = 241$; 281; 333 nm.

Spektrum infra merah

Pengukuran dengan spektroskopi infra merah menunjukkan adanya pita-pita serapan pada daerah bilangan gelombang, ν (cm^{-1}) sebagai berikut:

Tabel 24. Pita-pita serapan di dalam spektrum IR senyawa B

Bilangan gelombang ν (cm^{-1})	Keterangan
3493	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan OH ($3000 \text{ cm}^{-1} - 3750 \text{ cm}^{-1}$)
2958	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan CH dari CH_3 ($2700 \text{ cm}^{-1} - 3000 \text{ cm}^{-1}$)
1741	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan C=O dari keton ($1650 \text{ cm}^{-1} - 1900 \text{ cm}^{-1}$)
1613	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan C=C dari aromatik ($1500 \text{ cm}^{-1} - 1675 \text{ cm}^{-1}$)
1437	Merupakan vibrasi lentur/tekuk dari ikatan C-H dari CH_2 ($1300 \text{ cm}^{-1} - 1475 \text{ cm}^{-1}$)
1365	Merupakan vibrasi lentur/tekuk ikatan C-H dari CH_3 ($1300 \text{ cm}^{-1} - 1475 \text{ cm}^{-1}$)
1322	
1237	Merupakan vibrasi lentur/tekuk ikatan C-H dari CH_2 ($1300 \text{ cm}^{-1} - 1475 \text{ cm}^{-1}$)
1167	Merupakan vibrasi lentur/tekuk dari ikatan C-O-C dari eter ($1050 \text{ cm}^{-1} - 1300 \text{ cm}^{-1}$)
1093	Merupakan vibrasi lentur/tekuk dari ikatan C-O-C dari eter ($1050 \text{ cm}^{-1} - 1300 \text{ cm}^{-1}$)

Jadi, senyawa B mengandung gugus fungsi OH; CH dari CH_3 ; C=O; C=C; CH dari CH_2 ; dan gugus C-O-C.

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$

Pada senyawa B menunjukkan adanya 1 pasang proton aromatik dengan posisi orto yaitu yang ditunjukkan dengan terlihatnya signal pada δ_{H} (ppm) = 6,60 (d, 7,9 Hz) dan 7,25 (d, 7,9 Hz) dan 1 proton singlet suatu aromatik yang terlihat pada δ_{H} (ppm) 6,79 (s). Senyawa tersebut mempunyai 4 gugus hidroksi yang muncul di daerah medan magnet rendah karena membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karbonil ($-\text{C}=\text{O}$) yaitu pada δ_{H} (ppm) = 13,93 (s), 14,32 (s), 11,58 (s), dan 13,86 (s). Puncak serapan pada δ_{H} (ppm) = 3,68 (3H, s) dan 3,75 (3H, s) menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai 2 buah gugus metil ester, s pada δ_{H} (ppm) 2,21 (3H, s) merupakan suatu gugus asetil ($\text{CH}_3\text{CO}-$), dan pada δ_{H} (ppm) 1,17 (3H, d, 6,8 Hz) merupakan suatu metil ($-\text{CH}_3$), sedangkan pada δ_{H} (ppm) 1,80 (3H, s) merupakan suatu gugus metil yang terletak pada cincin aromatik.

Proton aromatik pada δ_{H} (ppm) = 6,60 (d), 7,25 (d) dan 6,79 (s) masing-masing berkorelasi dengan karbon pada δ_{C} (ppm) = 139,93; 111,49; dan 108,0. Nilai geseran kimia $^1\text{H-NMR}$ untuk 2 gugus metil ester pada δ_{H} (ppm) = 3,75 (s) dan 3,68 (s) masing-masing berkorelasi dengan 53,68 dan 53,56. Untuk 2 gugus metil nilai geseran $^1\text{H-NMR}$ pada δ_{H} (ppm) = 1,17 (d) dan 1,80 (s) berkorelasi dengan karbon pada δ_{C} (ppm) = 17,63 dan 21,21, berturut-turut. Pada spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ menunjukkan adanya 2 gugus keton yang terlihat pada δ_{C} (ppm) = 180,0 dan 187,98.

Untuk melengkapi nilai geseran kimia dengan lebih tepat dan sempurna, maka dilakukan pengukuran korelasi jarak jauh (HMBC),

seperti diuraikan pada Lampiran 15, dan nilai geseran kimia eumitri A₁ hasil penelitian dibandingkan dengan nilai geseran kimia eumitri A₁ dari prediksi, sebagai berikut:

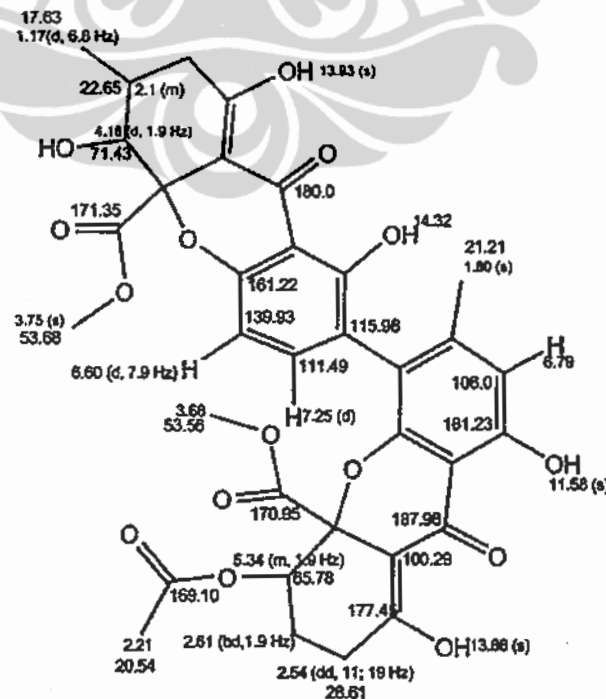
Tabel 25. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa eumitrin A₁ (CDCl₃) hasil penelitian dan dari prediksi.

No	δ_H (ppm, J dalam Hz) hasil penelitian	δ_C (ppm)	Nilai Geseran Kimia Eumitrin A ₁ (prediksi)	
			δ_H (ppm, J dalam Hz)	δ_C (ppm)
1	14,32	162,16	14,32	162,2
2		115,98		119,3
3	7,25 (d,7,9)	111,49	7,77	135,7
4	6,60 (d, 7,9)	139,93	6,84	109,6
5	4,16 (d, 1,9)	71,43	4,81	79,5
6	1,17 (d, 6,8)	22,65	0,96	27,6
7	2,38 (dd, 6,8;18,3)	32,65		34,9
8	13,93 (s)	179,55	16,77	184,2
9		180,0		183,0
1a		107,83		110,6
4a		161,22		158,2
5a	3,75 (s)	84,94	3,68	78,3
8a		100,61		107,4
1'	11,58 (s)	161,23	11,85	160,2
2'	6,47 (s)	108,0	6,79	111,5
3'	1,80 (s)	107,03	2,59	145,1
4'		100,23		118,0
5'	5,34 (m, 1,9)	65,78	2,21	78,3
6'	2,61 (bd, 1,9)	24,63		14,7
7'	2,54 (dd,11,19)	28,61		25,1
8'	13,86 (s)	177,45	16,77	184,2
9'		187,98		183,0

1'a		117,71		107,6
4'a		149,9		154,9
5'a		81,48		77,8
8'a		100,29		107,4

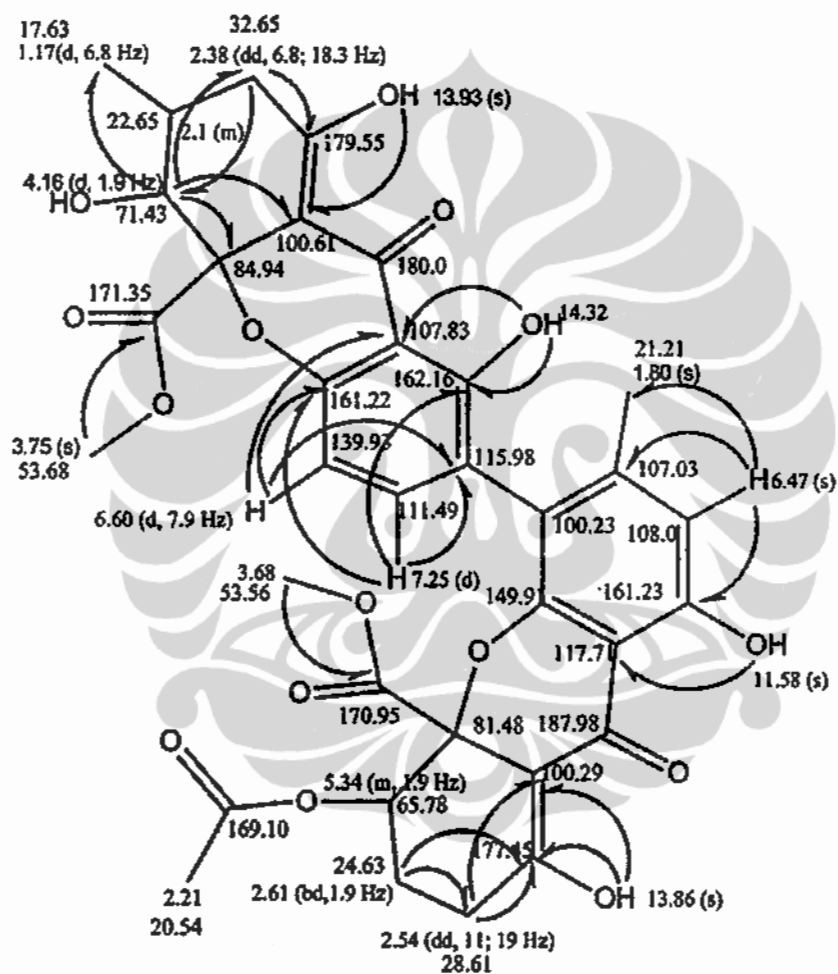
Berdasarkan ciri-ciri hasil pengukuran spektrum ^1H -, ^{13}C -NMR dan HMQC tersebut di atas serta hasil penelusuran prediksi diketahui bahwa pada tanaman *Usnea bayleyi* diketahui mengandung senyawa eumitrin A₁ (BM = 680.618 dan berhubungan dengan rumus molekul $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$).⁽²²⁾ Maka senyawa B diduga sebagai Eumitrin A₁. Hal tersebut didukung pula dengan hasil pengukuran LC-MS yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai BM 680.

Berdasarkan hasil pengukuran spektrum HMQC dapat ditentukan pasangan dari puncak serapan proton tersebut seperti pada Gambar 21. di bawah ini dan Tabel 25.

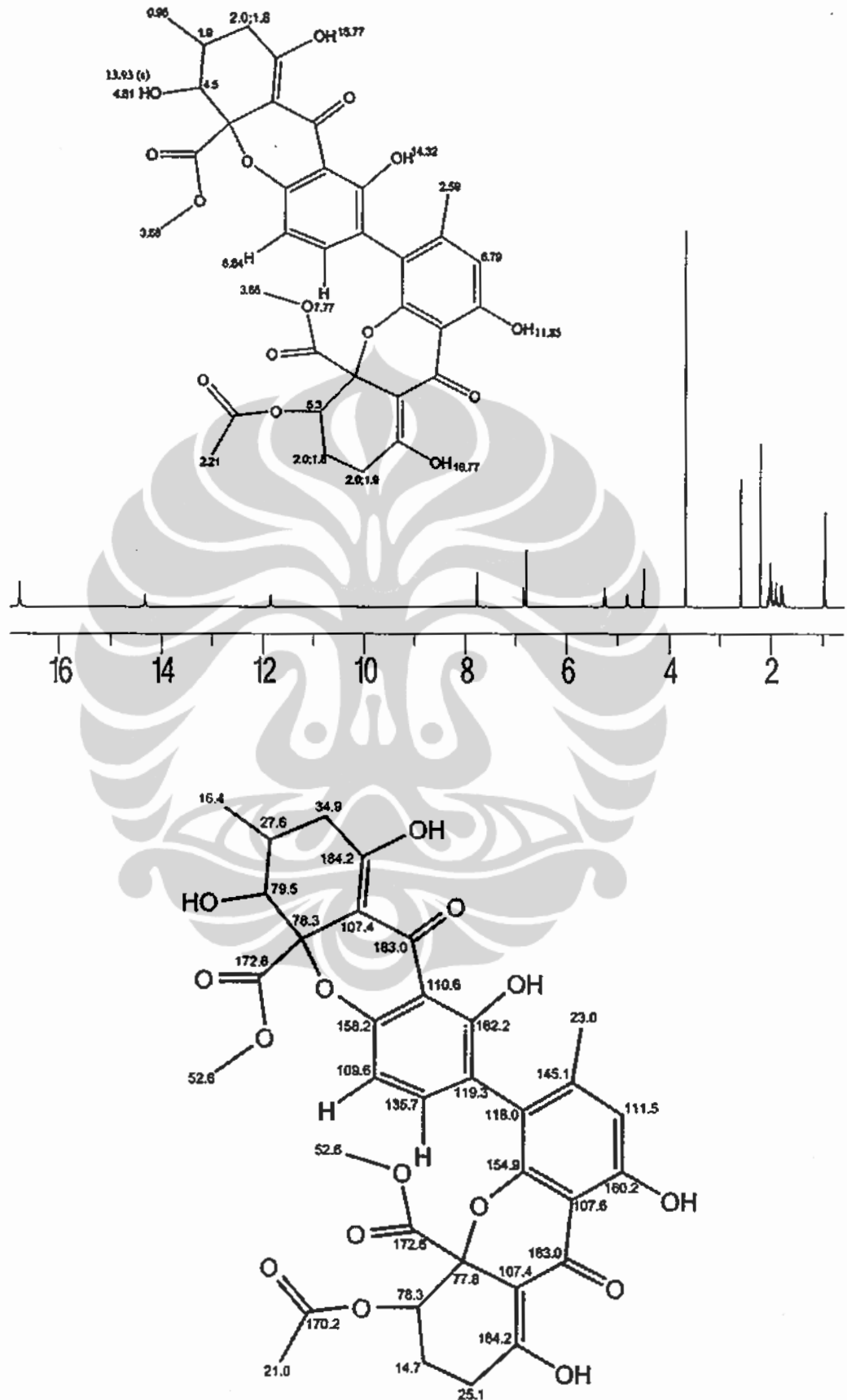


Gambar 21. Struktur molekul senyawa B dan nilai geseran kimia.

Untuk memperkuat posisi dari gugus-gugus fungsi tersebut dan melengkapi nilai geseran kimia pada struktur tersebut di atas, maka dilakukan pengukuran korelasi jauh (HMBC), dan hasilnya seperti diuraikan pada Gambar 22 di bawah ini.



Gambar 22. Struktur molekul senyawa B dan ringkasan korelasi jarak jauh ^1H - ^{13}C (HMBC)



Gambar 23. Hasil prediksi nilai geseran kimia senyawa eumitrin A₁

4.1.3. Penentuan Struktur Senyawa C (SW-3)

Senyawa C, merupakan kristal berwarna putih, dengan titik leleh 199,3°C.

Spektrum infra merah

Hasil pengukuran spektrum FT-IR memperlihatkan bahwa senyawa C mempunyai gugus suatu ester (-COOR) yang ditunjukkan pada bilangan gelombang (ν) 1720 dan 1240 cm^{-1} , dan ikatan rangkap (-C=CH-) pada bilangan gelombang 1550 cm^{-1} , serta gugus alifatik (CH_3 , CH_2 dan CH) pada (ν) 2900 cm^{-1} .

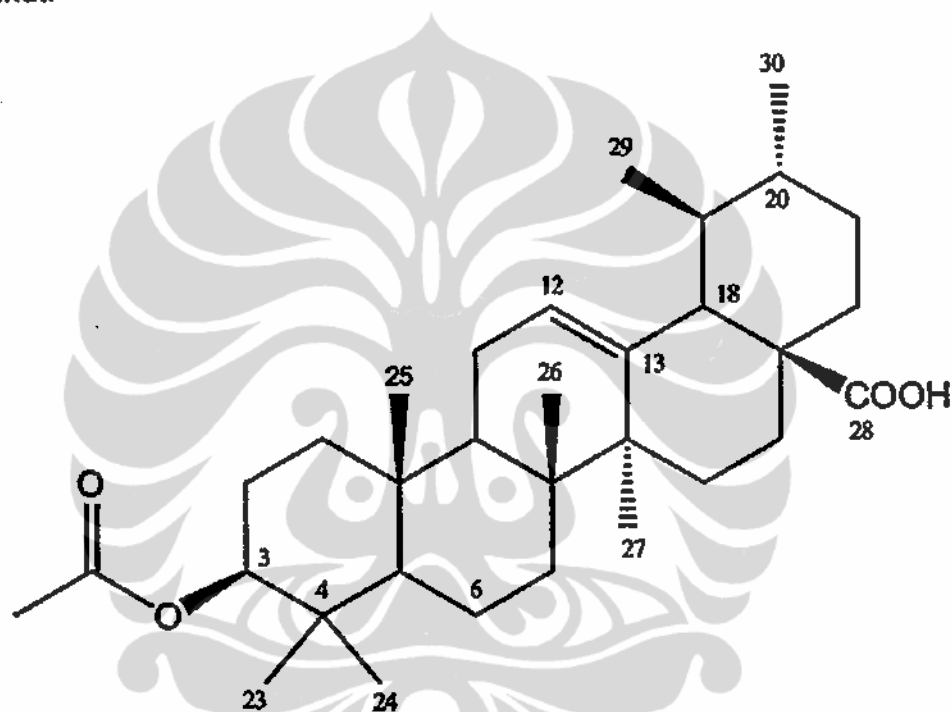
Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$

Adanya gugus fungsi tersebut di atas juga didukung dengan hasil pengukuran spektrum ^1H dan $^{13}\text{C-NMR}$. Adanya ester dari suatu gugus asetil dengan jelas diperlihatkan dengan munculnya puncak pada nilai geseran kimia δ_{H} (ppm) dan δ_{C} (ppm) pada 2,01 (s, 3H), 21,36 (q) dan 172,0 (s), serta adanya gugus metil hidroksil pada daerah yang relatif *down field* (medan magnet rendah) karena terasetilasi yaitu muncul pada δ_{H} (ppm) 81,0 dan δ_{C} (ppm) 81,11.

Adanya 5 gugus metil singlet (- CH_3 , s) yang ditunjukkan pada nilai geseran kimia δ_{H} (ppm) = 0,78; 0,83; 0,95; 1,07; dan 1,76 dan 2 metil doublet (- CH_3 , d) pada 0,85 (d) dan 1,24 (d) didukung dengan data nilai geseran kimia $^{13}\text{C-NMR}$ pada δ_{C} (ppm) = 17,25; 17,20; 28,25; 21; 52; 23,71; 30,76 dan 33,05. Disamping itu pada senyawa tersebut juga mempunyai gugus karboksilat (-COOH) yang dikonfirmasi dengan adanya nilai geseran kimia δ_{C} (ppm) 181,58(s). Adanya ikatan rangkap ditunjukkan

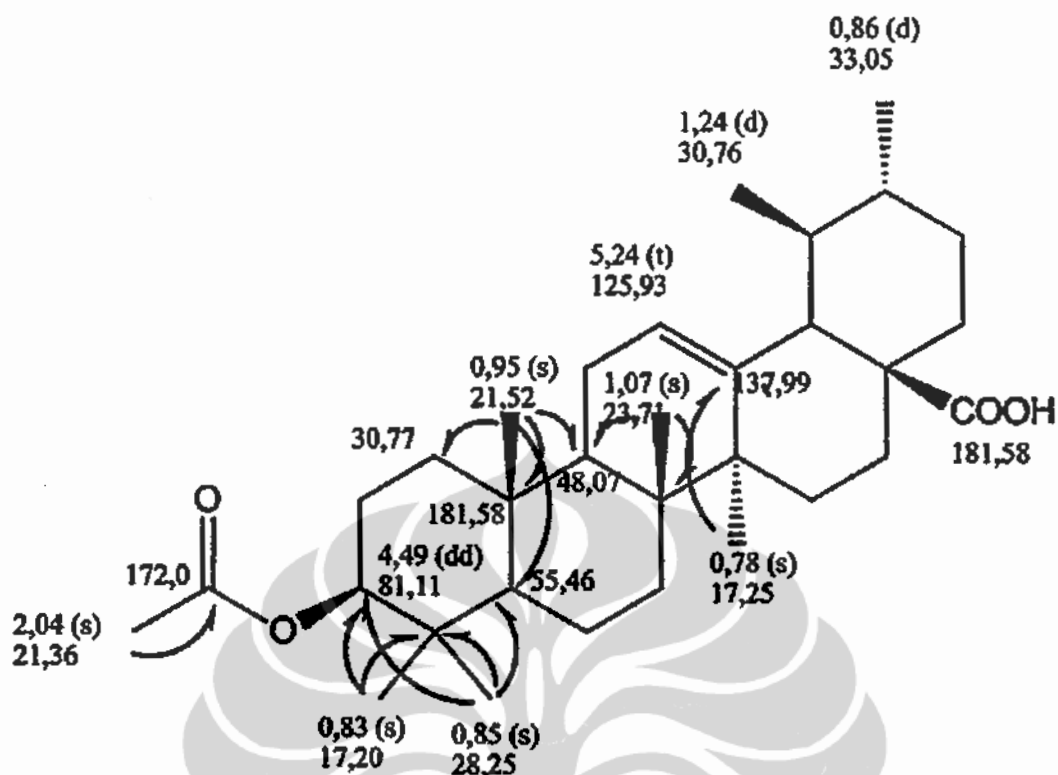
dengan munculnya puncak serapan pada δ_H (ppm) 5,24 (t) dan δ_C (ppm) 125,93 (d).

