



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR
SERTA UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA KIMIA DARI
EKSTRAK ASETON LICHEN *Usnea blepharea* Motyka dan
Usnea flexuosa Tayl.**

DISERTASI

**MAULIDIYAH
8305030015**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
PROGRAM PASCA SARJANA
PROGRAM DOKTOR ILMU KIMIA
DEPOK
2011**

Universitas Indonesia



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR
SERTA UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA KIMIA DARI
EKSTRAK ASETON LICHEN *Usnea blepharea* Motyka dan
Usnea flexuosa Tayl.**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor Sains**

DISERTASI

**MAULIDIYAH
8305030015**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
ALAM
PROGRAM PASCA SARJANA
PROGRAM DOKTOR ILMU KIMIA
DEPOK
2011**

Universitas Indonesia

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Disertasi ini adalah hasil karya saya sendiri,
Dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
Telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Maulidiyah

NPM : 8305030015

Tanda Tangan : 

Tanggal :

JUDUL : ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR
SERTA UJI BIOAKTIVITAS SENYAWA
KIMIA DARI EKSTRAK ASETON LICHEN
Usnea blepharea Motyka dan *Usnea flexuosa*
Tayl.

NAMA : Maulidiyah

NPM : 8305030015

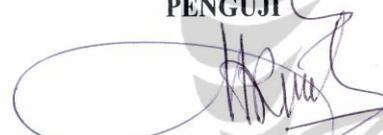
MENYETUJUI :


Prof. Dr. Wahyudi Priyono Suwarso
PROMOTOR

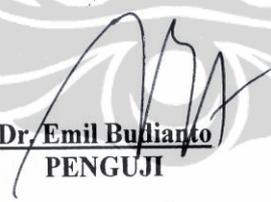

Dr. A. Herry Cahyana
KO-PROMOTOR


Prof. Dr. Sumi Hudiyono PWS
PENGUJI


Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc
PENGUJI


Prof. Dr. Chairul, Apt.
PENGUJI


Prof. Dr. Atiek Soemiati
PENGUJI


Dr. Emil Budianto
PENGUJI

Ketua Program Studi Pascasarjana
Ilmu Kimia FMIPA UI


Dr. Endang Saepudin

Ketua Program Pascasarjana/
Dekan FMIPA UI


Dr. Adi Basukriadi, M.Sc.

Tanggal Lulus : 13 Juli 2011

KATA PENGANTAR



Dengan nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan berkah rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulisan disertasi ini dapat diselesaikan.

Dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada Bapak **Prof. Dr. Wahyudi Priyono Suwarso** selaku promotor dan Bapak **Dr. A. Herry Cahyana** sebagai kopromotor yang dengan penuh kesabaran dan perhatian telah meluangkan waktu untuk membimbing dan memberi semangat untuk terus maju dan meningkatkan keteguhan hati penulis untuk mengabdikan dan meningkatkan keilmuan. Bapak **Prof. Dr. Soleh Kosela** dan Bapak **Dr. Jarnuzi Gunlazuardi** yang telah memberikan dorongan semangat untuk melanjutkan dan menyelesaikan pendidikan S3 kimia di Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada yang terkasih kedua orang tua : Ibunda A. Mulya Noer dan Ayahanda Djamilik Yusuf, Mertua : Rukiyah Sompas, Alm. Mustafa Bunga, Suami tercinta : Muhammad Nurdin, anak-anak tersayang : Aussie, Nabilah, Ivan serta seluruh keluarga atas pengorbanan, pengertian, dorongan semangat, bantuan moril dan materil serta doa-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S3 ini.

Selanjutnya penulis menyampaikan terima kasih secara khusus kepada :

1. Pimpinan Universitas Haluoleo yang telah memberikan izin untuk mengikuti program Pendidikan S3 di Universitas Indonesia.
2. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi yang telah memberikan beasiswa BPPS (2005-2008) dan bantuan dana penelitian melalui DRPM Universitas Indonesia dalam kegiatan Hibah Penelitian Mahasiswa Program Doktor 2009.
3. Dekan FMIPA Universitas Indonesia beserta karyawan yang telah memberikan fasilitas dan pelayanan selama menjalankan pendidikan S3 ilmu Kimia.
4. Pimpinan Departemen Kimia dan Ketua Program Pasca Sarjana Ilmu Kimia FMIPA UI beserta seluruh staf pengajar dan karyawan yang telah memberikan bantuan dan dorongan semangat selama mengikuti pendidikan S3 ini.
5. Tim Penguji : Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc, Prof. Dr. Chairul, Apt, Prof. Dr. Sumi Hudyono, Prof. Dr. Atiek Soemiati, Dr. Emil Budianto atas saran yang sangat berharga bagi kesempurnaan penulisan disertasi ini.

6. Dr. Syafruddin dan Puji Budi Setia Asih dari lembaga Eijkman yang telah membantu pengujian aktivitas anti malaria.
7. Dr. Berna Elya atas diskusinya, Akhmad Darmawan, M.Si, Sofa Fajriah, S.Si, Dra. Puspa Dewi, M.Sc, dari Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong yang membantu penulis dalam pengukuran peralatan NMR dan LC-MS.
8. Rekan-rekan mahasiswa program Doktor Ilmu Kimia : Dr. Suyanto, Dr. Pratiwi, Dr. Sri Hartati, Dr. M. Nurdin, Dr. Hardeli, Dr. Mawardi, Almh. Dr. Winiati, Dr. Tiah (Pembimbing Spirit), Dr. Jamilah, Dr. Helmiyati, Dr. Heny, Ibu Irma (sahabat sekaligus rekan satu tim Lichen), Ibu Anne, Ibu Ani, Ibu Ratna, Pak Cholid, Pak Alfred, Pak Nirwan, Pak Antony, terima kasih atas bantuan, semangat, motivasi, dan kebersamaan dalam suka dan duka selama mengikuti program pendidikan ini.
9. Erasmus, Suryadi dan Zul Arham yang telah membantu dalam merapikan disertasi ini.
10. Semua pihak yang telah memberikan bantuan baik langsung maupun tidak langsung selama penelitian dan penulisan disertasi ini.

Semoga amal kebaikan Bapak-bapak, Ibu-ibu dan Saudara-saudara semuanya mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Akhir kata, semoga karya ini bermanfaat untuk kemajuan Ilmu Pengetahuan khususnya dibidang Kimia Bahan Alam. Amin.

Depok, 2011

Penulis

ABSTRAK

Nama : Maulidiyah
 Program Studi : Kimia
 Judul : Isolasi dan Penentuan Struktur serta Uji Bioaktivitas Senyawa Kimia Ekstrak Aseton Lichen *Usnea blepharea* Motyka dan *Usnea flexuosa* Tayl.

Lichen yang dipilih dalam penelitian ini adalah *U. blepharea* Motyka yang diambil dari gunung Bawakaraeng Malino Kabupaten Gowa dan *U. flexuosa* Tayl. dari gunung Bampuang Kabupaten Enrekang Propinsi Sulawesi Selatan. Penelitian ini dilakukan untuk mengungkapkan kandungan senyawa kimia ekstrak aseton dari kedua lichen ini serta uji bioaktivitas yang meliputi uji awal toksisitas isolat dari ekstrak aseton terhadap larva udang *A. salina* Leach, uji sitotoksitas terhadap sel leukemia murine P388 dan uji aktivitas anti malaria terhadap *Plasmodium falciparum* dari senyawa murni. Isolasi dilakukan dengan teknik kromatografi kolom menggunakan fasa diam silika gel 60 dengan eluen campuran *n*-heksana dan etil asetat secara gradien, dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis preparatif dan kromatografi radial. Penentuan struktur molekul dilakukan dengan menganalisis data spektrum UV-Vis, Infra Merah, LC-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, NMR-2D meliputi HMQC, HMBC, DEPT dan COSY. Dari hasil isolasi terhadap *U. blepharea* Motyka diperoleh 4 senyawa, yaitu satu senyawa baru golongan bisxanton yaitu eumitrin M dan 3 senyawa yang telah ditemukan sebelumnya yaitu (-) - asam usnat, eumitrin A₁ dan asam difraktat. Dari *U. flexuosa* Tayl. diperoleh satu senyawa baru, yaitu 2'-hidroksi-1'-(4-hidroksi-5-metoksi-2-metil-fenil)-etanon dan satu senyawa yang telah diketahui yaitu (-) - asam usnat. Dari hasil uji bioaktivitas terhadap 3 isolat *U. blepharea* Motyka dan 3 isolat *U. flexuosa* Tayl. semuanya aktif terhadap larva udang *A. salina* Leach dengan nilai LC₅₀ berturut-turut : B₁ = 165,84 µg/mL, B₂ = 109,03 µg/mL, B₃ = 130,50 µg/mL, F₁ = 35,73 µg/mL, F₂ = 11,08 µg/mL, F₃ = 8,47 µg/mL. Hasil isolasi yaitu senyawa eumitrin A₁ mempunyai potensi aktif terhadap sel murine P388 dengan nilai IC₅₀ 4,5 µg/mL sedangkan asam difraktat dan 2'-hidroksi-1'-(4-hidroksi-5-metoksi-2-metil-fenil)-etanon keduanya tidak aktif terhadap sel murine P388 dengan IC₅₀ berturut-turut 17,5 µg/mL dan 37,0 µg/mL. Aktivitas anti malaria terhadap *P. falciparum* dimiliki oleh senyawa eumitrin M dengan nilai IC₅₀ 2.10⁻⁷ M, sedangkan senyawa asam usnat dan asam difraktat tidak menunjukkan aktivitas anti malaria terhadap *P. falciparum*.

Kata Kunci : *U. blepharea* Motyka, *U. flexuosa* Tayl., toksisitas, Sel murine P388, *P. falciparum*.

ABSTRACT

Name : Maulidiyah
 Study Program : Chemistry
 Title : Isolation, Chemical Structure Elucidation and Bioactivity Evaluation of the Acetone Extract of the Lichen *Usnea blepharea* Motyka and *Usnea flexuosa* Tayl.

Lichen selected in this research are *Usnea blepharea* Motyka taken from the mountain of Bawakaraeng Malino Gowa and *Usnea flexuosa* Tayl. from the mountain of Bambapuang Enrekang, South Sulawesi Province. This research was conducted to reveal the content of chemical compounds from the two species of the lichen on acetone extract as well as their bioactivity evaluation that include initial toxicity isolates on brine shrimp *A. salina* Leach lethality test, the cytotoxicity against P388 murine leukemia cells and anti-malarial activity against *P. falciparum* from pure compound. Isolation was carried out by utilising column chromatography using silica gel 60 stationary phase with eluent mixture of n-hexane and ethyl acetate in a gradient elution, followed by preparative thin layer chromatography and radial chromatography. Determination of molecular structure, by analyzing the UV-Vis spectral data, Infra Red, LC-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, 2D NMR include HMQC, HMBC, DEPT and COSY. The results of isolation of *U. blepharea* Motyka were obtained four compounds, namely a new bisxanton compound that is eumitrin M and 3 compounds have been found previously that are (-) - usnic acid, diffractaic acid and eumitrin A₁. From *U. flexuosa* Tayl. were obtained a new phenolic compound, namely 2'-hydroxy-1'-(4-hydroxy-5-methoxy-2-methyl-phenyl)-ethanon and one compound that has been known that (-) - usnic acid. The results of bioactivity tests against 3 isolates of *U. blepharea* Motyka and 3 isolates of *U. flexuosa* Tayl. were all active against the brine shrimp *A. salina* Leach with LC₅₀ values : B₁ = 165,84 µg/mL, B₂ = 109,03 µg/mL, B₃ = 130,50 µg/mL, F₁ = 35,73 µg/mL, F₂ = 11,08 µg/mL, F₃ = 8,47 µg/mL, respectively. The results of isolation of compound eumitrin A₁ was active against murine P388 cells with IC₅₀ 4,5µg/mL, while both diffractaic acid and 2'-hydroxy-1'-(4-hydroxy-5-methoxy-2-methyl-phenyl) - ethanon were inactive against murine P388 cells with IC₅₀ consecutive 17,5 µg/mL and 37,0 µg/mL. Anti-malarial activity against *P. falciparum* is owned by the compound eumitrin M with IC₅₀ 2.10⁻⁷M, while the (-)-usnic acid and diffractaic acid were not shown anti-malarial activity to *P. falciparum*.

Keywords : *U. blepharea* Motyka, *U. flexuosa* Tayl., toxicity, Cell murine P388, *P. falciparum*.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Lichen (Lumut Kerak).....	5
2.2. Fotosintesis pada Lichen.....	7
2.3. Metabolisme pada Lichen.....	7
2.4. Pertumbuhan Lichen.....	8
2.5. Bentuk Talus Lichen.....	8
2.5.1. Jenis Foliosa.....	9
2.5.2. Jenis Frutikosa.....	10
2.5.3. Jenis Crustosa.....	10
2.5.4. Jenis Squamulosa.....	11
2.6. Manfaat Lichen.....	11
2.7. <i>Usnea sp.</i>	13
2.8. Morfologi <i>U. blepharea</i> Motyka.....	15
2.9. Morfologi <i>U. flexuosa</i> Tayl.....	16
2.10. Kandungan Senyawa Kimia <i>Usnea sp.</i>	17
2.10.1. Kelompok Benzofuran.....	17
2.10.1.1. (+) - Asam Usnat.....	17
2.10.1.2. (-) - Asam Usnat.....	18
2.10.2. Kelompok Depsida.....	18
2.10.3. Kelompok Depsidon.....	21
2.10.4. Kelompok Benzyl Ester.....	24
2.10.5. Kelompok Xanton dan bisxanton.....	24
2.10.6. Kelompok Alifatik.....	26
2.10.7. Kelompok Alkohol Ester (Lakton).....	26
2.10.8. Kelompok Fenolik.....	27
2.11. Uji Bioaktivitas (Assay).....	27
2.11.1. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT.....	28
2.11.2. Kanker.....	29
2.11.3. Anti Kanker dan Mekanisme Kerja Anti Kanker.....	29

	10
2.11.3.1. Interkalator DNA.....	30
2.11.3.2. Senyawa Pengalkilasi.....	30
2.3.11.3. Pemutus Rantai DNA.....	31
2.3.11.4. Penghambat Polimerisasi dan Depolimerisasi pada Mikrotubulus.....	32
2.11.4. Uji Sitotoksitas.....	33
2.11.5. Uji Aktivitas Anti Malaria.....	34
2.12. Tinjauan Tentang Anti Malaria dari Bahan Alam.....	35
3. METODE PENELITIAN.....	37
3.1. Persiapan Sampel.....	37
3.2. Bahan-bahan yang digunakan.....	37
3.3. Alat yang digunakan.....	37
3.4. Cara Kerja.....	38
3.4.1. Isolasi Senyawa Kimia.....	38
3.5. Uji Toksisitas Ekstrak Terhadap Larva <i>A. salina</i> Leach.....	41
3.5.1. Penetasan Telur Larva <i>A. salina</i> Leach.....	41
3.5.2. Persiapan Larutan yang akan di Uji.....	41
3.5.3. Uji Toksisitas Metode Meyer.....	41
3.6. Uji Sitotoksitas Terhadap Sel Murine P388.....	42
3.6.1. Pembuatan Stok Sel.....	42
3.6.2. Melarutkan Sel.....	42
3.6.3. Subkultur.....	42
3.6.4. Protokol Uji.....	43
3.6.5. Sitotoksitas Sampel terhadap Sel Murine Leukemia P388.....	43
3.7. Uji Aktivitas Anti Malaria.....	44
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	45
4.1. Gambaran Umum.....	45
4.2. Penentuan Struktur Senyawa M ₁	46
4.3. Penentuan Struktur Senyawa M ₂	51
4.4. Penentuan Struktur Senyawa M ₆	58
4.5. Penentuan Struktur Senyawa M ₇	66
4.6. Penentuan Struktur Senyawa M _{1F}	71
4.7. Penentuan Struktur Senyawa M ₈	73
4.8. Uji Toksisitas Isolat Hasil Pemisahan Ekstrak Aseton Terhadap Larva <i>A. salina</i> Leach (BSLT).....	77
4.9. Sitotoksitas Terhadap Sel Murine P388.....	79
4.10. Uji Aktivitas Anti Malaria Terhadap <i>P. falciparum</i>	80
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	81
5.1. Kesimpulan.....	81
5.2. Saran.....	82
PUBLIKASI ILMIAH.....	83
DAFTAR PUSTAKA.....	85

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Usnea sp.....	14
Gambar 2.2.	<i>U. blepharea</i> Motyka.....	16
Gambar 2.3.	<i>U. flexuosa</i> Tayl.....	17
Gambar 2.4.	Struktur Molekul (+) - Asam usnat.....	17
Gambar 2.5.	Struktur Molekul (-) - Asam usnat.....	18
Gambar 2.6.	Struktur Molekul Antranorin.....	18
Gambar 2.7.	Struktur Molekul Asam Barbatat.....	19
Gambar 2.8.	Struktur Molekul Asam Isobarbatat.....	19
Gambar 2.9.	Struktur Molekul Asam Difraktat.....	19
Gambar 2.10.	Struktur Molekul Asam 8-Hidroksidifraktat.....	20
Gambar 2.11.	Struktur Molekul Asam Squamatat.....	20
Gambar 2.12.	Struktur Molekul Asam Evernat.....	20
Gambar 2.13.	Struktur Molekul Asam Salazinat.....	21
Gambar 2.14.	Struktur Asam Protosetrarat.....	21
Gambar 2.15.	Struktur Molekul Asam Furmaprotosetrarat.....	22
Gambar 2.16.	Struktur Molekul Asam Galbinat.....	22
Gambar 2.17.	Struktur Molekul Asam Norstiktat.....	23
Gambar 2.18.	Struktur Molekul Asam Stiktat.....	23
Gambar 2.19.	Struktur Molekul Asam Lobarat.....	24
Gambar 2.20.	Struktur Molekul Asam Barbatolat.....	24
Gambar 2.21.	Struktur Molekul Eumitrin A ₁	25
Gambar 2.22.	Struktur Molekul Eumitrin A ₂	25
Gambar 2.23.	Struktur Molekul Eumitrin B.....	26
Gambar 2.24.	Struktur Molekul Asam Ventosat.....	26
Gambar 2.25.	Struktur Molekul Dasipogalakton.....	27
Gambar 2.26.	Struktur Molekul Longissimanon A.....	27
Gambar 2.27.	Interkalator Proflavin dengan DNA.....	30
Gambar 2.28.	Ikatan Silang Senyawa Pengalkilasi dengan DNA.....	31
Gambar 2.29.	Struktur Calicheamicin.....	31
Gambar 2.30.	Tubulin dan Mikrotubulus.....	32
Gambar 2.31.	Obat-obat yang Bekerja pada Mikrotubulus.....	33
Gambar 3.1.	Diagram Pemisahan dan Pemurnian Senyawa yang terkandung dalam Ekstrak Aseton Talus <i>U. blepharea</i> Motyka.....	39
Gambar 3.2.	Diagram Pemisahan dan Pemurnian Senyawa yang terkandung dalam Ekstrak Aseton Talus <i>U. flexuosa</i> Tayl.....	40
Gambar 4.1.	Struktur Molekul Senyawa M ₁ (Asam Usnat).....	50
Gambar 4.2.	Analisis HMBC dan COSY Senyawa M ₂ (Eumitrin M).....	57
Gambar 4.3.	Struktur Molekul Senyawa M ₂ (Eumitrin M).....	58

Gambar 4.4.	Analisis HMBC Senyawa M ₆	63
Gambar 4.5.	Struktur Molekul Senyawa M ₆ (Eumitrin A ₁).....	65
Gambar 4.6.	Analisis HMBC dan COSY dari Senyawa M ₇	69
Gambar 4.7.	Struktur Molekul Asam Difraktat.....	71
Gambar 4.8.	Struktur Molekul Senyawa M ₁ F (Asam Usnat).....	72
Gambar 4.9.	Analisis Jarak Jauh HMBC Senyawa M ₈	76
Gambar 4.10.	Struktur Senyawa M ₈	77



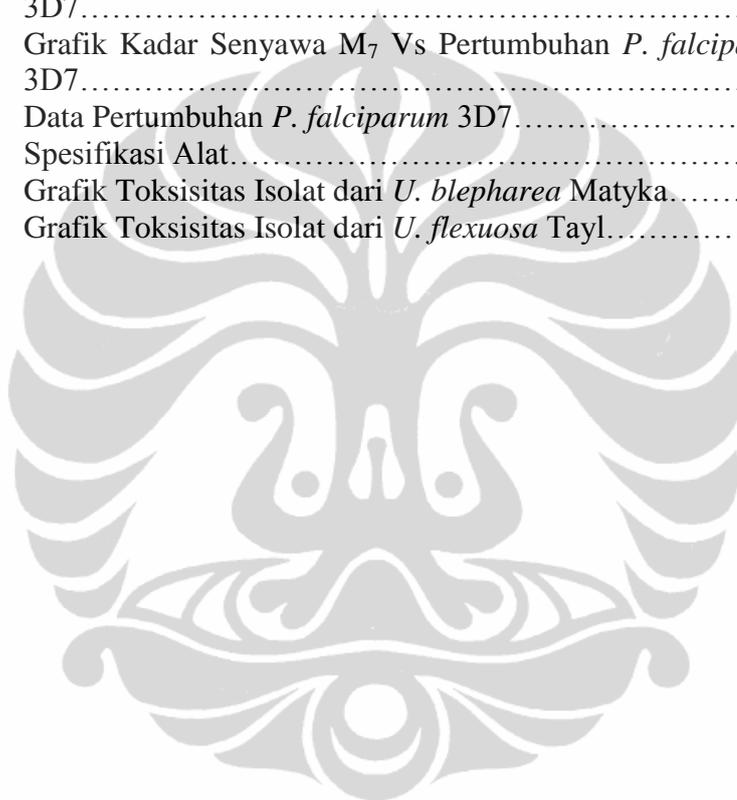
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Data Spektroskopi Senyawa M ₁	46
Tabel 4.2.	Perbandingan Data Pergeseran Kimia ¹ H-NMR dan ¹³ C-NMR dari M ₁ dan Asam usnat.....	49
Tabel 4.3.	Data Spektroskopi Senyawa M ₂	51
Tabel 4.4.	Data Spektra ¹³ C-NMR, ¹ H-NMR, HMBC Senyawa M ₂	54
Tabel 4.5.	Hasil Analisis Spektroskopi Senyawa M ₆	59
Tabel 4.6.	Data Spektra Senyawa Eumitrin A ₁ dan Spektra ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, HMBC Senyawa M ₆	64
Tabel 4.7.	Data ¹ H-NMR dan ¹³ C-NMR senyawa M ₇ dan Asam Difraktat.....	66
Tabel 4.8.	Data Spektra ¹ H-NMR dan ¹³ C-NMR Asam Difraktat dan Data Spektra ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, HMBC Senyawa M ₇	70
Tabel 4.9.	Perbandingan Data Pergeseran Kimia ¹ H-NMR M ₁ dan Asam Usnat.....	72
Tabel 4.10.	Hasil Analisis Spektrometri Senyawa M ₈	74
Tabel 4.11.	Data Pergeseran Kimia ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR dan HMBC Senyawa M ₈	74
Tabel 4.12.	Nilai LC ₅₀ dengan Metode BSLT.....	77
Tabel 4.13.	Nilai LC ₅₀ dengan Metode BSLT.....	78
Tabel 4.14.	Data OD (A = 540 nm) dari Hasil Uji Sitotoksik (Sel murine P388).....	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Kromatogram LC-MS Senyawa M ₁	90
Lampiran 2.	Spektrum FT-IR Senyawa M ₁	91
Lampiran 3.	Spektrum UV Senyawa M ₁	91
Lampiran 4.	Spektrum ¹ H-NMR Senyawa M ₁	92
Lampiran 5.	Spektrum ¹³ C-NMR Senyawa M ₁	93
Lampiran 6.	Kromatogram LC-MS Senyawa M ₂	94
Lampiran 7.	Spektrum FT-IR Senyawa M ₂	95
Lampiran 8.	Spektrum UV Senyawa M ₂	95
Lampiran 9.	Spektrum ¹ H-NMR Senyawa M ₂	96
Lampiran 10.	Spektrum ¹³ C-NMR Senyawa M ₂	97
Lampiran 11.	Spektrum DEPT Senyawa M ₂	98
Lampiran 12.	Spektrum HMQC Senyawa M ₂	99
Lampiran 13.	Spektrum HMBC Senyawa M ₂	100
Lampiran 14.	Spektrum COSY Senyawa M ₂	101
Lampiran 15.	Kromatogram LC-MS Senyawa M ₆	102
Lampiran 16.	Spektrum FT-IR Senyawa M ₆	103
Lampiran 17.	Spektrum UV Senyawa M ₆	103
Lampiran 18.	Spektrum ¹ H-NMR Senyawa M ₆	104
Lampiran 19.	Spektrum ¹³ C-NMR Senyawa M ₆	105
Lampiran 20.	Spektrum DEPT Senyawa M ₆	106
Lampiran 21.	Spektrum HMQC Senyawa M ₆	107
Lampiran 22.	Spektrum HMBC Senyawa M ₆	108
Lampiran 23.	Spektrum COSY Senyawa M ₆	109
Lampiran 24.	Kromatogram LC-MS Senyawa M ₇	110
Lampiran 25.	Spektrum FT-IR Senyawa M ₇	111
Lampiran 26.	Spektrum UV Senyawa M ₇	111
Lampiran 27.	Spektrum ¹ H-NMR Senyawa M ₇	112
Lampiran 28.	Spektrum ¹³ C-NMR Senyawa M ₇	113
Lampiran 29.	Spektrum DEPT Senyawa M ₇	114
Lampiran 30.	Spektrum HMQC Senyawa M ₇	115
Lampiran 31.	Spektrum HMBC Senyawa M ₇	116
Lampiran 32.	Spektrum COSY Senyawa M ₇	117
Lampiran 33.	Spektrum ¹ H-NMR Senyawa M _{1F}	118
Lampiran 34.	Spektrum IR Senyawa M _{1F}	119
Lampiran 35.	Spektrum UV Senyawa M ₁	120
Lampiran 36.	Kromatogram LC-MS Senyawa M ₈	121
Lampiran 37.	Spektrum FT-IR Senyawa M ₈	122
Lampiran 38.	Spektrum UV Senyawa M ₈	123
Lampiran 39.	Spektrum ¹ H-NMR Senyawa M ₈	124
Lampiran 40.	Spektrum ¹³ C-NMR Senyawa M ₈	125
Lampiran 41.	Spektrum DEPT Senyawa M ₈	126
Lampiran 42.	Spektrum HMQC Senyawa M ₈	127
Lampiran 43.	Spektrum HMBC Senyawa M ₈	128
Lampiran 44.	Spektrum COSY Senyawa M ₈	129

Lampiran 45.	Hasil Uji Sitotoksitas terhadap Sel Murine P388 Senyawa M ₆	130
Lampiran 46.	Hasil Uji Sitotoksitas terhadap Sel Murine P388 Senyawa M ₇	131
Lampiran 47.	Hasil Uji Sitotoksik terhadap Sel Murine P388 Senyawa M ₈	132
Lampiran 48.	Aktivitas Choloroquin terhadap Pertumbuhan <i>P. falciparum</i> 3D7.....	133
Lampiran 49.	Grafik Kadar Senyawa M ₁ Vs Pertumbuhan <i>P. falciparum</i> 3D7.....	134
Lampiran 50.	Grafik Kadar Senyawa M ₂ Vs Pertumbuhan <i>P. falciparum</i> 3D7.....	134
Lampiran 51.	Grafik Kadar Senyawa M ₇ Vs Pertumbuhan <i>P. falciparum</i> 3D7.....	135
Lampiran 52.	Data Pertumbuhan <i>P. falciparum</i> 3D7.....	136
Lampiran 53.	Spesifikasi Alat.....	137
Lampiran 54.	Grafik Toksisitas Isolat dari <i>U. blepharea</i> Matyka.....	139
Lampiran 55.	Grafik Toksisitas Isolat dari <i>U. flexuosa</i> Tayl.....	142



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

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

Di alam terdapat sekitar 29.000 spesies lichen, dan sekitar 17.000 spesies yang diketahui telah dimanfaatkan oleh manusia sebagai pewarna, kontrol polusi, parfum, makanan dan sebagai bahan obat (Richardson, 1991; Ingolfstötter, 2002; Engel, 2007). Pada masa lalu di Amerika, lichen digunakan untuk obat tradisional, misalnya *Usnea longissima* sebagai bahan kosmetik. Di India, *Usnea sp.* digunakan untuk menyembuhkan beberapa penyakit, yaitu asthma, bronchitis, sakit perut, alergi, retak tulang, kelainan hati dan darah. *U. misaminensis* digunakan sebagai obat antidiare, obat influenza dan obat batuk, *U. barbata* dan *U. dasypoga* digunakan sebagai anti tuberculosis (TBC).

Berdasarkan pengalaman empiris, *Usnea sp.* mempunyai khasiat, yaitu dapat mengobati penyakit perut seperti diare dan tinja berdarah, obat sariawan, masuk angin, kejang-kejang, nyeri perut, sulit buang air kecil, wasir, gangguan haid, pening dan penurunan panas (Huneck, 1996; Vivek, 2007). Menurut masyarakat di sekitar pegunungan Malino Sulawesi Selatan, *U. blepharea* Motyka digunakan sebagai obat kusta, obat batuk dan obat untuk menghilangkan daging kecil yang tumbuh di kulit (kutil).

Beberapa bioaktivitas senyawa kimia dari lichen antara lain, sebagai anti viral, anti jamur, anti inflamatori, analgesik, anti piretik, anti proliferasi, anti protozoal, antidiabetis, anti TBC paru, anti kanker, dan antimutagen (Richardson, 1991; Huneck, 1996). Berbagai variasi senyawa kimia metabolit sekunder dari lichen umumnya dimetabolisme dari jamur (Brenan et al, 2009). Senyawa kimia

yang terdapat dalam *Usnea sp.* meliputi: kelompok benzofuran, depsida, depsidon, benzil ester, xanton, alifatik, lakton (Cullberson, 1996; Huneck, 1996, Suwarso, 1999). Sampai saat ini sekitar 350 senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologi telah diisolasi dari lichen dan sekitar 200 senyawa tersebut telah dikarakterisasi. Umumnya merupakan senyawa yang relatif memiliki berat molekul rendah, berbentuk kristal, tidak larut dalam air dan dapat diekstraksi dalam pelarut organik (Kosanic M, 2010). Studi kemotaksonomi menunjukkan bahwa metabolit sekunder dari lichen yang unik berasal dari kelompok depsida, depsidon, dibenzofuran dan xanton (Ingolfsdottir, 2002). Beberapa senyawa xanton memiliki aktivitas sitotoksik terhadap berbagai jenis sel kanker (Xu, 1998), dan aktivitas anti malaria terhadap *P. falciparum* (Likhitwitayawuid, 1998).

Untuk melihat bioaktivitas sebagai skrining awal suatu senyawa kimia atau ekstrak tanaman, dapat dilakukan dengan uji toksisitas secara *in vitro*. Pengujian secara *in vitro* relatif cepat, murah dan hanya membutuhkan sedikit bahan uji. Suatu prosedur umum untuk uji toksisitas dari ekstrak atau senyawa adalah dengan menggunakan larva udang *A. salina* Leach atau dikenal dengan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Selanjutnya dapat dilakukan pengujian sitotoksitas pada sel kanker untuk mengetahui potensi sebagai anti kanker menggunakan sel murine leukemia P388. Menurut Badan Kesehatan Dunia (WHO), penyakit kanker merupakan penyakit ke-2 terbesar di dunia setelah penyakit jantung yang menyebabkan kematian (Mulyadi, 1997). Meningkatnya penderita kanker setiap tahun dan belum adanya terapi yang tepat, mendorong peneliti untuk mengeksplorasi bahan alam yang potensial sebagai alternatif anti kanker.

Malaria merupakan salah satu penyakit infeksi yang tersebar di seluruh dunia mulai dari daerah tropika, sub-tropika sampai ke daerah dingin. Menurut WHO, 300-500 juta kasus klinis dengan 1,5 juta kematian setiap tahun. Hampir setengah dari penduduk dunia beresiko terkena penyakit malaria. Resiko kematian tertinggi dialami oleh anak-anak dibawah 5 tahun dan wanita hamil (Saxena, 2003). Upaya penanggulangan terhadap penyakit ini telah banyak dilakukan, akan tetapi angka kematian di beberapa negara masih tetap tinggi. Salah satu faktor

penyebab adalah timbulnya galur parasit malaria yang resisten terhadap obat anti malaria yang ada (Biagini, 2003). Oleh karena itu, upaya eksplorasi bahan-bahan alam untuk mencari obat anti malaria baru perlu dilakukan.

Berdasarkan uraian di atas, sebagai usaha untuk menggali kekayaan alam Indonesia dan usaha untuk mengetahui kegunaannya, sehingga perlu dilakukan penelitian terhadap kandungan senyawa kimia dari *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl. yang tumbuh di Pegunungan Sulawesi Selatan yang mempunyai potensi sebagai bahan obat. Penelitian terhadap kedua spesies ini belum banyak dipublikasikan, sampai saat ini baru diisolasi satu senyawa yaitu (-) - asam usnat (Palupi, 2006), sehingga peluang untuk mendapatkan senyawa baru atau senyawa yang telah diketahui yang terdapat dalam kedua spesies ini masih terbuka luas. Selain itu, penelitian untuk mengetahui bioaktivitas dari ekstrak aseton dan senyawa hasil isolasi juga perlu diteliti, yaitu uji toksisitas pada larva udang *A. salina* Leach dan uji sitotoksitas pada sel murine leukemia P388 untuk melihat aktivitas sebagai anti kanker dan uji pada parasit *P. falciparum* untuk melihat aktivitas sebagai anti malaria.

1.2. Perumusan Masalah

Lichen dikenal sebagai salah satu sumber senyawa kimia yang berkhasiat obat. Senyawa kimia dalam lichen yang memiliki bioaktivitas terutama dari kelompok fenolik, benzofuran, depsida dan xanton. Penelitian terhadap *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl. yang bersumber dari pegunungan Sulawesi Selatan baru di isolasi satu senyawa. Oleh karena itu, terhadap kedua spesies ini perlu untuk diteliti kandungan senyawa kimia serta potensi bioaktivitasnya.

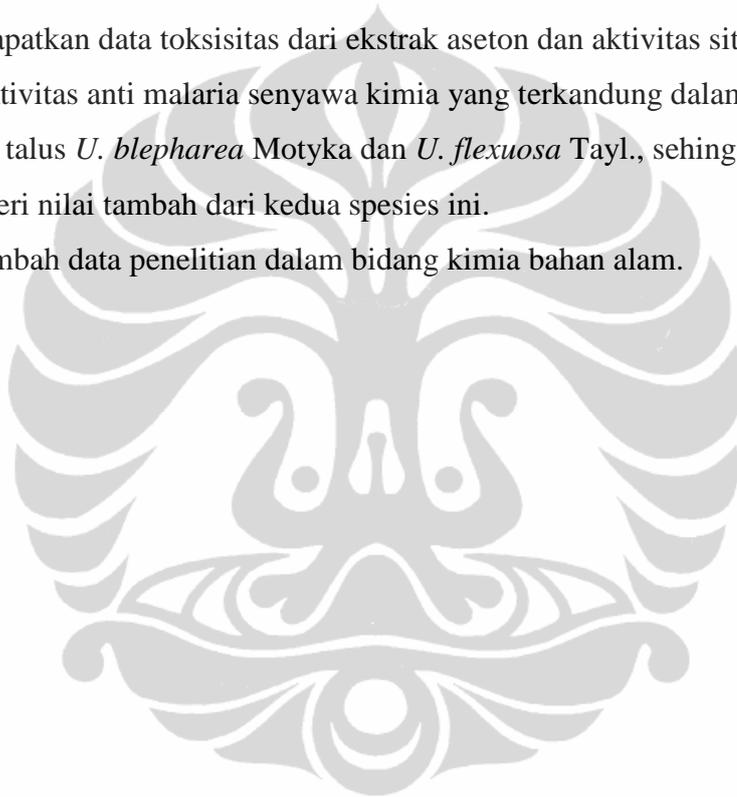
1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengisolasi dan menentukan struktur molekul senyawa kimia kelompok fenolik, benzofuran, depsida dan xanton dalam ekstrak aseton *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl.
2. Mengetahui toksisitas isolat hasil pemisahan dari ekstrak aseton *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl. menggunakan metode BSLT.

3. Mengetahui aktivitas sitotoksik terhadap sel murine P388 dan aktivitas anti malaria terhadap *P. falcifarum* dari senyawa hasil isolasi ekstrak aseton *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Menambah informasi kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl. yang tumbuh di Pegunungan Sulawesi Selatan.
2. Mendapatkan data toksisitas dari ekstrak aseton dan aktivitas sitotoksik dan aktivitas anti malaria senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak aseton talus *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl., sehingga memberi nilai tambah dari kedua spesies ini.
3. Menambah data penelitian dalam bidang kimia bahan alam.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Lichen (Lumuk Kerak)

Lichen, di Indonesia dikenal sebagai lumut kerak. Umumnya hidup di berbagai habitat yaitu pada batang, cabang dan ranting pohon, kayu yang membusuk, batu-batuan, cadas dan tanah. Lichen hidup sebagai epifit pada pohon, seperti tanaman anggrek, artinya hidupnya hanya menempel pada pohon inangnya, tidak mengambil makanan dari pohon inangnya dan dapat ditemukan dari tepi pantai hingga pada gunung yang tinggi (Tjitrosoepomo, 1989). Lichen tidak memerlukan syarat hidup yang rumit dan tahan terhadap kekurangan air dalam jangka waktu yang lama sehingga jika berada pada kondisi kekeringan tidak mati, dan bila hujan turun lichen kembali hidup aktif. Pada batuan tempat tumbuhnya, lichen dapat melepaskan zat kimia yang membantu pelapukan batuan tersebut.

Lichen tergolong vegetasi perintis, karena dapat hidup mulai dari daerah pegunungan sampai ke daerah kutub dimana tumbuhan lain tidak dapat hidup. Di daerah Tundra banyak terdapat hamparan lichen *Cladonia rangiferina* yang menjadi salah satu makanan utama rusa kutub. Lichen juga dapat tumbuh di daerah gersang yang tidak memenuhi syarat kehidupan normal, dan dapat bertahan dalam waktu yang cukup lama. Lichen akan tumbuh subur pada daerah yang cukup mendapat sinar matahari, suhu udara yang tidak terlalu panas (moderat), dan udara lingkungan yang bersih bebas dari polusi. Daerah ideal untuk pertumbuhan lichen adalah di hutan tropis dan di lereng-lereng gunung yang tidak aktif (Miller, 1984).

Komponen fungi pada lichen disebut *mikobion*, biasanya adalah *ascomycetes* yang terutama dari *discomycetales* dan kadang-kadang *pyrenomycetales*, tetapi ada pula yang berasal dari *basidiomycetales* (Crittenden, 1991). Komponen ganggang atau *algae* disebut *fotobion*, biasanya berupa ganggang biru (*cyanophyceae*), dan ganggang hijau (*chlorophyceae*), dapat bersel tunggal maupun berkoloni, misalnya *cystococcus* dan *trentepholia* (Hale, 1973).

Umumnya fungi tertentu bersimbiosis dengan ganggang tertentu dan lichen baru dapat terbentuk jika fungi tertentu bertemu dengan ganggang yang tepat. Jenis ganggang yang berbeda akan menghasilkan jenis lichen yang berbeda. Jadi jenis lichen tergantung pada tipe cara hidup bersama antara kedua macam organisme yang menyusunnya. Simbiosis antara fungi dan ganggang ada yang menafsirkan sebagai *mutualisme*, bila kedua organisme tersebut dapat memperoleh keuntungan dari hidup bersama. Akan tetapi dapat juga hubungan antara fungi dan ganggang tersebut dianggap sebagai *helotisme*, apabila hubungan timbal balik hanya bersifat sementara, dan pada akhirnya ganggang diperalat oleh fungi.

Umumnya lichen berkembang biak secara vegetatif, yaitu bila sebagian talus terpisah, selanjutnya tumbuh membentuk individu baru. Beberapa jenis lichen pembiakannya berlangsung dengan perantaraan *soredium*, yaitu kelompok sel-sel ganggang yang sedang membelah dan diselubungi benang-benang *mycelium*, kemudian menjadi satu batang tubuh baru (talus) yang dapat terlepas dari induknya. Dengan robeknya dinding talus *soredium*, selanjutnya spora-spora tersebut ke tempat lain terbawa angin atau air sehingga dapat tumbuh menjadi lichen yang baru (Miller, 1984).

Lichen dapat digolongkan berdasarkan fungi yang menyusunnya, yaitu kelas *ascolichenes* dan kelas *basidiolichenes*. Kelas *ascolichenes* adalah lichen yang fungi penyusunnya terutama *discomycetales* dan tubuh buah yang dihasilkan berupa *apotesium*. Jika fungi penyusunnya adalah *pyrenomycetales* maka talus yang dihasilkan berupa *peritesium*. Lichen yang tergolong dalam kelas *ascolichenes* adalah genus *Usnea* yang berbentuk semak kecil dan hidup di pegunungan, contohnya *U. barbata* dan *U. dasypoga*. Spesies lainnya adalah *Rocella tinctoria*, *Cladonia rangiferina*, *Cetraria islandica*, *Parmelia acetabulum* dan *Lobaria pulmonaria*. Kelas *basidiolichenes* umumnya mempunyai talus yang berbentuk lembaran-lembaran. Pada batang tubuh (talus) terbentuk lapisan *heminium* yang mengandung *basidium*, contohnya *corapavonia* (Tjitrosoepomo, 1989).

2.2. Fotosintesis Pada Lichen

Salah satu sifat yang unik pada lichen, yaitu kemampuan fungi untuk menangkap hasil fotosintesis yang dilakukan oleh ganggang dan kemampuan keduanya untuk bergabung, menyatu membentuk talus. Ganggang menyediakan senyawa organik dan vitamin untuk fungi. Fungi mampu memperoleh karbohidrat dari alga karena adanya bantuan dari struktur berupa tonjolan-tonjolan renik seperti akar yang menembus sel fotosintetik pada alga yang disebut *haustorium*. Seperti pada tanaman yang mempunyai klorofil, lichen juga tergantung pada air, udara, cahaya dan mineral untuk tumbuh. Proses fotosintesis pada lichen, sama dengan fotosintesis yang terjadi pada tanaman hijau daun, yaitu dipengaruhi oleh kandungan air dalam sel, intensitas cahaya yang masuk serta suhu. Faktor yang membatasi fotosintesis pada lichen, yaitu kandungan air dalam sel yang hanya diperoleh dari air hujan dan embun. Lichen mempunyai kandungan klorofil sebanyak 10-25 % dari tanaman berhijau daun. Lichen adalah tanaman yang membutuhkan cahaya untuk memaksimalkan penggunaan klorofilnya yang jumlahnya sedikit (Hale, 1973; Nash, 1997).

2.3. Metabolisme Pada Lichen

Bahan makanan organik dan vitamin yang dihasilkan oleh ganggang selama proses fotosintesis sebagian diberikan pada fungi untuk dimetabolisme lebih lanjut, dan sebagian lagi dimanfaatkan untuk ganggang sendiri. Ganggang akan menyerap gula, senyawa nitrogen dan fosfat dengan sangat cepat. Asimilasi metabolit ini pada sintesis protein dan karbohidrat akan berjalan sangat lambat. Cadangan nutrisi yang disimpan dalam talus dapat digunakan oleh ganggang dan fungi dalam jangka waktu yang lama (Elix, 1993). Hal ini merupakan suatu fenomena yang unik, karena metabolisme berjalan lambat tetapi memungkinkan lichen menggunakan nutrisi semaksimal mungkin selama terjadi kondisi kekurangan makanan. Mineral yang sampai ke lichen dibawa oleh air hujan atau embun. Lichen dapat tumbuh pada batu dan menyerap mineral dari inangnya. Air hujan yang mengandung nitrogen organik dan anorganik dapat diserap oleh lichen yang berganggang hijau-biru. Selain itu, lichen dapat menangkap nitrogen dari atmosfer. Hal ini menunjukkan bahwa secara tidak langsung lichen membutuhkan mineral yang sangat khas. Sebagai contoh, spesies dari famili *Physciaceae* dan

Teloschistaceae memerlukan batu yang banyak mengandung kalsium. Beberapa spesies lichen yang hanya dapat tumbuh pada batu yang bersuasana asam. Sejumlah lichen lebih suka hidup pada pohon jenis tertentu, misalnya *Parmelia*, sering hidup pada kulit kayu yang keras, pohon coklat hitam dan pohon merah, sedangkan *Physia* banyak tumbuh pada pohon yang lunak atau pada pohon bagian bawah (Hale, 1973; Nash, 1997; Suyanto, 2006).

2.4. Pertumbuhan Lichen

Lichen termasuk organisme yang kecepatan pertumbuhannya paling lambat. Pada umumnya, kecepatan pertumbuhan lichen rata-rata hanya 0,1-10 mm setiap tahun. *Ramalina tecticulata* adalah lichen dari jenis frutikosa yang pertumbuhannya sangat cepat yaitu 2-4 cm per tahun. Lichen dengan talus jenis foliosa dapat mencapai diameter 1-30 cm. Talus lichen frutikosa dapat mencapai panjang sampai 2 meter, dan diperkirakan bahwa usia rata-rata talus lichen jenis ini dapat mencapai 100-200 tahun. Karena lichen dapat berumur sangat panjang, maka dapat digunakan untuk memperkirakan umur moraines dekat glasier. Glasiologist, mula-mula mengukur diameter crustosa pada batu morain, sehingga dapat mengetahui umur batu tersebut terbebas dari es, yaitu dengan cara menghitung umur lichen. Salah satu penelitian di Swiss menunjukkan bahwa lichen crustosa dapat mencapai usia ratusan tahun (Hale, 1973).

Lichen diketahui mempunyai tingkat pertumbuhan yang sangat lambat. *Rhizocarpon geographicum* telah digunakan untuk memperkirakan tanggal terjadinya pembentukan batuan. Ahli geologi William Bull dari Universitas Arizona menggunakan lichen sebagai alat ukur untuk mengetahui tanggal terbentuknya kejadian longsoran batu yang luar biasa dahsyat di Sierra Nevada.

2.5. Bentuk Talus Lichen

Lichen terbentuk dari dua organisme yang berbeda, yaitu antara ganggang dan fungi menjalani hidup bersama yang saling menguntungkan dan akan membentuk batang tubuh baru yang disebut talus. Kenyataannya talus ini secara fisik mempunyai sifat yang berbeda dengan ganggang atau fungi asalnya, bila kedua organisme itu hidup sendiri-sendiri (Hale, 1973). Talus merupakan batang tubuh baru yang berperilaku sebagai organisme tunggal, namun kedua organisme

tetap berfungsi sebagaimana mestinya, yaitu ganggang menghasilkan gula/karbohidrat melalui proses fotosintesis. Sedangkan fungi sebagai penyedia air dan mineral yang dibutuhkan untuk kehidupan bersama tersebut serta sebagai pelindung talus.

Bentuk talus lichen dapat dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok utama dan kelompok minoritas. Kelompok utama terdiri dari jenis foliosa (berbentuk seperti daun), jenis frutikosa (berbentuk seperti rambut atau semak-semak) dan jenis crustosa (seperti ubin), sedangkan kelompok minoritas hanya terdiri dari jenis squamullosa (Hale, 1973; Suwarso, 2004).

2.5.1. Jenis Foliosa

Talus lichen jenis ini berbentuk datar, seperti lembaran daun atau sisik dan melekat pada substrat, warna bagian ujung dan pangkalnya berbeda. Korteksnya mempunyai hifa di permukaan atas dan mempunyai rizin pada lapisan korteks bawah yang melekat pada substrat. Talus akan tumbuh meluas mulai dari titik pusat tumbuhnya. Talus jenis ini dapat mencapai diameter sampai 30 cm. Talus dapat melekat sangat kuat pada substrat (inangnya), yaitu batu atau pohon. Berdasarkan daya lekat pada inangnya, talus lichen dibedakan menjadi : a) talus yang sulit dilepas dari inangnya dan bila dilepas, maka akan terjadi kerusakan pada talus tersebut. Lichen yang bertalus jenis ini misalnya *Physciaphaea*. b) talus yang mudah dilepas misalnya pada *Parmatrema stupeum* dan c) talus yang sangat mudah dilepas misalnya pada *Pseudovernia intense*. Talus jenis foliosa dapat juga dikelompokkan berdasarkan cabang yang disebut cuping yaitu pertama talus bercuping lebar, yang lebarnya beragam antara 3-20 mm, dengan ujung cuping bulat atau bulat gemuk. Kedua talus bercuping kecil, yang lebarnya 0,1-3 mm dan cenderung berbentuk lurus atau seperti tali dengan ujung tumpul atau berbentuk lancip. Bentuk ketiga yaitu talus bercuping tidak teratur dan tumpang tindih dan sulit ditentukan lebarnya. Bentuk garis cuping yang beragam dapat digunakan untuk membantu identifikasi lichen dengan cara melihat garis tepi cuping, meraba kehalusannya, menekuk atau mencabik cuping (Hale, 1973; Nash, 1997). Contoh lichen foliosa adalah genus *Cetraria*, *Parmelia* dan *Peltigera*.

2.5.2. Jenis Frutikosa

Bentuk penampang talus lichen frutikosa, ada yang berbentuk sederhana dan ada pula yang bercabang, bulat atau datar dengan sedikit perbedaan antara permukaan bagian atas dan bawah, sedangkan cuping berdiri tegak pada inangnya. Talus lichen jenis ini berbentuk semak-semak, kadang-kadang berbentuk seperti rambut atau tali dan melekat pada inangnya yaitu pohon atau batu. Pada beberapa genus, seperti *Cetraria*, *Cladina* dan *Thamnolia* tumbuh pada permukaan tanah dan dapat pula tumbuh pada ujung cabang satu pohon. Untuk beberapa spesies dapat tumbuh mencapai panjang 2 meter. Bila lichen ini dipotong melintang dan dilihat dibawah mikroskop, maka akan diperoleh *medulla* atau jaringan hifa fungi dan korteks yang merupakan lapis tipis dari ganggang, yang berada di bagian bawah, sedangkan di bagian tengah dapat berbentuk pejal atau berlubang. Lichen jenis ini dapat hidup pada daerah cuaca kering sampai hutan yang bercurah hujan dan dapat tumbuh pada berbagai inang (Nash, 1997). Lichen *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl. adalah jenis frutikosa yang tumbuh menempel pada pohon pinus sebagai inangnya.

2.5.3. Jenis Crustosa

Lichen jenis ini berbentuk kerak, berwarna putih, abu-abu atau orange. Talusnya terdiri dari hifa pada bagian korteks atas dan filamen fungus pada *medulla* lapisan bawah yang melekat kuat pada substrat. Pada bagian tengah talusnya terdapat rongga, sedangkan pada korteks bagian bawah sangat tertutup. Lichen crustosa mempunyai talus yang tebal, tetapi pada bagian tepinya tidak bercuping dan kadang-kadang masuk ke dalam inangnya serta terikat kuat, sehingga tidak mungkin untuk mengambil dari inangnya tanpa merusak talusnya. Contoh lichen jenis ini adalah *Physiopsis syncolla*, *Lecanora melanopsis*, *Haematomma ventosum*, *Lepraria lecanora* yang terdapat pada kulit batang pohon, di atas batu dan tanah (Hale, 1973; Nash, 1997).

2.5.4. Jenis Squamulosa

Lichen jenis ini mempunyai talus dengan struktur seperti cuping kecil, yang terpisah dengan panjang hanya 1-10 mm dan tumbuhnya seperti rumpun. Selain itu, dapat pula berbentuk sepasang jepitan yang menutup permukaan tanah. Lichen yang bertalus jenis squamulosa misalnya dari genus *Cladonia*, *Dermatocarpon* dan *Psora* (Hale, 1973).

2.6. Manfaat Lichen

Manfaat yang dapat diperoleh dari lichen adalah sebagai berikut (Huneck, 1996) :

1. Sebagai Obat Tradisional

Lichen banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional di beberapa negara, misalnya *Cetraria islandica* (L.) Ach, digunakan sebagai ramuan obat batuk, *Laboria pulmonaria* (L.) Hoffm. sebagai ramuan obat sakit paru-paru/TBC (Schindler, 1955), *Usnea bayleyi* Stirt. digunakan sebagai campuran ramuan obat sakit paru-paru. Di Indonesia lichen dapat dibuat jamu dengan cara merebus tanaman tersebut dengan air kemudian diberi campuran tanaman obat tradisional yang lain seperti jahe, kunyit, sirih, selanjutnya air rebusan tersebut diminum (Yusuf, 1997).

2. Sebagai Zat Pewarna Alami Untuk Serat Wool dan Kertas Lakmus

Pada pertengahan abad ke-19, lichen diketahui sebagai sumber bahan pewarna untuk tekstil dan diaplikasikan pada industri tenunan tangan di Eropa. pH indikator yang telah dikenal, yaitu kertas lakmus yang mempunyai daerah perubahan pH 4,5 merah dan 8,3 biru, dibuat terutama dari spesies *Rocella*, misalnya : *R. phycopsis* (Ach.), *R. tinctoria* DC. Zat warna lakmus tersebut disebabkan oleh senyawa kimia depsida, yaitu asam lekanorat dan erithrin yang apabila dilakukan proses hidrolisis dan dilanjutkan proses dekarboksilasi akan menghasilkan orsinol. Selanjutnya bila orsinol direaksikan dengan amoniak akan menghasilkan zat warna orsein, misalnya : α - amino orsein dan β - okso orsein, yang hingga saat ini masih digunakan sebagai zat pewarna serat wool (Musso, 1960; Beecken, 1961). Di India digunakan *Letharia vulpina* untuk membuat pewarna kuning.