Berdasarkan adanya 7 gugus metil (s) dan 1 karboksilat serta ikatan rangkap maka diduga bahwa senyawa tersebut adalah asetil ursanolat (asam 3-Asetil-12-ursanen-28-oat) dengan struktur sebagai berikut:



Gambar 24. Struktur molekul senyawa C (asam-3-asetil-12-ursanen-28-oat).

Dugaan struktur tersebut, didukung dengan data pengukuran 2D-NMR (HMQC dan HMBC) serta data nilai geseran kimia berdasarkan hasil penelitian dan penelusuran prediksi, maka dianalisis senyawa C adalah asam 3-asetil-12-ursanen-28-oat (C), adalah sebagai berikut:



Gambar 25. Ringkasan korelasi jarak jauh untuk senyawa C

Tabel 26. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa (CDCl_3) asam 3-asetil-12-ursanen-28- oat hasil penelitian dan dari prediksi

No	δ_{H} (ppm, J dalam Hz) hasil penelitian	δ_{C} (ppm)	Nilai Geseran Kimia Asam 3-asetil-12-ursanen-28-oat. (prediksi)	
			δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)
1		37,86		38,2
2		23,71		23,5
3	4,49(dd,9,2;1,)	81,11	4,55 (dd, 7,3)	81,0
4		37,06		37,8
5		56,46		55,4
6		18,58		18,3
7		32,3		32,7
8		39,2		39,6
9		48,07		47,6
10		37,1		37,1
11		23,4		23,4
12	5,24 (t, 7,4)	125,93	5,24 (t)	125,8
13		137,99		138,1
14		42,1		41,1
15		28,1		28,1
16		23,7		23,6
17		48,0		48,0
18	2,18 (d, 11,3)	52,8		52,7
19		38,9		38,9

20		39,2		39,1
21		30,7		30,7
22		36,8		36,8
23	0,83 (s)	28,25		28,1
24	0,85 (s)	16,8		16,7
25	0,93 (s)	15,7		15,6
26	1,07 (s)	17,2		17,1
27	0,78 (s)	24,3		25,9
28		181,58		183,7
29	1,24 (d)	17,25		17,2
30	0,86 (d)	21,3	0,99	21,2
CH ₃ CO	2,04 (s)	21,56	2,21	21,3
CH ₃ CO		172,0		171,0

4.1.4. Penentuan Struktur Senyawa D (SW-4)

Senyawa D diisolasi dalam bentuk kristal berwarna putih. Hasil pengukuran spektrum FT-IR memperlihatkan adanya gugus ester yang muncul pada bilangan gelombang, $\nu = 1745$ dan 1230 cm^{-1} , dan alifatik (CH₃, CH₂ dan CH) pada 2900 cm^{-1} .

Tabel 27. Pita-pita serapan di dalam spektrum IR senyawa D

Bilangan gelombang ν (cm^{-1})	Keterangan
3524	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan OH ($3000 \text{ cm}^{-1} - 3750 \text{ cm}^{-1}$)
3398	
3262	
2947	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan CH dari CH ₃ ($2700 \text{ cm}^{-1} - 3000 \text{ cm}^{-1}$)
1708	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan C=O dari keton ($1650 \text{ cm}^{-1} - 1900 \text{ cm}^{-1}$)
1645	Merupakan vibrasi ulur/regang ikatan C=C dari aromatik ($1500 \text{ cm}^{-1} - 1675 \text{ cm}^{-1}$)
1458	Merupakan vibrasi lentur/tekuk dari ikatan C - H dari CH ₂ ($1300 \text{ cm}^{-1} - 1475 \text{ cm}^{-1}$)
1376	Merupakan vibrasi lentur/tekuk ikatan

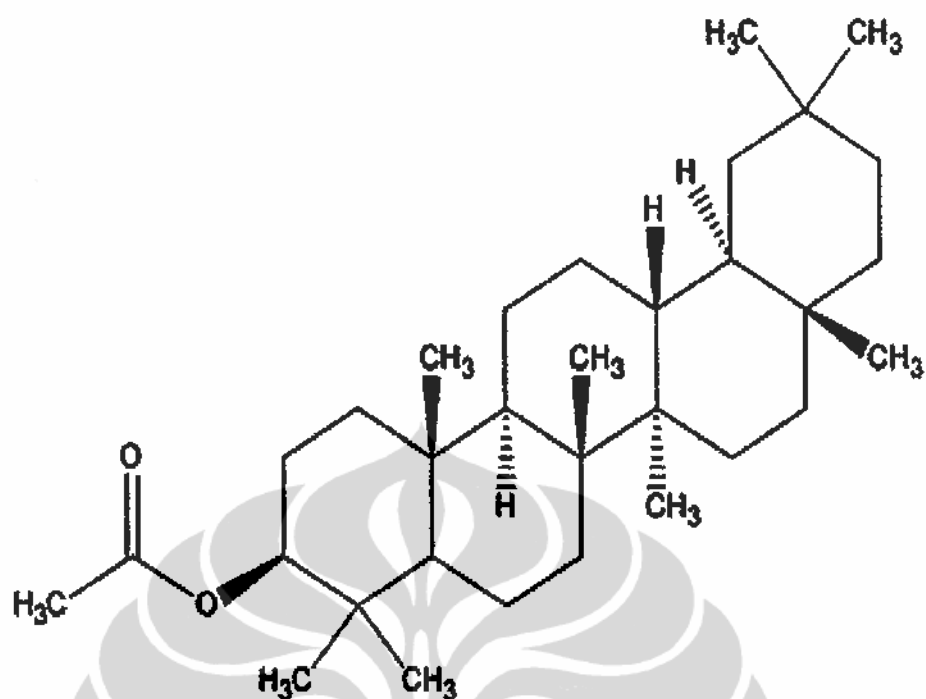
1275	C – H dari CH ₃ (1300 cm ⁻¹ – 1475 cm ⁻¹)
1170	Merupakan vibrasi lentur/tekuk dari ikatan C–O–C dari eter (1050 cm ⁻¹ – 1300 cm ⁻¹)
1108	
1024	

Jadi, senyawa D mengandung gugus fungsi OH; CH dari CH₃; C=O; C=C; CH dari CH₂; dan gugus C–O–C.

Spektrum ¹H-NMR dan ¹³C-NMR

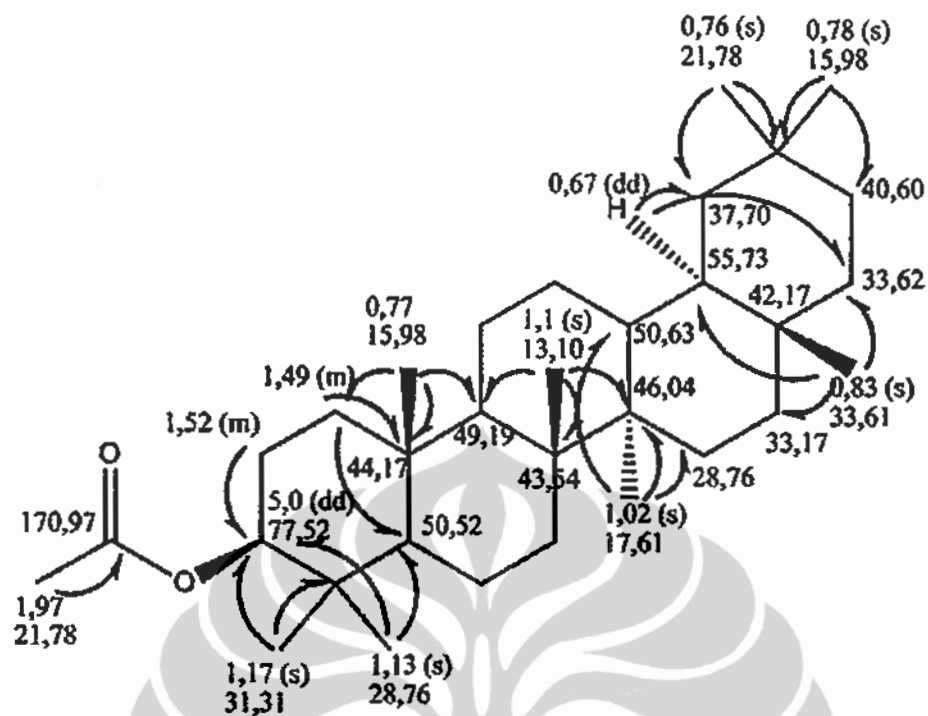
Hasil pengukuran spektrum ¹H dan ¹³C-NMR menunjukkan adanya puncak serapan pada δ_H (ppm) dan δ_C (ppm) pada 1,97 (s, 3H), 21,78 dan 170,97 yang merupakan gugus asetil (CH₃CO). Puncak serapan pada δ_H (ppm) dan δ_C (ppm) 5,08 (dd) dan 77,51 menunjukkan adanya gugus metin hidroksi yang asetilasi karena muncul pada daerah medan magnet rendah. Adanya 8 gugus metil singlet ditunjukkan dengan adanya puncak serapan pada δ_H (ppm) = 1,17 (s), 1,13 (s), 0,77 (s), 1,1 (s), 1,02 (s), 0,85 (s), 0,76 (s) dan 0,78 (s) dan masing-masing berkorelasi dengan δ_C (ppm) = pada 31,31; 28,76; 015,98; 13,10; 17,65; 33,61; 21,78; dan 15,98, berdasarkan hasil pengukuran HMQC.

Berdasarkan ciri-ciri tersebut di atas, dan penelusuran keprediksian maka senyawa D diidentifikasi sebagai asetil gammaceranol, dengan struktur molekul sebagai berikut:



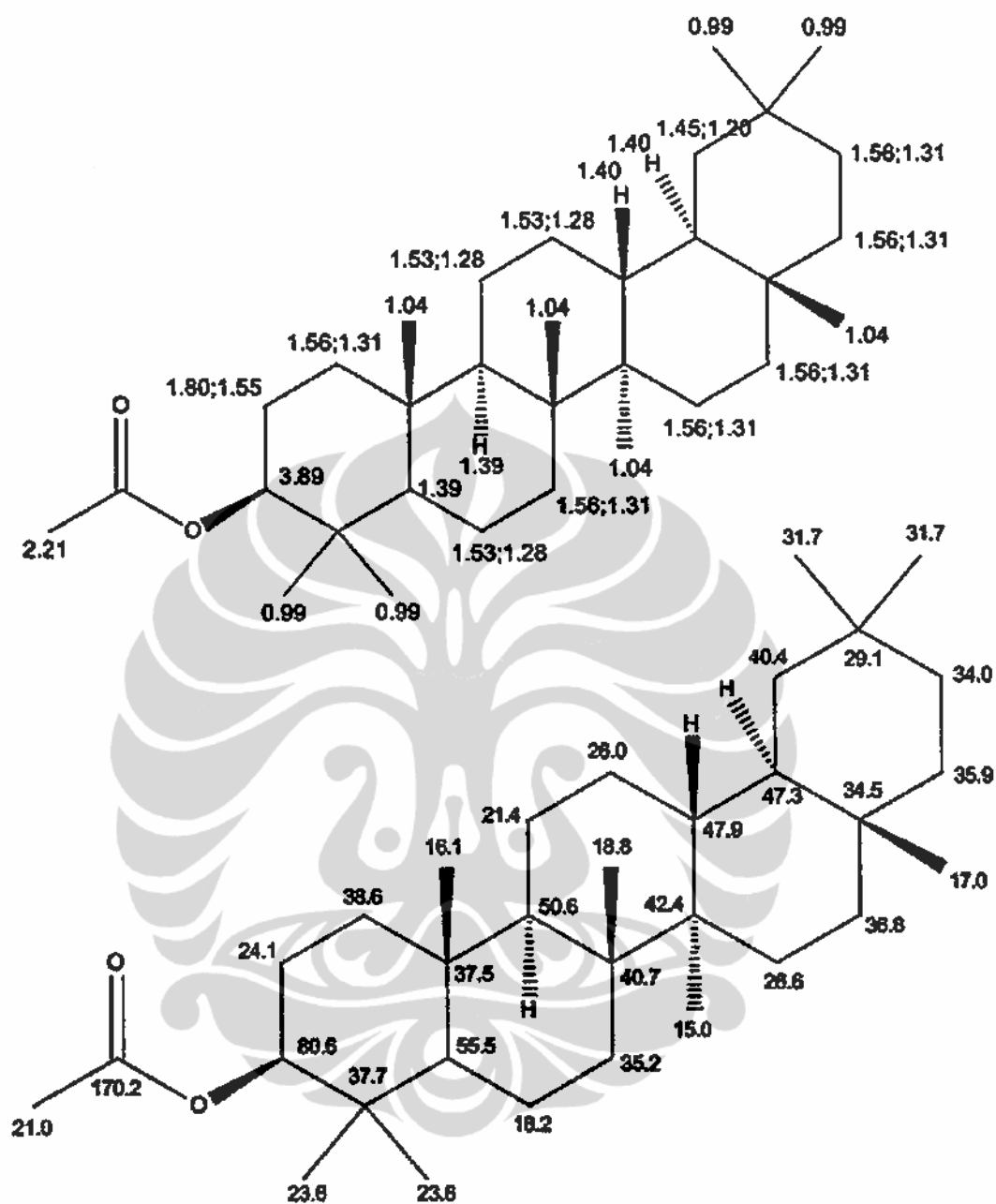
Gambar 26. Struktur molekul asetil gammaseranol (semyawa D)

Untuk melengkapi nilai geseran kimia dari masing-masing proton atau karbon maka dilakukan dengan pengukuran HMBC dan prediksi nilai geseran kimia, menggunakan program Chem Draw Ultra 10,0 adalah sebagai berikut::



Gambar 27. Korelasi jarak jauh untuk senyawa D

Dugaan struktur tersebut, didukung dengan data pengukuran 2D-NMR (HMQC dan HMBC) serta data nilai geseran kimia berdasarkan hasil penelitian dan penelusuran prediksi, maka dianalisis senyawa D adalah asetil gammaseranol, adalah sebagai berikut:



Gambar 28. Nilai prediksi geseran kimia ^1H dan ^{13}C - NMR Asetil-gammaseranol.

Tabel 28. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa (CDCl_3) Asetil-gammaseranol hasil penelitian dan dari prediksi.

No	δ_{H} (ppm, J dalam Hz) hasil penelitian	δ_{C} (ppm)	Prediksi Nilai Geseran Kimia Asetil gammaseranol (prediksi)	
			δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)
1		38,4		38,6
2		23,5		24,1
3	5,0 (dd, 9,2; 1,3)	77,51 (d)	3,89 (dd)	80,6
4		37,8		37,7
5		50,52		55,5
6		18,3		18,2
7		32,3		35,2
8		43,54		40,7
9		49,19		50,6
10		44,17		37,5
11		23,4		21,4
12		26,2		26,0
13		50,03		47,9
14		46,04		42,4
15		28,76		26,6
16		33,37		36,8
17		42,17		34,5
18		55,73		47,3
19		37,70		40,4
20		50,32		29,1
21		40,60		34,0
22		33,62		35,9
23	1,17 (s)	31,31	0,99	23,6
24	1,13 (s)	28,76	0,99	23,6
25	0,77 (s)	15,98	1,04	16,1
26	1,10 (s)	13,10	1,04	18,8
27	1,02 (s)	17,65	1,04	15,0
28	0,83 (s)	33,61	1,04	17,0
29	0,76 (s)	21,78	1,04	
30	0,78 (s)	15,98	1,04	
CH_3CO	1,97 (s)	21,78	2,21	
CH_3CO		170,97		

4.1.5. Penentuan Struktur Senyawa E (SW-5)

Senyawa E merupakan serbuk berwarna kuning muda, dengan titik leleh 212 – 215°C.

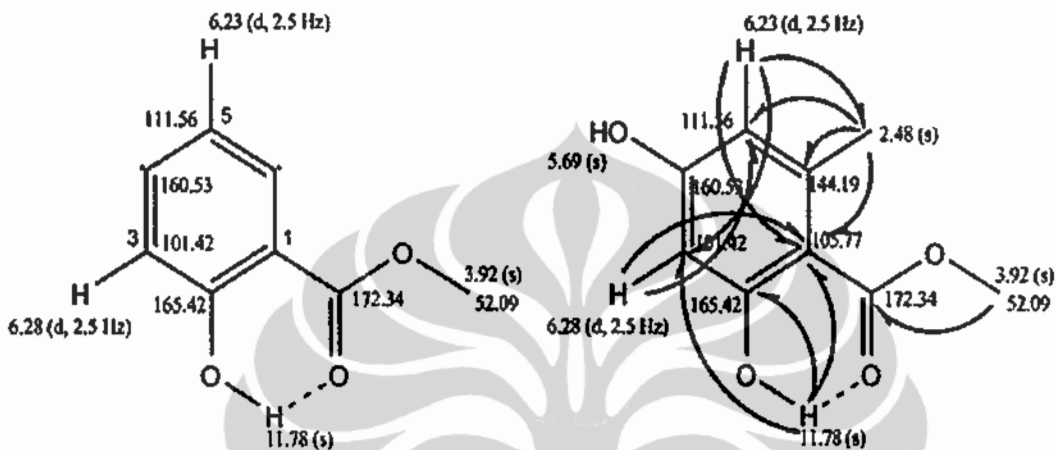
Spektrum infra merah

Hasil pengukuran spektrum FT-IR untuk senyawa E (SW-7) menunjukkan adanya gugus fungsi hidroksil (-OH), karbonil suatu ester (-COOR) dan cincin aromatik (Ar) yang diperlihatkan dengan adanya signal spesifik pada bilangan gelombang (ν) 3400 (b), 1740, 1250 dan 1610 cm^{-1} .

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$

Berdasarkan hasil pengukuran spektrum $^1\text{H-NMR}$ (500 Hz) menunjukkan adanya 1 pasang proton aromatik yang muncul pada nilai geseran kimia 6,23 (1H, d, 2,5 Hz) dan 6,28 (1H, d, 2,5 Hz) dalam bentuk doublet (d) dengan nilai J kopling 2,5 Hz, menunjukkan bahwa kedua proton tersebut berposisi meta (m). Adanya gugus hidroksil pada spektrum tersebut muncul pada daerah medan magnet rendah yaitu pada δ_{H} (ppm) 11,78 (s) karena membentuk ikatan hidrogen dengan adanya gugus karbonil. Signal singlet yang nampak pada δ_{H} (ppm) 5,69 (s, 1H) diduga merupakan gugus hidroksil (-OH). Munculnya signal singlet (s) pada daerah medan magnet yang cukup rendah yaitu pada δ_{H} (ppm) 2,48 (3H) merupakan gugus metil (-CH₃) yang terikat pada C dari cincin aromatik. Disamping itu adanya gugus metil ester diperlihatkan dengan adanya serapan pada δ (ppm) 3,92 (s, 3H).

Hasil pengukuran spektrum $^1\text{H-NMR}$ didukung dengan data $^{13}\text{C-NMR}$ dan korelasi data $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ melalui pengukuran 2D-NMR HMQC (Gambar 29 dan Tabel 29). Adanya gugus karbonil (C=O) dari suatu ester ditunjukkan dengan adanya signal pada δ_{C} (ppm) 172,34.



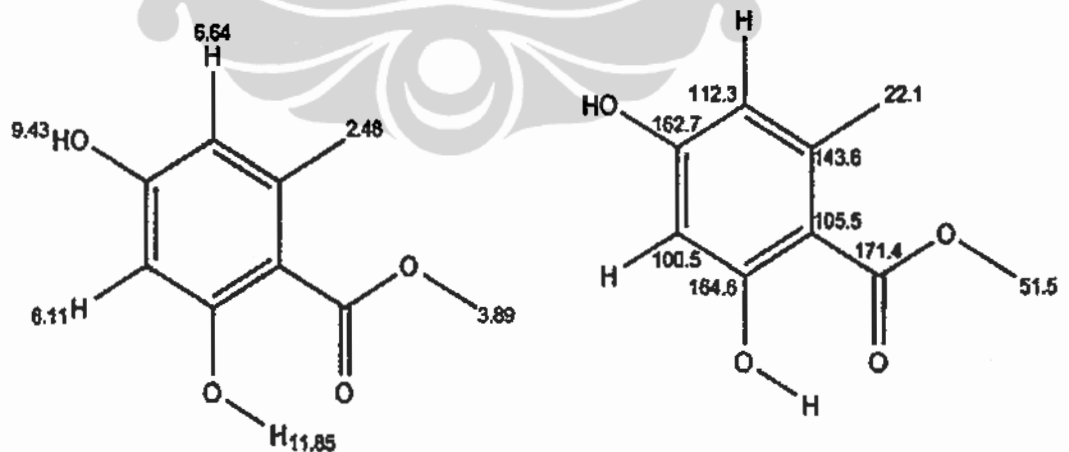
Gambar 29. Nilai geseran kimia dan korelasi jarak jauh (HMBC) untuk senyawa E

Hasil pengukuran korelasi $^1\text{H-}^{13}\text{C}$ pada δ_{H} (ppm) = 6,23 (d) dan 6,28 (d) masing-masing berkorelasi langsung dengan δ_{C} (ppm) pada 111,56 dan 101,42, dan δ_{H} (ppm) 3,92 (s) berkorelasi dengan δ_{C} (ppm) 52,09, sedangkan gugus metil ($-\text{CH}_3$) pada δ_{H} (ppm) 2,48 (s) berkorelasi dengan δ_{C} (ppm) = 111,56; 144,19; 105,77.