3. Sebagai Bahan Baku pada Industri Parfum

Ada dua spesies lichen yang dapat digunakan sebagai bahan dasar industri parfum dalam jumlah besar yaitu *Evernia prunastri* (L.) Ach. dan *Pseudevernia furfuraceae* (L.) Zopf. Setiap tahun sekitar 9000 ton dari kedua spesies tersebut diolah sebagai bahan parfum di Grasse yaitu pusat industri parfum Perancis. Ekstrak etanol dari kedua spesies lichen tersebut mempunyai aroma *mossy* yang khas. Aroma *mossy* digunakan sebagai komponen utama parfum dengan aroma yang dapat bertahan lama apabila digunakan dalam jangka waktu lama. Komponen utama dari kedua spesies lichen tersebut adalah senyawa kelompok depsida yaitu senyawa orsinol dan metil everninat (sparossol).

4. Sebagai Biomonitoring terhadap Polusi Udara

Umumnya spesies lichen sangat sensitif terhadap gas belerang dioksida (SO₂) dan gas buang lainnya yang berasal dari industri maupun dari kendaraan bermotor. Oleh karena itu, lichen sangat bermanfaat sebagai bioindikator untuk memonitoring polusi atau pengotoran udara (Galun, 1988; Herzig, 1990).

Lichen dapat dipakai sebagai biomonitoring polusi udara dari kandungan *trace element* menggunakan *Parmelia caperata*, *Evernia sp.*, *Hypogymnia physodes*, *Xantonia parietena*, dan lain-lain. Pemanfaatan lichen sebagai biomonitoring telah dilakukan di beberapa negara untuk mempelajari distribusi dan dampak dari berbagai macam *trace element* yang didasarkan pada emisi di daerah sekitarnya. Lichen dikenal karena kesensitifannya terhadap perubahan lingkungan, merupakan indikator yang memberi peringatan adanya ancaman potensial terhadap perubahan dalam ekosistem, seperti siklus nutrisi yang tidak efisien dan lambatnya pertumbuhan tanaman disekitarnya. Kadar tertentu zat pencemar udara mampu menghambat pertumbuhan lichen, tetapi logam-logam berat tidak banyak mempengaruhi pertumbuhan lichen. Lichen mampu menimbun logam berat yang dipancarkan dari udara lebih cepat dibandingkan dengan tumbuhan tingkat tinggi (Jeran et al, 2000).

5. Sebagai Sumber Senyawa Kimia yang Berkhasiat Obat

Senyawa kimia yang diisolasi dari lichen banyak yang memiliki aktivitas biologi, antara lain : (+) - asam usnat sebagai antibakteri, dan garam dari (+) - asam usnat digunakan sebagai obat luka bakar (Savicz, 1960; Hunneck, 1996),

(-) - asam usnat memiliki aktivitas antitumor dan antimutagen (Kupchan, 1975; Hall, 1997), antiviral (Scirpa, 1999; Lohesic, 2002), antiprotozoal (Fournet et al, 1997), antiproliferatif, anti-inflamatori (Ogmundsdottir et al, 1998; Vijayakumar et al, 2000), analgesik (Okuyama et al, 1995), antimikroba (Ingolfsdottir, 2002), aktivitas hepatotoksik (Pramyothin et al, 2004), antiulcerogenik (Sulayman, 2003), antioksidan dan efek gastroprotektif (Hidalgo, 1994; Fehmi et al, 2006). Inhibitor HIV (Neamati, 1997), efek sitotoksik (Perry, 1999; Engel, 2007).

Dari spesies *Lecanora frustulosa* dan *Parmeliopsis hyperopta* memiliki aktivitas antimikroba yaitu, asam divarikatat dan zeorin yang diisolasi dari spesies ini memiliki aktivitas yang kuat terhadap bakteri dan jamur (Kosanic, 2010). Beberapa ekstrak dari lichen *Cladonia convoluta*, *Cladonia rangiformis*, *Parmelia caperata*, *Platismatia glauca* dan *C. cuspidata* menunjukkan aktivitas terhadap sel *humancancer* dengan selektivitas yang baik. Ekstrak lichen *Cladonia convoluta*, *Cladonia rangiformis*, *Parmelia prunastri*, *Parmelia caperata*, *Parmelia perlata*, *P. glauca* dan *R. cuspidata* menunjukkan aktivitas sitotoksik yang signifikan terhadap sel murine L1210 (Bezivin et al, 2002). Asam norstiktat yang diisolasi dari *R. javanica* memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Aeromonas hydrophila* dan asam protosetrarat yang diisolasi dari *R. farinacea* memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans* dan *Candida glabrata* (Muller, 2001; Tay, 2004). Asam protolisterinat dari lichen *Cetraria aculeata* memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *A. hydrophila*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus substilis*, *Pseudomonas aeruginosa* (Turk, 2003).

2.7. *Usnea sp.*

Usnea sp. sudah dikenal sejak 200 tahun yang lalu. *Usnea sp.* atau kayu angin adalah lichen yang menempel pada kulit pohon dalam posisi tegak atau berjurai. Tumbuh di ketinggian lebih dari 1000 m di atas permukaan laut (Purpis, 1990).

Usnea sp. (Gambar 2.1), merupakan lichen *frutikosa* yang panjang berjurai atau berbentuk seperti janggut. Panjang talusnya dapat mencapai lebih dari 1 m, umumnya berbentuk benang bulat memanjang atau pipih dengan cabang bervariasi, ada yang cabangnya sedikit sekali, ada yang banyak, ada yang lembut

dan ada yang agak keras. Lichen tersebut mempunyai warna hijau keabu-abuan atau hijau kekuningan atau hijau lumut (Alvin, 1963).

Laju pertumbuhan *Usnea sp.* sangat lambat, rata-rata antara 1-10 mm pertahun dan dapat diperbanyak dengan spora. *Usnea sp.* hidup subur pada udara yang bersih, terkena sinar matahari langsung dan sangat peka terhadap pencemaran udara. Lichen ini tidak bisa bertahan hidup pada udara yang kotor. *Usnea sp.* hidup sebagai epifit pada cabang-cabang pohon dari berbagai jenis spesies tumbuhan berbunga, yang memiliki kulit pohon dengan permukaan yang kasar, seperti *Cinnamomum camphora*, *Celtis philiphinensis*, *Pinus sylvestis*, *Quercus sp*, *Ceiba petantra*, *Casuarina sp*, *Colindara brevies*, dan lain lain.

Usnea sp. terdapat di daerah pegunungan di Indonesia, Malaysia, India, China, Jepang, Eropa, Amerika, Afrika, Amerika Tengah, Australia, dan Selandia Baru, Inggris. Di Inggris ditemukan di daerah Wales dan Skotlandia, sedangkan di Afrika banyak ditemukan di Afrika Timur pada ketinggian 1000-4000 m dari permukaan laut. Di Indonesia, *Usnea sp.* dapat ditemukan hampir semua pegunungan dengan ketinggian mulai 1000 m dari permukaan laut. Di Jawa *Usnea sp.* ditemukan di pegunungan antara lain di Cibodas, Jawa Barat, dan pegunungan Jawa Timur. Di Sumatera ditemukan dikaki gunung Kerinci. Di seluruh dunia diperkirakan ada 500 spesies (Galloway, 1991).



Gambar 2.1. *Usnea sp.*

Di Indonesia dikenal ada beberapa spesies dari genus *Usnea* antara lain : *U. articulate*, *U. dasypoga*, *U. longissima*, *U. sternaii*, *U. vrieseana*, *U. comosa*, *U. blepharea*, *U. bayleyi*, *U. javanica*, *U. flexuosa* dan lain-lain. Sedangkan *Usnea sp.* yang terdapat di Afrika, Inggris dan ditempat yang lain yaitu : *U. plicata*, *U. flexilis*, *U. formosa*, *U. istegnis*, *U. pectinata*, *U. florida*, *U. subfloudina*, *U. rubiginea*, *U. certain*, *U. articulate*, *U. canariensis*, *U. undulate*, *U. hesperina*, *U. evansii*, *U. tristis*, *U. stigosa*, *U. subfresca*, *U. arizonica*, *U. mutabilis*, *U. fulvareagus*, *U. antillarum*, *U. commosa*, *U. hirta*, *U. rubigenia*, *U. trichodia*, *U. abissinica*, *U. aristata*, *U. leprosa*, *U. perplexans*, *U. elixii*, *U. baileyi*, *U. aristata*, *U. bornmueleri*, *U. undulate*, *U. misaminensis* dan lain-lain.

Nama lain dari *Usnea sp.* antara lain : Kayu angin (Jawa), Tae angin (Madura), Tai angin (Bugis), Tae anging (Makassar), Tahi angin (Melayu), Rasuk angin (Jawa), Cirik angin (Minang), Anin tain, Liken (Melayu), Djenggot resi (Bali), Janggutan resi (Nusa Tenggara) (Gani, 1998).

2.8. Morfologi *Usnea blepharea* Motyka

U. blepharea Motyka (Gambar 2.2), termasuk kelompok lichen frutikosa, tumbuh menempel pada kulit batang atau ranting pohon pinus yang terkena langsung sinar matahari. Talus berbentuk benang dengan cabang-cabang bervariasi, berwarna hitam coklat, dan hijau kecoklatan jika kering. Panjangnya dapat mencapai 30 cm. Hidup pada ketinggian 1000 - 1700 m di atas permukaan laut, tumbuh di tempat wisata gunung Bawakaraeng Malino Gowa, Propinsi Sulawesi Selatan.

Taksonomi dari *U. blepharea* Motyka sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 1989) :

- Divisi : Thallophyta
- Sub divisi : Lichenes
- Ordo : Ascolichenes
- Famili : Usneaceae
- Genus : *Usnea*
- Spesies : *Usnea blepharea* Motyka



Gambar 2.2. *Usnea blepharea* Motyka

2.9. Morfologi *U. flexuosa* Tayl.

U. flexuosa Tayl. (Gambar 2.3), termasuk di dalam kelompok lichen frutikosa, tumbuh menempel pada kulit batang atau ranting pohon pinus yang terkena langsung sinar matahari. Talus berbentuk jenggot berjurai ke bawah yang panjangnya dapat mencapai 1 meter, berwarna hijau hingga hijau kecoklatan, tumbuh di gunung Bambapuang Kabupaten Enrekang, Propinsi Sulawesi Selatan. Taksonomi dari *U. flexuosa* Tayl. sebagai berikut (Tjitrosoepomo, 1989) :

Divisi : Thallophyta
 Sub divisi : Lichenes
 Ordo : Ascolichenes
 Famili : Usneaceae
 Genus : *Usnea*
 Spesies : *Usnea flexuosa* Tayl.



Gambar 2.3. *Usnea flexuosa* Tayl.

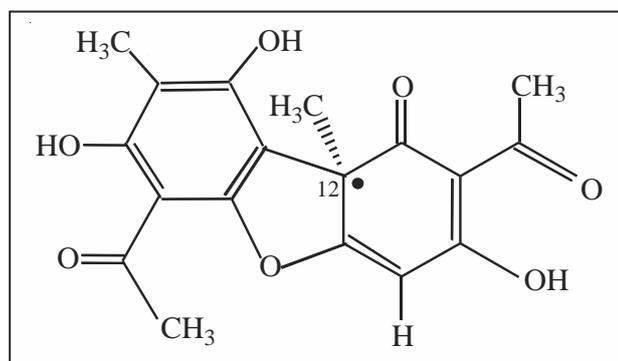
2.10. Kandungan Senyawa Kimia *Usnea sp.*

Sampai saat ini hasil penelitian mengenai kandungan senyawa kimia pada *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl. baru ditemukan satu senyawa yaitu (-) - asam usnat (Palupi, 2006). Adapun beberapa senyawa yang terkandung dalam *Usnea sp.* yang telah diteliti adalah sebagai berikut :

2.10.1. Kelompok Benzofuran

2.10.1.1. (+) - Asam usnat

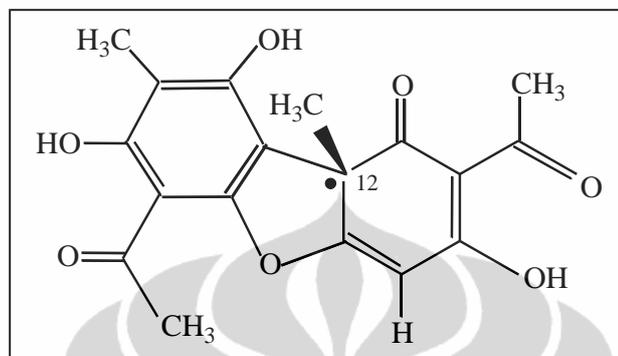
(+) - Asam usnat (Gambar 2.4), merupakan komponen utama yang ditemukan hampir pada semua tanaman *Usnea sp.* dengan rumus molekul $C_{18}H_{16}O_7$, berbentuk kristal jarum/prisma berwarna kuning, mempunyai titik leleh 203 - 204 °C, rotasi optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = 495^\circ$ (Hunneck, 1996).



Gambar 2.4. Struktur Molekul (+) - Asam Usnat

b. (-) - Asam usnat

(-) - Asam usnat (Gambar 2.5), dengan rumus molekul $C_{18}H_{18}O_7$, berbentuk kristal jarum/prisma berwarna kuning, mempunyai titik leleh 203 - 204 °C, rotasi optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = -495^\circ$ (Huneck, 1996).



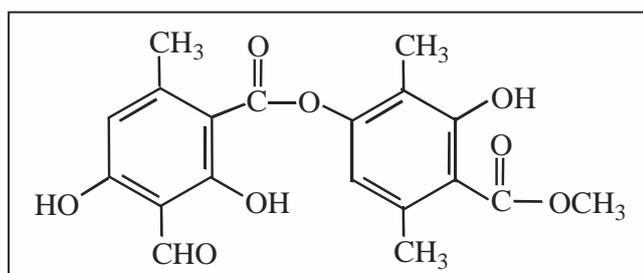
Gambar 2.5. Struktur Molekul (-) - Asam Usnat

(+) - asam usnat dan (-) - asam usnat merupakan sepasang enansiomer yang disebut juga sebagai isomer optik. Isomer optik mempunyai sifat kimia-fisika sama dan hanya berbeda pada aktivitas biologinya dan kemampuan memutar bidang cahaya terpolarisasi atau berbeda arah rotasi optiknya, masing-masing hanya dapat memutar bidang cahaya terpolarisasi ke kiri atau kanan saja dengan sudut putaran optik yang sama.

Asam usnat banyak ditemukan dalam lichen dengan kelimpahan yang cukup banyak, khususnya terdapat dalam genus *Usnea*, *Alectoria*, *Cladonia*, *Lecanora*, *Ramalina* dan *Evernia* (Ingolfssdottir, 1998).

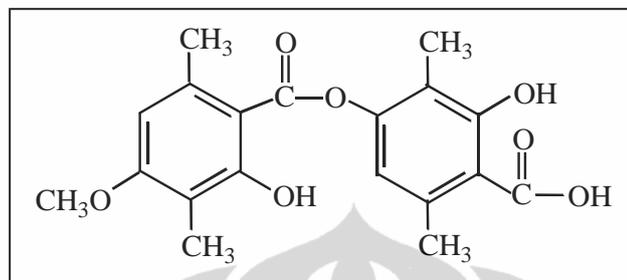
2.10.2. Kelompok Depsida (Cullberson, 1996)

Antranorin (Gambar 2.6), dengan rumus molekul $C_{19}H_{18}O_8$ dengan bobot molekul 374, berbentuk kristal berwarna putih, mempunyai titik leleh 196 °C, terdapat pada *U. articulata* dan *U. canariensis* (Ach.) Du Rietz.



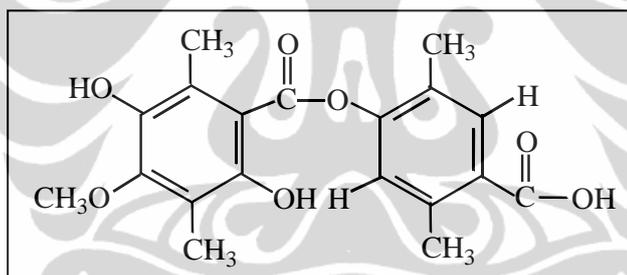
Gambar 2.6. Struktur Molekul Antranorin

Asam Barbatat (Gambar 2.7), dengan rumus molekul $C_{19}H_{20}O_7$, berbentuk kristal jarum, mempunyai titik leleh $187\text{ }^{\circ}\text{C}$, contohnya terdapat pada *U. barbata* (L.) Wigg, *U. articulate* (L) Hoffm dan *U. diffracta* Vain (Cullberson, 1996).



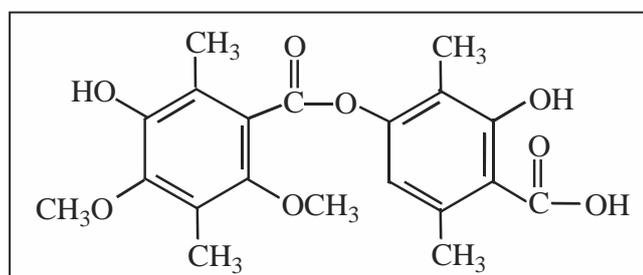
Gambar 2.7. Struktur Molekul Asam Barbatat

Asam Isobarbatat (Gambar 2.8), dengan rumus molekul $C_{19}H_{20}O_7$, berbentuk kristal putih, mempunyai titik leleh $216 - 217\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat di dalam *U. articulata* L. Hoffm. (Cullberson, 1996).



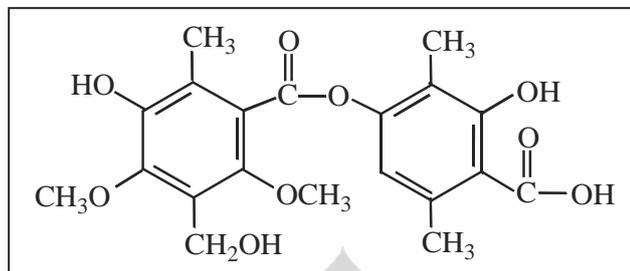
Gambar 2.8. Struktur Molekul Asam Isobarbatat

Asam Difraktat (Gambar 2.9), dengan rumus molekul $C_{20}H_{22}O_7$ mempunyai titik leleh $189-190\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat di dalam *U. diffracta* Vain, *U. angulata* Ach. dan *U. certain* Ach.



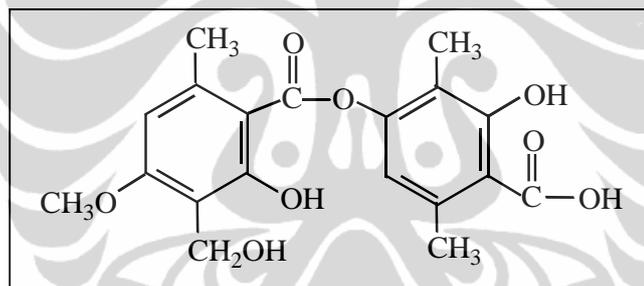
Gambar 2.9. Struktur Molekul Asam Difraktat

Asam 8-Hidroksi difraktat (Gambar 2.10), dengan rumus molekul $C_{20}H_{22}O_8$, mempunyai titik leleh $156 - 158\text{ }^{\circ}\text{C}$, contohnya terdapat pada *U. longissima* Ach.



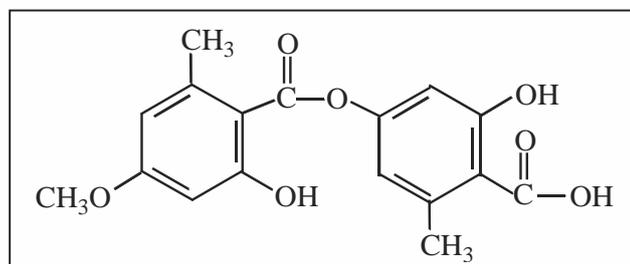
Gambar 2.10. Struktur Molekul Asam 8-Hidroksidifraktat

Asam Squamatat (Gambar 2.11), dengan rumus molekul $C_{19}H_{18}O_9$ dengan bobot molekul 390, berbentuk kristal, mempunyai titik leleh $228 - 229\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat pada *U. comosa* (Ach) Rohl.



Gambar 2.11. Struktur Molekul Asam Squamatat

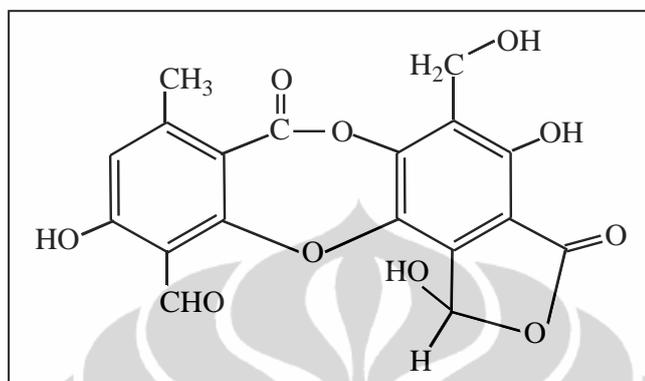
Asam evernat (Gambar 2.12), dengan rumus molekul $C_{17}H_{16}O_7$ mempunyai titik leleh $270 - 272\text{ }^{\circ}\text{C}$, dan merupakan kristal berbentuk jarum, terdapat pada *U. longissima ssp jesoensis* Asah dan *U. trichodea* Ach.



Gambar 2.12. Struktur Molekul Asam Evernat

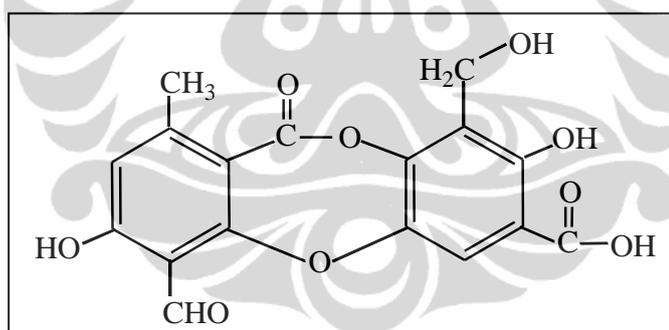
2.10.3. Kelompok Depsidon (Cullberson, 1996; Hunneck, 1996)

Asam Salazinat (Gambar 2.13), dengan rumus molekul $C_{18}H_{12}O_{10}$, mempunyai titik leleh $260 - 263\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat pada *U. ceratina* (Ach), *U. confusa* Asah dan *U. flexilis* Stirt.



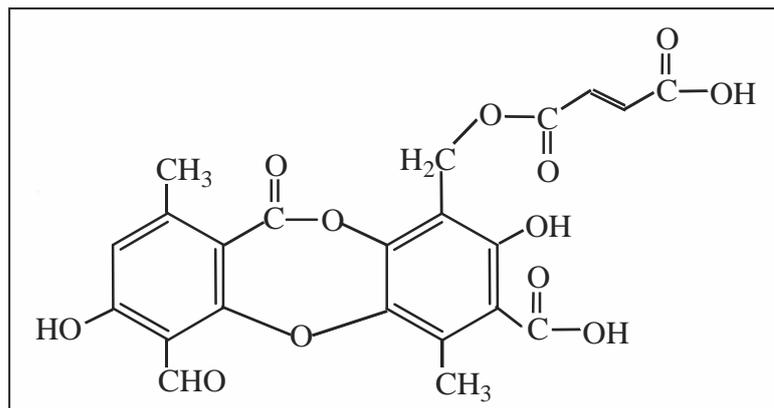
Gambar 2. 13. Struktur Molekul Asam Salazinat

Asam Protostrarat (Gambar 2.14), dengan rumus molekul $C_{18}H_{14}O_9$ dengan bobot molekul 374, berbentuk kristal tidak teratur, mempunyai titik leleh $245 - 250\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat pada *U. capiliformis* Asah dan *U. conforta* Jatta.



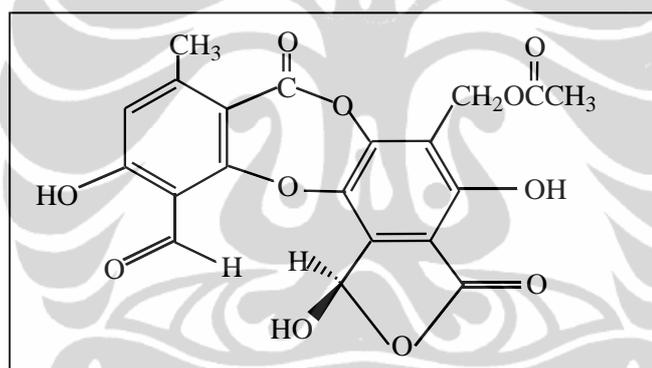
Gambar 2.14. Struktur Asam Protostrarat

Asam Furmaprostrarat (Gambar 2.15), dengan rumus molekul $C_{22}H_{16}O_{12}$, berbentuk kristal, mempunyai titik leleh $250 - 260\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat dalam *U. antarctica* Du Rietz dan *U. fasciata* Torrey.



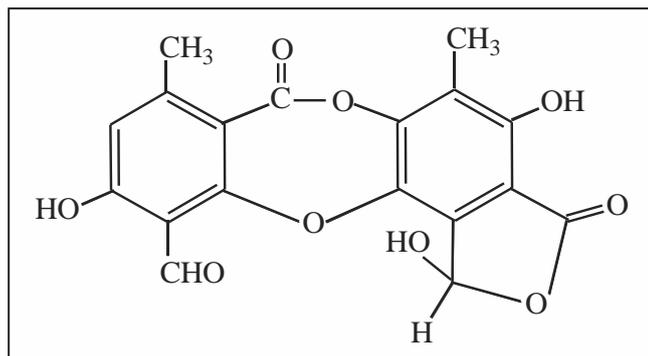
Gambar 2.15. Struktur Molekul Asam Fumaprotosetrat

Asam Galbinat (Gambar 2.16), dengan rumus molekul $C_{20}H_{14}O_{11}$, berbentuk kristal tidak berwarna, mempunyai titik leleh 260 - 265 °C, terdapat di dalam *U. undulata* Stirt dan *U. galbinifera* Asah.



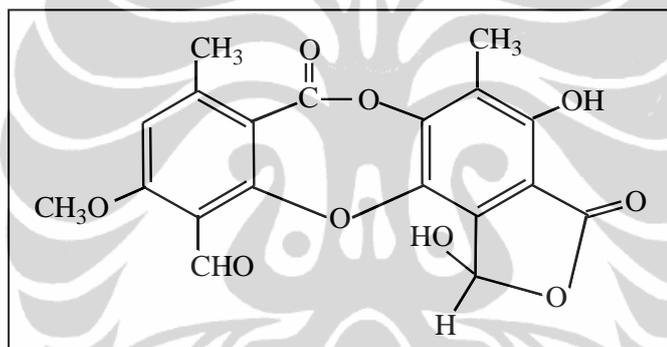
Gambar 2.16. Struktur Molekul Asam Galbinat

Asam Norstiktat (Gambar 2.17), dengan rumus molekul $C_{18}H_{12}O_9$, berbentuk kristal jarum, mempunyai titik leleh 286 - 287 °C, terdapat di dalam *U. aspera* (Eschw.) vain, *U. implicita* (Stirt.) Zahlbr dan *U. ludicra* Rizz.



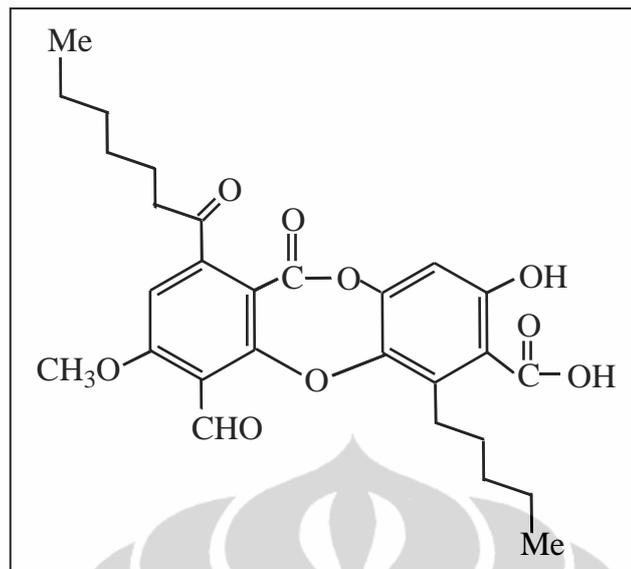
Gambar 2.17. Struktur Molekul Asam Norstiktat

Asam Stiktat (Gambar 2.18), dengan rumus molekul $C_{19}H_{14}O_9$, berbentuk kristal, mempunyai titik leleh $270-272\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat di dalam *U. rubicunda*, *U. indigema* Motyka, *U. intexta* Stirt, dan *U. aciculifera* Vain.



Gambar 2.18. Struktur Molekul Asam Stiktat

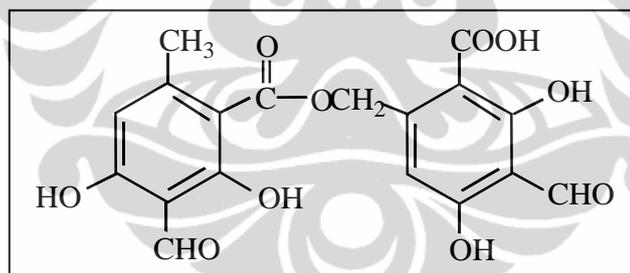
Asam Lobarat (Gambar 2.19), dengan rumus molekul $C_{25}H_{28}O_8$, bobot molekul 456, berbentuk kristal prisma, mempunyai titik leleh $196-197\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat pada *U. barbata* (L)-Wigg.



Gambar 2.19. Struktur Molekul Asam Lobarat

2.10.4. Kelompok Benzil Ester (Hunneck, 1996)

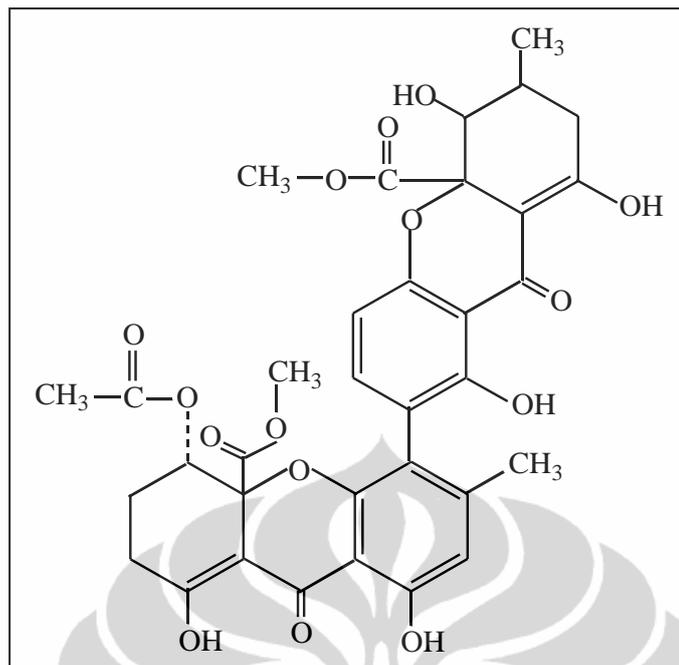
Asam Barbatolat (Gambar 2.20), dengan rumus molekul $C_{18}H_{14}O_{10}$, berbentuk kristal jarum, mempunyai titik leleh 206-207 °C terdapat di dalam *U. barbata*.



Gambar 2.20. Struktur Molekul Asam Barbatolat

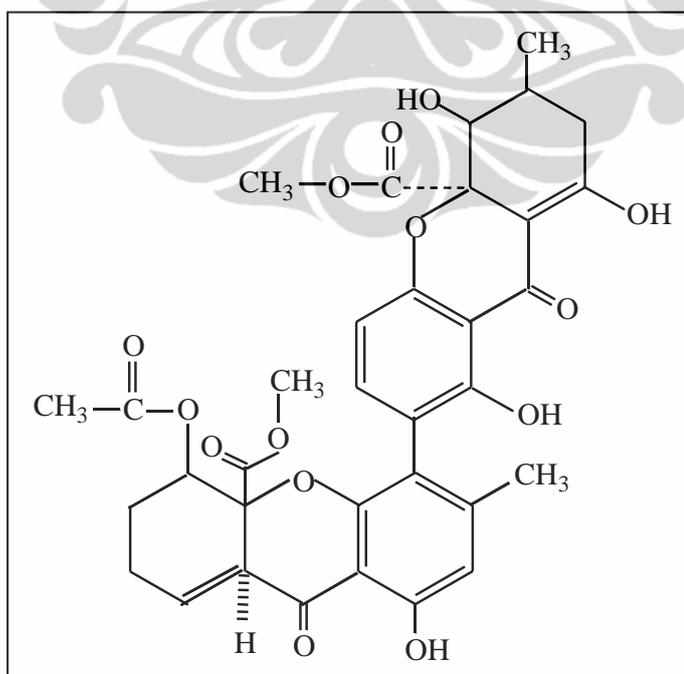
2.10.5. Kelompok Xanton dan Bisanton (Hunneck, 1996)

Eumitrin A₁ (Gambar 2.21), dengan rumus molekul $C_{34}H_{32}O_{15}$, berbentuk kristal kuning pipih, mempunyai titik leleh 249-252 °C, mempunyai rotasi optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = -52,4$, terdapat di dalam *U. bayleyi* (Stirt.) Zahlbr.



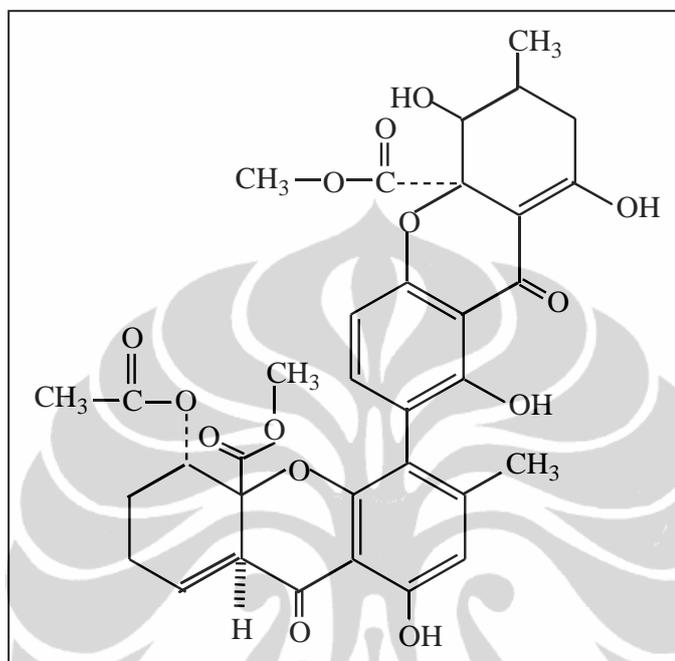
Gambar 2.21. Struktur Molekul Eumitrin A₁

Eumitrin A₂ (Gambar 2.22), dengan rumus molekul C₃₄H₃₄O₁₄, merupakan kristal pipih berwarna kuning, mempunyai titik leleh 216 - 220 °C, dan mempunyai rotasi optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = -76,7^\circ$ (dioksan), terdapat di dalam *U. bayleyi* (Stirt.) Zahlbr.



Gambar 2.22. Struktur Molekul Eumitrin A₂

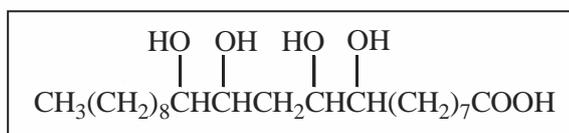
Eumitrin B (Gambar 2.23), dengan rumus molekul $C_{34}H_{34}O_{14}$, merupakan kristal berbentuk prisma berwarna kuning, mempunyai titik leleh $234-240\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan mempunyai rotasi optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = 33,3^{\circ}$ (dioksan), terdapat di dalam *U. bayleyi* (Stirt.) Zahlbr.



Gambar 2.23. Struktur Molekul Eumitrin B

2.10.6. Kelompok Alifatik (Cullberson, 1996)

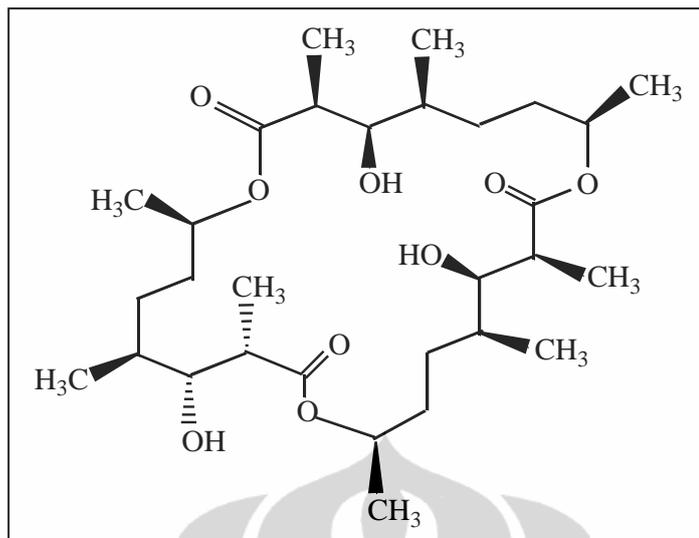
Asam Ventosat (Gambar 2.24), dengan rumus molekul $C_{22}H_{44}O_6$, berbentuk bubuk amorf putih, mempunyai titik leleh $183-185\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat di dalam *U. pectinata*.



Gambar 2.24. Struktur Molekul Asam Ventosat

2.10.7. Kelompok Alkohol Ester (lakton) (Suwarso, 1999)

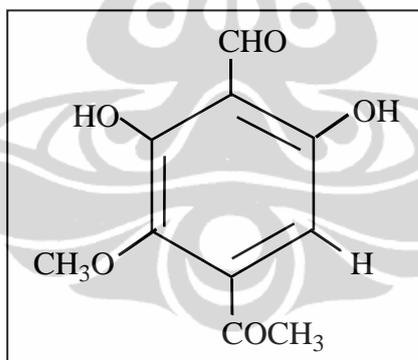
Dasipogalakton (Gambar 2.25), dengan rumus molekul $C_{30}H_{54}O_3$, berbentuk kristal putih dengan titik leleh $109-110\text{ }^{\circ}\text{C}$, mempunyai rotasi optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = -2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($c = 0,6$; CH_2Cl_2) terdapat di dalam *U. dasypoga* Rohl.



Gambar 2.25. Struktur Molekul Dasipogalakton

2.10.8. Kelompok Fenolik

Longissimanon A (Gambar 2.26), dengan rumus molekul $C_{10}H_{10}O_5$, berbentuk serbuk tak berwarna dengan titik leleh $132\text{ }^{\circ}\text{C}$, terdapat di dalam *U. Longissima* (Chouldhary, 2005).



Gambar 2.26. Struktur Molekul Longissimanon A

2.11. Uji Bioaktivitas (Bioassay)

Bioassay (*Biological assay*) diartikan sebagai suatu metode yang digunakan untuk menentukan potensi atau aktivitas suatu materi atau senyawa terhadap organisme hidup. *Bioassay* mempunyai 3 komponen, yaitu stimulus (perangsang), subyek dan respon. Stimulus merupakan suatu perlakuan yang diberikan pada subyek hidup, misalnya mikroorganisme, tumbuhan, hewan, jaringan tumbuhan atau jaringan hewan. Besarnya stimulus yang diberikan kepada

subyek dinyatakan sebagai dosis. Respon subyek terhadap dosis yang diberikan dapat diamati dari perubahan atau kelangsungan hidup dari subyek tersebut.

Pengujian bioaktivitas antara lain uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), uji sitotoksitas *in vitro* pada sel murine leukemia P388 dan uji aktivitas anti malaria.

2.11.1. Uji Toksisitas Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Brine Shrimp Lethality Test merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Hewan uji yang digunakan dalam metode ini adalah larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini dapat digunakan sebagai *bioassay-guide fractionation* dari bahan alam karena cepat (24 jam), murah, sederhana karena tidak memerlukan teknik-teknik aseptik, mudah dilakukan untuk pengujian dalam jumlah banyak, tidak perlu peralatan khusus, diperlukan sampel yang relatif kecil 2-20 mg atau lebih kecil, tidak diperlukan serum hewan dan cukup *reproducible*. Beberapa senyawa bioaktif yang telah berhasil diisolasi dan dimonitor aktivitasnya dengan metode ini menunjukkan adanya korelasi terhadap uji spesifik anti kanker.

Penggunaan BSLT sebagai *bioassay* dikembangkan oleh Meyer, et al. (1992). Meyer menggunakan metode ini dalam penapisan senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak tanaman yang ditunjukkan sebagai toksisitas terhadap larva *A. salina* Leach. Toksisitas ditentukan dengan melihat harga LC_{50} yang dihitung berdasarkan analisis probit. Ekstrak ditentukan dengan melihat LC_{50} nya lebih kecil atau sama dengan $1000 \mu\text{g/mL}$ ($LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$). Suatu bahan uji dikatakan toksik terhadap larva udang, bila mempunyai $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak dan $LC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ untuk senyawa murni.

Dasar dari pengujian *A. salina* Leach 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. Dalam memonitor studi fraksinasi, *Brine Shrimp* adalah sebagai organisme yang dianjurkan untuk penelitian aktivitas farmakologik dalam ekstrak tanaman (Jerry, et al., 1990; Meyer, 1992; Colegate, et al., 1993).

2.11.2. Kanker

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh adanya sel-sel kanker yaitu sel yang telah kehilangan daya aturnya dengan ciri gangguan atau kegagalan pengatur multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler. Penyakit kanker dapat menyerang berbagai macam sel yaitu : hati, kulit, jantung darah, otak, saluran pencernaan seperti : lambung dan usus, saluran urine, paru-paru dan sel-sel lainnya. Dalam keadaan normal, sel hanya akan membelah diri bila dibutuhkan, misalnya ada sel-sel yang perlu diganti karena mati dan rusak. Sedangkan sel kanker akan membelah diri meskipun tidak diperlukan, sehingga terjadi sel-sel baru yang berlebihan. Sel-sel baru mempunyai sifat seperti induknya yang sakit yaitu sel-sel yang tidak mempunyai daya atur (Patrick, 2001).

Kanker merupakan tumor atau neoplasma atau neoplastoma, yang terdiri dari tumor jinak (benigna) dan tumor ganas (maligna, kanker). Perbedaan antara tumor ganas dan tumor jinak yaitu faktor masa pertumbuhan dimana tumor ganas bersifat infiltratif sedangkan tumor jinak ekspansif. Tumor ganas bersifat rasidif yang bersifat dapat kambuh sedangkan tumor jinak tidak rasidif. Tumor ganas bersifat metastatik artinya dapat menyebar ke tempat lain dan menyebabkan pertumbuhan baru, sedangkan tumor jinak tidak bersifat metastatik. Perbandingan antara inti sel dan sitoplasma pada tumor ganas 1 : 1 sedangkan tumor jinak 1 : 4 (sama dengan sel normal) (Mulyadi, 1997).

Karsinogen secara umum diartikan sebagai penyebab atau pendorong terjadinya penyakit kanker. Penyebab kanker hingga saat ini dapat digolongkan menjadi 3 faktor yaitu (1) faktor fisika terutama oleh radiasi, (2) Virus, (3) Senyawa karsinogen, diduga sekitar 70-90 % penderita kanker disebabkan oleh senyawa karsinogen (Siswandono, 1995; Mulyadi, 1997).

2.11.3. Anti Kanker dan Mekanisme Kerja Anti Kanker

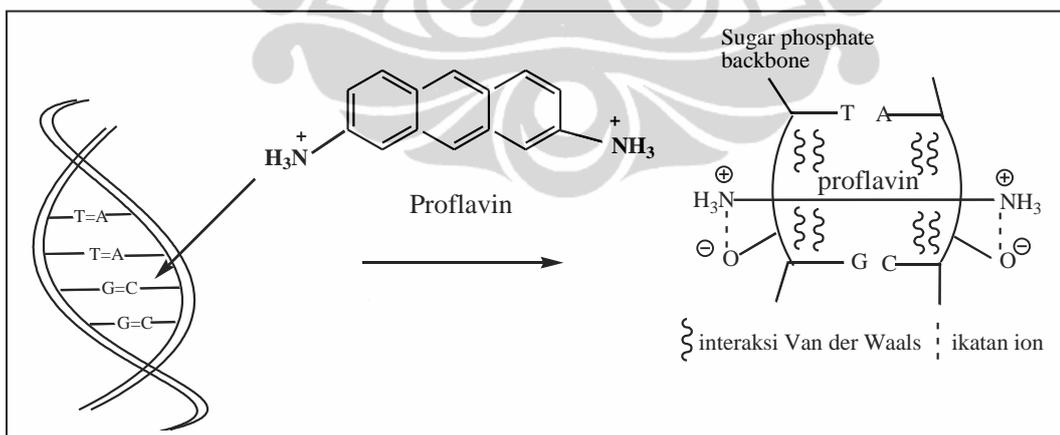
Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan cara pembedahan (operasi), radiasi (penyinaran), pengobatan dengan hormon dan pemberian obat anti kanker misalnya obat pembunuh sel kanker (kemoterapi). Pada umumnya pengobatan terhadap kanker dilakukan dengan gabungan 3 cara tersebut.

Beberapa bahan kimia baik sintesis maupun bahan alam yang sudah diketahui strukturnya untuk pengobatan kanker telah dilakukan dan hasilnya

menunjukkan adanya perbaikan DNA untuk kasus stadium awal atau bahkan stadium lanjut. Mekanisme kerja anti kanker dapat dibedakan menjadi : anti kanker yang bekerja dengan cara mempengaruhi DNA atau biosintesis protein meliputi : (Interkalator DNA, senyawa pengalkilasi, pemutus rantai DNA), anti kanker sebagai penghambat polimerisasi dan depolimerisasi pada mikrotubulus.

2.11.3.1. Interkalator DNA

Senyawa kimia sebagai interkalator dapat menyisip ke pasangan basa dalam DNA rantai ganda sehingga mencegah replikasi DNA akibatnya tidak terjadi sintesis protein. Obat-obat yang beraksi seperti ini bermanfaat sebagai zat-zat anti bakteri dan anti tumor. Senyawa anti kanker pada mekanisme ini harus planar (aromatis dan heteroaromatis), mempunyai dimensi yang tepat dan hidrofobik sehingga dapat berinteraksi dengan pasangan basa diatas dan dibawahnya dalam DNA. Sistem trisiklik sangat sesuai untuk disisipkan dan berinteraksi dengan asam nukleat melalui interaksi Van der Waals. Sebagai contoh proflavin, suatu zat antibakteri, yang mengandung gugus amino kation yang akan membentuk ikatan ionik dengan gugus fosfat dari DNA (Gambar 2.27). Beberapa senyawa kimia menyisip ke DNA rantai ganda melalui sisi minor (*minor groove*) dan sisi mayor (*major groove*).

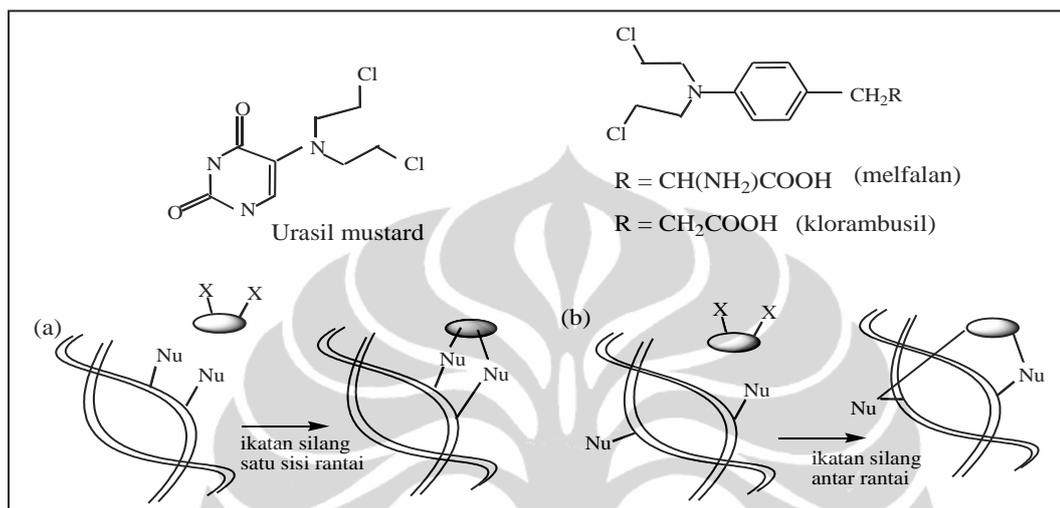


Gambar 2.27. Interkalator Proflavin dengan DNA

2.11.3.2. Senyawa Pengalkilasi

Senyawa pengalkilasi mempunyai gugus elektrofilik (misalnya alkil halida) yang dapat bereaksi dengan nukleofilik pada basa DNA rantai ganda (nukleofil pada guanin) dan terjadi reaksi substitusi nukleofilik, yaitu nukleofil

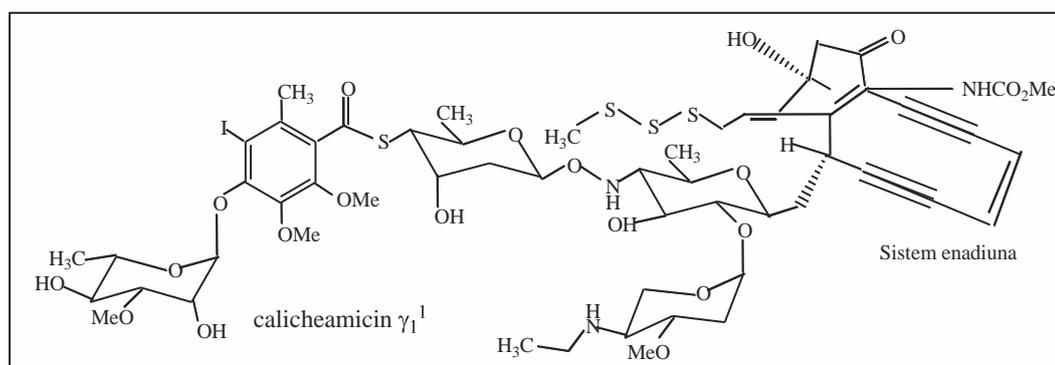
dari guanin menggantikan ion halida dan membentuk ikatan kovalen. Apabila senyawa antikanker mempunyai 2 gugus elektrofilik, maka dapat terjadi reaksi 2 kali menghasilkan ikatan silang (*cross-linking*) dengan satu sisi rantai (*intrastrand*) atau antar rantai (*interstrand*) seperti Gambar 2.28. Contoh senyawa pengalkilasi yaitu urasil mustard, melfalan, klorambusil.



Gambar 2.28. Ikatan Silang Senyawa Pengalkilasi dengan DNA

2.11.3.3. Pemutus Rantai DNA

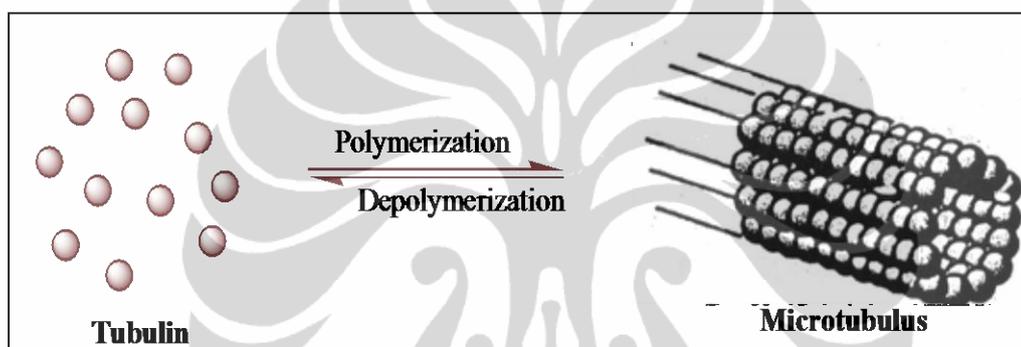
Beberapa antikanker mempunyai mekanisme kerja memutus rantai DNA. Apabila yang putus satu rantai maka akan terjadi *nicked* DNA dan dua rantai maka terjadi DNA linear (Gambar 2.29). Terputusnya DNA secara terus menerus akan menghambat replikasi DNA dan sintesis protein. Sebagai contoh senyawa anti kanker dengan kerja memutus rantai DNA ganda adalah calicheamicin γ_1 .