Dugaan struktur tersebut, didukung dengan data pengukuran 2D-NMR (HMQC dan HMBC) serta data nilai geseran kimia berdasarkan hasil penelitian dan penelusuran prediksi, maka dianalisis senyawa E adalah (2,4-dihidroksi-6-metil) benzoat metil ester, dengan analisis adalah sebagai berikut:

Tabel 29. Perbandingan nilai geseran kimia senyawa (CDCl_3) (2,4-dihidroksi-6-metil)-benzoat metil ester hasil penelitian dan dari prediksi

No	δ_{H} (ppm, J dalam Hz) hasil penelitian	δ_{C} (ppm)	Prediksi Nilai Geseran Kimia (2,4-dihidroksi-6-metil) benzoat metil ester (prediksi)	
			δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)
1		105,77 (s)		106,5
2		165,42 (s)		164,6
3	6,28 (d, 2,5)	101,42 (d)	6,11 (d)	100,5
4		160,59 (s)		162,7
5	6,23 (d, 2,5)	111,56 (d)	6,64 (d)	112,3
6		144,19 (s)		143,6
6- CH_3	2,48 (s)	143,6 (s)	2,48 (s)	105,5
1-COO-		172,34 (s)		171,4
1-COOCH ₃	3,92 (s)	52,09 (q)	3,89 (s)	51,5
2-OH	11,78 (s)		11,85 (s)	
4-OH	5,69 (s)		9,43 (s)	

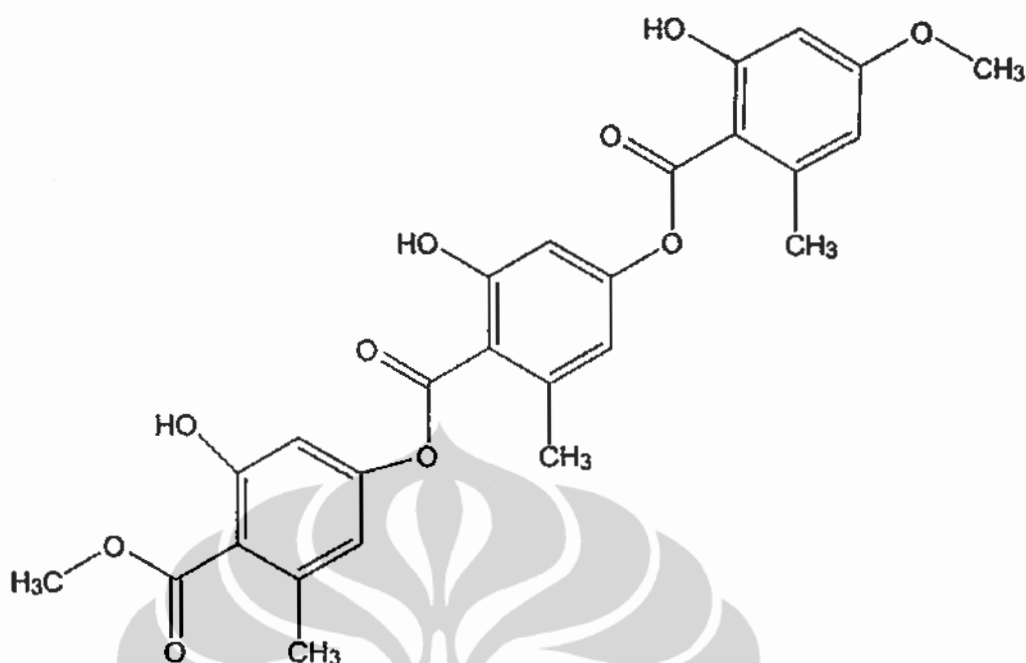


Gambar 30. Prediksi nilai geseran kimia untuk senyawa E

Posisi gugus $-CH_3$, dapat dengan mudah ditentukan dengan munculnya korelasi jarak jauh antara gugus $-CH_3$ (2,48, s) dengan δ_C (ppm) pada 114,19 (C-6); 111,56 (C-5) dan 105,77 (C-1). Dengan demikian maka gugus hidroksi terletak pada C-4 karena adanya nilai geseran kimia yang muncul pada medan magnet rendah pada δ_C (ppm) 160,53 (C-4), karena gugus $-OH$ (11,78, s) terletak pada C-2 (δ_C (ppm) 165,42) dengan adanya korelasi jarak jauh antara δ_H (ppm) 11,78 dengan δ_C (ppm) = 165,42 (C-2), 101,41 (C-3), dan 105,77 (C-1). Berdasarkan data tersebut di atas dan korelasi jarak jauh dari proton aromatik pada δ_H (ppm) 6,23 (d) terhadap karbon pada δ_C (ppm) = 105,77 (C-1), 101,42 (C-3), sedangkan δ_H (ppm) 6,28 (d) terhadap karbon pada δ_C (ppm) = 105,77 (C-1), 111,56 (C-5), maka diprediksi senyawa E adalah (2,4-dihidroksi-6-metil) benzoat metil ester.

Hasil pengukuran spektrum massa mendukung dugaan tersebut yang ditunjukkan dengan adanya molekul ion ($M^+ + H$) pada 183,0048 yang berarti BM senyawa E adalah 182,0048 sesuai dengan BM senyawa (2,4-dihidroksi-6-metil) benzoat metil ester .

Berdasarkan hasil penelusuran prediksi diketahui bahwa senyawa tersebut diisolasi dari tanaman, dan dikenal dengan nama orsenillik metil ester. Dari tanaman *P. polydactyla* pernah diisolasi sebagai senyawa dengan nama metil giroporat oleh Elix Bryan, A.J. et al.⁽¹⁵⁾, juga diisolasi dari *P. ophiosa*, *Lobaria pulmonaria*, *L. linita* dan *Pseudocyphellaria* sp, dengan struktur sebagai berikut:



Gambar 32. Struktur molekul metil giroporat

4.2. Uji Aktivitas (Bioassay)

Hasil dari pengukuran uji bioaktivitas terhadap senyawa A, B, C, D, dan E adalah sebagai berikut

4.2.1 Hasil uji aktivitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).⁽⁴³⁾

Dari hasil uji pendahuluan bioaktivitas terhadap larva udang *A. salina* Leach (BSLT) untuk senyawa A atau (-)-asam usnat didapat harga $LC_{50} = 39,62 \mu\text{g/mL} \lll 100 \mu\text{g/mL}$ berarti sangat potensial karena adanya jembatan hidrogen pada senyawa tersebut. Sedangkan untuk senyawa B atau eumitrin A₁, didapat harga $LC_{50} = 2,25 \mu\text{g/mL} \lll 100 \mu\text{g/mL}$ berarti senyawa ini aktif. Kemungkinan karena adanya jembatan hidrogen, gugus fungsi OH dan karbonil. Dan untuk senyawa D

atau asetil gamaseranol, didapat hanya $LC_{50} = 56,1 \mu\text{g/mL} < 100 \mu\text{g/mL}$ berarti senyawa ini tidak aktif.

4.2.2 Hasil uji aktivitas antioksidan senyawa A (SW-1) atau (-) – asam usnat

Aktivitas antioksidan dari suatu sampel dapat juga dilihat dari nilai IC_{50} (*Inhibitor concentration*) yang menyatakan bahwa sampel pada konsentrasi tertentu telah mempunyai nilai inhibitor (menghambat terbentuknya radikal bebas) sebesar 50%. Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dari (-)-asam usnat diperoleh $IC_{50} = 910 \text{ ppm}$ dan $IC_{50} \text{ BHT} = 43 \text{ ppm}$, ini menunjukkan IC_{50} dari (-)- asam usnat cukup besar, berarti hanya pada konsentrasi 910 ppm baru dapat menghambat radikal bebas DPPH sebanyak 50%.

Nilai IC_{50} dari (-)- asam usnat yang cukup besar kemungkinan disebabkan karena adanya ikatan hidrogen yang terdapat dalam (-)- asam usnat, sehingga atom hidrogen yang seharusnya sebagai donor hidrogen yang merupakan fungsi suatu senyawa antioksidan menjadi sulit untuk dilepaskan. Menurut literatur ⁽²⁷⁾ ikatan hidrogen dalam suatu senyawa mempunyai peran penting terhadap aktivitas biologinya, misalnya ikatan hidrogen intermolekul menghasilkan tenaga ikat antar molekul yang besar, sehingga atom hidrogen sulit untuk dilepaskan dan ini terjadi pada molekul (-)- asam usnat, di mana dalam strukturnya memiliki ikatan hidrogen intra molekul, hal inilah yang kemungkinan menyebabkan nilai IC_{50} dari (-)- asam usnat cukup besar.

4.2.3. Hasil uji aktivitas P-388 terhadap senyawa A (SW-1)

Dari hasil bioassay sitotoksik terhadap sel Murine Leukimia P-388 didapat nilai $IC_{50} = 6,5 \mu\text{g/mL}$ (hasil uji terlampir). Dapat diartikan bahwa senyawa A (SW-1), menurut Alley (1988) dikategorikan tidak aktif (karena IC_{50} aktif mempunyai harga 2-4 $\mu\text{g/mL}$) terhadap efek sitotoksik sel uji tumor (malignant sel cell lines).

4.2.4. Hasil uji aktivitas P-388 terhadap senyawa B (SW-2)

Dari hasil bioassay sitotoksik terhadap sel Murine Leukimia P-388 didapat nilai $IC_{50} = 3,2 \mu\text{g/mL}$ (hasil uji terlampir). Dapat diartikan bahwa senyawa B (SW 2), menurut Alley (1988) dikategorikan aktif (+) (karena IC_{50} aktif mempunyai harga 2-4 $\mu\text{g/mL}$) terhadap efek sitotoksik sel uji tumor (malignant sel cell lines).

4.2.5. Hasil uji aktivitas P-388 terhadap senyawa D (SW-4)

Hasil bioassay sitotoksik terhadap sel Murine Leukimia P-388 didapat $IC_{50} = 62,5 \mu\text{g/mL}$ (hasil uji terlampir). Dapat diartikan bahwa senyawa D (SW 4) menurut Alley (1988) dikategorikan tidak aktif (karena harga $IC_{50} \gg \gg 4 \mu\text{g/mL}$).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Dalam ekstrak aseton dan serbuk kering talus *U. dasypoga* (Ach.) Nyl didapat tiga buah senyawa, yaitu : (-)- asam usnat (senyawa A/SW-1) dan senyawa B (SW-2) adalah eumitrin A₁ serta senyawa C (SW-3) adalah asam 3-asetil-12-ursanen-28 oat.
2. Dalam ekstrak aseton dari serbuk kering talus *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm didapat dua buah senyawa, yaitu diduga senyawa D (SW-4) yaitu: asetil gammaseranol dan senyawa E (SW-5) adalah (2,4-dihidroksi-6-metil)-benzoat metil ester.
3. Senyawa asam-3-asetil-12-ursanen-28-oat (senyawa C) dan asetil gammaseranol (senyawa D) merupakan senyawa yang diusulkan sebagai senyawa baru yang diisolasi dari tumbuhan lichen.
4. Hasil uji aktivitas *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) didapat, untuk senyawa A, LC₅₀ = 39,62 µg/mL (sangat potensial), untuk senyawa B, LC₅₀ = 2,25 µg/mL (aktif), untuk senyawa D, LC₅₀ = 56,00 µg/mL (tidak aktif).
5. Dari hasil uji pendahuluan bioaktivitas anti oksidan didapat : senyawa (-)- asam usnat mempunyai harga IC₅₀ = 910 ppm dan IC₅₀ BHT = 43

ppm, berarti pada konsentrasi 910 ppm baru dapat menghambat radikal bebas DPPH sebanyak 50%.

6. Hasil bioassay sitotoksik terhadap sel mumi Leukimia P-388, yaitu :
 - a. untuk senyawa A (SW 1)
 $IC_{50} = 6,5 \mu\text{g/mL}$ (tidak aktif)
 - b. untuk senyawa B (SW 2)
 $IC_{50} = 3,2 \mu\text{g/mL}$ (aktif)
 - c. untuk senyawa D (SW-4)
 $IC_{50} = 62,5 \mu\text{g/mL}$ (tidak aktif).
7. Dari lichen *U. dasypoga* (Ach.) Nyl. diperoleh senyawa yang mempunyai bioaktivitas anti kanker, sedangkan dari lichen *P. polydactyla* Neck.) Hoffm. dihasilkan senyawa yang bukan bersifat anti kanker.

5.2. SARAN

Dapat dilakukan penelitian lanjutan pada Talus *U. dasypoga* (Ach.) Nyl dan *P. polydactyla* (Neck.) Hoffm. dengan pelarut etanol atau metanol (lebih polar dari aseton) karena masih banyak senyawa-senyawa yang belum terisolasi, serta belum diuji bioaktivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Crittenden, P. D., Peter, N., Lichen forming fungi : Potential Sources of novel metabolites, *Tibteck*, Desember, 9, 409-414, 1991.
2. Tjitrosoepomo, G., Taksonomi Tumbuhan, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 1989.
3. Layla Gani, R., Isolasi dan Penentuan Struktur Senyawa Kimia dalam Talus Lichen *Usnea dasypoga* Rohl, Tesis Megister Sains, Program Pascasarjana Universitas Indonesia, Depok, 1995.
4. Hastini, Isolasi Asam Usnat Dari Tumbuhan *Usnea dasypoga* (Ach.) Nyl serta Uji Aktivitas Antioksidan, Tesis Magister Sains, Program Pascasarjana Universitas Indonesia, Depok, 2006.
5. Winiati, S., Isolasi dan Elusidasi Struktur serta Penentuan Aktivitas Biologi Senyawa Kimia dalam Fraksi n-heksana dan Aseton dari Talus Lichen *Ramalina Javanica* Nyl, Tesis Magister Sains, Program Pascasarjana Universitas Indonesia, Depok, 1999.
6. Rost, T. L., Barbour, M.G., Thornton, R.M., Weier, T.E., Stocking, C.R., *Batany abrief introdutionto plant biology*, New York : John Wiley dan Son Publisier. 1983.
7. Nurachman, Z., Lichenes Gudang Bahan Baku Obat, hal 10, Kompas, 13 Februari, 1993.

8. Hale, M.E., How to Know The Lichen, W.M.C, Brown Company Publisher, Dubuque, Iowa, 1969.
9. Priyono Suwarso, W., Lichen, Tanaman Suku Rendah yang Berpotensi Sebagai Sumber Senyawa Kimia Bahan Alam Baru yang Berkhasiat Sebagai Obat, Pidato Pada Upacara Pengukuhan Sebagai Guru Besar Tetap Dalam Bidang Ilmu Kimia Organik Pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, 2004.
10. Ningsih, S., Tesis Magister Sains Ilmu Kimia, Program Studi Megister Ilmu Kimia, Program Pascasarjana Universitas Indonesia, Depok, 2001.
11. Fuad, C., Dulay, T., Artemia Salina, Jaringan Informasi Perikanan Indonesia, Dirjen Perikanan, 12, 1986.
12. Pudjiastuti, P., Penentuan Struktur Molekul dan Uji Aktivitas Anti Bakteri Senyawa Kimia Dalam Kulit Batang Tanaman Kecapi Kera, *Sandoricum emarginatum* Hiem, *Thesis Magister Ilmu Kimia*, Program Pascasarjana, Universitas Indonesia, Depok, 1994.
13. Wahyuningsih M.S.H, *et al.*, Pencarian Senyawa Anti Kanker Dari Bahan Alam, *J. Trad. Med.*, 8, 1-2. 2003.
14. Culberson, C.F., Improved condition and new data for the identification of lichen products by a standardized thin-layer chromatographic method. *J Chromatography*. 72: 113-125. 1972.
15. Elix, J.A., Johnston, J, Parker, J.L. A computer program for the rapid identification of lichen substances. *Mycotaxon* 31(1): 89-99. 1998.

16. Halliwell, B. J., Free Radicals in Biology and Medicine, 2nd ed, Clarendon press, Oxford, 1989.
17. Tensiska, Tesis Program Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor, 2001.
18. Winarno, F. G., Kimia Pangan dan Gizi, Penerbit Gramedia, Jakarta, 1984.
19. Harbone, J.B., Metode Fitokimia, Terjemahan oleh Padmawinata K dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung, 1987.
20. Sutrisno, B., Pereaksi KLT (Kromatografi Lapis Tipis), Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta, 1993.
21. Gabb M.H. & W.E. Latchem, A Handbook of Laboratory Solutions, Chemical Publishing Company Inc. First American Edition, New York, 1968.
22. Priyono Suwarso, W., Layla Gani, R., Krohn, K., The Absolute Configuration of Dasyogalactone, A New Chiralic C₃ – Symmetric Macrolactone from The Indonesia Lichen *Usnea dasyoga* Rohl., Bull. Indon. Soc. Nat. Prod. Chem., 5(2), 2005, In Press, 2005.
23. Culberson, C. F., Chemical and Botanical Guide to Lichen Products, Otto Koeltzen Science Publisher, Koenigstein, Germany. 538-539, 1979.
24. Huneck, S., Yosimura, I., Identification of Lichen Substances, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1996.
25. Layla Gani, R., Tesis Magister Sains Ilmu Kimia. Program Studi Magister Ilmu Kimia. Program Pascasarjana Universitas Indonesia, Depok, 1998.
26. Cruickshank, R., Medical Microbiology, A Guide to the Laboratory Diagnosis and Control of Infection, The English Language Book Society and E.S. Livingstone., 1968
27. Spur, A., Bioassay in Microbiology, Encyclopedia of Microbiology, vol. 1, Academic Press, New York, 1992.

28. Wattimena, J. R., N. C. Sugiarto, M. B. Widiyanto, E. Y. Sukandar, A. A. Soemardji, A. R. Setiadi, *Farmakodinami dan Terapi Antibiotik*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Gajah Mada University Press, Yogyakarta, 1992.
29. Alley, M. C., Scudiero, D. A. Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., Abbot, B. J., Shoemaker, R. H., Boyd, M. R., *Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cell Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay*, *Cancer Res.*, 48, 589-601, 1988.
30. Ito, T., Akao, Y., Yi, H., Ohguci, K., Matsumoto, K, Tanaka, T., Iinuma, M., Nozawa, Y. *Antitumor Effect of Resveratrol Oligomer Against Human Cancer Cell Lines and The Molecular Mechanism of Apoptosis Induced by Vaticanol C*, *Carcinogenesis*, 24 (9, 1489 – 1497), 2003.
31. C. F. Culberson, *Chemical and Botanical Guide to Lichen Products*, Otto Koeltz Science Publishers, Koln, 1979.
32. M.H. Gabb and W.E. Latchem, *A Handbook of Laboratory Solutions*, Chemical Publishing Company Inc. First American Edition, New York, 1968.
33. K.L. Alvin, and K.A. Kershaw, *The Observer's Book of Lichen*, Frederick Warne & Co Ltd., London, 1983.
34. E. Breitmaier, *Structure Elucidation by NMR in Organic Chemistry*, John Wiley and Sons, Chichester, 1993.
35. C.N. Banwell *Fundamental of Molecular Spectroscopy*, University of Sussex, McGraw-Hill Book Company, London England, 1988.
36. H. Sastroamidjojo, *Spektroskopi Inframerah*, Liberty, Yogyakarta, 1992.
37. Muhammad Mulja, dan Suherman, *Analisis Instrumental*, Airlangga University Press, Surabaya, 1995.

38. D.H. Williams, and I. Fleming, *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*, McGraw-Hill Book Co, London, 1995.
39. R.J. Fessenden and J.S. Fessenden, *Kimia Organik*, Terjemahan oleh A. Hadyana Pudjaatmaka dan H. M. Surdia, Jilid1, Erlangga, Jakarta, 1982.
40. J. Mann, *Secondary Metabolism*, Oxford University Press, New York, 1980.
41. P. Manitto, *Biosynthesis of Natural Products*, John Willey and Sons, Toronto, 1981.
42. E.L. Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compound*, McGraw-Hill Publ. Co. Ltd. New Delhi, 1983.
43. Sutrisno, Soedijdo, S., Ahmad, B, Buckori., isolasi Pakirizin dari Biji Bengkoang (*pchyrrhizus Erasmus, Urban*) dan Uji Aktivitas Sitotoksiknya. *J. Farmasi Indonesia*. 2001.

Lampiran 1

Hasil identifikasi tumbuhan lichen *U. dasypoga* (Ach) Nyl.



Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)

Jl. Ir. H. Juanda No. 18, 16002, Indonesia P.O. Box 208 Bogor
Telp. (0251) 321038 - 321041 Fax. 325854

Bogor, 9 Februari 2004

Nomor : 073 /IPH.1.02/lf.8/2004
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.
Sdr. Sri Winiati
Jur. Kimia - FMIPA - UI
Depok

Dengan hormat,

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

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	A	<i>Usnea Dasypoga</i> (Ach) Nyl	Usneaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Eko Baroto Walujo
NIP. 320001330

Lampiran 2

Hasil identifikasi tumbuhan lichen *Peltigera polydactyla* (Neck.) Hoffm.



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
 (Research Center for Biology)

Jl. Ir. H. Juanda 18, Bogor 16002, Indonesia P.O Box 208 Bogor
 - Telp. (0251) 321038 - 321041 Fax. 325854

Bogor, 9 September 2004

Nomor : 6224/IPH.1.02/If.8/2004
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

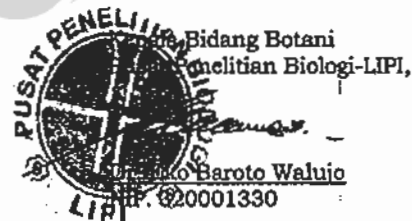
Kepada Yth.
 Sdr. Sri Winiati
 Jur. Kimia UI
 Depok

Dengan hormat,

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

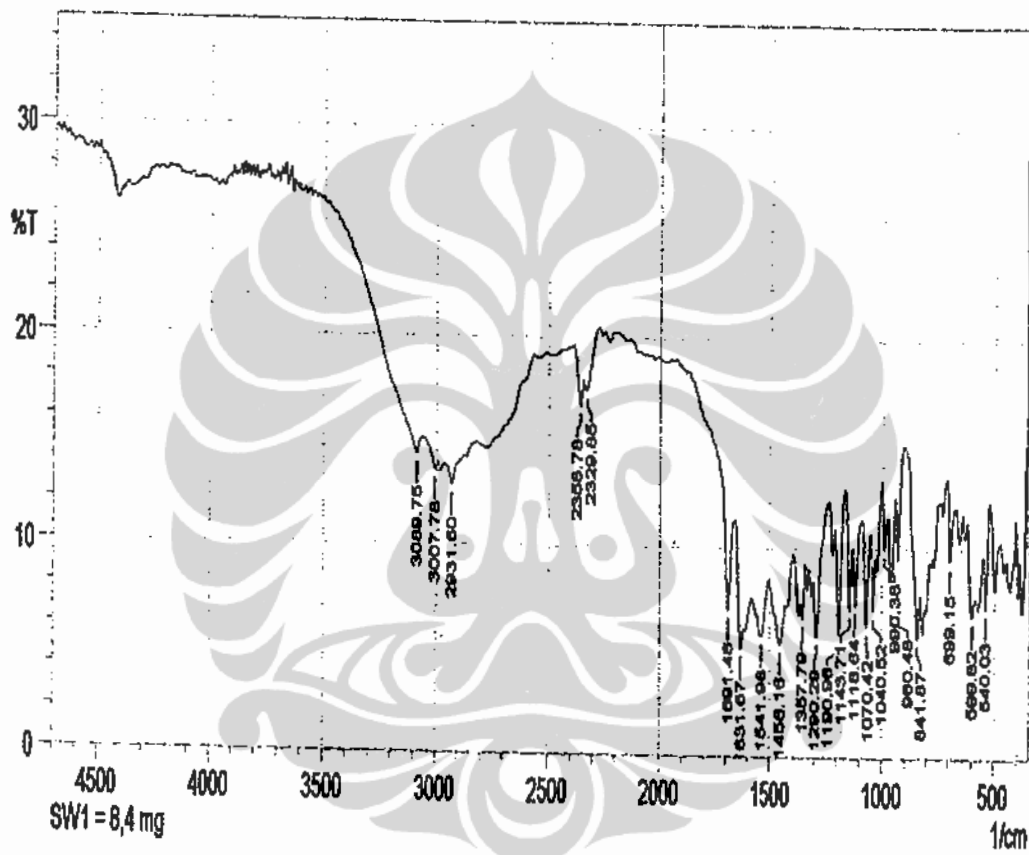
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	A	<i>Peltigera polydactyla</i> (Neck.) Hoffm.	Peltigeraceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.



Lampiran 3

Spektrum infra merah senyawa A

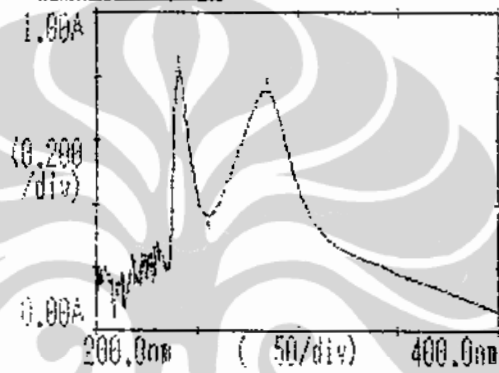


Lampiran 4

Spektroskopi UV senyawa A

02/Mar/10 13:53:28

Data Processing



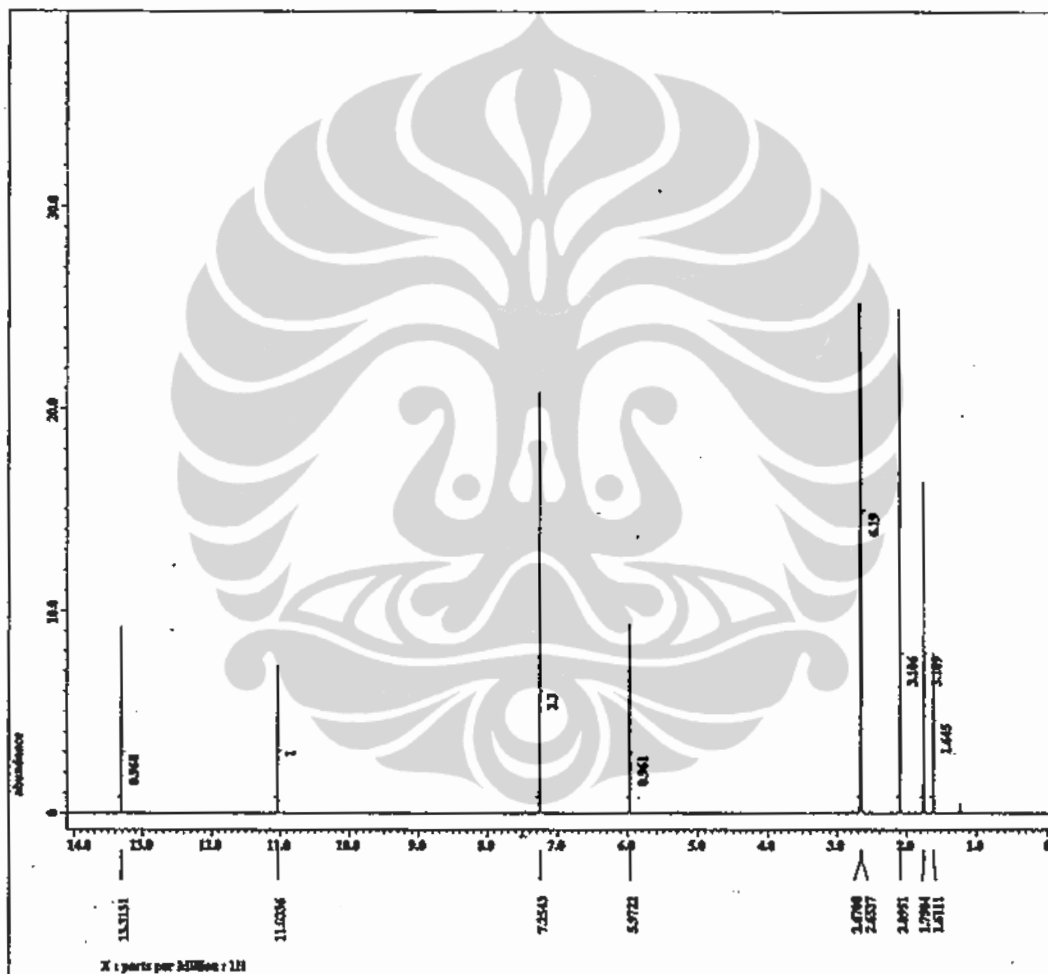
Peak	Valley

02/Mar/10 13:56:00

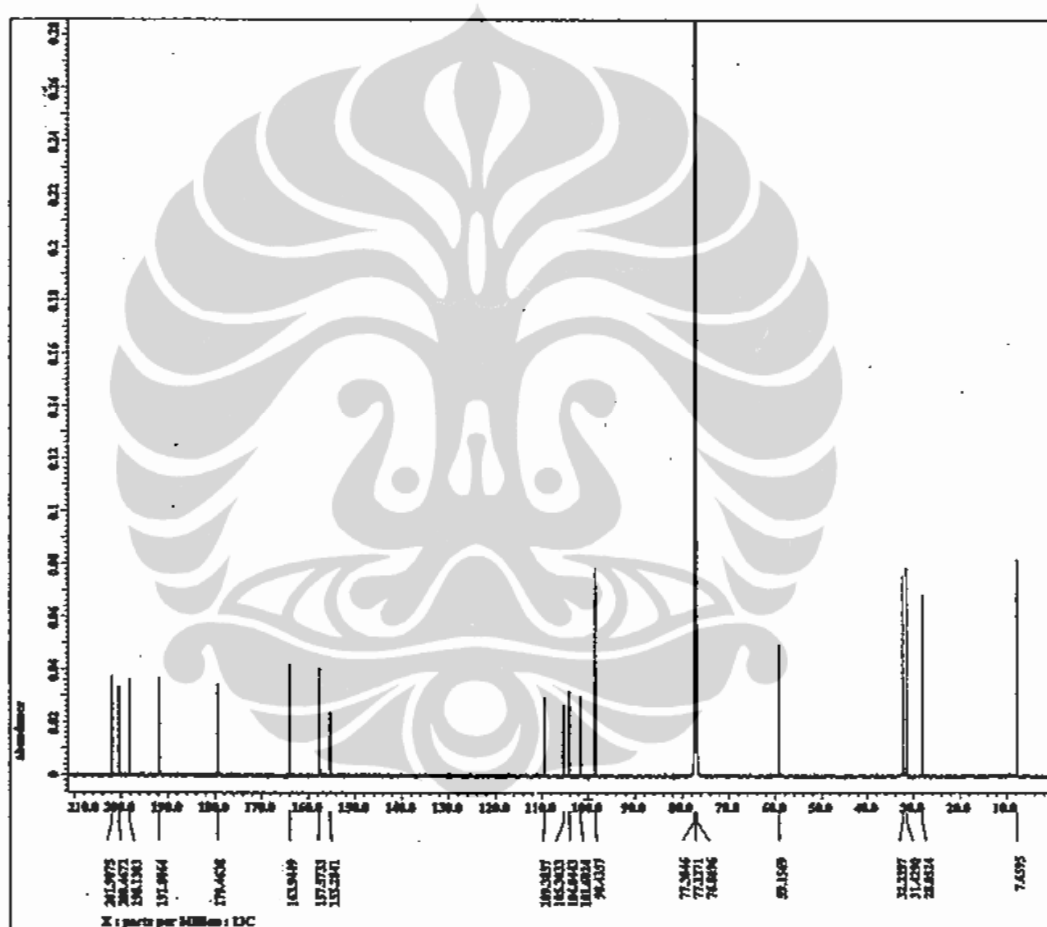
Peak detection

Abciss.	Abs	Abciss.	Abs
284.5	0.7568		
241.0	0.8248		

Lampiran 5

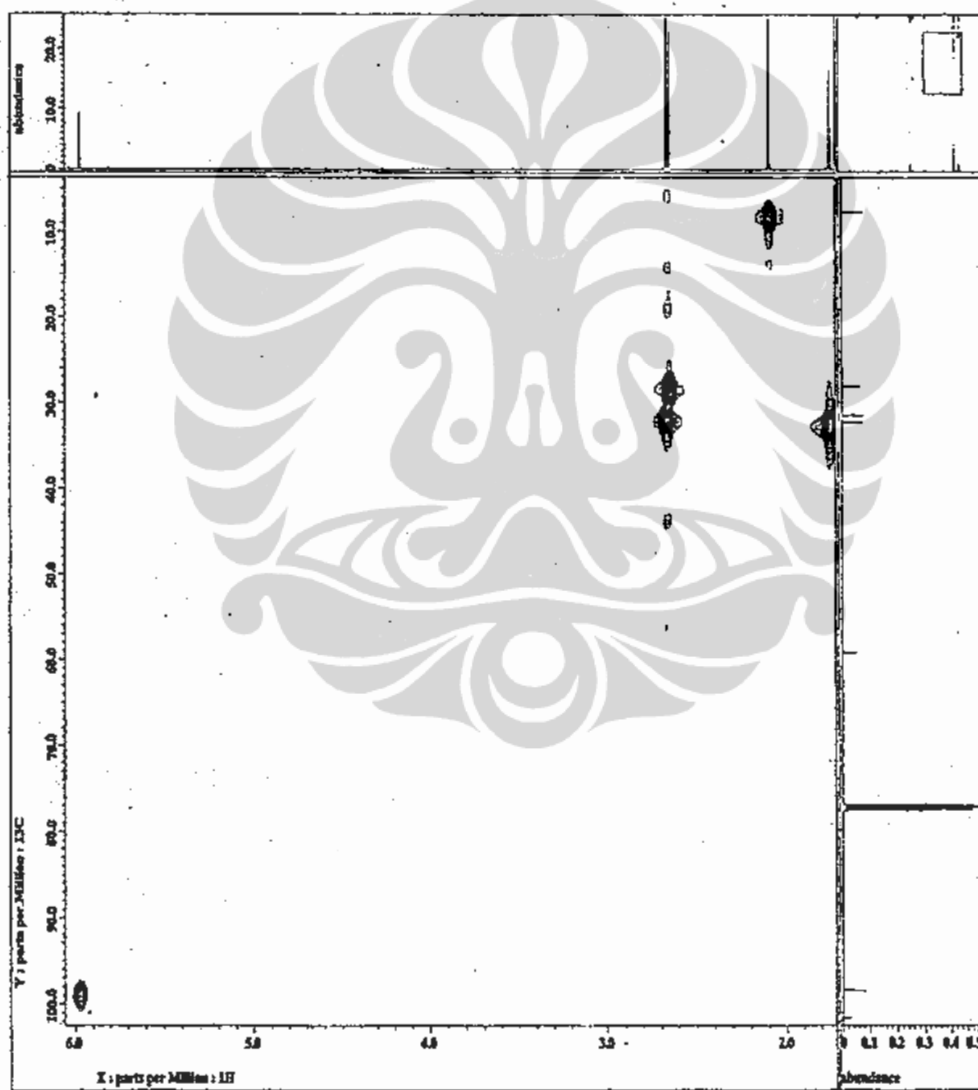
Spektrum ^1H – NMR (-)-Asam Usnat (Senyawa A)

Lampiran 6

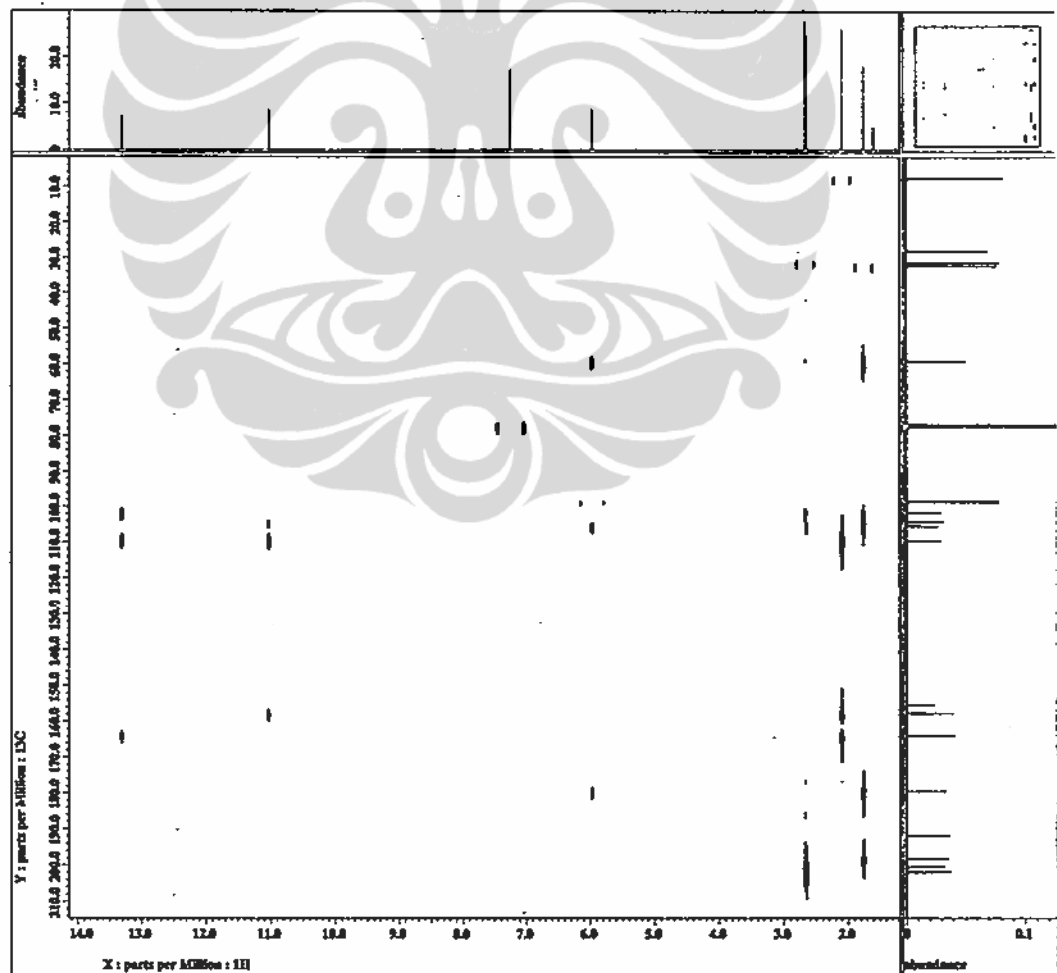
Spektrum ^{13}C – NMR (-)-Asam Usnat (Senyawa A)

Lampiran 7

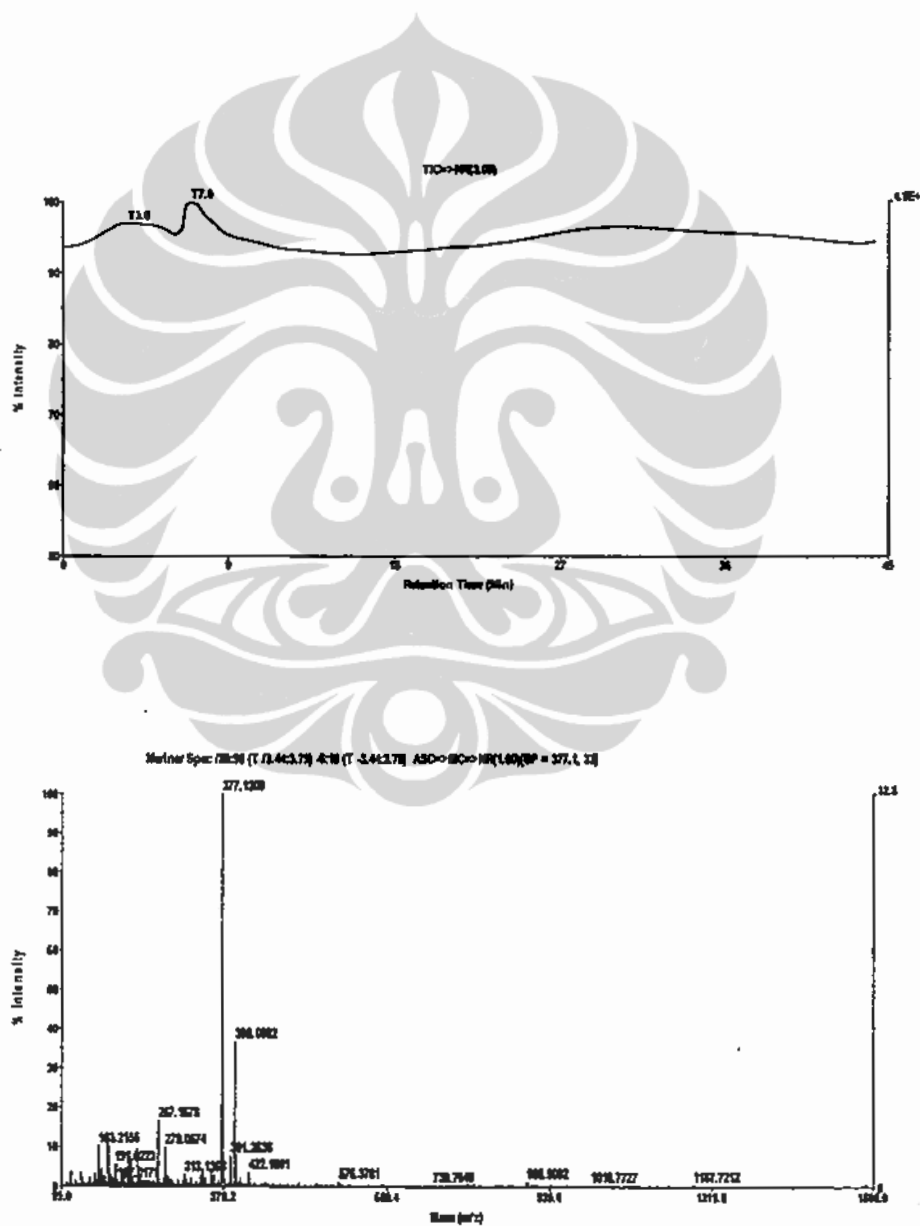
Spektrum HMQC (-)-Asam Usnat (Senyawa A)