Gambar 2.29. Struktur Calicheamicin

2.11.3.4. Penghambat Polimerisasi dan Depolimerisasi pada Mikrotubulus

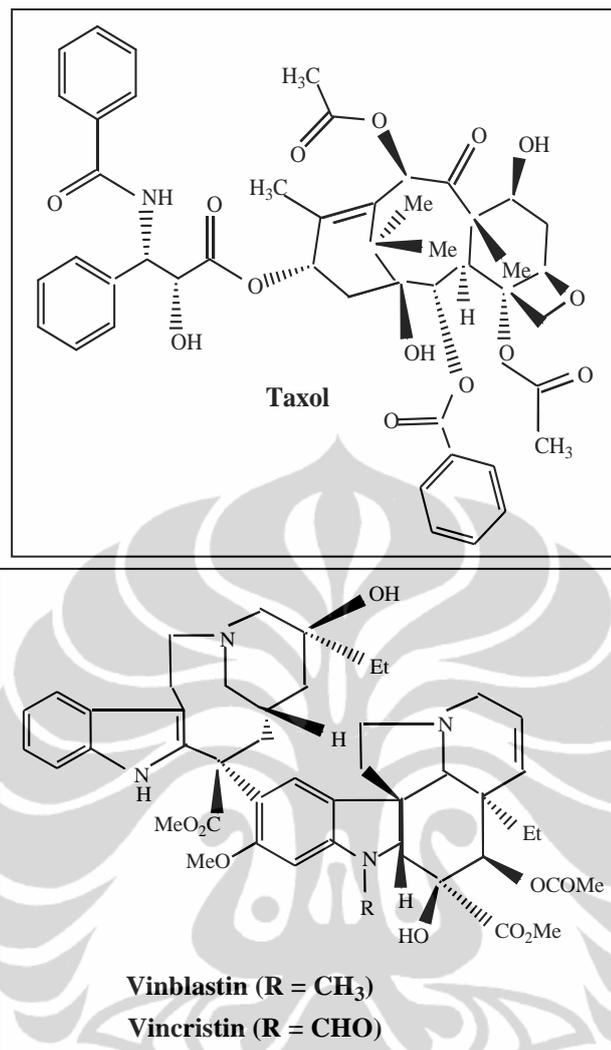
Pada umumnya protein-protein struktural adalah target obat yang tidak penting, kecuali suatu protein yang disebut tubulin yang dapat berpolimerisasi menjadi mikrotubulus (Gambar 2.30). Mikrotubulus mempunyai bermacam-macam fungsi di dalam sel yang penting untuk integritas struktural serta mobilitas sel. Mikrotubulus juga penting untuk proses pembelahan sel. Ketika sebuah sel akan membelah, mikrotubulus mengalami depolimerisasi menjadi unit-unit monomer tubulin. Selanjutnya monomer-monomer tubulin ini mengalami polimerisasi kembali untuk membentuk sebuah struktur *spindle* yang memaksa dua sel anak berpisah dan mentransfer kromosom ke setiap sel-sel anak.



Gambar 2.30. Tubulin dan Mikrotubulus

Obat-obat yang mendepolimerisasi mikrotubulus dapat berguna untuk pengobatan artritis dengan mengurangi mobilitas dari sel-sel inflamatori yang disebut neutrofil, jadi menghalanginya masuk ke dalam persendian.

Obat-obat yang menghambat depolimerisasi atau repolimerisasi dari mikrotubulus akan menghambat pembelahan sel dan sangat berguna untuk pengobatan penyakit kanker (Gambar 2.31). Vincristin adalah suatu obat anti kanker yang menghambat polimerisasi, sementara itu taxol menghambat depolimerisasi (Patrick, 2002; Rachmatiah, 2008).



Gambar 2.31. Obat-obat yang Bekerja pada Mikrotubulus

2.11.4. Uji Sitotoksitas

Sitotoksitas atau toksisitas terhadap sel pada suatu kultur dapat dibagi dua, yaitu aktivitas sitotoksik (menghentikan pertumbuhan sel) dan aktivitas sitoksidal (membunuh sel). Sitoinhibisi adalah menghambat pertumbuhan sel (Hartati, 2007).

Aktivitas sitotoksik merupakan kemampuan suatu zat untuk meracuni atau merusak sel hidup. Pengujian sitotoksitas secara *in vitro* ini merupakan langkah awal penapisan zat-zat anti kanker.

Banyak *bioassay* telah digunakan untuk menapis senyawa-senyawa untuk anti tumor dalam ekstrak dan hasil fraksinasi. Beberapa terbukti selalu sensitif (*walker carcinoma 256*), menghasilkan terlalu banyak positif palsu, dan yang

lainnya tidak cukup sensitif (Leukemia tikus L-1210). Akhir-akhir ini, P388 murine leukemia (untuk pengujian *in vitro* dan *in vivo*) lebih disukai dalam hal sensitivitas dan prediktivitas, sementara pengujian *in vivo* lebih dahulu meliputi tumor-tumor tikus tambahan (*Lewis lung carcinoma*, *colon 38*, dan *CD8fl mammary*). Prapenapisan *in vitro* untuk sitotoksitas, seperti penggunaan 9KB *human nasopharynx carcinoma* atau P388 murine leukemia (9PS), telah digunakan untuk mempermudah fraksinasi, tetapi tidak membedakan sitotoksitas dari aktivitas anti tumor. Suatu *assay bioautografik* menggunakan sel-sel leukemia murine P388 telah dikembangkan untuk mendeteksi senyawa-senyawa anti tumor dari sumber alami. Untuk menguji sensitivitas, 18 obat-obat kanker kemoterapeutika dan produk alami telah diuji. Semua toksisitas terdeteksi pada 1,0 µg dengan sel P388, sedangkan penggunaan sel *human HT-29 colon carcinoma* hanya 11 dari 18 terdeteksi pada 10 µg. P388 adalah suatu model leukemia tikus yang telah terbukti bermanfaat dalam penemuan obat baru (Colegate, 1993; Rachmatiah, 2008).

2.11.5. Uji Aktivitas Anti Malaria

Malaria merupakan penyakit yang mempunyai tingkat prevalensi tinggi. Setiap tahunnya dapat menyebabkan kematian penduduk sekitar 1-2 juta orang dengan 300-500 juta orang yang terinfeksi. Penyakit ini lebih banyak terjadi pada negara miskin dan negara berkembang. Malaria hampir ditemukan di semua Negara tropis. Penyakit malaria disebabkan oleh protozoa yang diperkirakan sekitar 150 spesies *Plasmodium* yang dapat ditransmisi melalui nyamuk betina sebagai vektor pada manusia (Linn, 2005).

Di Indonesia penyakit malaria masih merupakan penyakit masyarakat di daerah yang masih belum berkembang. Diperkirakan 60 % penduduk Indonesia tinggal di daerah endemis malaria yang tingkat endemisitasnya beragam. Menurut hasil Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001, terdapat 70 juta penduduk tinggal di daerah endemik malaria dan 56,3 juta penduduk, diantaranya tinggal di daerah endemik malaria sedang sampai tinggi dengan 15 juta kasus malaria kritis (Depkes, 2004).

Kasus-kasus malaria menyebabkan beban penyakit, yaitu mengakibatkan anemia, aborsi, kematian janin, prematuritas, dan berat badan lahir rendah. Oleh

sebab itu, kasus-kasus malaria harus segera ditangani secara cepat dan diberi pengobatan yang tepat. Obat anti malaria yang tersedia dikelompokkan sebagai berikut :

1. Obat malaria kelompok kuinolin yaitu : klorokuin, kina, primakuin, amodiakuin, meflokuin dan halofantrin.
2. Obat malaria kelompok anti folat yaitu : sulfadoksin, pirimetamin, proguanil, kloroproguanil dan depson.
3. Obat malaria kelompok baru yaitu : artimisinin, lumefrantrin, atovakuon, tafenukuin dan piferakuin (Tjitra, 2004).

Klorokuin dan obat anti malaria kelompok kuinolin telah digunakan untuk kemoterapi lebih dari 40 tahun yang lalu. Keberhasilannya didasarkan pada toksisitasnya yang terbatas, kemudahan penggunaan dan keefektifan biaya. Tetapi kasus-kasus resistensi parasit akhir-akhir ini menyebabkan kurang mempannya penggunaan kelompok kuinolin dalam kemoterapi malaria (Biagini et al., 2003). Ada empat spesies *Plasmodium* yang menyebabkan penyakit malaria pada manusia yaitu *P. malariae*, *P. vivax*, *P. falciparum* dan *P. ovale*. Diantara keempat spesies tersebut, *P. falciparum* yang paling berbahaya sebagai penyebab infeksi akut dan berat bahkan berakibat fatal, karena kemampuannya menyerang eritrosit tua dan muda, dan menyebabkan resiko kematian yang tinggi pada individu non imun (Sherman, 1998).

2.12. Tinjauan Tentang Anti Malaria dari Bahan Alam

Penelitian terhadap bahan alam dalam usaha menemukan senyawa baru anti malaria dilakukan secara intensif oleh beberapa peneliti di dunia, pada dasawarsa terakhir ini. Banyak molekul baru hasil isolasi dari bahan alam yang telah dikaji aktivitas anti malariannya. Sebagian besar molekul baru ini merupakan metabolit sekunder dalam tanaman yang termasuk dalam golongan alkaloid, terpenoid, flavanoid, xanton, naftoquinon dan lainnya.

Senyawa turunan xanton yang diisolasi dari ekstrak etanol tanaman *Garcinia dulcis* terbukti memiliki aktivitas sebagai anti malaria, dua di antara turunan xanton tersebut adalah 1-o-metilsimfoxanton dan garciniaxanton yang mempunyai aktivitas lebih baik dari pirimetamin, tetapi lebih rendah

dibandingkan kloroquin. Garcinixanton memiliki nilai IC_{50} 0,96 $\mu\text{g/mL}$ terhadap pertumbuhan *P. falciparum* (Widyawaruyanti, 2007).

Pengujian anti malaria secara *in vitro* baru belakangan ini dilakukan. Sebelumnya yaitu tahun 1947, sebanyak 600 tumbuhan dari 126 familia diekstraksi, dan diuji aktivitasnya secara *in vitro* terhadap malaria burung. Spesies lebih dari 30 genera dijumpai mempunyai aktivitas, tetapi untuk malaria pada manusia tidak dapat dibuktikan. Pengkulturan parasit malaria pada manusia *P. falciparum* secara *in vitro* yang dilakukan secara kontinyu, memberikan kemajuan yang sangat berarti dalam pencarian suatu teknik untuk penilaian aktivitas secara kuantitatif. Modifikasi teknik ini, mengandalkan pengukuran kemampuan untuk menghambat penggabungan $^3\text{H-hypoxanthine}$ ke dalam plasmodia. Protokol untuk menentukan aktivitas anti-*P. falciparum* secara *in vivo* dalam tikus telah dilakukan. Hasilnya menunjukkan bahwa aktivitas anti malaria tidak paralel dengan sitotoksitas terhadap sel-sel KB (*human epidermoid carcinoma of mouth*). Sebagai contoh, bruceatin tiga kali lebih aktif dari pada brusatol dalam uji anti malaria, tetapi sepuluh kali lebih toksik terhadap sel KB.

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1. Persiapan Sampel

Pada penelitian ini dipilih lichen *U. blepharea* Motyka yang dikumpulkan dari Gunung Bawakaraeng Malino, Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan pada bulan Juli 2005 dan *U. flexuosa* Tayl. dari kaki gunung Bambapuang Kecamatan Anggeraja Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan pada bulan Agustus 2006. Kedua Lichen ini dideterminasi di Herbarium Bogoriense Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi LIPI, Bogor.

Sampel lichen selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka pada suhu kamar. Sampel lichen masing-masing 700 g *U. blepharea* Motyka dan 400 g *U. flexuosa* Tayl. dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan dengan blender sehingga diperoleh serbuk halus.

3.2. Bahan-bahan Yang Digunakan

Serbuk halus lichen *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl., aseton, *n*-heksana, etil asetat, diklorometana, kloroform, dietileter, etanol, asam asetat glasial, H₂SO₄10% dalam metanol, es batu, silika gel 60 (Merck 7732) untuk kolom kromatografi, silika gel 60 F₂₅₄ No. 1.05554.0001 untuk plat KLT aluminium dan kaca (Merck), pasir laut, kapas, kertas saring, CDCl₃, etanol 95 %, DMSO, Medium RPMI 1640, sel murine P388, *Fetal Bovine Serum*, larutan dapar fosfat, pereaksi MTT, *Plasmodium falciparum clone* FCR/AZ dan 3D7, kloroquin.

3.3. Alat Yang Digunakan

Seperangkat alat ekstraksi soxhlet, seperangkat alat-alat gelas, kolom kromatografi, chamber, evaporator vakum, lampu UV, pipet Pasteur, alat sentrifus, *reader plate micro*, Inkubator CO₂, Polarimeter Tasco P₁₀ 10, pipa kapiler, seperangkat alat kromatografi radial (Kromototron), alat semprot penampak noda, Spektrofotometer FT-IR Prestige-21 Shimadzu 2450, Spektrofotometer UV Shimadzu 160A, LC-MS Mariner Biospectrometry, Spektrometer NMR Jeol USA JNM ECA-500. Buchi Melting Point B-540.

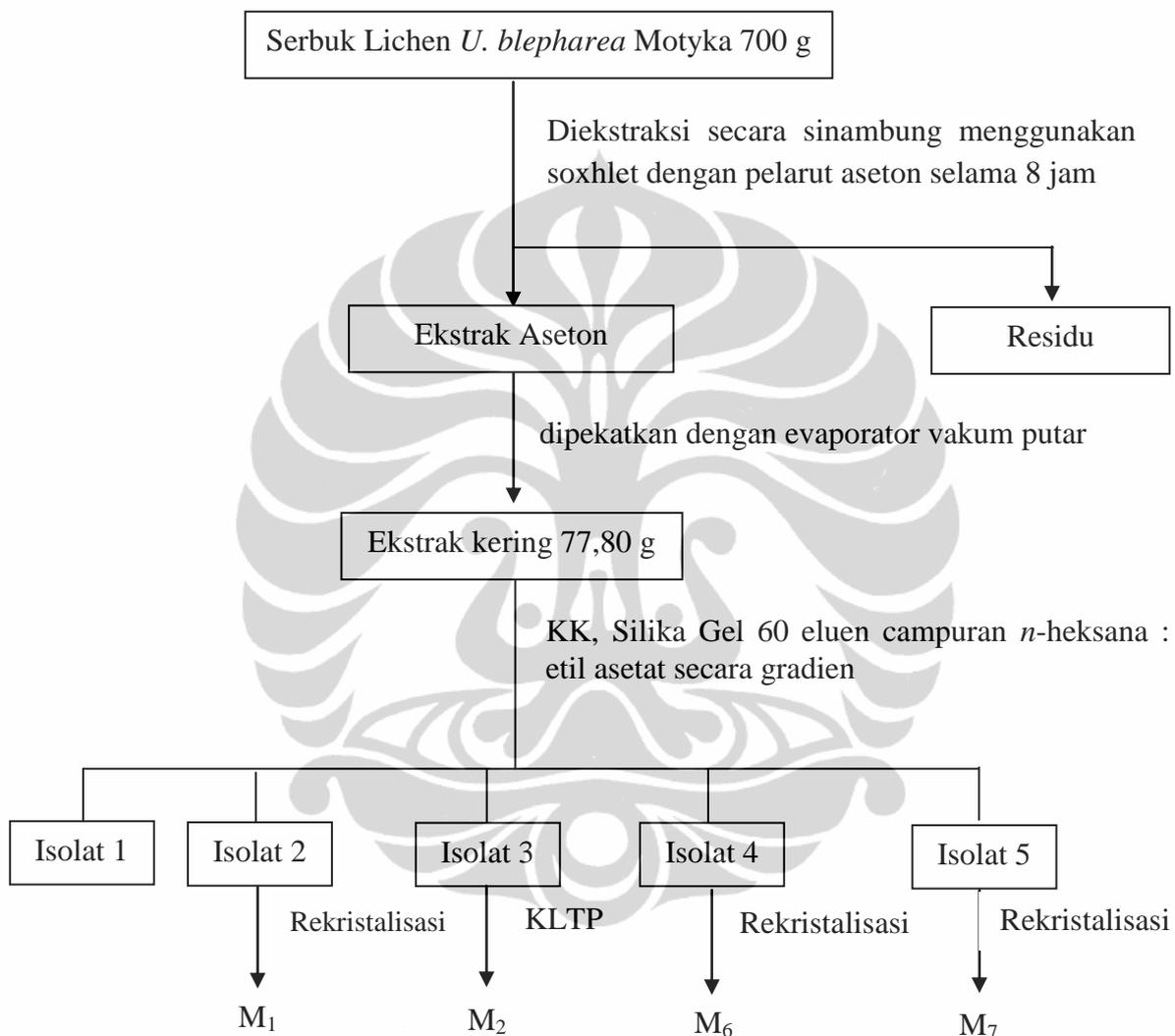
3.4. Cara Kerja

3.4.1. Isolasi Senyawa Kimia

Talus lichen *U. blepharea* Motyka dalam bentuk serbuk sebanyak 700 g dan *U. flexuosa* Tayl. 400 g, masing-masing diekstraksi secara sinambung menggunakan soxhlet dengan pelarut aseton selama 8 jam, sehingga diperoleh ekstrak kasar aseton. Pelarut dalam ekstrak aseton diuapkan dalam evaporator vakum putar (*vacuum rotary evaporator*), sehingga diperoleh ekstrak kering. Selanjutnya ekstrak kering diuji menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mengetahui komposisi pelarut yang memberikan pemisahan terbaik. Plat KLT disemprot dengan penampak noda larutan 10 % H₂SO₄ dalam metanol. Terhadap ekstrak kering dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom (KK) dengan fasa diam silika gel 60 G yang dielusi dengan pelarut campuran *n*-heksana dan etil asetat secara gradien. Masing-masing hasil kromatografi kolom ditampung setiap 60-100 mL dan dikelompokkan berdasarkan kesamaan bercak noda dalam KLT dengan melihat nilai R_f. Isolat-isolat yang mempunyai nilai R_f sama disatukan. Untuk isolat yang hampir murni dilakukan pemurnian dengan rekristalisasi, sedangkan isolat yang belum murni dilakukan pemurnian kembali dengan kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) atau kromatografi radial. Selanjutnya senyawa murni yang diperoleh ditentukan strukturnya dengan pengukuran spektrometri resonansi magnet inti (¹H dan ¹³C) NMR, NMR-2D, Infra merah (IR), *Ultra Violet-Visible* (UV-Vis), *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS). Dari hasil pengukuran spektroskopi tersebut, masing-masing ditentukan struktur molekulnya dengan cara membandingkan masing-masing spektrum dengan data dari literatur dan data base (*Chem Office*) serta berdasarkan teori dasar spektrometri. Diagram pemisahan dan pemurnian senyawa yang terkandung dalam ekstrak aseton *U. blepharea* Motyka dapat dilihat pada Gambar 3.1 dan senyawa *U. flexuosa* Tayl. dapat dilihat pada Gambar 3.2. Selanjutnya senyawa murni yang diperoleh diukur sifat fisiknya meliputi kelarutan, pengukuran titik leleh dengan *melting point* dan pengukuran rotasi optik spesifik dengan polarimeter.

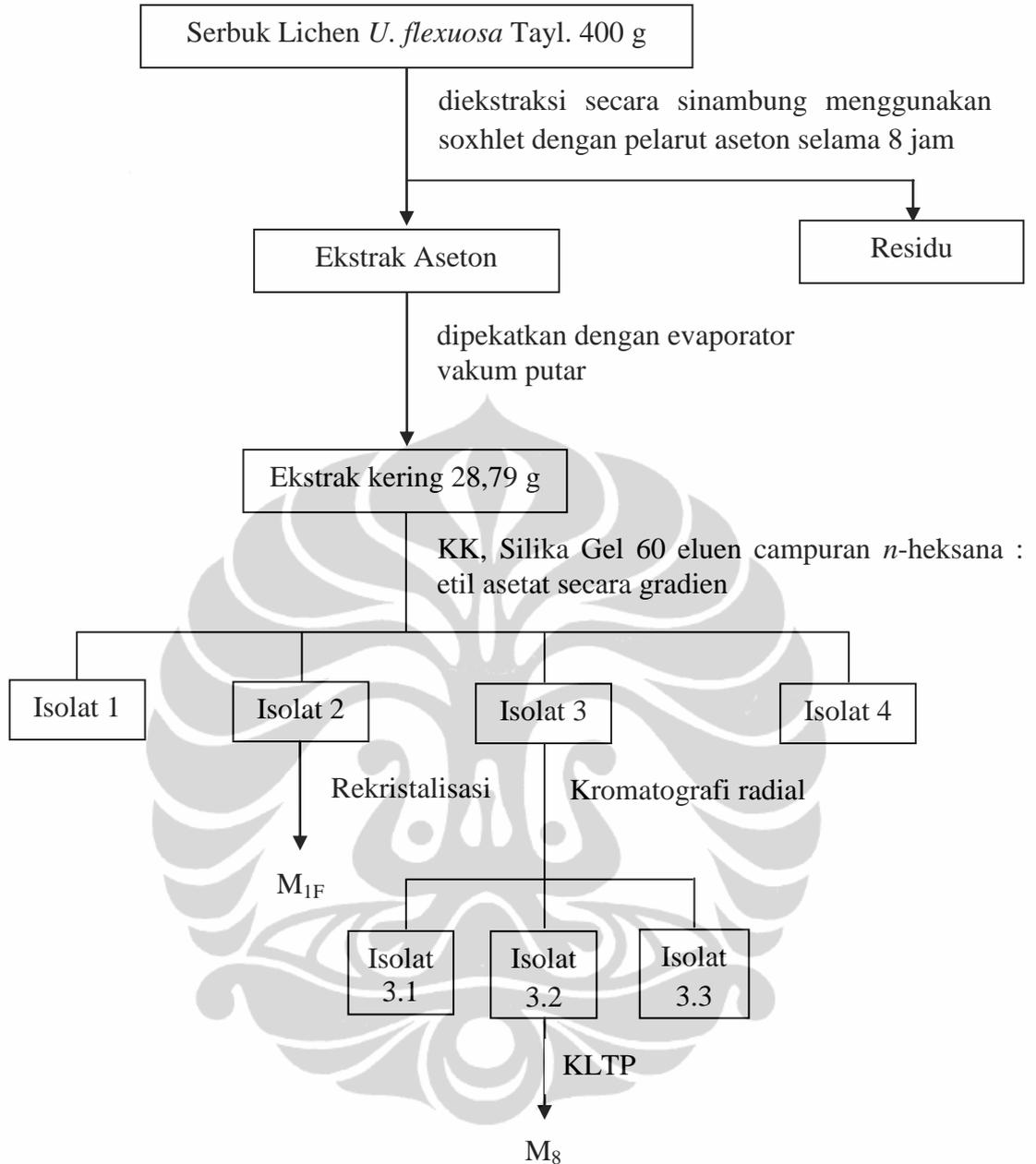
Uji toksisitas terhadap larva udang *A. salina* Leach dilakukan terhadap isolat hasil pemisahan ekstrak aseton dari *U. blepharea* Motyka yaitu isolat 2, 3

dan 4 (B₁, B₂ dan B₃) dan *U. flexuosa* Tayl. isolat 2, 3 dan 4 (F₁, F₂ dan F₃). Uji aktivitas sitotoksik terhadap sel murine P388 dilakukan terhadap senyawa murni M₆, M₇ dan M₈ dan uji aktivitas anti malaria dilakukan terhadap senyawa murni M₁, M₂, dan M₇.



Ket : KK = Kromatografi Kolom
 KLTP = Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Gambar 3.1. Diagram pemisahan dan pemurnian senyawa yang terkandung dalam ekstrak aseton talus *U. blepharea* Motyka



Ket : KK = Kromatografi Kolom
 KLTP = Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Gambar 3.2. Diagram pemisahan dan pemurnian senyawa yang terkandung dalam ekstrak aseton talus *U. flexuosa* Tayl.

3.5. Uji Toksisitas Isolat terhadap Larva *A. salina* Leach (BSLT)⁷¹

3.5.1. Penetasan Telur *A. salina* Leach

Telur *A. salina* Leach ditetaskan dalam corong pisah yang berisi air garam yang sudah disaring sebanyak 1000,0 mL. Penetasan dilakukan dengan bantuan pencahayaan lampu 10 watt dan aerator agar medium pemeliharaan larva kaya akan oksigen, sehingga telur menetas sempurna menjadi larva dalam waktu 24 jam, kemudian dipisahkan antara larva yang hidup dengan yang mati, lalu larva hidup dibiarkan dalam corong pisah dalam 24 jam sehingga larva *A. salina* Leach yang dipakai untuk percobaan adalah yang berumur 48 jam (instar II).

3.5.2. Persiapan Seri Larutan yang akan diuji

Ekstrak atau fraksi-fraksi yang akan diuji dibuat seri larutan dengan konsentrasi 1000, 500, 100, 10 µg/mL dalam air laut. Bila contoh tidak larut, ditambahkan 2 tetes DMSO 1 %.

3.5.3. Uji Toksisitas Metode Meyer

Semua seri larutan yang telah dibuat didiamkan selama 24 jam. Kemudian ke dalam setiap vial yang berisi larutan uji ditambahkan air garam pH 8 – 8,5, lalu dipisahkan dengan bantuan *Ultrasonic Bath*. Selanjutnya ke dalam setiap larutan uji dimasukkan larva sebanyak 10 ekor dan ditambahkan air garam pH 8 – 8,5 sampai volume 10 ml. Untuk kontrol dilakukan tanpa penambahan contoh. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Jumlah larva yang hidup dan mati diamati dengan metode visual menggunakan kaca pembesar serta dengan bantuan lampu penerang. Tingkat kematian atau mortalitas dihitung dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati dibagi dengan jumlah total larva.

Dengan membuat grafik antara log konsentrasi terhadap probit Finney secara komputasi akan diperoleh persamaan regresi linier dengan $y = ax + b$. Nilai LC_{50} diperoleh dengan memasukkan nilai $y = 5$ maka diperoleh konsentrasi, dimana zat menyebabkan kematian 50% larva yang disebut LC_{50} . Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai $LC_{50} < 30$ µg/mL, sedangkan suatu ekstrak dikatakan aktif jika $LC_{50} < 1000$ µg/mL (Jerry, 1990; Meyer, 1992).

3.6. Uji Sitotoksitas terhadap Sel Murine Leukemia P388

3.6.1. Pembuatan Stok Sel

Sel dalam medium RPMI 1640 (dengan konsentrasi $>10^6$ sel/mL) dari labu kultur dimasukkan ke dalam tabung sentrifus 15 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 1200-1300 rpm selama 5 menit pada suhu kamar. Supernatan dipisahkan dengan pipet Pasteur steril dan endapan (pellet sel) yang tinggal ditambahkan 1 mL FBS (*Fetal Bovine Serum*) dan 100 μ L DMSO, dan dicampur pelan-pelan (menggunakan pipet Pasteur steril), kemudian dipindahkan ke dalam tabung 2 mL dan dilekatkan tutupnya dengan parafin. Di simpan dalam *freezer* (-80 °C) semalam, dan hari berikutnya di pindahkan ke dalam tabung dewar pada -80 °C. Stok sel ini tahan dalam beberapa tahun.

3.6.2. Melarutkan Sel

Stok sel di atas yang membeku dilarutkan atau dilelehkan di atas pemanas air pada suhu 37 °C. Ke dalam tabung sentrifus steril 15 mL dimasukkan 10 mL medium RPMI 1640, ditambahkan larutan sel, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1200-1300 rpm selama 5 menit pada temperatur kamar, dan supernatan dikeluarkan menggunakan pipet Pasteur steril. Selanjutnya, ke dalam labu kultur dimasukkan 9 mL medium dan pellet sel yang telah diencerkan dengan sedikit medium yang sama dan disimpan dalam inkubator CO_2 dengan tutup yang dilonggarkan. Pertumbuhan sel dapat diamati dengan mikroskop setelah semalam, sel yang pertumbuhannya baik dapat digunakan untuk uji atau subkultur lebih lanjut.

3.6.3. Subkultur

Ke dalam labu kultur 25 mL dimasukkan masing-masing 9 mL medium RPMI 1640. Sel yang pertumbuhannya paling baik dari yang diinkubasi dalam inkubator CO_2 diseleksi, kemudian dimasukkan ke dalam tiga labu kultur masing-masing dengan 1 tetes, 2 tetes dan 4 tetes larutan sel menggunakan pipet bengkok steril, kemudian disimpan dalam inkubator CO_2 . Subkultur ini dapat dilakukan lagi 2 atau 3 hari.

3.6.4. Protokol Uji

1. Hari ke-0. Inokulasi Sel

Dalam sel dengan pertumbuhan pada fase logaritma, larutan sel dibuat sekitar 3×10^3 sel/mL, kemudian diinokulasikan dalam plat mikro 96 lubang dasar rata, dan kultivasi dilakukan dalam inkubator CO₂.

2. Hari ke-1. Penambahan Sampel

Sampel (ekstrak) dilarutkan dalam DMSO. Pengenceran sampel dilakukan menggunakan PBS (*Phosphate Buffer Saline*). Sampel dengan konsentrasi yang dikehendaki (20 mg/mL) ditambahkan ke dalam sel dalam plat mikro, kemudian dikocok dengan *mixer plate micro* dan disimpan kembali dalam inkubator CO₂ selama 48 jam.

3. Hari ke-3. Penambahan reagen MTT dan *stop solution*

Penambahan pereaksi MTT [3-(4,5-dimethylthiazo-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] dilakukan setelah 48 jam dari penambahan sampel, kemudian dikocok dengan *mixer plate micro* selama ± 2 menit, disimpan kembali dalam inkubator CO₂. Empat jam kemudian, ditambahkan *stop solution* dan dikocok dengan baik sehingga tidak menimbulkan banyak busa yang dapat mengganggu dalam penglihatan atau pengamatan di bawah mikroskop, disimpan kembali dalam inkubator CO₂ selama 24 jam.

4. Hari ke-4. Pengukuran *optical density* (OD)

Pengukuran *optical density* (OD) dilakukan dengan *reader plate micro* selama 24 jam setelah penambahan *stop solution*. Dari OD larutan uji maka OD larutan blanko dapat ditetapkan, kemudian data ini dimasukkan dalam program Cricket untuk menghitung nilai IC₅₀.

3.6.5. Sitotoksisitas Sampel terhadap Sel Murine Leukemia P388.

Efek sitotoksik ekstrak terhadap sel uji tumor (*mulligan cell line*) secara *in vitro* menurut Alley (1988) dikategorikan sangat aktif (++) jika nilai IC₅₀ < 2 µg/mL, aktif jika nilai IC₅₀ 2-4 µg/mL, dan tidak aktif jika IC₅₀ > 4 µg/mL. Kategori µg/mL memiliki kelemahan karena tidak memperhatikan ukuran/berat molekul. Sedangkan sesuai kategori Ito et al (2003), berdasarkan hasil kajian

sitotoksik terhadap beberapa sel uji kanker dari senyawa-senyawa oligomer resveratol, dinyatakan bahwa senyawa sangat aktif (++) jika memiliki nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{M}$. Aktif jika $IC_{50} 10-20 \mu\text{M}$, dan tidak aktif jika nilai $IC_{50} > 20 \mu\text{M}$.

3.7. Uji Aktivitas Anti Malaria

Plasmodium falciparum clone FCR3 dipropagasi dalam 24 lubang papan kultur secara *in vitro* yang mengandung senyawa murni dengan konsentrasi yang berbeda. Setiap senyawa dilarutkan dalam DMSO secara terpisah untuk mendapatkan larutan induk 10^{-2} M dan disimpan pada suhu -20°C sampai digunakan. Pertumbuhan parasit dipantau dengan membuat suatu pulsan darah setiap hari. Data respon pertumbuhan parasit dan konsentrasi dianalisa dengan suatu fungsi regresi linier menggunakan program komputer Sigma-plot 2000 untuk menentukan konsentrasi inhibitor 50 % (IC_{50}). Nilai IC_{50} adalah konsentrasi dari senyawa yang menyebabkan 50 % inhibisi pertumbuhan relatif, dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberikan senyawa murni.

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Gambaran Umum

Lichen *U. blepharea* Motyka dan *U. flexuosa* Tayl. dipilih dalam penelitian ini karena dari kedua spesies ini baru ditemukan satu senyawa yaitu (-) - asam usnat.

Talus lichen *U. blepharea* Motyka yang dikumpulkan dari gunung Bawakaraeng Malino, Kabupaten Gowa, Propinsi Sulawesi Selatan, setelah dikeringkan dan digiling diperoleh 700 g serbuk halus. Hasil ekstraksi menggunakan soxhlet dengan pelarut aseton diperoleh ekstrak aseton berwarna hijau tua sebanyak 77,80 g. Dari ekstrak tersebut dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom dengan pengelusi campuran *n*-heksana dan etil asetat secara gradien. Isolat-isolat ditampung dalam botol 60-100 mL. Isolat-isolat yang memiliki nilai R_f sama digabung menjadi satu. Hasil pemisahan diperoleh 5 isolat yaitu isolat 1, 2, 3, 4, dan 5. Isolat 1 dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif, diperoleh senyawa M_3 dan M_4 . Oleh karena jumlah kedua senyawa ini sedikit, sehingga tidak dapat diukur dan ditentukan strukturnya. Dari isolat 2 dilakukan pemurnian dengan rekristalisasi diperoleh senyawa M_1 . Selanjutnya isolat 3 dilakukan pemurnian dengan kromatografi lapis tipis preparatif sehingga diperoleh senyawa M_2 yang diusulkan sebagai senyawa baru. Isolat 4 direkristalisasi diperoleh senyawa M_6 , isolat 5 dilakukan pemurnian dengan rekristalisasi diperoleh senyawa M_7 . Isolat 5 dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif, diperoleh senyawa M_5 . Hasil Pengukuran $^1\text{H-NMR}$ senyawa M_5 menunjukkan spektrum yang sangat sederhana, sehingga penentuan struktur tidak dilanjutkan.

Talus lichen *U. flexuosa* Tayl. yang dikumpulkan dari gunung Bambapuang Kabupaten Enrekang, Propinsi Sulawesi Selatan, setelah dikeringkan dan digiling diperoleh 400 g serbuk halus. Hasil ekstraksi menggunakan soxhlet dengan pelarut aseton diperoleh ekstrak aseton berwarna hijau tua sebanyak 28,79 g. Dari ekstrak tersebut dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom dengan pengelusi campuran *n*-heksan dan etil asetat secara

gradien. Isolat-isolat ditampung dalam botol 60-100 mL. Isolat-isolat yang memiliki nilai Rf sama digabungkan. Hasil pemisahan diperoleh 4 isolat yaitu isolat 1, 2, 3, dan 4. Dari isolat 2 dilakukan rekristalisasi dan diperoleh senyawa M₁F. Terhadap isolat 3 dilakukan pemurnian dengan kromatografi radial dengan pengelusi campuran *n*-heksana-etil asetat secara gradien dan diperoleh 3 isolat yaitu isolat 3.1, 3.2 dan 3.3. Selanjutnya isolat 3.2 dimurnikan dengan kromatografi lapis tipis preparatif dan didapatkan senyawa M₈ yang diusulkan sebagai senyawa baru. Senyawa-senyawa hasil isolasi dari kedua talus lichen ini telah ditentukan strukturnya dan diuraikan sebagai berikut :

4.2. Penentuan Struktur Senyawa M₁

Senyawa M₁ berbentuk kristal jarum berwarna kuning emas dengan titik leleh 204-205 °C dengan rotasi optik spesifik $[\alpha]_D^{25} = -496^\circ$ (CH₂Cl₂, *c* = 0,001814). Hasil analisis spektroskopi UV, FT-IR, LC-MS, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR dari senyawa M₁ dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Data Spektroskopi Senyawa M₁

Spektrometer	Spektrum
UV (CH ₂ Cl ₂ , λ _{max} , nm)	233 nm dan 281 nm (Lampiran 3)
LC-MS [M] ⁺ (m/z)	344,48 (Lampiran 1)
FT-IR (KBr, pellet, ν̄, cm ⁻¹)	3089, 2981, 2931, 1693, 1631, 1452, 1375, 1290, 1192, 1070 (Lampiran 2)
¹ H-NMR (TMS, CDCl ₃ , 500 MHz, δ, ppm)	1,74 (3H,s); 2,07 (3H,s); 2,65 (3H,s); 2,66 (3H,s); 5,96 (1H,s); 11,01 (1H,s); 13,29 (1H,s) (Lampiran 4)
¹³ C-NMR (TMS, CDCl ₃ , 500 MHz, δ, ppm)	7,68; 28,04; 31,43; 32,28; 59,20; 98,46; 101,64; 104,09; 105,36; 109,41; 155,33; 157,62; 163,99; 179,47; 191,85; 198,20; 200,47; 201,92 (Lampiran 5)

Data spektroskopi sinar UV senyawa M_1 , diukur pada panjang gelombang 200 nm - 400 nm dalam pelarut diklorometana memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang $\lambda = 233$ nm dan 281 nm (Lampiran 3). Dari data ini $\lambda_{\max} = 233$ nm diperkirakan berasal dari gugus kromofor ikatan rangkap C=C terkonjugasi dari benzena dengan jenis transisi $\pi \rightarrow \pi^*$, sedangkan $\lambda_{\max} 281$ nm diperkirakan adanya gugus kromofor C=O dengan jenis transisi elektron dari orbital $n \rightarrow \pi^*$ (Williams, 1980). Senyawa ini diduga adanya kerangka dibenzofuran yang memberikan serapan UV pada $\lambda_{\max} 236$ nm dan 274 nm. Salah satu senyawa dibenzofuran yang memiliki serapan UV pada $\lambda_{\max} 232$ nm dan 283 nm adalah asam usnat (Huneck, 1996).

Dari kromatogram LC-MS (Lampiran 1) tampak puncak pada $m/z = 344,48$. Dari data ini menunjukkan bahwa senyawa M_1 mempunyai berat molekul, $[M^+] = 344,48$. Dari hasil analisis spektrum infra merah (Lampiran 2) menunjukkan pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3089 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur dari ikatan rangkap tak jenuh atau olefinik, sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 2981 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur asimetrik gugus CH_3 yang didukung oleh adanya pita serapan di daerah 1452 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk dari gugus CH_3 . Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1691 cm^{-1} menunjukkan adanya suatu gugus karbonil, tetapi frekuensinya yang rendah menyatakan bahwa gugus karbonil ini terkonjugasi dengan gugus C=C (Williams, 1980). Data ini didukung oleh hasil pengukuran spektroskopi UV. Pita serapan di daerah 1631 cm^{-1} merupakan pita serapan dari cincin aromatik. Dari data spektrum infra merah tersebut dapat diperkirakan bahwa senyawa M_1 mengandung suatu gugus keton (C=O), gugus hidroksi (OH), inti aromatik dan gugus CH_3 .

Hasil pengukuran spektrum $^1\text{H-NMR}$ (Lampiran 4) dapat dilihat dalam Tabel 4.2. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ pada pergeseran kimia (masing-masing singlet) $\delta_{\text{H}} = 1,74$ dan $2,07$ ppm menunjukkan adanya 2 gugus metil. $\delta_{\text{H}} = 2,65$ dan $2,66$ ppm menunjukkan adanya 2 gugus metil yang terikat pada gugus karbonil. Adanya proton olefinik muncul pada $\delta_{\text{H}} = 5,96$ ppm. Spektrum pada pergeseran kimia $\delta_{\text{H}} = 13,29$ ppm dan $11,01$ ppm menunjukkan adanya 2 gugus hidroksi yang membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karbonil (Williams, 1980).

Dari spektrum ^{13}C -NMR (Lampiran 5) memberikan data senyawa M_1 mengandung 18 karbon yang terdiri dari 3 karbon dari gugus karbonil $\text{C}=\text{O}$ pada pergeseran $\delta_{\text{C}} = 198,2; 200,47$ dan $201,92$ ppm. Harga pergeseran kimia karbonil normal adalah 205 ppm, penurunan harga pergeseran kimia dari karbonil ini disebabkan gugus karbonil berkonyugasi dengan ikatan rangkap sehingga terjadi resonansi. Hal ini diperkuat dengan adanya pita serapan IR pada bilangan gelombang 1693 cm^{-1} yang sedikit menurun dari bilangan gelombang karbonil normal pada 1715 cm^{-1} . Dua gugus metil ditunjukkan pada $\delta_{\text{C}} = 7,68$ ppm dan $28,04$ ppm. Dua gugus metil yang terikat pada gugus karbonil ditunjukkan pada $\delta_{\text{C}} = 31,43$ ppm dan $30,28$ ppm. Gugus metin ditunjukkan pada $\delta_{\text{C}} = 98,46$ ppm. Lima atom C kuartener yang mengikat O ditunjukkan pada $\delta_{\text{C}} = 101,64; 155,33; 157,62; 163,99; 98,46$. Lima gugus kuartener yang lain ditunjukkan pada $\delta_{\text{C}} = 59,20; 104,09; 105,36; 109,41; \text{ dan } 179,47$ ppm. Semua data spektrum ^{13}C -NMR (Lampiran 5), sesuai dengan data yang ditunjukkan pada spektrum ^1H -NMR (Lampiran 4).

Dari hasil spektroskopi massa, senyawa M_1 memiliki bobot molekul 344,48. Berdasarkan data spektra tersebut serta membandingkan dengan spektra senyawa pada pustaka (Huneck, 1996), maka salah satu kemungkinan senyawa ini memiliki rumus molekul $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$. Dari rumus kekurangan hidrogen senyawa M_1 mempunyai harga $F = X - 0,5Y + \frac{1}{2}Z + 1$, $F = 18 - 0,5(16) + 1 = 11$. Dimana :

F = Jumlah cincin atau ikatan rangkap

X = Jumlah atom tetravalen

Y = Jumlah atom monovalen (H, F, B, Cl)

Z = Jumlah atom trivalen (N,P)

Dari hasil perhitungan, dapat dinyatakan bahwa senyawa M_1 mempunyai jumlah cincin dan ikatan rangkap sebanyak 11 buah. Dari data spektroskopi dapat diketahui bahwa indeks kekurangan H adalah 3 dari gugus karbonil dan 5 dari ikatan rangkap $\text{C}=\text{C}$, sisanya 3 merupakan cincin.

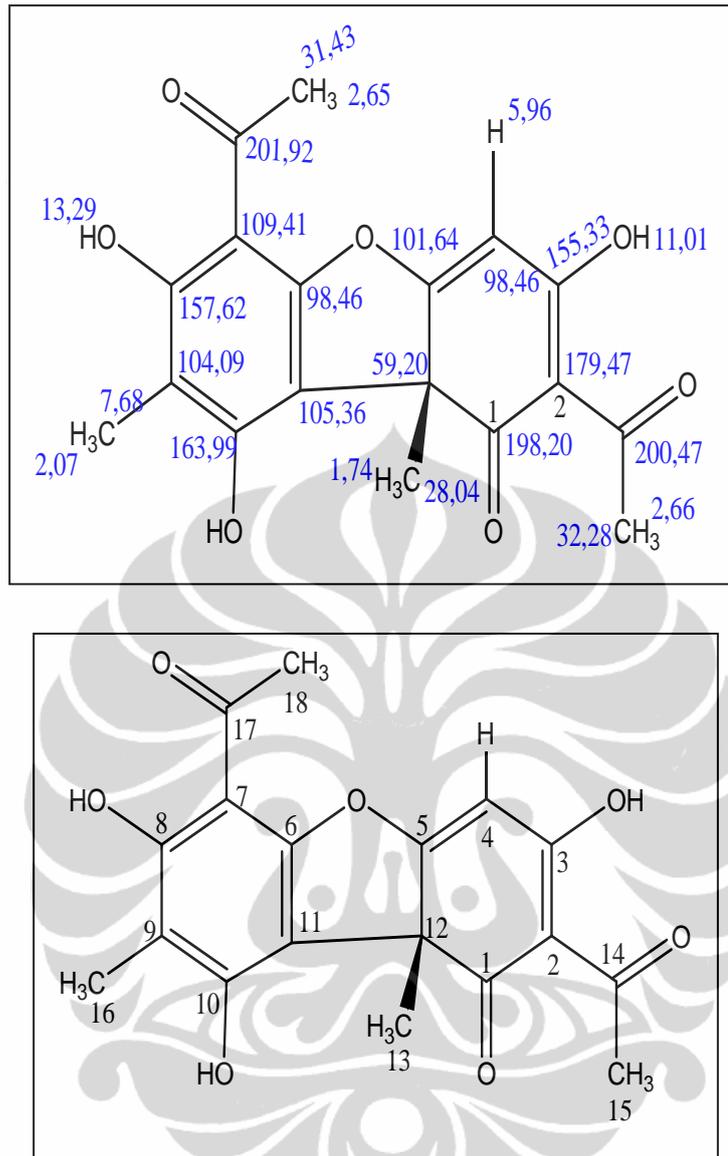
Dari studi pustaka dicari senyawa yang memiliki kemiripan dengan data M_1 yaitu dengan membandingkan data sifat fisika dan data spektra senyawa M_1 dengan senyawa asam usnat (Huneck, 1996) yang ditabulasikan dalam tabel 4.2. Setelah dilakukan perbandingan spektra ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR ternyata data-

data spektrum tersebut saling bersesuaian. Jadi dapat disimpulkan bahwa senyawa M_1 adalah (-) - asam usnat. Senyawa ini telah diisolasi dari *U.blepharea* Motyka (Palupi, 2006). Asam usnat umumnya dapat diisolasi dari semua genus usnea (Huneck, 1996; Cullberson, 1996). Disamping itu, asam usnat juga didapatkan dalam genus *Alectoria*, *Cladonia*, *Lecanora*, *Ramalina* dan *Evernia* (Ingolfsdottir, 1998).

Tabel 4.2. Perbandingan Data Pergeseran Kimia $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ dari M_1 dan Asam Usnat

Posisi C	Senyawa M_1		Asam Usnat	
	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)
1		198,20		198,2
2		179,47		179,4
3	11,01 (s)	155,33	11,03 (s)	155,1
4	5,96 (s)	98,46	5,92 (s)	98,3
5		101,64		101,7
6		98,46		99,8
7		109,41		109,5
8	13,29 (s)	157,62	13,31 (s)	157,6
9		104,09		104,2
10		163,99		164,0
11		105,36		105,4
12		59,20		59,2
13	1,74 (s)	28,04	1,75 (s)	27,4
14		200,47		200,1
15	2,66 (s)	32,28	2,66 (s)	32,0
16	2,07 (s)	7,68	2,10 (s)	7,7
17		201,92		201,3
18	2,65 (s)	31,43	2,63 (s)	30,9

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa senyawa M_1 adalah senyawa (-) - asam usnat, rumus struktur $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$ seperti pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Struktur Molekul Senyawa M₁, (-) - Asam Usnat

4.3. Penentuan Struktur Senyawa M₂

Senyawa M₂ berbentuk kristal berwarna kuning. Hasil analisis spektroskopi UV, FT-IR, LC-MS, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR dari senyawa M₂ dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Data Spektroskopi Senyawa M₂

Spektrometer	Spektrum
UV (CH ₂ Cl ₂ , λ _{max} , nm)	223, 275, 331 (Lampiran 8)
LC – MS [M] ⁺ (m/z)	682,60 (Lampiran 6)
FT-IR (KBr, pellet, $\bar{\nu}$, cm ⁻¹)	3483, 2920, 1741, 1608, 1438, 1371, 1319, 1226, 1165, 1068 (Lampiran 7)
¹ H-NMR (TMS, CD ₂ Cl ₂ , 500 MHz, δ, ppm)	1,17 (3H, d $J = 6,7$ Hz); 1,44 (1H, m); 1,62 (1H dd $J = 11,5$ Hz; 4,3 Hz); 1,66 (1H dd $J = 11,5$ Hz; 3,7 Hz); 1,88 (3H, s); 2,05 (3H, s); 2,12 (1H, m); 2,42 (2H, m); 2,59 (2H, m); 3,27 (1H dd $J = 3,7$ Hz; 4,3 Hz); 3,68 (3H, s); 3,78 (3H, s); 4,17 (1H, s); 5,43 (1H, s); 6,47 (1H, s); 6,59 (1H, d $J = 8,5$); 7,10 (1H, d $J = 8,5$); 11,47 (1H, s); 11,63 (1H, s); 13,93 (1H, s) (Lampiran 9)
¹³ C-NMR (TMS, CD ₂ Cl ₂ , 500 MHz, δ, ppm)	14,37; 17,70; 18,58; 20,67; 20,86; 21,18; 32,76; 45,57; 53,20; 53,83; 68,11; 71,50; 76,95; 84,55; 85,05; 100,37; 105,46; 107,13; 108,01; 111,29; 115,52; 117,66; 139,98; 149,42; 155,52; 157,42; 159,55; 160,58; 168,85; 168,94; 171,42; 179,78; 188,09; 198,07 (Lampiran 10)

Data spektroskopi sinar UV senyawa M₂ (Lampiran 8) diukur pada panjang gelombang $\lambda = 200 - 400$ nm dalam pelarut diklorometana memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang $\lambda_{\max} = 223; 275; 331$ nm. $\lambda_{\max} = 223$ nm menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dari gugus kromofor C=C dari benzena dengan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$. $\lambda_{\max} = 275$ nm diperkirakan berasal dari gugus kromofor C=O dengan transisi $n \rightarrow \pi^*$. $\lambda_{\max} = 331$ nm diperkirakan adanya gugus kromofor C=C yang terkonjugasi disertai perpanjangan ikatan rangkap (Williams, 1980). Dari data ini diduga adanya kerangka xanton yang memberikan λ_{\max} pada 243 nm, 270 nm, dan 345 nm (Huneck, 1996).

Dari kromatogram LC-MS (Lampiran 6) tampak puncak pada $[M+H]^+$ $m/z = 683,60$. Dari data ini menunjukkan bahwa senyawa M_2 mempunyai berat molekul $[M^+] = 682,60$. Dari hasil analisis spektrum IR (Lampiran 7) memberikan pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3483 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur dari gugus hidroksi (OH). Hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk pada daerah 1226 cm^{-1} untuk gugus -OH. Pita serapan di daerah bilangan gelombang 2920 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur asimetrik gugus CH_3 , pita serapan pada bilangan gelombang 1741 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur gugus C=O dari ester, sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 1608 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur ikatan C=C dari cincin aromatik. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1438 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk ikatan C-H dari gugus CH_2 , sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 1371 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk ikatan C-H dari gugus CH_3 . Pita serapan 1068 cm^{-1} merupakan vibrasi lentur/tekuk dari ikatan C-O-C dari eter. Dari data spektrum infra merah tersebut dapat diperkirakan bahwa senyawa M_2 mengandung suatu gugus hidroksi (-OH), gugus karbonil (C=O) dari ester, cincin aromatik, gugus CH_2 dan gugus CH_3 .

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari senyawa M_2 (Lampiran 9) menunjukkan pola yang hampir sama dengan spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari senyawa eumitrin A_1 (Huneck, 1996). Adanya proton-proton aromatik yaitu dua proton dengan sistem AB pada pergeseran kimia δ_{H} 6,59 ppm (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$) dan 7,10 ppm (1H, d, $J = 8,5\text{ Hz}$), serta adanya satu proton aromatik pada pergeseran kimia 6,47 ppm (1H, s) berarti ada satu proton aromatik yang tidak berpasangan. Adanya dua sinyal dengan sistem AB pada spektrum ini menandakan adanya dua proton yang saling kopling dengan posisi orto dengan kopling konstan 8,5 Hz. Dua sinyal pada $\delta_{\text{H}} = 3,68\text{ ppm}$ (3H, s) dan 3,78 ppm (3H, s) menunjukkan adanya gugus metoksi. Suatu gugus asetil ($\text{CH}_3\text{CO-}$) ditunjukkan pada $\delta_{\text{H}} = 1,88\text{ ppm}$ (3H, s) dan pada pergeseran kimia 1,17 (3H, d, $J = 6,7\text{ Hz}$) merupakan gugus metil ($-\text{CH}_3$), sedangkan pada pergeseran kimia 2,05 ppm (3H, s) menunjukkan suatu gugus metil yang terikat pada cincin aromatik. Senyawa ini memiliki 3 gugus hidroksi yang tampak didaerah medan rendah karena membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karbonil yaitu pada δ_{H} (ppm) = 13,93 (1H, s), 11,63 (1H, s) dan 11,47 (1H, s). Hal ini diperkuat dengan adanya pergeseran kimia karbonil pada

δ_C 188,09; δ_C 198,07. Adanya gugus metin ditunjukkan pada δ_H (ppm) = 5,43 (1H, s), 4,17 (1H, s), 3,27 (1H dd $J = 3,7$ Hz; 4,3 Hz), 2,12 (1H, m), 1,44 (1H, m). Adanya proton dari suatu gugus metilen yang berdekatan dengan pusat kiral menunjukkan bahwa kedua protonnya tidak identik sehingga antara proton satu dengan proton lainnya saling interaksi dan masing-masing dapat mempunyai kopling yang berbeda terhadap proton visinal (Silverstein, 2005). Proton metilen tersebut adalah δ_H 1,62 (1H dd $J = 11,5$ Hz; 4,3 Hz) dan δ_H 1,66 (1H, dd $J = 11,5$ Hz; 3,7 Hz). Adanya proton dari gugus metilen ditunjukkan pada pergeseran kimia δ_H 2,42 (2H,m) dan δ_H 2,59 (2H, m).

Pada spektrum ^{13}C -NMR disertai DEPT (Lampiran 10 dan 11) memberikan gambaran bahwa senyawa ini mengandung 34 atom karbon yang terdiri dari 2 gugus metil, 2 gugus metoksi, 1 gugus metil dari asetil, 8 gugus metin, 3 gugus metilen, dan 18 karbon kuarternar, dengan rumus struktur $\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$. Dari rumus kekurangan hidrogen senyawa M_2 mempunyai nilai $F = X - 0,5 (Y) + 0,5 (Z) + 1$, $F = 34 - 0,5 (34) + 1 = 18$. Dari hasil perhitungan dapat dinyatakan bahwa senyawa M_2 mempunyai jumlah cincin dan ikatan rangkap sebanyak 18 buah. Dari data spektroskopi dapat diketahui bahwa indeks kekurangan H adalah 5 dari gugus karbonil dan 7 dari gugus $\text{C}=\text{C}$, sisanya 6 merupakan cincin.