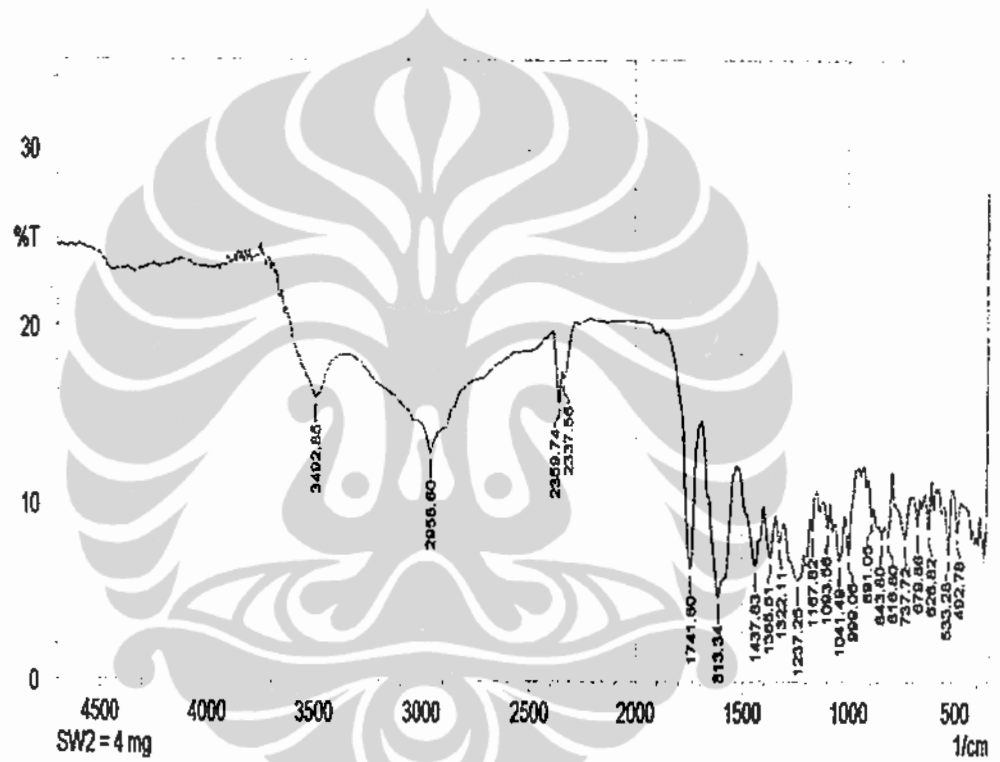
Lampiran 8
Spektrum HMBC (-)-Asam Usnat (Senyawa A)



Lampiran 9
Spektrum massa senyawa A



Lampiran 10
Spektrum infra merah senyawa B



Lampiran 11
Spektroskopi UV senyawa B

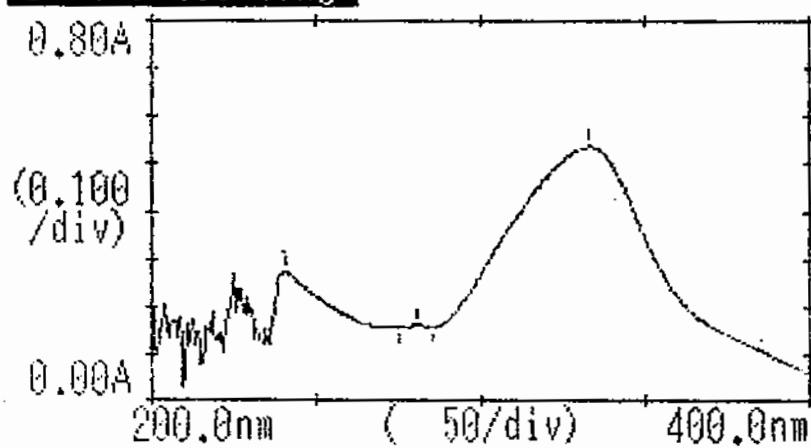
02/Mar/10 11:58:50

Peak detection

Abscis.	ABS	Abscis.	ABS
333.5	0.5375		
281.0	0.1595		
241.0	0.2710		

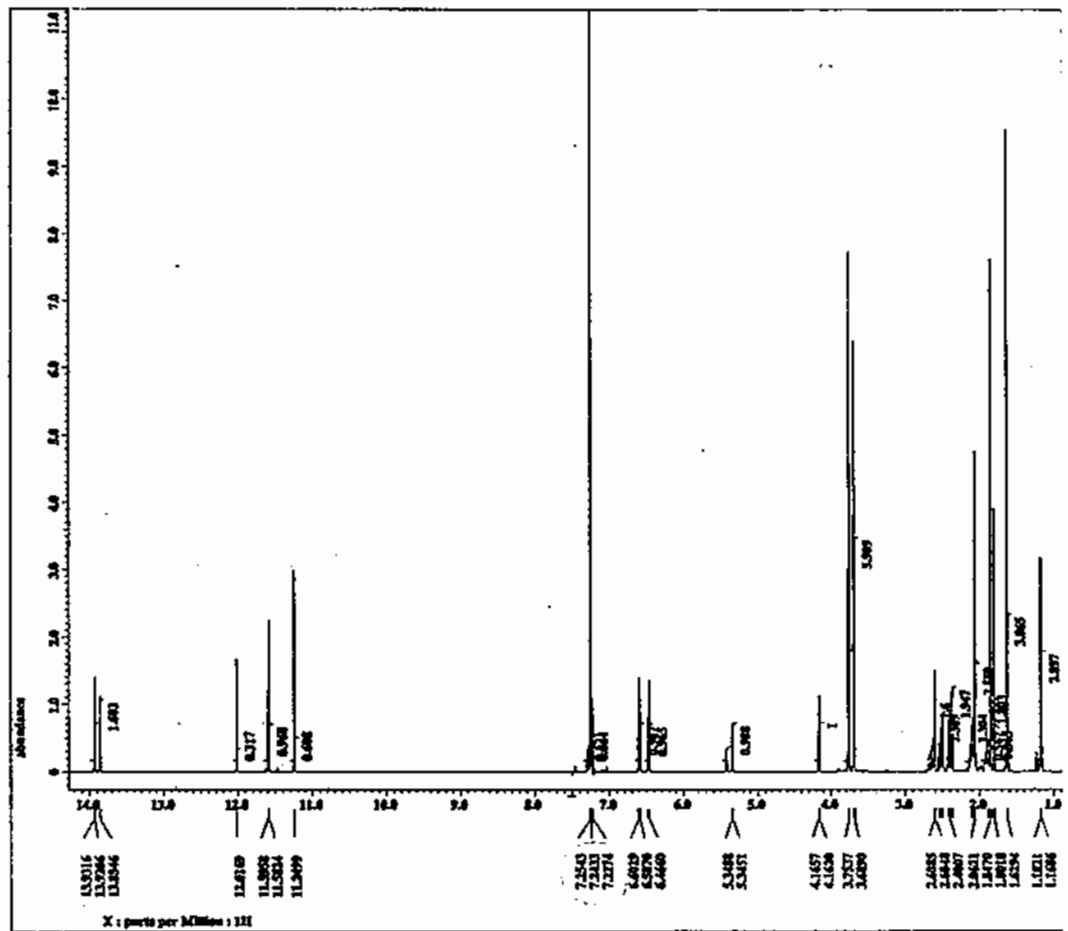
02/Mar/10 11:59:07

Data Processing

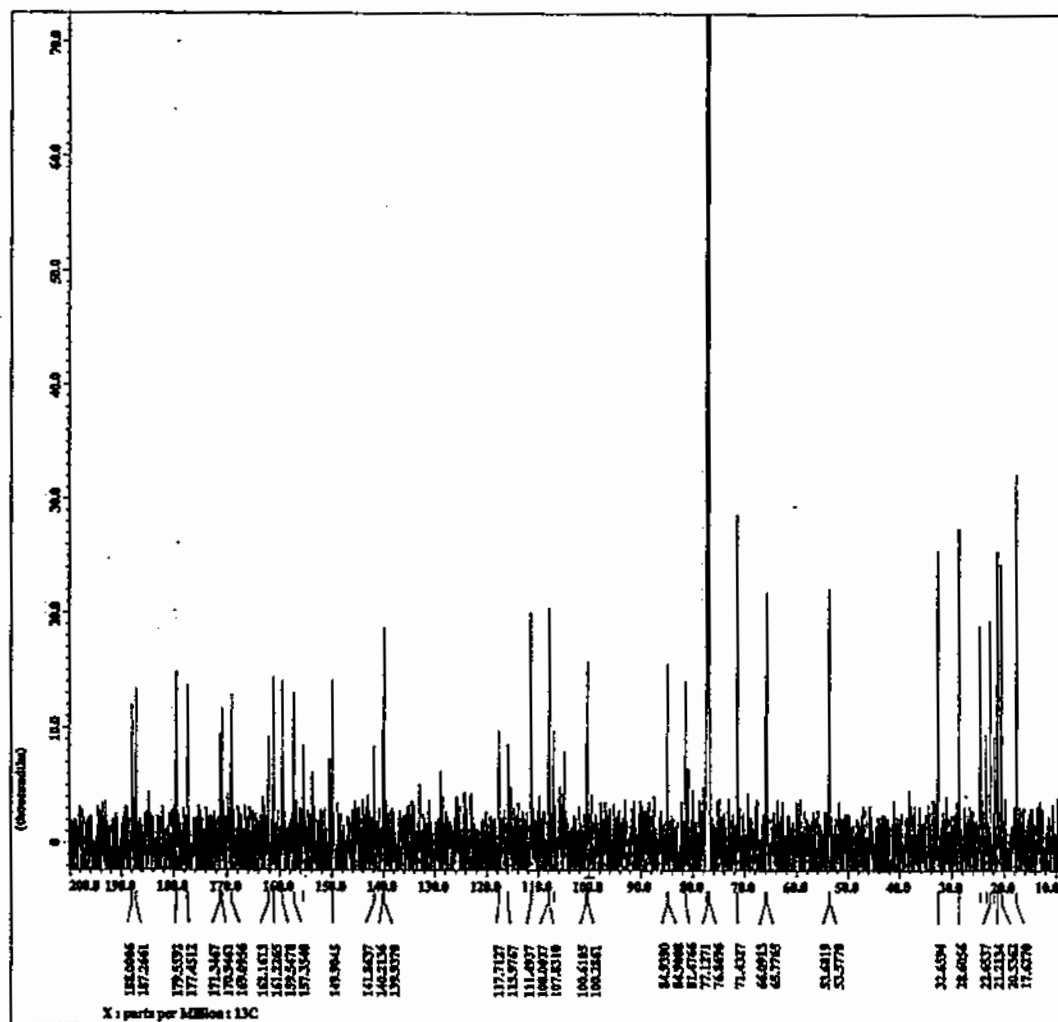


Peak Valley

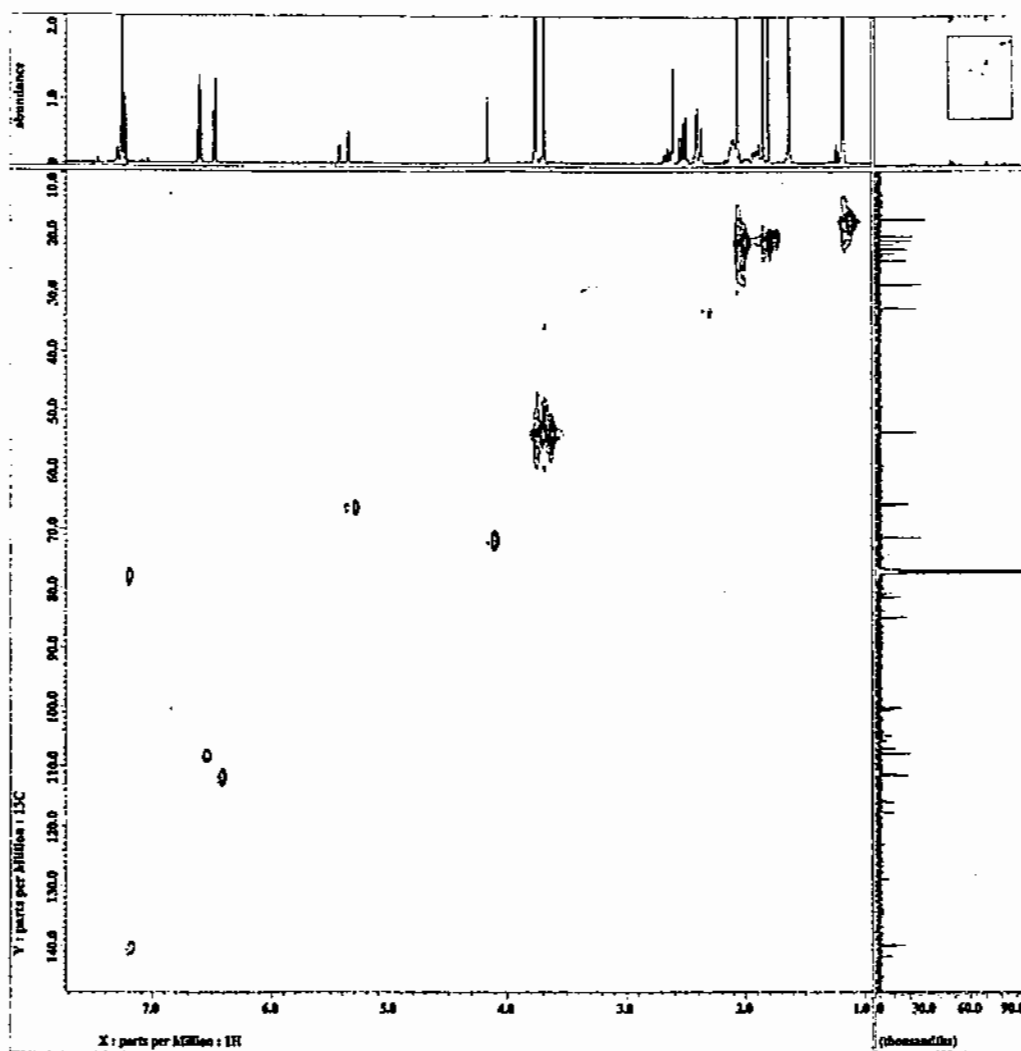
Lampiran 12
 Spektrum ¹H – NMR Eumitrin A₁ (Senyawa B)



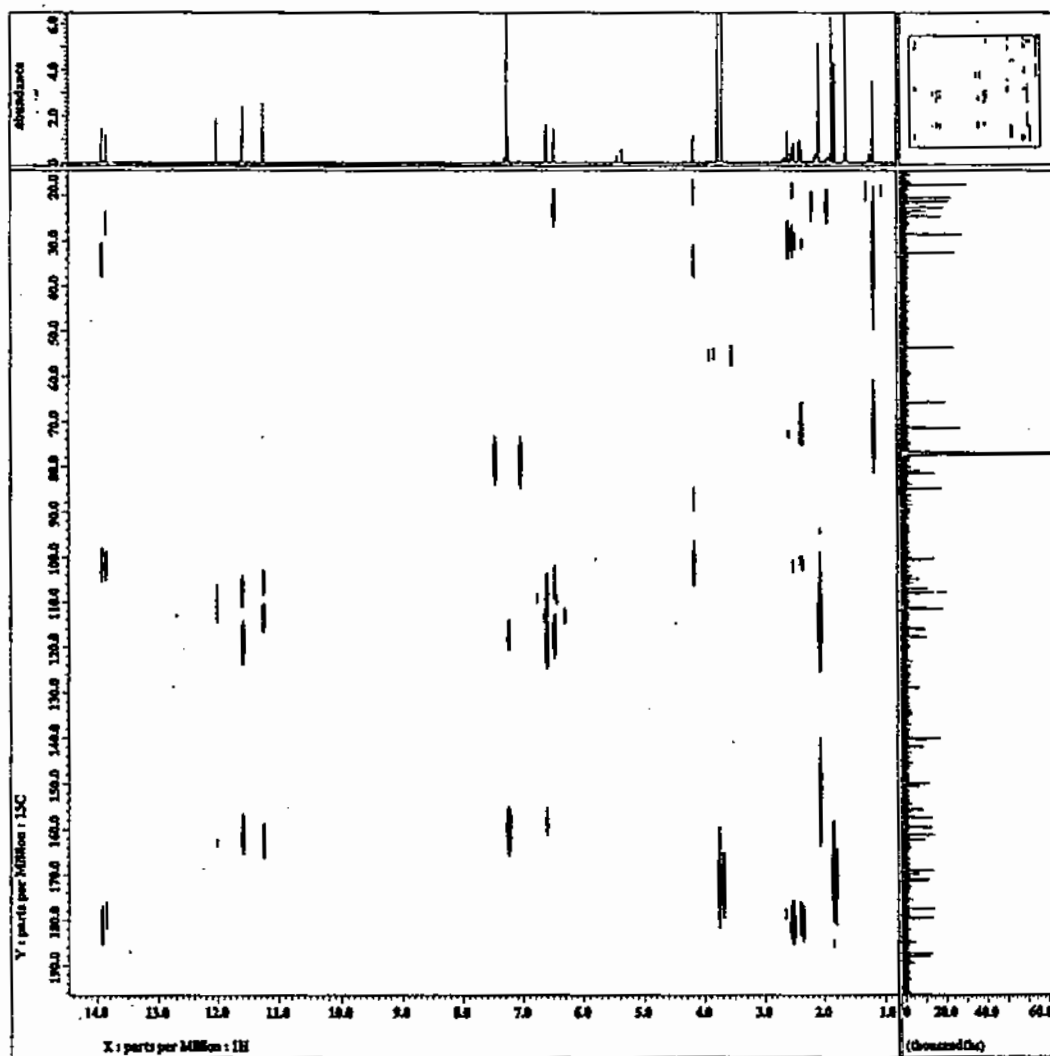
Lampiran 13

Spektrum ^{13}C – NMR Eumitrin A₁ (Senyawa B)

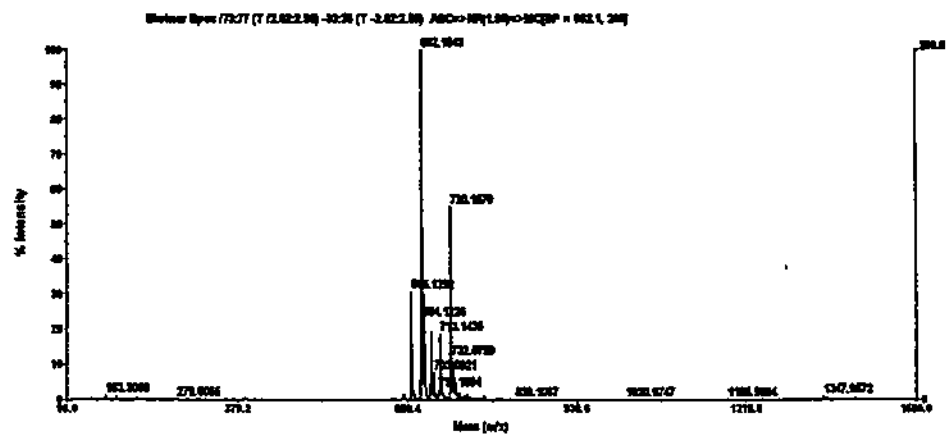
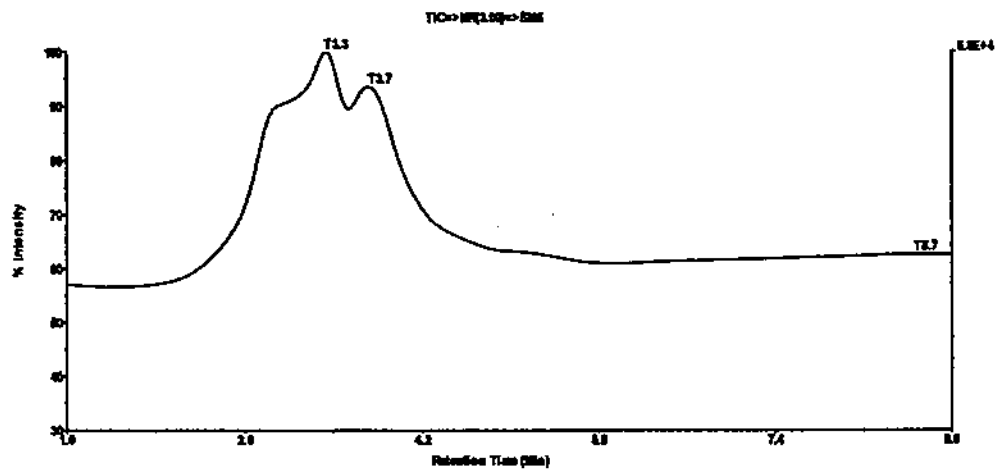
Lampiran 14
Spektrum HMQC Eumitrin A₁ (Senyawa B)