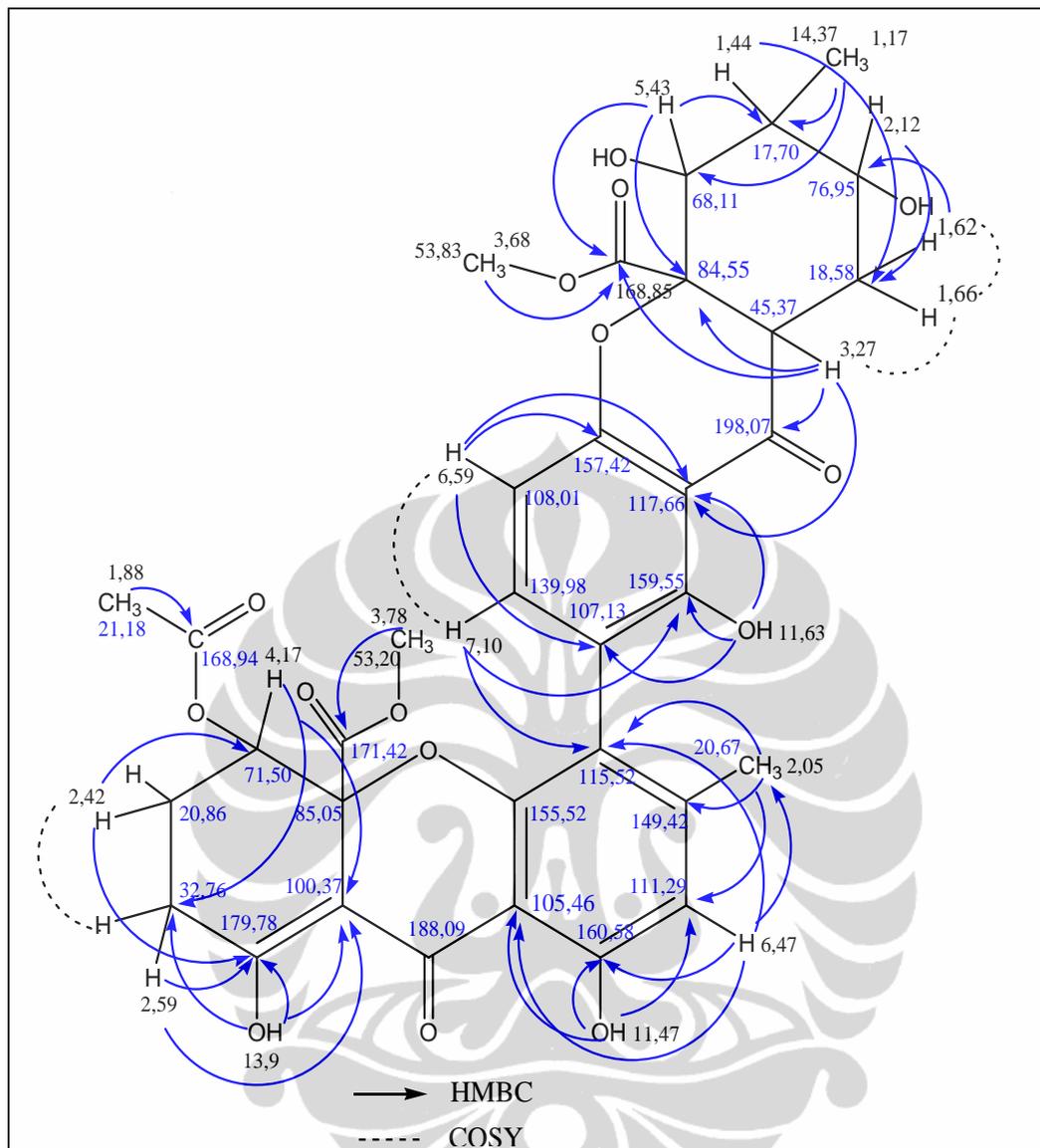
Tabel 4.4. Data Spektra ^{13}C -NMR, ^1H -NMR, HMBC Senyawa M_2

Posisi C	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)	$\delta^1\text{H}$ (ppm) (J dalam Hz)	HMBC
1	160,58	11,47 s	1, 2, 1a
2	111,29	6,47 s	4, 1a, 1, 3-CH ₃
3	149,42		
4	115,52		
5	71,50	4,17 s	7,9
6	20,86	2,42 m	5, 8, 9
7	32,76	2,59 m	8, 9
8	179,78	13,93 s	7, 8, 9
9	100,37		
10	85,05		
1'	159,55	11,63 s	1', 1'a, 2'
2'	107,13		
3'	139,98	7,10 d (8,5)	1', 4
4'	108,01	6,59 d (8,5)	1'a, 4'a, 2'
5'	68,11	5,43 s	CO-10', 10', 6'
6'	17,70	1,44 m	8'
7'	76,95	2,12 m	8'
8'	18,58	1,62 dd (11,5; 4,3); 1,66 dd (11,5;3,7)	7'
9'	45,57	3,27 dd (3,7; 4,3)	1'a, 10', CO- 9'a, CO-10'
10'	84,55		
1a	105,46		
4a	155,52		
1'a	117,66		
4'a	157,42		
9'a	198,07		
6'-CH ₃	14,37	1,17 d (6,7)	5', 6'
3-CH ₃	20,67	2,05 s	2, 3
OCH ₃ -10	53,20	3,78 s	C=O-10
OCH ₃ -10'	53,83	3,68 s	C=O-10'
C=O-10	171,42		
C=O-10'	168,85		
CH ₃ CO-5	168,94		
CH ₃ CO-5	21,18	1,88 s	CH ₃ CO-5
C=O-9	188,09		

Dari data spektrum ^{13}C -NMR dan HMQC (*Heteronuclear Multiple Quantum Correlation*), ikatan proton-proton yang langsung berikatan dengan atom C (Lampiran 12). Proton-proton aromatik $\delta_{\text{H}} = 6,59$ ppm terikat pada posisi C-4' (108,01 ppm), $\delta_{\text{H}} = 7,10$ ppm terikat pada posisi C-3' (139,98 ppm). Kedua proton ini letaknya bersebelahan (orto) diposisi C-3' dan C-4'. Proton aromatik lainnya pada $\delta_{\text{H}} = 6,47$ ppm terikat pada posisi C-2 (111,29 ppm). Gugus metoksi dengan $\delta_{\text{H}} = 3,68$ ppm dan 3,78 ppm masing-masing terikat pada posisi $\delta_{\text{C}} = 53,83$ ppm dan $\delta_{\text{C}} = 53,20$ ppm. Gugus asetil (CH_3CO -) pada $\delta_{\text{H}} = 1,88$ ppm terikat pada posisi $\delta_{\text{C}} = 21,18$ ppm. Gugus metil pada $\delta_{\text{H}} = 1,17$ ppm terikat pada posisi $\delta_{\text{C}} = 14,37$, gugus metil lain dengan $\delta_{\text{H}} = 2,05$ ppm terikat pada posisi $\delta_{\text{C}} = 20,67$ ppm. Gugus metin berturut-turut pada δ_{H} (ppm) : 5,43; 4,17; 3,27; 2,12; 1,44 terikat pada karbon dengan posisi δ_{C} (ppm) = 68,11; 71,50; 45,57; 76,95; 17,70. Pasangan gugus metilen geminal pada $\delta_{\text{H}} = 1,62$ ppm dan 1,66 ppm terikat pada posisi $\delta_{\text{C}} = 18,58$ ppm. Proton metilen pada $\delta_{\text{H}} = 2,42$ ppm terikat pada posisi $\delta_{\text{C}} = 20,86$ ppm. Proton metilen lainnya yaitu pada $\delta_{\text{H}} = 2,59$ ppm terikat pada posisi $\delta_{\text{C}} = 32,76$ ppm. Pada spektrum ^{13}C -NMR menunjukkan adanya atom karbon dari gugus karbonil yaitu pada posisi δ_{C} (ppm) = 198,07; 188,09; 171,42; 168,94 dan 168,85. Pergeseran kimia δ_{C} (ppm) = 179,78; 160,58; 159,55; 157,42; 155,29; 85,05; 84,55; 76,95; 68,11 menunjukkan atom C kuartener yang mengikat atom O, sedangkan atom C kuartener yang lain ditunjukkan pada pergeseran kimia δ_{C} (ppm) : 100,37; 105,46; 149,42; 115,52; 107,13; 117,66.

Spektrum HMBC (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*), korelasi proton dengan atom karbon tetangga yang berjarak 2 atau 3 ikatan (Lampiran 13), memperlihatkan resonansi salah satu sinyal proton aromatik pada δ_{H} 6,59 (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-1' a (117 ppm), C-2' (107,13 ppm), C-4' a (157,42 ppm), disamping itu salah satu proton aromatik lainnya pada δ_{H} 7,10 (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-1' (159,55 ppm) dan C-4 (115,52 ppm). Sinyal karbon C-1' terlihat pada daerah-daerah medan magnet rendah (159,55 ppm) maka pada posisi ini yang terikat adalah gugus OH. Satu proton aromatik pada cincin yang lain δ_{H} 6,47 (s) memperlihatkan korelasi dengan karbon C-1 (160,58 ppm), C-1a (105,46 ppm), C-4 (115,52 ppm), 3- CH_3 (20,67 ppm). Sinyal proton metoksi dengan δ_{H} 3,68 (s) berkorelasi dengan karbon yang mempunyai

pergeseran $\delta_C = 168,85$ ppm, sinyal proton metoksi yang lain dengan $\delta_H 3,78$ (s) berkorelasi dengan karbon yang mempunyai pergeseran $\delta_C 171,42$ ppm. Proton dari gugus hidroksi $\delta_H 13,93$ ppm berkorelasi dengan karbon δ_C (ppm) C-7 (32,76), C-8 (179,78), C-9 (100,37), proton dari gugus hidroksi $\delta_H 11,47$ ppm berkorelasi dengan karbon δ_C (ppm) = C-1 (160,58), C-1a (105,46), C-2 (111,29), proton dari gugus hidroksi $\delta_C 11,63$ ppm berkorelasi dengan C-1' (159,55), C-1'a (117,66), C-2' (107,13). Proton-proton dari gugus metilen $\delta_H 2,42$ ppm berkorelasi dengan karbon C-5 (71,50 ppm) dan C-8 (179,78 ppm), $\delta_H 2,59$ ppm berkorelasi dengan karbon C-8 (179,78 ppm) dan C-9 (100,37 ppm). Proton dengan $\delta_H 2,05$ ppm berkorelasi dengan karbon C-2 (111,29), C-3 (149,42) dan C-4 (115,52) ppm. Proton-proton dari gugus metin dengan $\delta_H 5,43$ ppm berkorelasi dengan karbon C-6' (17,70), C-10' (84,55) ppm dan $\delta_C 168,8$ ppm, $\delta_H 4,17$ ppm berkorelasi dengan karbon C-7 (32,76 ppm) dan C-9 (100,37 ppm), $\delta_H 3,27$ berkorelasi dengan karbon C-10' (84,55 ppm), $\delta_C 198,07$ ppm C-1'a (117,66) dan $\delta_C 168,85$. Proton dari gugus $\delta_H 2,12$ ppm berkorelasi dengan karbon C-8' (18,58 ppm). Proton dari gugus metilen $\delta_H 1,44$ ppm berkorelasi dengan karbon C-8' (18,58 ppm). Proton dari gugus metil pada $\delta_H 1,17$ ppm berkorelasi dengan karbon C-6' (17,70 ppm) dan C-5' (68,11 ppm). Proton dari gugus metilen geminal $\delta_H 1,62$ ppm berkorelasi dengan C-7' (76,95 ppm). Analisis HMBC senyawa M_2 dapat dilihat pada Gambar 4.2.

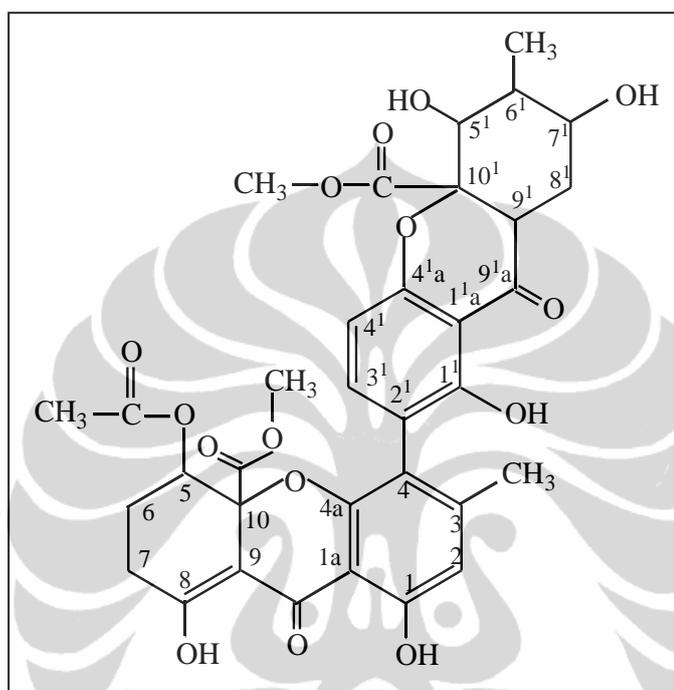


Gambar 4.2. Analisis HMBC dan COSY Senyawa M₂ (Eumitrin M)

Dari percobaan COSY (Lampiran 14) terlihat ada pasangan-pasangan spin proton yaitu H-4' 6,59 ppm dengan H-3' 7,10 ppm dan H-6 2,42 ppm dengan H-7 2,59 ppm. H-9' 3,27 ppm dengan H-8' 1,66 dan 1,62 ppm. H-8' 1,66 ppm dengan H-8' 1,62 ppm.

Berdasarkan hasil analisis spektra ¹H-NMR, UV-Vis, LC-MS serta berdasarkan penelusuran pustaka (Huneck, 1996; Cullberson, 1996), diduga bahwa senyawa ini mirip dengan senyawa eumitrin A₁, namun terdapat perbedaan bobot molekul, dimana eumitrin A₁ memiliki bobot molekul 680,48 sedangkan senyawa M₂ memiliki bobot molekul 682,60. Perbedaan struktur antara senyawa

M₂ dengan eumitrin A₁ terlihat pada salah satu cincin dari 6 cincin dalam senyawa eumitrin A₁. Dari analisis spektra ¹H-NMR, ¹³C-NMR, NMR-2D, UV-vis, IR, LC-MS dan disertai penelusuran pustaka melalui *Scifinder*[®] menunjukkan bahwa senyawa ini belum pernah dipublikasikan sebelumnya. Untuk selanjutnya M₂ ini disebut **Eumitrin M** dengan struktur dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Struktur Molekul Senyawa M₂ (Eumitrin M)

4.4. Penentuan Struktur Senyawa M₆

Senyawa M₆ berbentuk kristal berwarna kuning dengan titik leleh = 263-264 dengan rotasi optik spesifik $[\alpha]_D^{20} = -53^\circ$ (CH₂Cl₂, c = 0,00094). Hasil analisis spektroskopi UV, FT-IR, LC-MS, dan ¹H-NMR dan ¹³C-NMR dari senyawa M₆ dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Data spektroskopi sinar UV senyawa M₆ (Lampiran 17) diukur pada panjang gelombang $\lambda = 200-400$ nm dalam pelarut diklorometana memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang $\lambda_{\max} = 229$ nm dan 334 nm. Serapan pada $\lambda_{\max} = 229$ nm menunjukkan adanya ikatan rangkap terkonjugasi C=C dari benzena dengan jenis transisi $\pi \rightarrow \pi^*$. Serapan pada $\lambda_{\max} 334$ nm diperkirakan berasal dari gugus kromofor C=C terkonjugasi disertai perpanjangan ikatan rangkap (Williams, 1980).

Dari kromatogram LC-MS (Lampiran 15) tampak puncak pada $m/z = 680$. Dari data ini menunjukkan bahwa senyawa M_6 memiliki bobot molekul $[M]^+ = 680,48$. Spektra IR (Lampiran 16) memberikan pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3487 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur dari gugus OH. Hal ini diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk di daerah 1249 cm^{-1} untuk gugus OH. Pita serapan di daerah 2962 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur asimetrik ikatan C-H dari gugus CH_3 , didukung oleh adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1365 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk dari gugus CH_3 . Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1743 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur asimetrik gugus C=O dari ester. Pita serapan pada bilangan gelombang 1612 cm^{-1} menunjukkan adanya cincin aromatik, sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 1249 cm^{-1} dan 1041 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk dari ikatan C-O-C. Dari data spektrum infra merah tersebut dapat diperkirakan bahwa senyawa M_6 mengandung suatu gugus keton (C=O), gugus hidroksi (-OH), cincin aromatik dan gugus CH_3 .

Tabel 4.5. Hasil Analisis Spektroskopi Senyawa M_6

Spektrometer	Spektrum
UV (CH_2Cl_2 , λ_{max} , nm)	229 dan 334 (Lampiran 17)
LC-MS $[M]^+$ (m/z)	680,48 (Lampiran 15)
FT-IR (KBr, pellet, cm^{-1} , $\bar{\nu}$)	3487, 2962, 2885, 1743, 1612, 1589, 1365, 1249, 1041, 840, 740 (Lampiran 16)
$^1\text{H-NMR}$ (TMS, CD_2Cl_2 , 500 MHz, δ , ppm)	1,17 (3H, d $J = 6,7$ Hz); 1,79 (3H, s); 2,06 (3H, s); 2,40 (1H, m); 2,54 (1H, m); 2,63 (1H, d $J = 7,3$ Hz); 2,66 (1H d $J = 7,3$ Hz); 2,69 (1H, s); 3,68 (3H, s); 3,76 (3H, s); 4,15 (1H, s); 5,34 (1H, s); 6,47 (1H, s); 6,58 (1H); 7,29 (1H, d $J = 7,9$ Hz); 11,23 (1H, s); 11,57 (1H, s); 12,00 (1H, s); 13,91 (1H, s); 13,92 (1H, s) (Lampiran 18)
$^{13}\text{C-NMR}$ (TMS, CD_2Cl_2 , 500 MHz, δ , ppm)	17,63; 20,52; 21,21; 21,25; 22,68; 28,65; 32,70; 53,56; 53,66; 66,15; 71,45; 84,96; 100,35; 100,65; 107,85; 111,29; 111,49; 116,04; 117,71; 128,96; 139,98; 140,24; 141,86; 149,93; 150,52; 157,44; 159,57; 161,25; 169,07; 170,95; 177,48; 184,86; 187,30; 188,05 (Lampiran 19)

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ dari senyawa M_6 menunjukkan adanya satu pasang proton aromatik dengan sistem AB pada pergeseran kimia δ_{H} 6,58 (1H d, $J = 7,9$ Hz) dan δ_{H} 7,29 (1H d, $J = 7,9$ Hz). Dengan adanya pasangan proton dublet dengan J kopling 7,9 Hz berarti kedua proton ini letaknya bersebelahan (posisi orto). Satu proton aromatik lainnya yang tidak mempunyai pasangan terlihat pada δ_{H} 6,47 (1H, s). Dua sinyal pada $\delta_{\text{H}} = 3,76$ (3H, s) dan 3,68 (3H, s) menunjukkan adanya gugus metoksi. Suatu gugus asetil ($\text{CH}_3\text{CO-}$) ditunjukkan pada δ_{H} 1,79 ppm (3H,s). Senyawa ini memiliki 5 gugus hidroksi yang membentuk ikatan hidrogen dengan gugus C=O yang terlihat pada δ_{H} (ppm) 13,92 (1H, s), 13,91 (1H, s), 12,00 (1H, s), 11,57 (1H, s), 11,23 (1H, s). Proton-proton metin ditunjukkan pada δ_{H} (ppm) 5,34 (1H, s); 4,15 (1H, s); 6,58; 6,47; 7,10; 2,69. Adanya pasangan gugus metin (CH) dengan pergeseran kimia 2,63 (1H dd, $J = 7,3$ Hz; 4,9 Hz) dengan δ_{H} 2,66 (1H dd, $J = 7,3$ Hz; 4,3 Hz) yang diperkirakan adanya gugus metilen (CH_2) tetapi ternyata proton yang satu dengan proton yang lainnya tidak identik, maka terjadi kopling geminal dengan kopling konstan 7,3 Hz. Adanya gugus metilen diperlihatkan pada δ_{H} 2,54 (2H, m) dan 2,40 (2H, m). Senyawa M_6 mirip dengan senyawa M_2 , perbedaannya M_2 memiliki 18 atom C kuartener dan 8 gugus metin sedangkan senyawa M_6 memiliki 20 atom C kuartener dan 6 gugus metilen.

Pada spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ disertai DEPT (Lampiran 20) memberikan gambaran bahwa senyawa ini memiliki 34 atom karbon yang terdiri dari 2 gugus metil, 2 gugus metoksi, 1 gugus metil dari gugus asetil, 6 gugus metin, 3 gugus metilen dan 20 atom C kuartener, dengan dugaan rumus struktur $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$. Dari rumus kekurangan hidrogen, senyawa M_1 mempunyai harga $F = X - 0,5 Y + 0,5 Z + 1$, $F = 34 - 0,5 (32) + 1 = 19$. Dari hasil perhitungan dapat dikatakan bahwa senyawa M_6 mempunyai jumlah cincin dan ikatan rangkap sebanyak 19 buah. Dari data spektroskopi dapat diketahui bahwa indeks kekurangan hidrogen adalah 5 dari gugus C=O dan 8 dari gugus C=C , sisanya 6 merupakan cincin.

Dari data HMQC dan HMBC (Lampiran 21 dan 22) dapat ditentukan pasangan dari proton yang terikat dengan atom C, serta korelasi antara proton dengan atom C tetangga dengan jarak antara 2-3 ikatan seperti yang disajikan pada tabel 4.6 dan hasilnya dapat diuraikan pada Gambar 4.4. Proton aromatik

$\delta_H = 6,58$ ppm terikat pada posisi C-4' (107,85 ppm), sedangkan proton aromatik $\delta_H = 7,29$ ppm terikat pada posisi C-3' (141,86 ppm). Proton aromatik yang lain yaitu pada $\delta_H = 6,47$ ppm terikat pada posisi C-2 (111,49 ppm). Gugus metoksi dengan $\delta_H = 3,68$ ppm dan $\delta_H = 3,76$ ppm masing-masing terikat pada posisi $\delta_C = 53,56$ ppm dan $\delta_C = 53,66$ ppm. Gugus asetil ($\text{CH}_3\text{CO}-$) pada posisi $\delta_H = 1,79$ ppm terikat pada posisi $\delta_C = 21,25$ ppm. Gugus metil pada $\delta_H = 2,06$ ppm terikat pada posisi $\delta_C = 28,65$ ppm, sedangkan gugus metil lainnya pada $\delta_H = 1,17$ ppm terikat pada posisi $\delta_C = 17,63$ ppm. Gugus metilen pada $\delta_H = 2,40$ ppm terikat pada posisi $\delta_C = 21,21$ ppm. Gugus metilen lainnya pada $\delta_H = 2,54$ ppm terikat pada posisi $\delta_C = 32,70$ ppm. Proton geminal pada $\delta_H = 2,63$ ppm dan $2,66$ ppm terikat pada posisi $\delta_C = 22,68$ ppm. Gugus metin berturut-turut pada $\delta_H = 4,15$ ppm, $5,34$ ppm, $2,69$ ppm terikat pada posisi $\delta_C = 71,45$ ppm, $66,15$ ppm dan $20,52$ ppm.

Pada spektrum ^{13}C -NMR menunjukkan adanya atom karbon dari karbonil yaitu pada posisi $\delta_C = 188,05$ ppm, $170,95$ ppm, $169,07$ ppm, $187,30$ ppm dan $184,86$ ppm. Atom karbon kuarterner yang mengikat atom O ditunjukkan pada posisi $\delta_C = 161,25$ ppm; $177,48$ ppm; $84,96$ ppm; $149,93$ ppm; $159,57$ ppm; $128,96$ ppm, $150,52$ ppm dan $116,04$ ppm. Atom C kuarterner yang lain ditunjukkan pada pergeseran kimia $\delta_C = 100,3$ ppm; $157,44$ ppm; $111,29$ ppm; $139,98$ ppm; $117,71$ ppm; $140,24$ ppm dan $100,65$ ppm.

Dari data spektrum HMBC (Lampiran 22) menunjukkan resonansi salah satu sinyal proton aromatik pada $\delta_H = 6,47$ ppm (s) mempunyai korelasi dengan karbon C-1 (161,25 ppm), 3- CH_3 (28,65 ppm), C-3 (111,29 ppm) dan C-1a (157,44 ppm). Proton aromatik pada $\delta_H = 6,58$ ppm terlihat mempunyai korelasi dengan karbon C-2' (117,71 ppm) dan C-4' a (116,04 ppm). Proton aromatik lainnya pada $\delta_H = 7,29$ ppm mempunyai korelasi dengan karbon C-1' (159,57 ppm), C-2' (117,71 ppm) C-4' (107,85 ppm) dan C-4' a (116,04 ppm). Sinyal proton metoksi dengan $\delta_H = 3,68$ ppm berkorelasi dengan karbon yang mempunyai pergeseran kimia $\delta_C = 184,86$ ppm, sedangkan proton metoksi lainnya dengan $\delta_H = 3,76$ ppm mempunyai korelasi dengan karbon pada $\delta_C = 170,95$ ppm. Proton dari gugus hidroksi dengan $\delta_H = 13,92$ ppm mempunyai korelasi dengan karbon pada C-7 (32,70 ppm), C-8 (177,48 ppm), dan C-9 (100,35 ppm) proton dari gugus hidroksi $\delta_H = 11,23$ ppm berkorelasi dengan karbon C-1 (161,25 ppm)

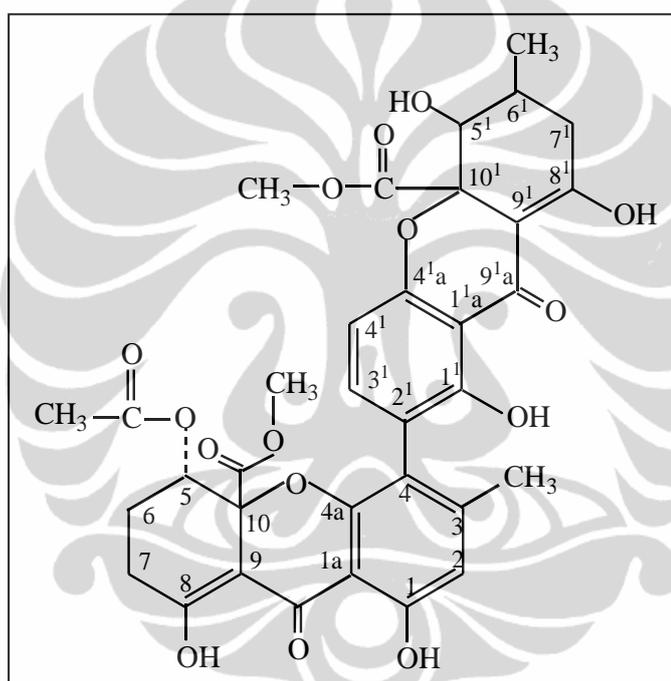
dan C-2 (111,49 ppm). Proton hidroksi pada $\delta_H = 11,57$ ppm mempunyai korelasi dengan karbon C-1' (159,57 ppm), dan C-2' (117,71 ppm), sedangkan proton hidroksi lainnya yaitu pada $\delta_H = 13,91$ ppm berkorelasi dengan karbon C-9' (100,65 ppm) dan C-7' (22,68 ppm). Proton metilen pada $\delta_H = 2,40$ ppm berkorelasi dengan karbon C-5 (71,45 ppm) dan karbon C-8 (177,48 ppm). Proton metilen pada $\delta_H = 2,54$ ppm mempunyai korelasi dengan karbon C-5 (71,45 ppm), C-8 (177,48 ppm) dan C-9 (100,3 ppm). Proton metin pada $\delta_H = 2,69$ ppm berkorelasi dengan karbon C-9' (100,65 ppm). Proton dari gugus metil pada $\delta_H = 2,06$ ppm berkorelasi dengan karbon C-3 (111,29 ppm), C-2 (111,49 ppm) dan C-2' (117,71 ppm). Proton gugus metil yang lainnya pada $\delta_H = 1,17$ ppm berkorelasi dengan karbon C-5' (66,15 ppm). Proton pada gugus metin pada $\delta_H = 4,15$ ppm berkorelasi dengan karbon C-5 (100,3 ppm), C-6 (21,21 ppm) dan C-10 (84,96 ppm). Proton metin pada $\delta_H = 5,34$ ppm mempunyai korelasi dengan karbon C-10' (128,96 ppm), C-6' (20,52 ppm), C-7' (22,68 ppm) dan C-9' (100,65 ppm). Proton metin geminal pada $\delta_H = 2,66$ ppm berkorelasi dengan karbon C-9' (100,65 ppm). Proton metil dari gugus asetil pada $\delta_H = 1,79$ ppm berkorelasi dengan karbon $\delta_C = 169,07$ ppm. Analisis HMBC senyawa M_6 dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Spektrum NMR-2 D COSY (Lampiran 23) memperlihatkan adanya pasangan spin-spin proton yaitu H-4' 6,59 ppm dengan H-3' 7,2 ppm. H dari proton visinal dan H-6 2,40 ppm dengan H-7 2,54 ppm.