Lampiran 15
Spektrum HMBC Eumitrin A₁ (Senyawa B)

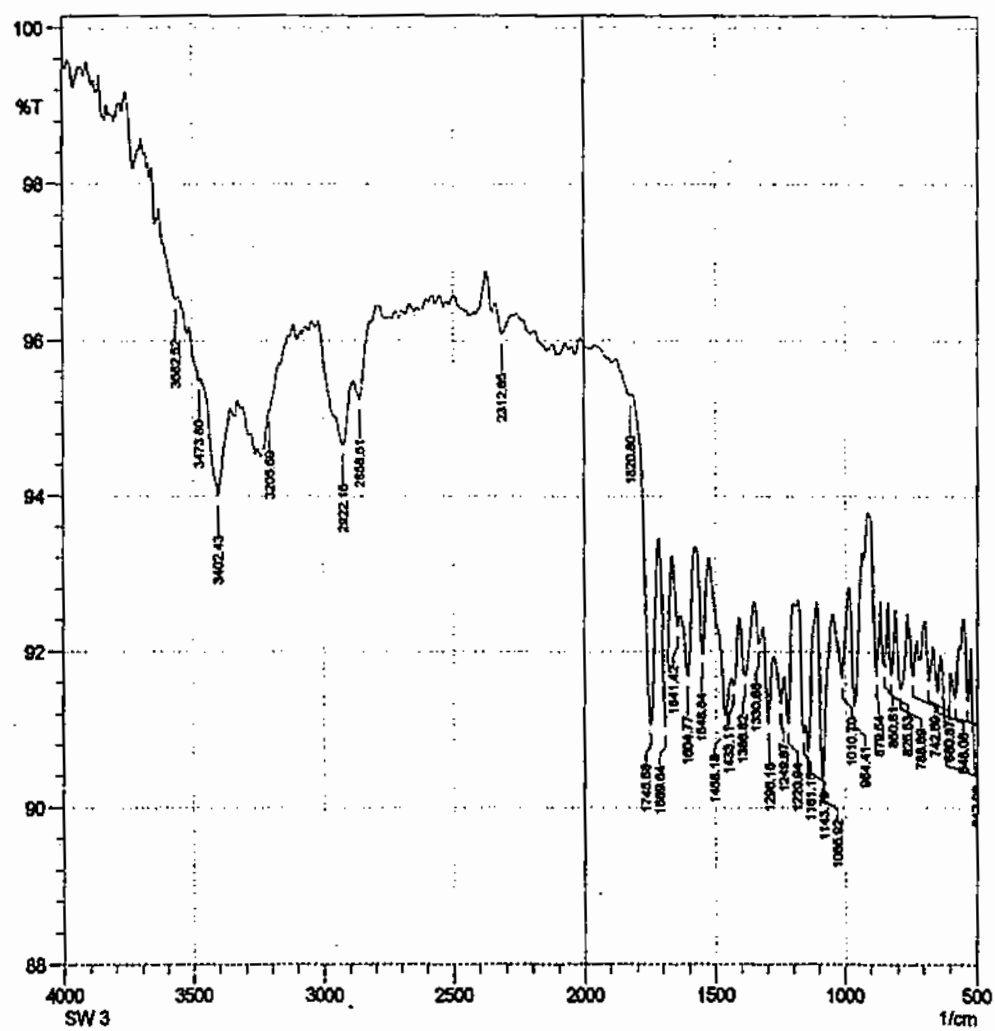


Lampiran 16
 Spektrum massa senyawa B

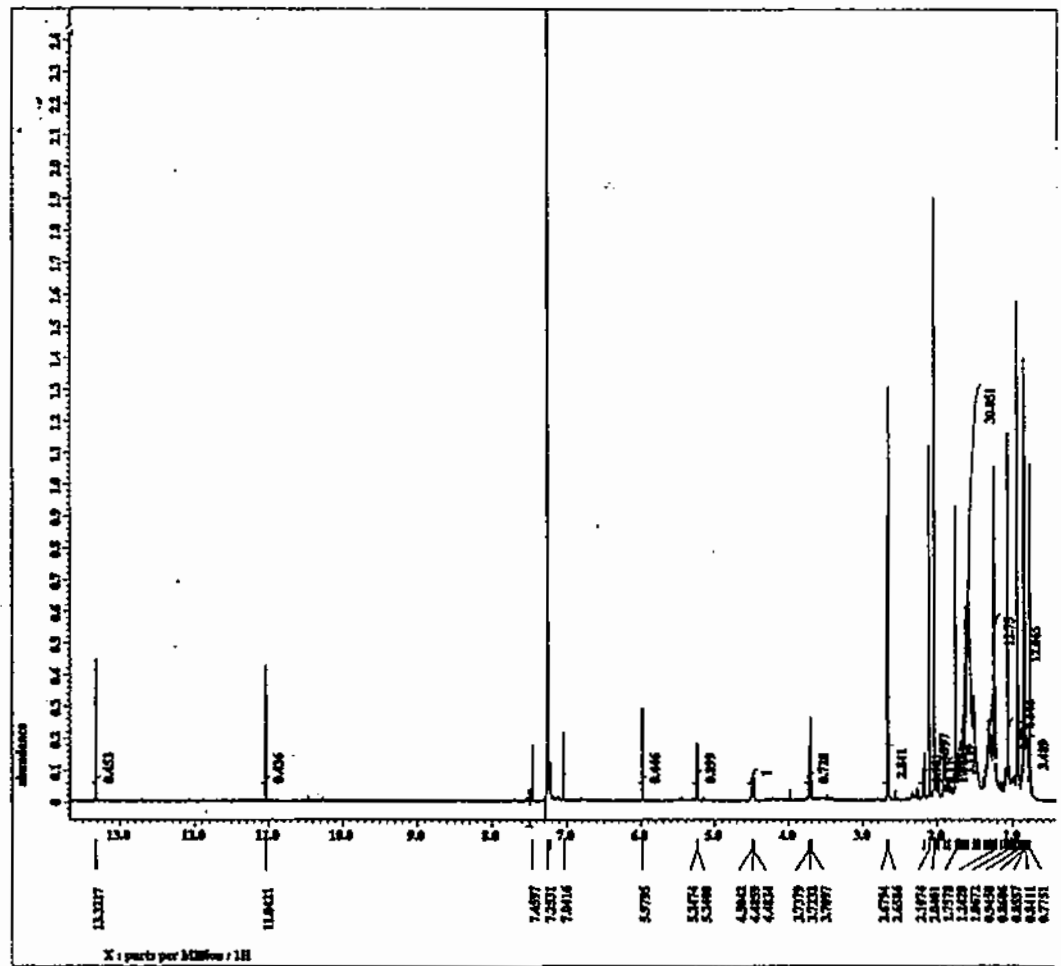


Lampiran 17

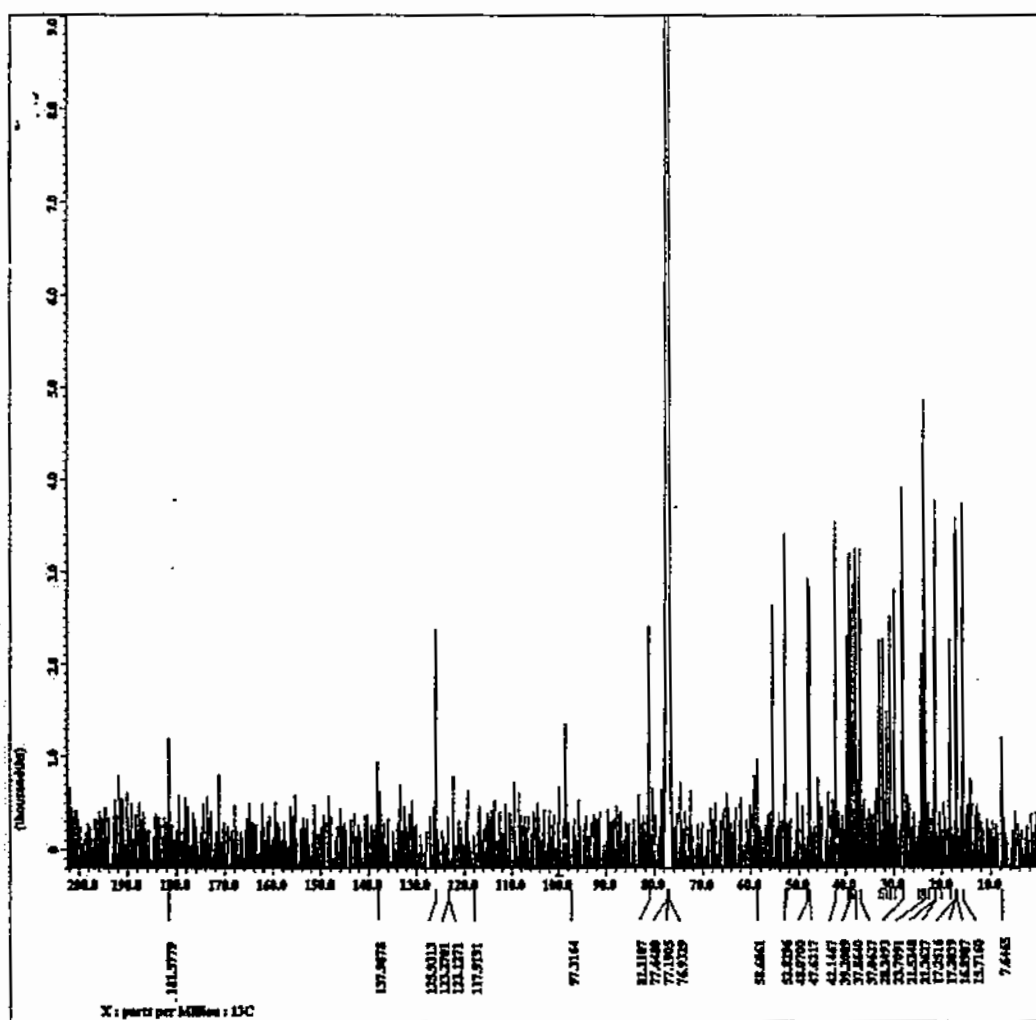
Spektrum infra merah senyawa C



Lampiran 18

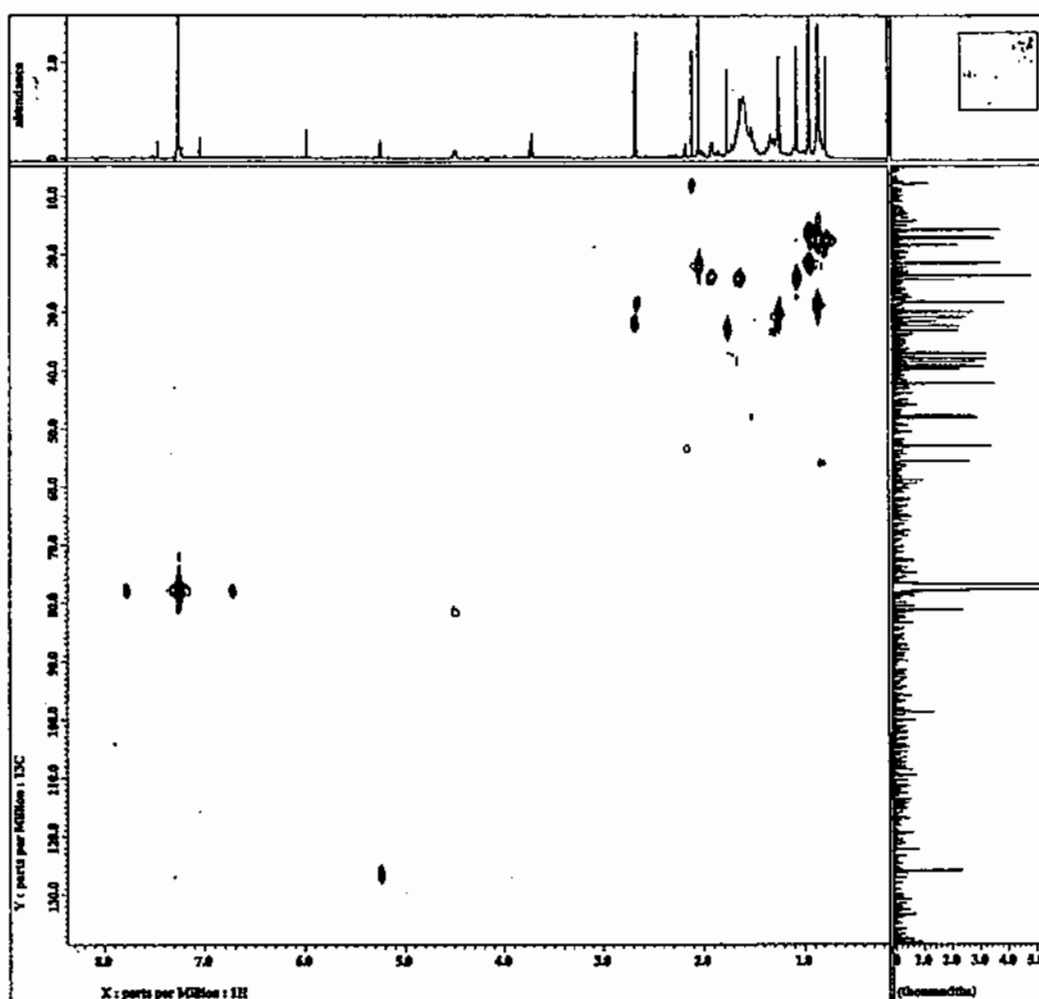
Spektrum ^1H – NMR Asam 3-Asetil-12-ursanen-28-olat (Senyawa C)

Lampiran 19

 ^{13}C – NMR Asam 3-Asetil-12-ursanen-28-olat (Senyawa C)

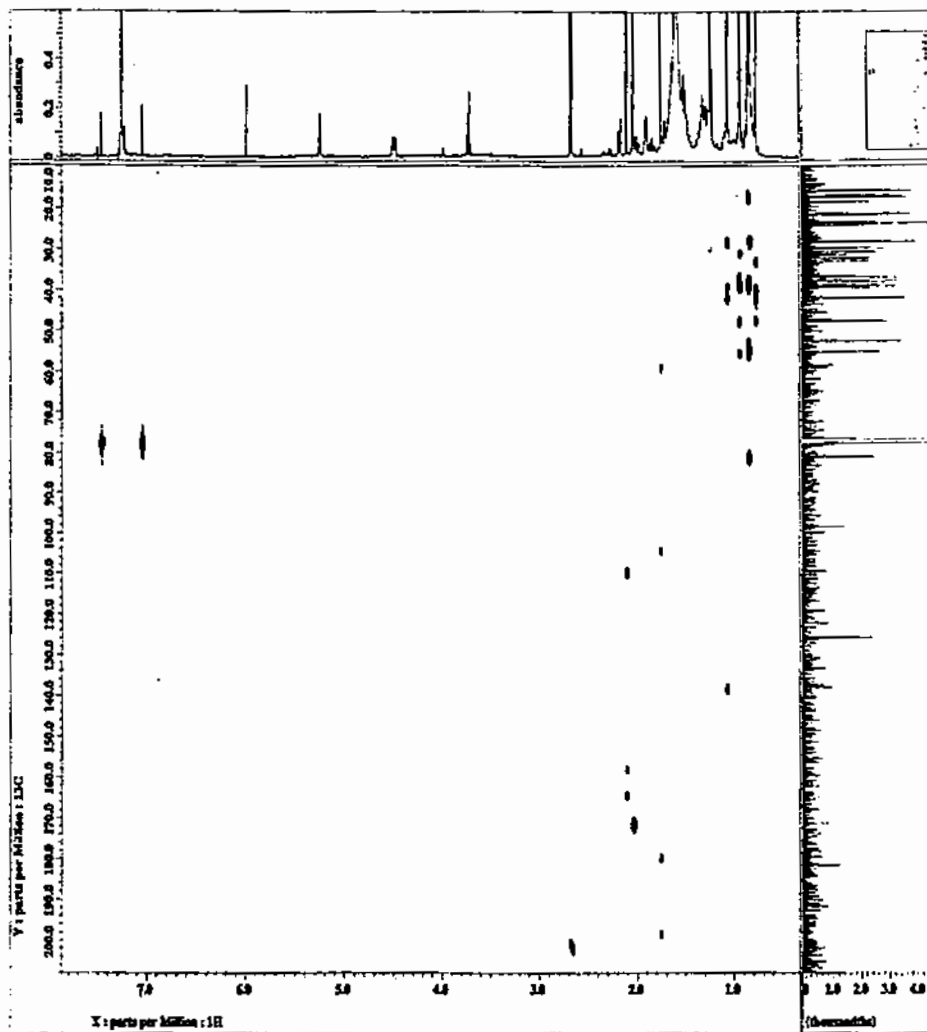
Lampiran 20

Spektrum HMQC Asam 3-Asetil-12-ursanen-28-olat (Senyawa C)

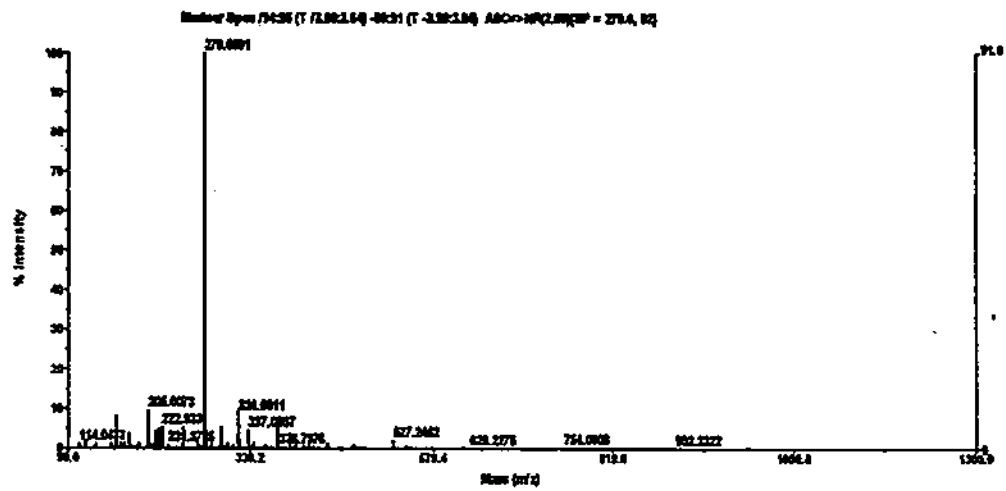
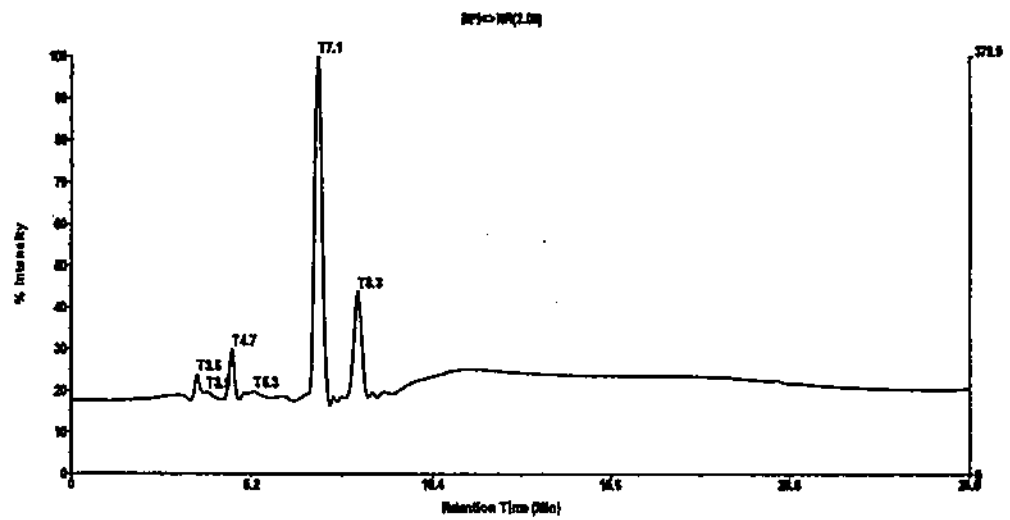


Lampiran 21

Spektrum HMBC Asam 3-Asetil-12-ursanen-28-oat (Senyawa C)

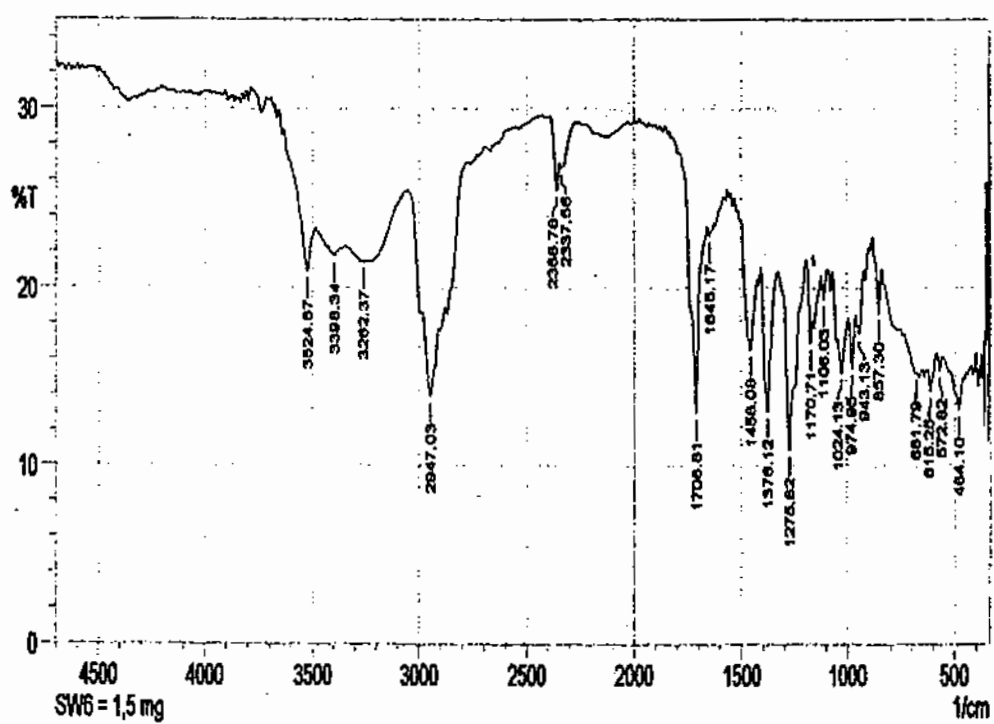


Lampiran 22
Spektrum massa senyawa C

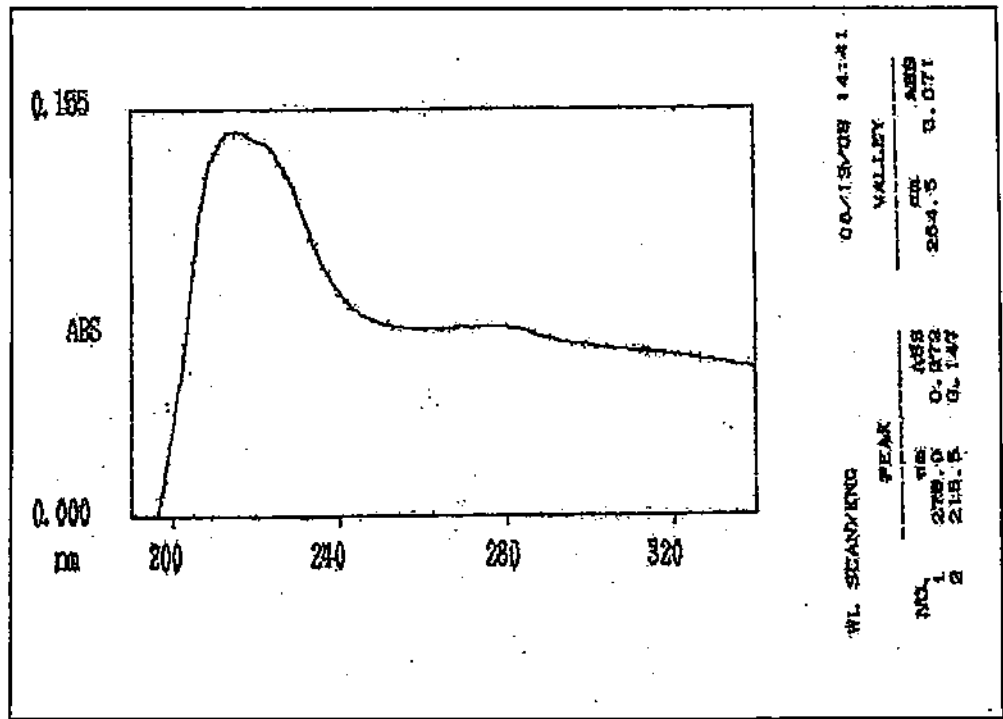


Lampiran 23

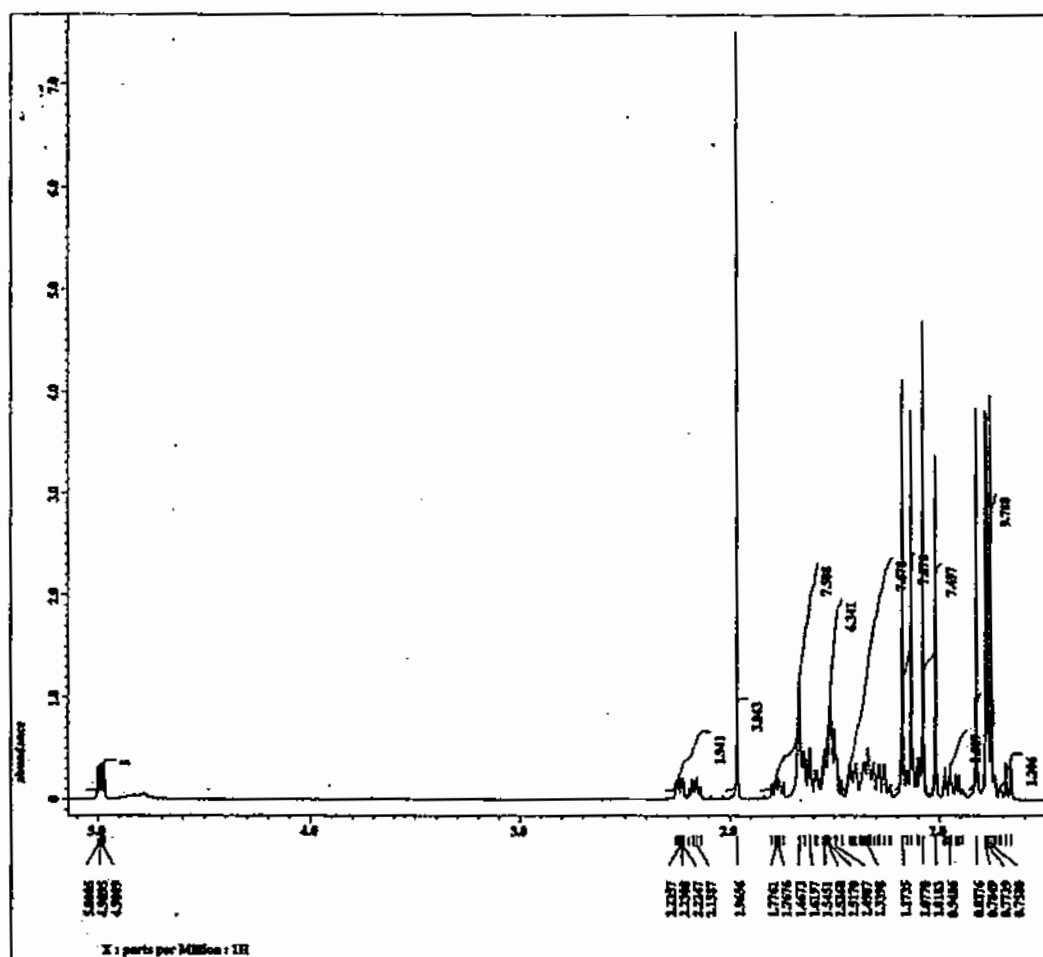
Spektrum infra merah senyawa D



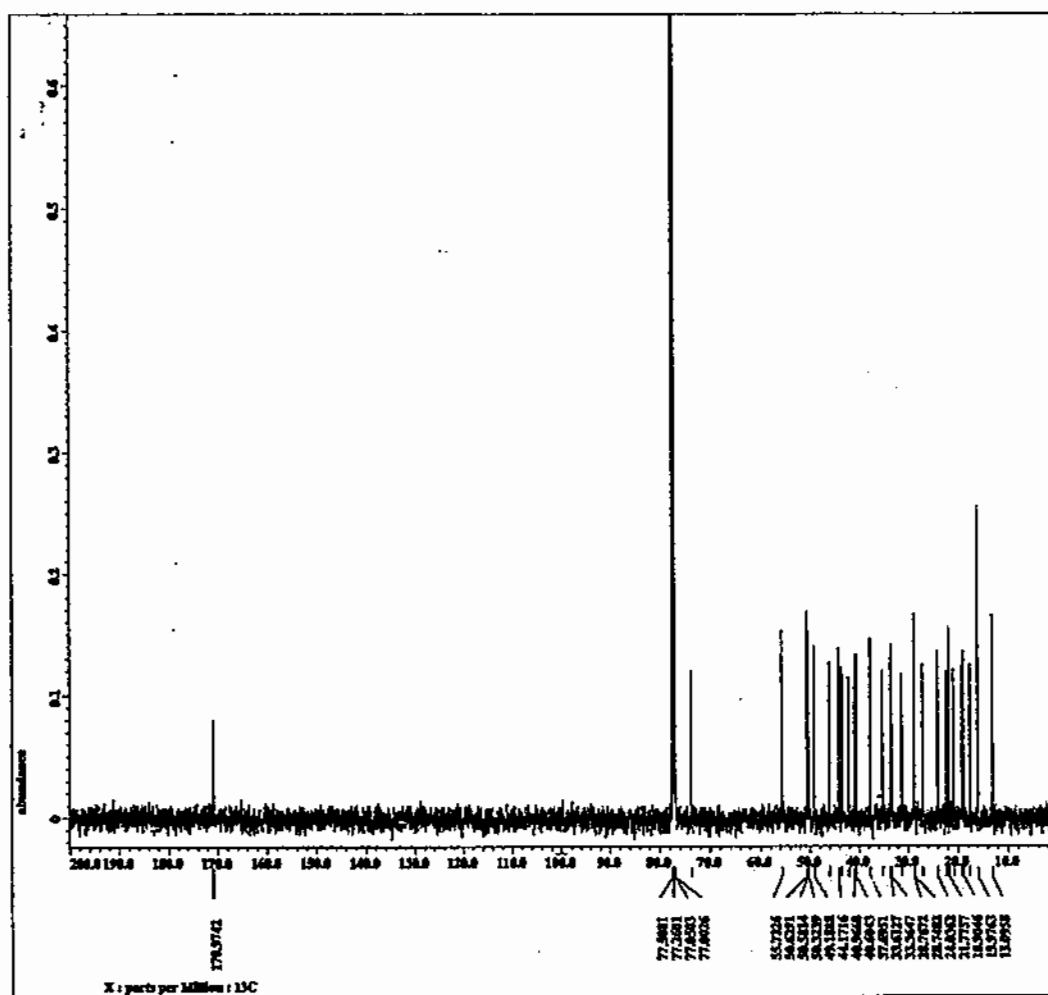
Lampiran 24
Spektroskopi UV senyawa D



Lampiran 25

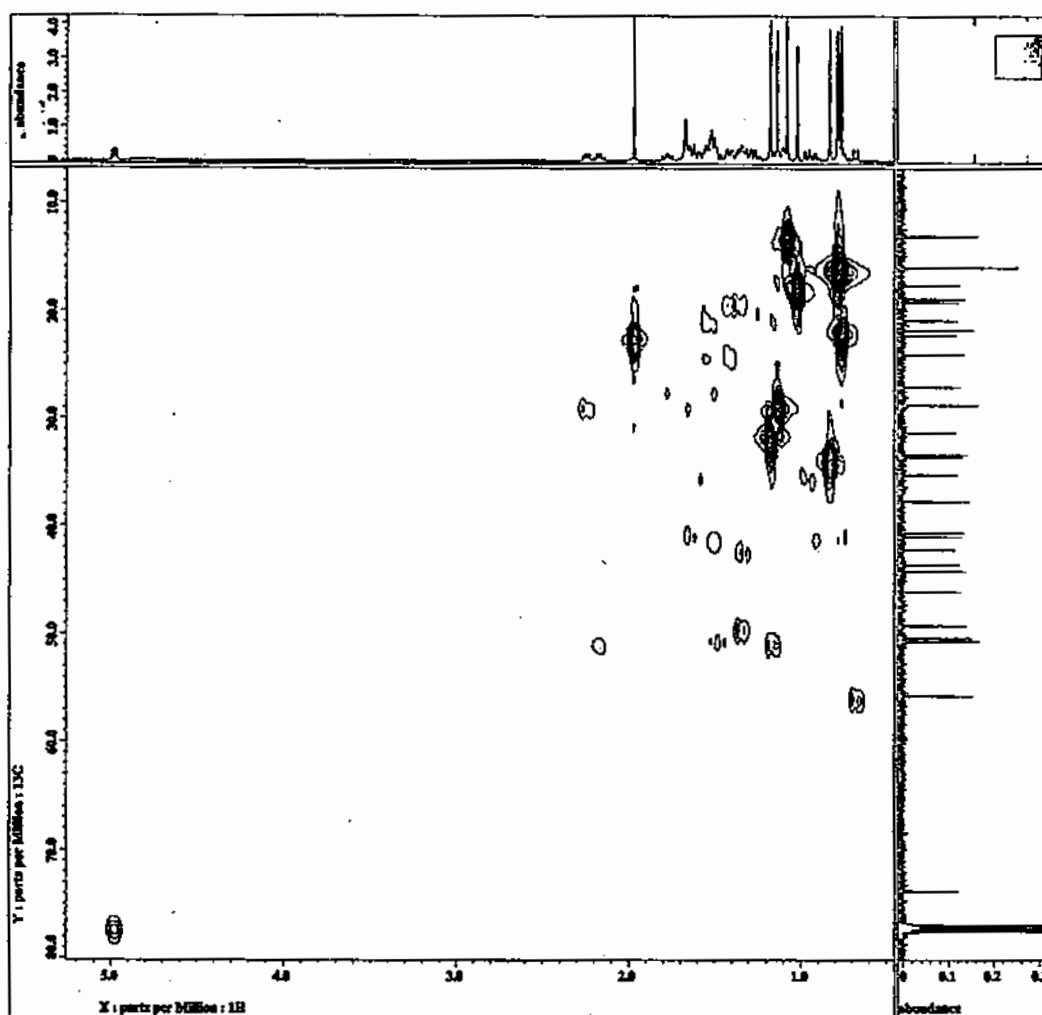
Spektrum ^1H - NMR Spektrum HMQC Asetil gamma seranol (Senyawa D)

Lampiran 26

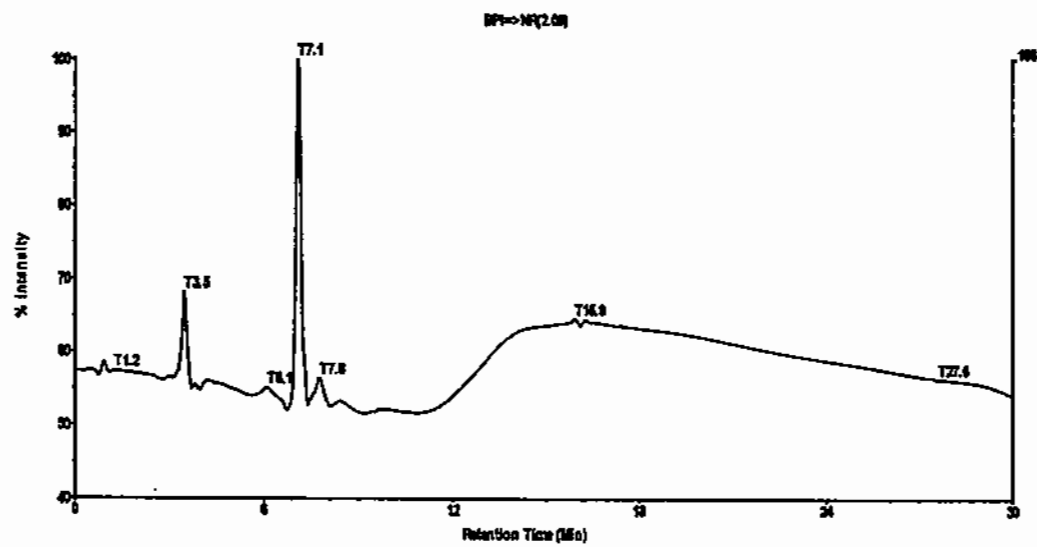
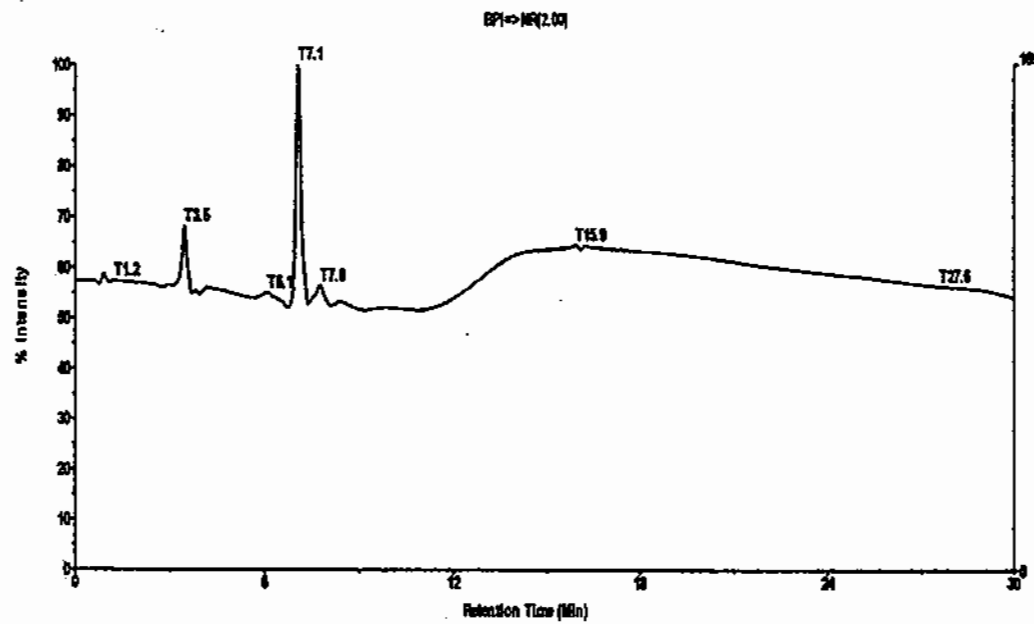
Spektrum ^{13}C – NMR Asetil gamma seranol (Senyawa D)

Lampiran 27

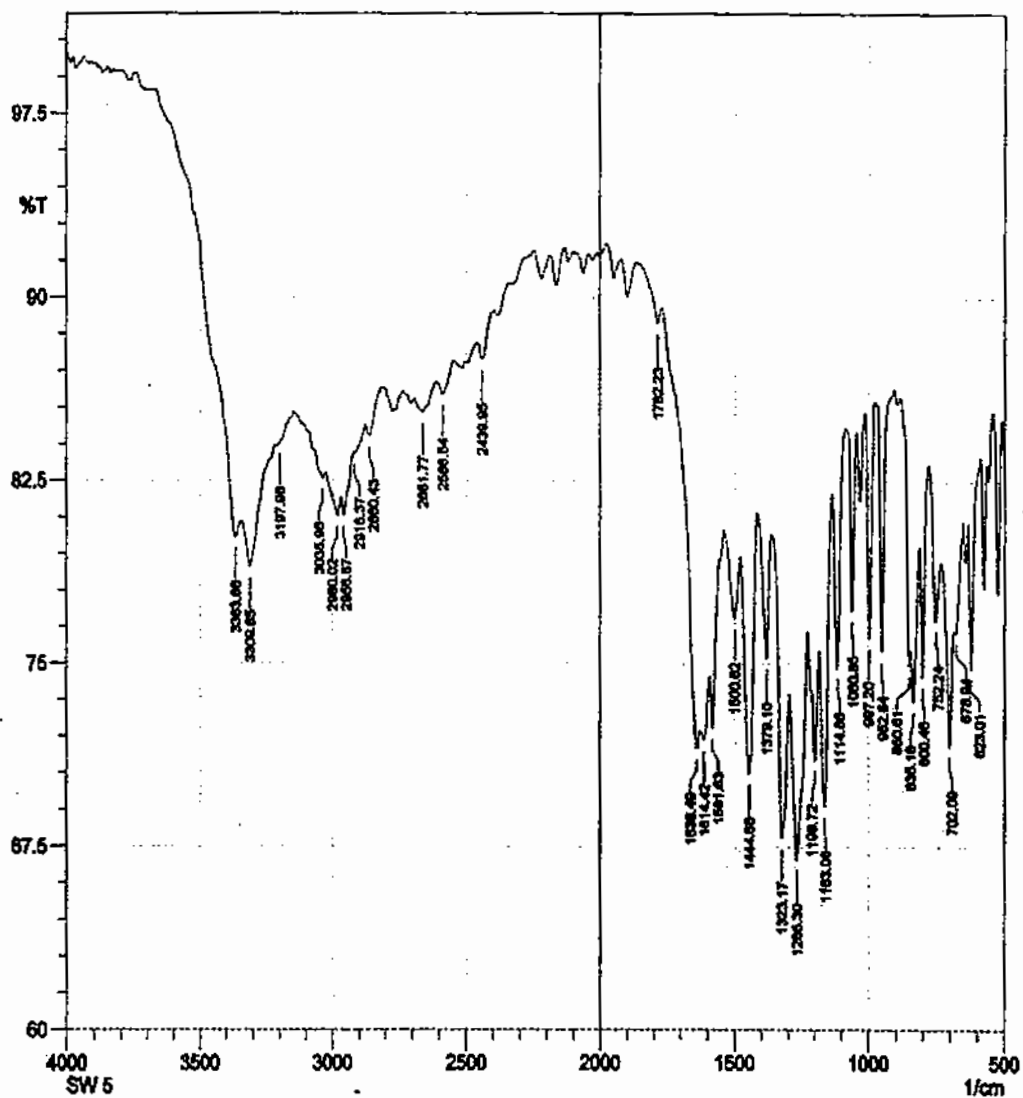
Spektrum HMQC Asetil gamma seranol (Senyawa D)



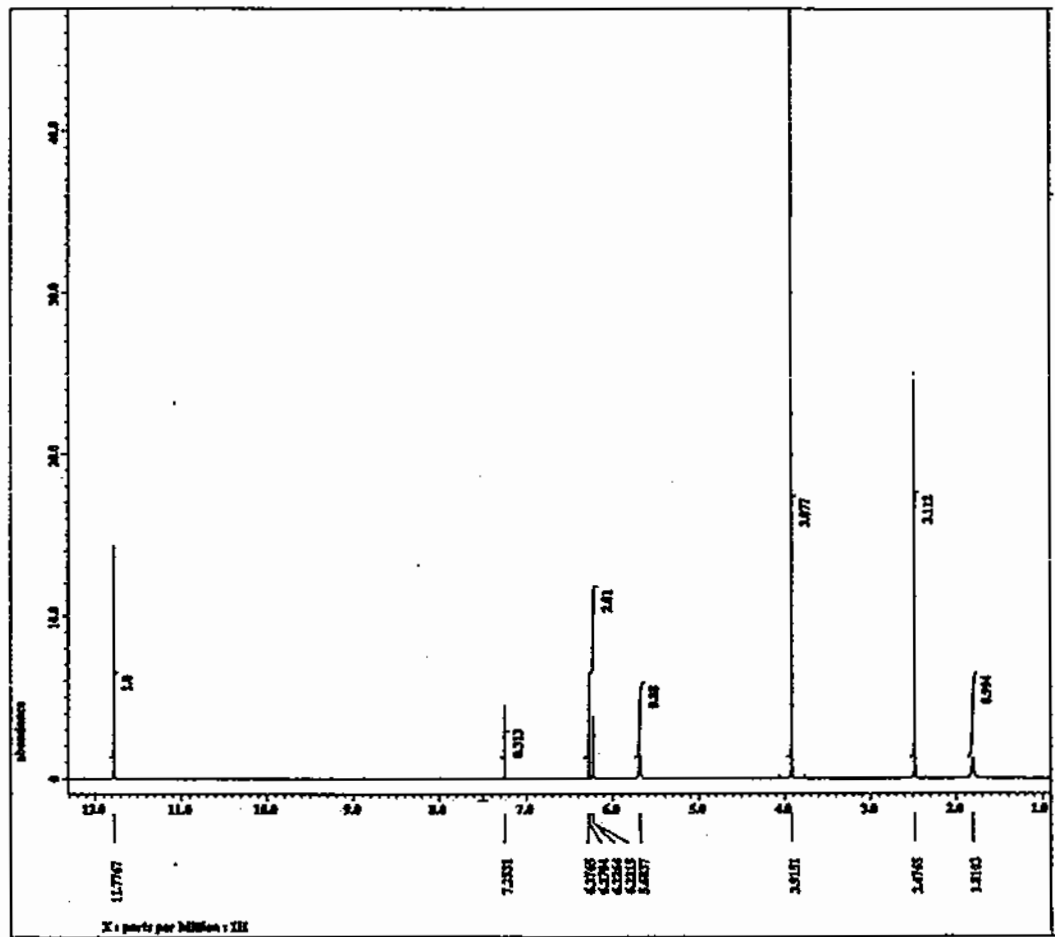
Lampiran 28
Spektrum massa senyawa D



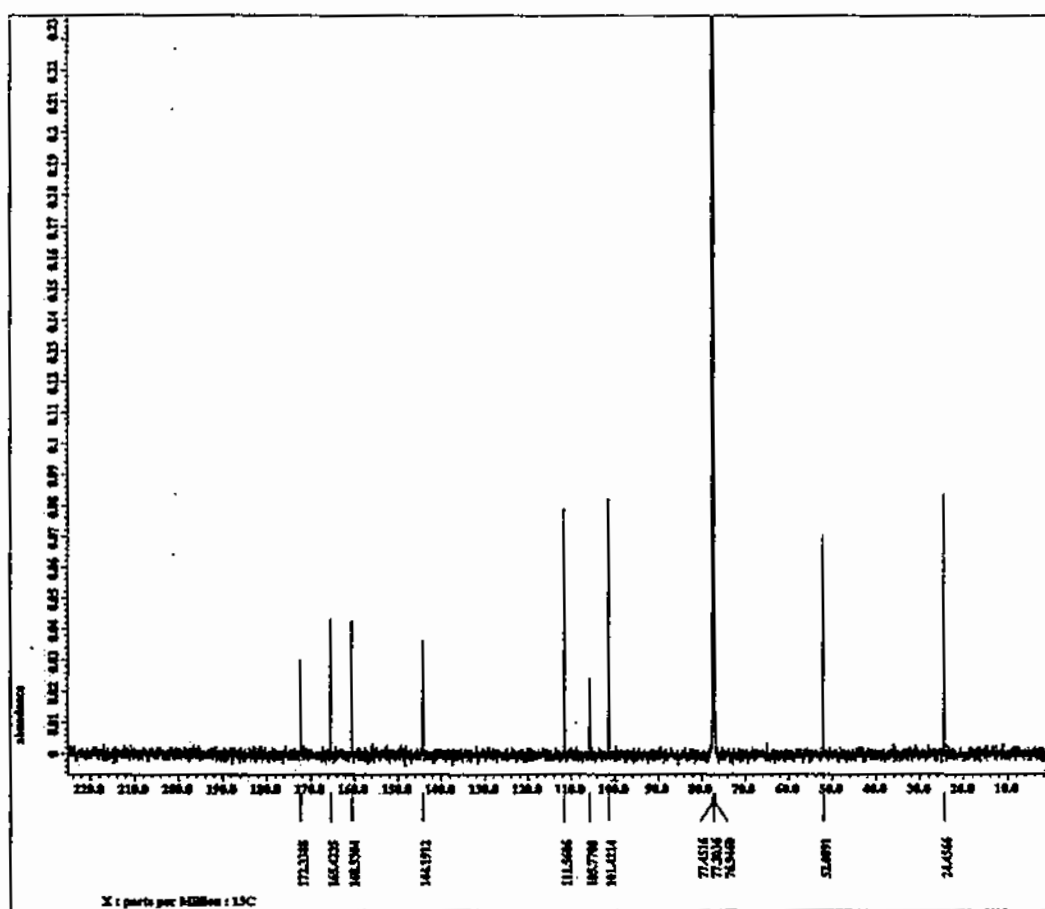
Lampiran 29
Spektrum infra merah senyawa E



Lampiran 30

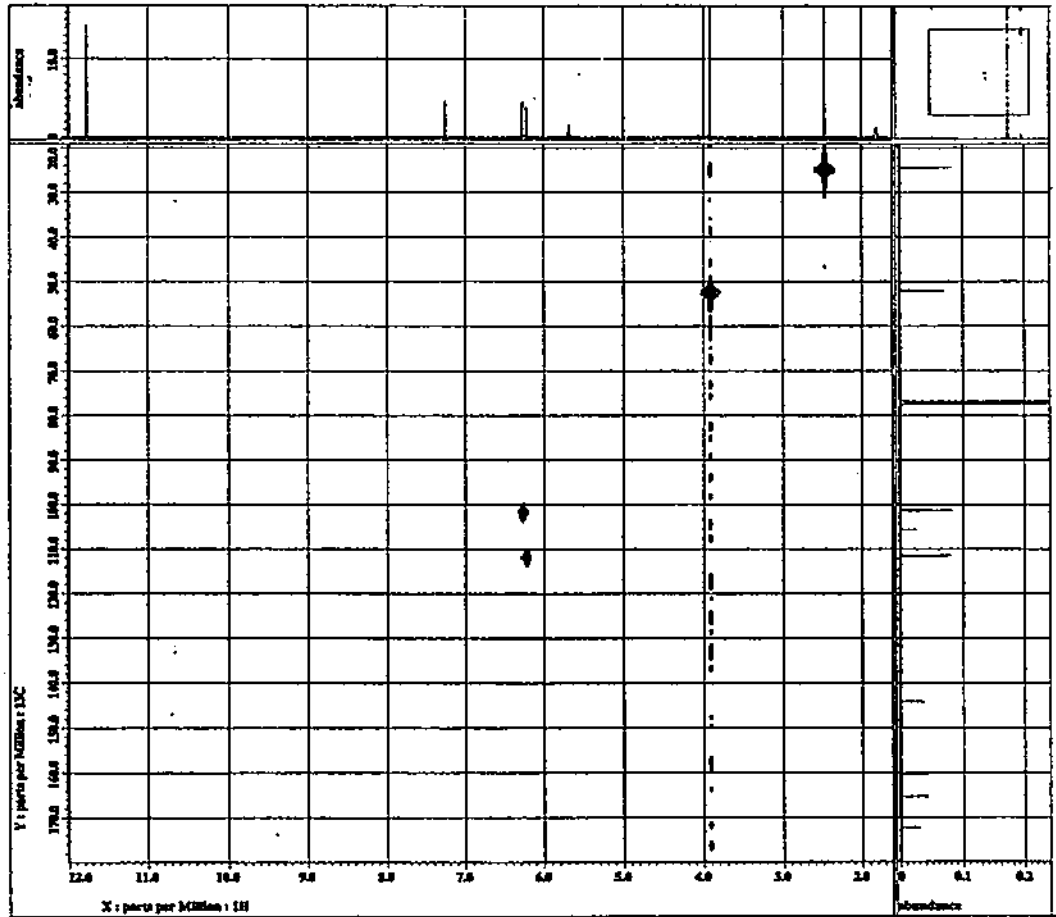
Spektrum $^1\text{H-NMR}$ 2,4-dihidroksi-6-metil-benzoat metil ester (Senyawa E)

Lampiran 31

Spektrum ^{13}C -NMR 2,4-dihidroksi-6-metil-benzoat metil ester (Senyawa E)

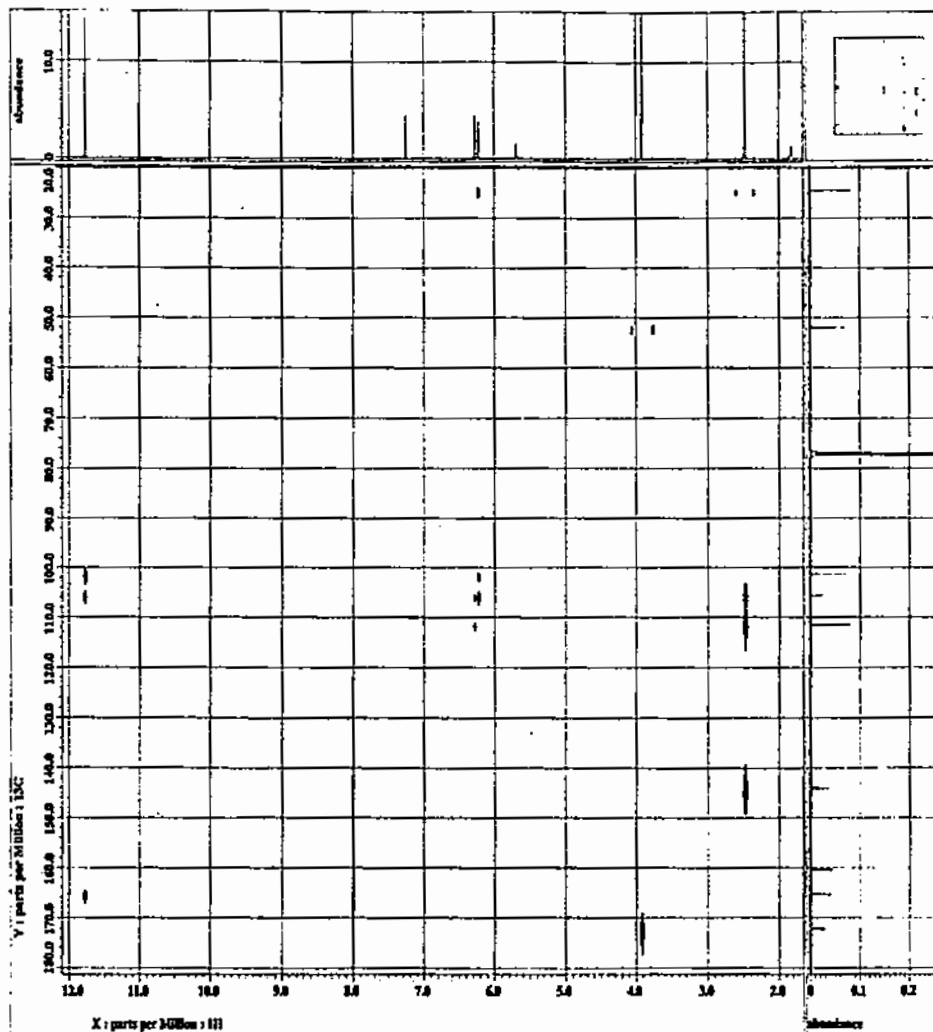
Lampiran 32

Spektrum HMQC 2,4-dihidroksi-6-metil-benzoat metil ester (Senyawa E)

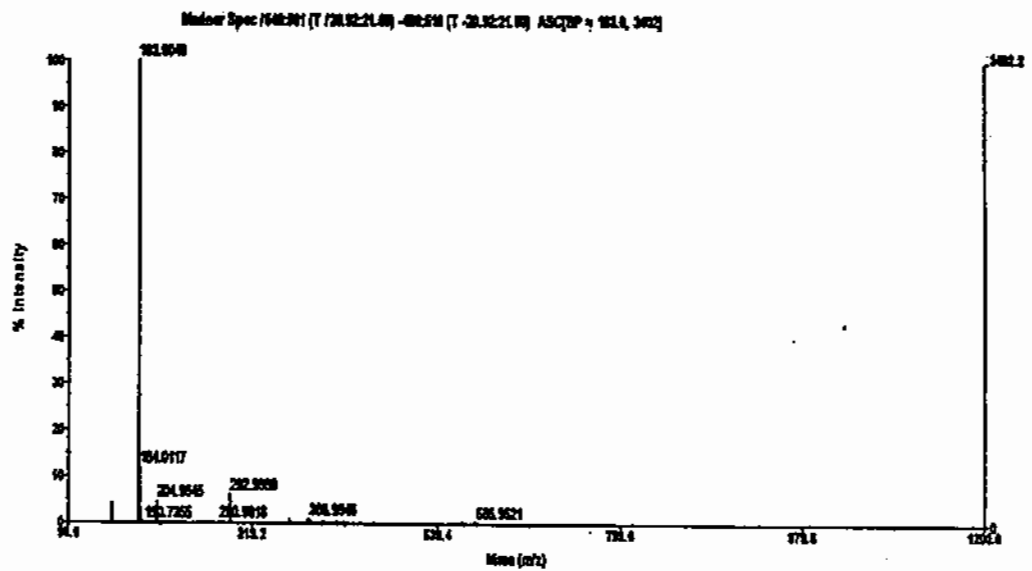
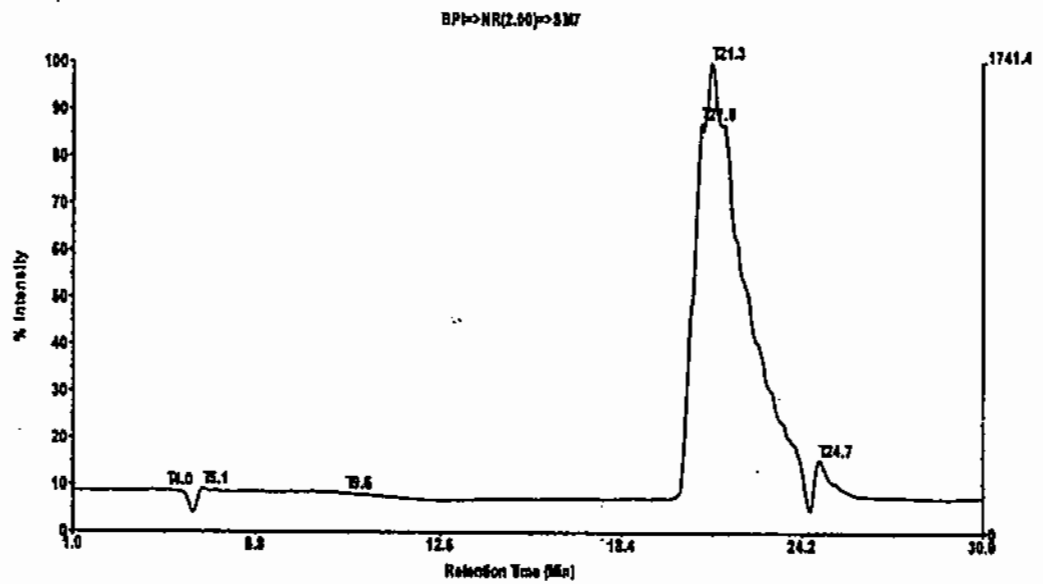


Lampiran 33

Spektrum HMBC 2,4-dihidroksi-6-metil-benzoat metil ester (Senyawa E)



Lampiran 34
Spektrum massa senyawa E



Lampiran 35

Hasil Pengukuran Uji Antioksidan (-)-Asam Usnat (Senyawa A)

a. Hasil pengukuran absorbansi ($\lambda = 517 \text{ nm}$) (-)- asam usnat dan banko

Waktu (menit)	Blangko	(-)-Asam usnat (ppm)			
		25	50	100	250
0	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
10	0,909	0,79	0,718	0,71	0,709
20	0,909	0,789	0,717	0,709	0,705
30	0,909	0,787	0,718	0,708	0,705
40	0,91	0,785	0,715	0,706	0,704
50	0,909	0,784	0,715	0,705	0,703
60	0,91	0,783	0,714	0,705	0,73

b. Hasil perhitungan IC_{50} senyawa A



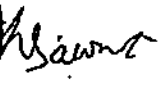
Konsentrasi (ppm)	% inhibisi pada menit ke-60	IC_{50} (ppm)
25	13,956	910
50	21,358	
100	22,527	
200	22,747	

c. Prosen inhibisi BHT pada menit ke-60

Konsentrasi (ppm)	% inhibisi pada menit ke-60	IC_{50} (ppm)
10	15,837	43,5
20	29,638	
40	66,112	
80	84,407	
120	90,229	
160	94,733	
200	95,218	



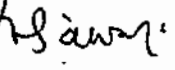
Lampiran 36

Hasil bioassay sitotoksik P388 senyawa B

	Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Departemen Kimia, Institut Teknologi Bandung Jalan Ganesha 10, Bandung 40132
Hasil Bioassay Sitotoksik terhadap Sel Murine Leukemia P388 [ex HSRRB Lot Number : 113098 seed (JCRB0017)]	
Tanggal penerimaan :	<u>24 April 2007</u>
Tanggal pengerjaan :	<u>1 Mei 2007</u>
Nama sampel :	<u>Sw-2</u>
Nilai IC ₅₀ :	<u>3,2</u> µg/ml
Analisis :	<u>Suzany. d.e.</u>
 Pengelola,  <u>Lia D. Julawaty</u>	

Lampiran 37

Hasil bioassay sitotoksik P388 senyawa D

	Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Departemen Kimia, Institut Teknologi Bandung Jalan Ganesha 10, Bandung 40132
Hasil Bioassay Sitotoksik terhadap Sel Murine Leukemia P388 [ex HSRRB Lot Number : 113098 seed (JCRB0017)]	
Tanggal penerimaan :	<u>24 April 2007</u>
Tanggal pengerjaan :	<u>1 Mei 2007</u>
Nama sampel :	<u>SW-6</u>
Nilai IC ₅₀ :	<u>62,5</u> µg/ml
Analisis :	<u>Suzany. S-e.</u>
 Pengelola,  Sri Winiati D. Juliaty	

RIWAYAT HIDUP

Nama Lengkap : Dra. Sri Winiati, M. Si.
Tempat / Tanggal Lahir : Jakarta / 16 Mei 1950
Orang tua : Brig Jend Pol (Purn) Drs. R. Soegeng (alm) &
Sukeksi (alm)
Suami : Mamo Sunaryatmo, S. IP, MM.
Anak : Indra Adrianto
Indri Adriani, SE.
Pekerjaan : Staf pengajar Jurusan kimia FMIPA
Universitas Negeri Jakarta (UNJ)
Tahun 1975 – sekarang
Alamat kantor : Jurusan Kimia FMIPA
Universitas Negeri Jakarta (UNJ)
Jl. Pemuda No. 10 Rawamangun –
Jakarta Timur
Telp : (021) 4896669, (021) 4894909
Alamat Rumah : Jl. Kakap III No. 17
Rawamangun – Jakarta Timur
13220
Telp : (021) 4895286
Email : winiati_unj@yahoo.co.id
Pendidikan: Th Lulus 1974 Sarjana Muda Pendidikan Kimia (IKIP Jakarta)
1978 S1 Pendidikan Kimia (IKIP Jakarta)
1985 Akta V (Universitas Terbuka)
1998 S2 (Universitas Indonesia)