Tabel 4.6. Data Spektra $^1\text{H-NMR}$ Senyawa Eumitrin A_1 dan Spektra $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HMBC Senyawa M_6 .

Posisi C	Eumitrin A_1	Senyawa M_6		
	δ_{H} (ppm) (<i>J</i> dalam Hz)	δ_{H} (ppm) (<i>J</i> dalam Hz)	δ_{C} (ppm)	HMBC
1	11,18 s	11,23 s	161,25	1, 2
2	6,47 s	6,47 s	111,49	1, 1a
3			111,29	
4			139,98	
5	5,35 t	4,15 br, s	71,45	6, 9, 10
6	1,50 m	2,40 m	21,21	8
7	2,41 m	2,54 m	32,70	5, 8
8	13,76 s	13,92 s	177,48	7,8,9
9			100,35	
10			84,96	
1'	11,52 s	11,57 s	159,57	1', 2'
2'			117,71	
3'	7,23 d (<i>J</i> = 8)	7,29 d (<i>J</i> = 7,9)	141,86	1', 2', 4', 4'a
4'	6,58 d (<i>J</i> = 8)	6,58 d (<i>J</i> = 7,9)	107,82	4'a, 2'
5'	4,16 bs	5,34 br, s	66,15	6', 7', 9', 10'
6'	2,2 m	2,69 br, s	20,52	9'
7'	2,62 m	2,63 dd (7,3; 4,9); 2,66 dd (7,3; 4,3)	22,68	9'
8'	13,83	13,91 s	150,52	7,9'
9'			100,65	
10'			128,96	
1a			157,44	
4a			149,93	
1'a			140,24	
4'a			116,04	
9'a			187,30	
6'-CH ₃	1,18 d (<i>J</i> = 6)	1,17 d (<i>J</i> = 6,7)	17,63	5'
3-CH ₃	2,07 s	2,06 s	28,65	2,3,2'
OCH ₃ -10	3,76	3,76 s	53,66	C=O-10
OCH ₃ -10'	3,69	3,68 s	53,56	C=O-10'
C=O-10			170,95	
C=O-10'			184,86	
CH ₃ -CO-5			169,07	
CH ₃ CO-5	1,85 s	1,79 s	21,25	CH ₃ C=O-5
C=O-9			188,05	

Berdasarkan hasil analisis spektra UV-Vis, IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, NMR-2D dan dengan membandingkan spektra referensi (Huneck, 1996; Cullberson, 1996; Winiati, 2008), maka dapat diduga bahwa senyawa M_6 adalah Eumitrin A_1 dengan rumus struktur $\text{C}_{34}\text{H}_{32}\text{O}_{15}$. Hal ini didukung dengan hasil pengukuran LC-MS yang menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki BM 680. Senyawa ini sebelumnya telah ditemukan pada tanaman *Usnea bayleyi* (stirt) Zahlb (Huneck, 1996) dan *Usnea dasypoga* (Ach.) Nyl (Winiati, 2008), tetapi senyawa ini baru pertama kali diisolasi dari *U. blepharea* Motyka. Struktur dari senyawa **Eumitrin A_1** dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5. Struktur Molekul Senyawa M_6 (Eumitrin A_1)

4.5. Penentuan Struktur Senyawa M₇

Senyawa M₇ berbentuk kristal jarum berwarna putih, titik leleh= 190 - 191°C, kelarutan dalam kloroform dan aseton.

Tabel 4.7. Hasil Analisis Spektrometri Senyawa M₇

Spektrometer	Spektrum
UV (Aseton, λ_{\max} , nm)	324 (Lampiran 26)
LC-MS [M] ⁺ (m/z)	374,09 (Lampiran 24)
FT-IR (KBr, pellet, $\bar{\nu}$, cm ⁻¹)	3726, 2954, 1735, 1612, 1465, 1134 (Lampiran 25)
¹ H-NMR (TMS, CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz, δ , ppm)	2,12 (s); 2,13 (s); 2,44 (s); 2,61 (s); 3,83 (s); 3,89 (s); 6,67 (s); 6,75 (s) (Lampiran 27)
¹³ C-NMR (TMS, CD ₃ COCD ₃ , 500 MHz, δ , ppm)	9,11; 9,36; 20,04; 24,01; 56,25; 62,39; 109,11; 110,33; 117,18; 117,52; 117,85; 120,92; 136,05; 141,13; 154,44; 157,89; 160,92; 164,07; 166,54; 174,36 (Lampiran 28)

Data spektroskopi sinar UV senyawa M₇ (Lampiran 26) yang diukur pada panjang gelombang $\lambda = 200 - 400$ nm dalam pelarut aseton memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang $\lambda_{\max} = 324$ nm, yang menunjukkan adanya gugus kromofor C=C yang terkonjugasi disertai perpanjangan ikatan rangkap (Williams, 1980).

Dari kromatogram LC-MS senyawa M₇ (Lampiran 24) menunjukkan senyawa ini dengan penambahan hidrogen tampak puncak [M+H]⁺ pada m/z = 375,09. Dari data ini menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki berat molekul [M]⁺ = 374,09.

Dari hasil pengukuran spektrum IR senyawa M₇ (Lampiran 25) diperoleh data pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3726 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus OH, pita serapan pada bilangan gelombang 2954 cm⁻¹ merupakan vibrasi ulur asimetri C-H dari gugus CH₃ yang didukung oleh adanya pita serapan 1465 cm⁻¹ yang merupakan vibrasi tekuk dari gugus CH₃. Adanya pita serapan

pada bilangan gelombang 1735 cm^{-1} merupakan vibrasi dari gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$) dari ester, sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 1612 cm^{-1} merupakan vibrasi ikatan $\text{C}=\text{C}$ dari cincin aromatik. Selanjutnya pada pita serapan 1134 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan $\text{C}-\text{O}-\text{C}$. Berdasarkan data spektrum infra merah tersebut, maka dapat diperkirakan bahwa senyawa M_7 memiliki gugus hidroksi ($-\text{OH}$), gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$), cincin aromatik dan gugus CH_3 .

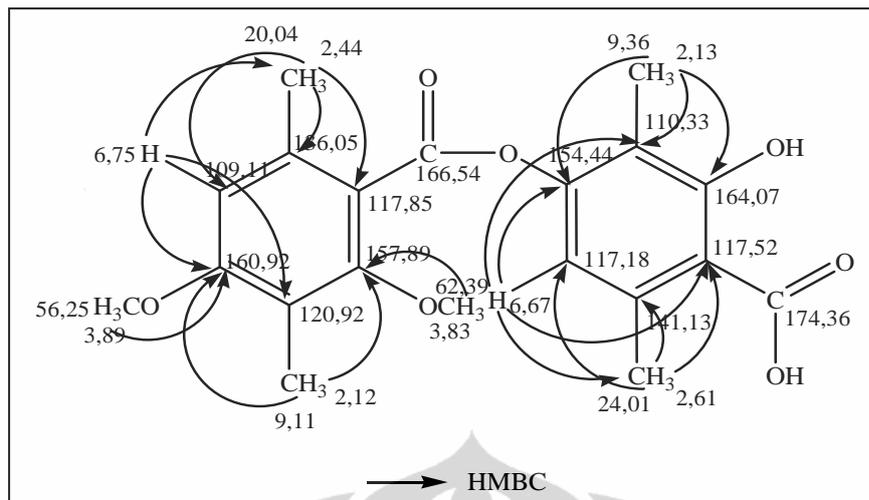
Hasil pengamatan spektrum $^1\text{H-NMR}$ (Lampiran 27 dan Tabel 4.7) terlihat adanya dua gugus metoksi, yaitu pada pergeseran kimia $\delta_{\text{H}} = 3,83\text{ ppm}$ (3H, s) dan $3,89\text{ ppm}$ (3H, s). Pada pergeseran kimia $\delta_{\text{H}} = 6,67\text{ ppm}$ (1H, s) dan $6,75\text{ ppm}$ (1H, s) menunjukkan adanya dua proton yang masing-masing terikat pada cincin aromatik dan terisolir. Adanya 4 gugus metil berbentuk singlet tampak pada pergeseran kimia $\delta_{\text{H}} = 2,13\text{ ppm}$ (3H, s), $2,12\text{ ppm}$ (3H, s), $2,44\text{ ppm}$ (3H, s) dan $2,61\text{ ppm}$ (3H, s).

Sinyal-sinyal pada spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ (Lampiran 28) disertai DEPT (Lampiran 29 dan Tabel 4.7) memberikan gambaran bahwa senyawa tersebut mengandung 20 atom karbon yang terdiri dari 4 gugus metil, 2 gugus metoksi, 2 gugus metin, dan 12 atom C kuartener. Empat gugus metil terlihat pada $\delta_{\text{C}} = 9,11; 9,36; 20,04$ dan $24,01\text{ ppm}$. Adanya gugus metil ini diperkuat dengan spektrum IR pada bilangan gelombang 2954 cm^{-1} dan bilangan gelombang 1465 cm^{-1} . Dua gugus metoksi terlihat pada $\delta_{\text{C}} = 56,25\text{ ppm}$ dan $62,39\text{ ppm}$. Dua gugus metin (CH) terlihat pada $\delta_{\text{C}} = 117,18$ dan $109,10\text{ ppm}$. Pergeseran kimia $\delta_{\text{C}} = 166,54$ dan $174,36\text{ ppm}$ merupakan karbon dari gugus karbonil. Pergeseran kimia $\delta_{\text{C}} = 110,33; 117,85; 120,92; 136,05$ dan $141,13\text{ ppm}$ merupakan karbon olefinik kuartener, $\delta_{\text{C}} = 154,44; 157,89; 160,92$ dan $164,07\text{ ppm}$ merupakan karbon kuartener yang terikat pada atom oksigen. Data-data $^{13}\text{C-NMR}$ didukung oleh data $^1\text{H-NMR}$. Berdasarkan data $^{13}\text{C-NMR}$ terlihat adanya dua karbon yang merupakan karbon dari gugus karbonil yaitu pada $\delta_{\text{C}} = 166,54$ dan $174,36\text{ ppm}$, hal ini diperkuat dengan data spektrum IR pada $\nu = 1735\text{ cm}^{-1}$. Pada serapan $\nu = 1134\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ memperkuat adanya karbon yang terikat pada atom oksigen.

Langkah selanjutnya adalah membandingkan data spektroskopi dan data sifat fisika dari senyawa M_7 dengan senyawa yang sudah dikenal yang memiliki

berat molekul 374. (Huneck, 1996), bahwa senyawa yang memiliki berat molekul tersebut, salah satu kemungkinannya mempunyai rumus molekul $C_{20}H_{22}O_7$ yaitu asam difraktat. Jumlah cincin dari ikatan rangkap dapat dihitung berdasarkan rumus indeks kekurangan hidrogen, $F = 20 - 0,5 (22) + 1 = 10$. Senyawa ini dengan jumlah atom 20 memiliki ikatan rangkap dan cincin adalah 10, kemungkinan mengandung 2 buah cincin aromatik, 2 ikatan rangkap dari gugus karbonil dan 6 ikatan rangkap $C=C$. Dari perbandingan kedua data tersebut maka senyawa M_7 sangat mirip dengan senyawa asam difraktat. Dari spektrum HMQC (Lampiran 30) terlihat posisi C-8 ($\delta_C = 9,11$ ppm) berkorelasi dengan proton $\delta_H = 2,12$ ppm. Posisi C-8' ($\delta_C = 9,36$ ppm) berkorelasi dengan proton $\delta_H = 2,13$ ppm. C-9 ($\delta_C = 20,04$ ppm) berkorelasi dengan proton $\delta_H = 2,44$ ppm. C-9' ($\delta_C = 24,01$ ppm) berkorelasi dengan proton $\delta_H = 2,61$ ppm. C-2-OCH₃ ($\delta_C = 62,39$ ppm) berkorelasi dengan proton $\delta_H = 3,83$ ppm. C-4-OCH₃ ($\delta_C = 56,25$ ppm) berkorelasi dengan proton $\delta_H = 3,89$ ppm. C-5 ($\delta_C = 109,10$ ppm) berkorelasi dengan proton $\delta_H = 6,75$ ppm. C-5' ($\delta_C = 117,18$ ppm) berkorelasi dengan proton $\delta_H = 6,67$ ppm. Dari data COSY (Lampiran 32) menunjukkan tidak adanya proton yang saling kopling.

Pada spektrum HMBC (Lampiran 31) terlihat korelasi antara proton H-5 pada $\delta_H = 6,75$ (s) dengan karbon C-4 ($\delta_C = 160,91$), C-9 ($\delta_C = 20,04$), C-3 ($\delta_C = 120,92$). Proton H-5' pada $\delta_H = 6,67$ (s) dengan karbon C-4' ($\delta_C = 154,44$), C-3' ($\delta_C = 117,52$), C-1' ($\delta_C = 110,33$), C-9' ($\delta_C = 24,01$). Proton H-8 pada $\delta_H = 2,12$ (s) dengan karbon C-4 ($\delta_C = 160,92$), C-2 ($\delta_C = 157,89$). Proton H-9 pada $\delta_H = 2,44$ (s) dengan karbon C-1 ($\delta_C = 117,85$), C-6 ($\delta_C = 136,05$), C-5 ($\delta_C = 109,11$). Proton H-8' pada $\delta_H = 2,13$ dengan karbon C-2' ($\delta_C = 164,06$), C-3' ($\delta_C = 110,33$), C-4' ($\delta_C = 154,44$). Proton H-9' pada $\delta_H = 2,61$ dengan karbon C-1' ($\delta_C = 117,52$), C-5' ($\delta_C = 117,18$), C-6' ($\delta_C = 141,13$). Proton 2-OCH₃ pada pergeseran kimia $\delta_H = 3,83$ dengan karbon C-2 ($\delta_C = 157,89$). Proton 4-OCH₃ pada pergeseran kimia $\delta_H = 3,89$ dengan karbon C-4 ($\delta_C = 160,92$). Hasil analisis spektrum HMQC dan HMBC dapat dilihat pada Gambar 4.6.

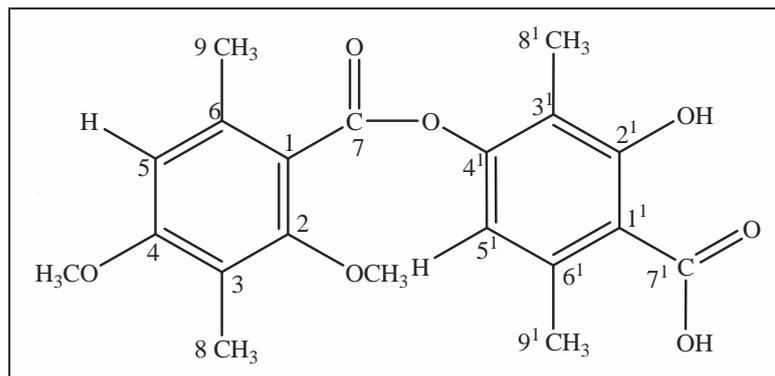


Gambar 4.6. Analisis HMBC dan COSY dari Senyawa M_7

Berdasarkan hasil pengukuran spektrometer $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, NMR-2D, IR, UV-Vis, LC-MS serta dengan membandingkan data yang diperoleh dengan senyawa yang telah ada, yaitu asam difraktat (Huneck, 1996), maka struktur senyawa M_7 mempunyai kemiripan yang sangat dekat dengan asam difraktat dengan rumus struktur molekul $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_7$, oleh karena itu senyawa M_7 disimpulkan adalah **asam difraktat**, seperti yang disajikan pada Gambar 4.7. Asam difraktat sebelumnya telah ditemukan dalam Lichen *U. diffracta* Vain (Huneck, 1996) dan *U. Longissima* (Cullberson, 1996). Tetapi berdasarkan penelusuran literatur senyawa ini baru pertama kali di isolasi dari *U. blepharea* Motyka.

Tabel 4.8. Data Spektra $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ Asam Difraktat dan Data Spektra $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HMBC Senyawa M_7

Posisi H	Posisi C	Senyawa M_7		Asam difraktat		HMBC Senyawa M_7
		δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	
H-5	1		117,85		119,7	4, 3, 9
	2		157,89		159,5	
	3		120,92		116,1	
	4		160,92		156,4	
	5	6,75 (s)	109,11	6,75 (s)	108,4	
	6		136,05		134,6	
	7		166,54		165,5	
H-8	8	2,12 (s)	9,11	2,18 (s)	8,8	2, 4
H-9	9	2,44 (s)	20,04	2,47 (s)	19,5	1, 5, 6
H-5'	1'		117,52		116,5	1', 3', 4', 9'
	2'		164,07		161,7	
	3'		110,33		111,0	
	4'		154,44		152,4	
	5'	6,67 (s)	117,18	6,67 (s)	115,8	
	6'		141,13		139,3	
	7'		174,36		173,4	
H-8'	8'	2,13 (s)	9,36	2,18 (s)	9,0	2', 3', 4'
H-9'	9'	2,61 (s)	24,01	2,61 (s)	23,0	1', 5', 6'
2-OCH ₃	2-OCH ₃	3,83 (s)	62,39	3,85 (s)	61,7	2
4-OCH ₃	4-OCH ₃	3,89 (s)	56,25	3,87 (s)	55,7	4
2'-OH				11,7 (s)		



Gambar 4.7. Struktur Molekul Asam Difraktat

4.6. Penentuan Struktur Senyawa M₁F

Senyawa M₁F berbentuk kristal jarum berwarna kuning emas dengan titik leleh 203-204 °C. Data spektroskopi sinar UV senyawa M₁F, diukur pada panjang gelombang 200 nm - 400 nm dalam pelarut diklorometana memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang $\lambda_{\max} = 237$ nm dan 280 nm (lampiran 35). Serapan pada $\lambda_{\max} = 237$ nm ini berasal dari gugus kromofor C=C yang terkonjugasi dari benzena dengan jenis transisi $\pi \rightarrow \pi^*$, serapan pada $\lambda_{\max} = 280$ nm diperkirakan berasal dari gugus kromofor C=O dengan transisi $n \rightarrow \pi^*$. Data ini diduga adanya kerangka dibenzofuran yang memberikan serapan UV pada λ_{\max} 236 nm dan 274 nm (Huneck, 1996).

Dari hasil analisis spektrum infra merah (Lampiran 34) menunjukkan pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3089 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur dari ikatan rangkap tak jenuh atau olefinik, sedangkan pita serapan pada bilangan gelombang 2927 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur asimetrik gugus CH₃ yang didukung oleh adanya pita serapan di daerah 1453 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk dari gugus CH₃. Adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1691 cm^{-1} menunjukkan adanya suatu gugus karbonil yang terkonjugasi dengan gugus C=C (Williams, 1980). Pita serapan di daerah 1631 cm^{-1} merupakan pita serapan dari cincin aromatik. Dari data spektrum infra merah tersebut dapat diperkirakan bahwa senyawa M₁F mengandung suatu gugus keton (C=O), gugus hidroksi (OH), gugus aromatik dan gugus CH₃.

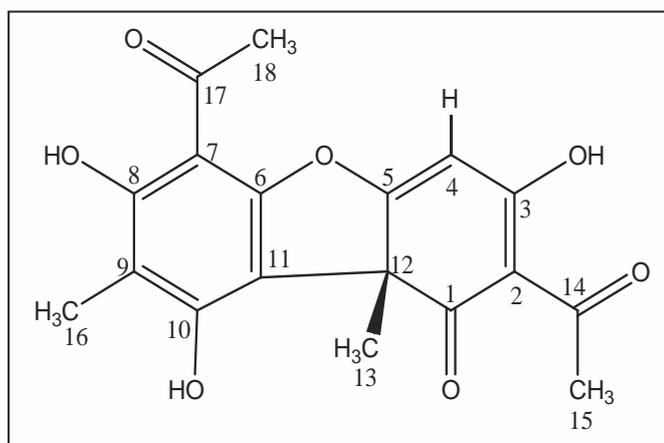
Hasil pengukuran spektrum ¹H-NMR dari M₁F dapat dilihat pada Lampiran 33. Berdasarkan hasil analisis terhadap spektrum ¹H-NMR

menunjukkan bahwa pada pergeseran kimia $\delta_H = 1,74$ (s) dan $2,08$ (s) ppm adalah 2 gugus metil. Adanya 2 gugus metil yang terikat pada gugus karbonil ditunjukkan pada pergeseran kimia $\delta_H = 2,66$ ppm dan $2,68$ ppm. Adanya proton olefinik ditunjukkan pada pergeseran kimia $\delta_H = 5,96$ ppm. Spektrum pada pergeseran kimia $\delta_H = 13,29$ ppm dan $11,01$ ppm menunjukkan adanya 2 gugus hidroksi yang membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karbonil.

Tabel 4.9. Perbandingan Data Pergeseran Kimia $^1\text{H-NMR}$ M_1F dan Asam Usnat

Posisi H	δ_H (ppm) M_1F	δ_H (ppm) Asam Usnat (M_1)
HO-3	11,01 (s)	11,01 (s)
H-4	5,96 (s)	5,96 (s)
HO-8	13,29	13,29 (s)
H-13	1,74 (s)	1,74 (s)
H-15	2,68 (s)	2,65 (s)
H-16	2,08 (s)	2,07 (s)
H-18	2,66 (s)	2,65 (s)

Berdasarkan data sifat fisika dan data spektrum $^1\text{H-NMR}$, UV dan IR serta dengan melakukan penelusuran dengan membandingkan profil pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ dan bercak noda pada kromatogram lapis tipis dari senyawa M_1F dengan senyawa asam usnat (M_1) yang dapat dilihat pada tabel 4.9 memiliki kemiripan yang sangat dekat. Maka dapat disimpulkan bahwa senyawa M_1F adalah senyawa (-) - asam usnat dengan struktur seperti pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8. Struktur Molekul Senyawa M_1F , (-) - Asam Usnat

4.7. Penentuan Struktur Senyawa M₈

Senyawa M₈ berbentuk serbuk berwarna putih dengan titik leleh 136-137 °C. Dari hasil pengukuran spektrometer UV senyawa M₈ yang diukur pada panjang gelombang 200 - 400 nm dalam pelarut diklorometana memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang $\lambda_{\max} = 235$ nm dan 260 nm (Lampiran 38). Serapan pada $\lambda_{\max} = 235$ nm diperkirakan berasal dari gugus kromofor ikatan rangkap C=C terkonjugasi dari benzena dengan transisi $\pi \rightarrow \pi^*$. Sedangkan serapan pada $\lambda_{\max} = 260$ nm berasal dari gugus kromofor C=O dengan jenis transisi $n \rightarrow \pi^*$.

Dari kromatogram LC-MS (Lampiran 36), menunjukkan bahwa senyawa M₈ mempunyai berat molekul, $[M]^+ = 196,26$. Spektrum infra merah (Lampiran 37) memberikan pita serapan pada daerah bilangan gelombang 3435 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur dari gugus OH dan dikuatkan dengan adanya pita serapan pada 1249 cm^{-1} yang merupakan vibrasi tekuk gugus -OH, adanya serapan pada daerah 2922 cm^{-1} dan 2848 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi ulur asimetrik dari gugus -CH₃, didukung adanya pita serapan di daerah 1369 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk ikatan C-H dari gugus CH₃. Serapan di daerah 1728 cm^{-1} merupakan vibrasi ulur gugus C=O dari keton, serapan di daerah 1625 cm^{-1} dan 1612 cm^{-1} merupakan pita serapan dari cincin aromatik, serapan di daerah 1471 cm^{-1} merupakan vibrasi tekuk ikatan C-H dari gugus -CH₂. Dari data spektrum infra merah tersebut dapat diperkirakan bahwa senyawa M₈ mengandung suatu gugus keton (C=O), gugus hidroksi (OH), cincin aromatik, gugus CH₂ dan gugus CH₃.

Hasil analisis spektrometer UV, FT-IR, LC-MS, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR dari senyawa M₈ dapat dilihat pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10. Hasil Analisis Spektrometri Senyawa M₈

Spektrometer	Spektrum
UV-Vis (CH ₂ Cl ₂ , λ _{max} , nm)	235 dan 260 (Lampiran 38)
LC-MS [M] ⁺ (m/z)	196,26 (Lampiran 36)
FT-IR (KBr, pellet, ν̄, cm ⁻¹)	3435; 2922; 2848; 2546; 1728; 1625; 1612; 1471; 1369; 1249; 1195; 1041; 948; 833 (Lampiran 37)
¹ H-NMR (TMS, CD ₂ Cl ₂ , 500 MHz, δ, ppm)	2,10 (3H, s); 3,89 (3H, s); 5,24 (2H, s); 6,47 (1H, s); 7,73 (1H, s) (Lampiran 39)
¹³ C-NMR (TMS, CD ₂ Cl ₂ , 500 MHz, δ, ppm)	7,77; 56,30; 70,57; 95,86; 104,24; 113,22; 145,84; 154,86; 165,22; 173,06 (Lampiran 40)

Data spektra ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan HMBC dari senyawa M₈ terangkum dalam Tabel 4.11.

Tabel 4.11. Data Pergeseran Kimia ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan HMBC Senyawa M₈

Posisi C	δ _H (ppm)	δ _C (ppm)	HMBC
1		145,84	
2		113,22	
3	6,47 (s)	95,86	2,5
4		154,86	
5		165,22	
6	7,73 (s)	104,24	2,4
1'		173,06	
2'	5,24 (s)	70,57	1, 1'
2-CH ₃	2,10 (s)	7,77	1, 2
5-OCH ₃	3,89 (s)	56,30	5

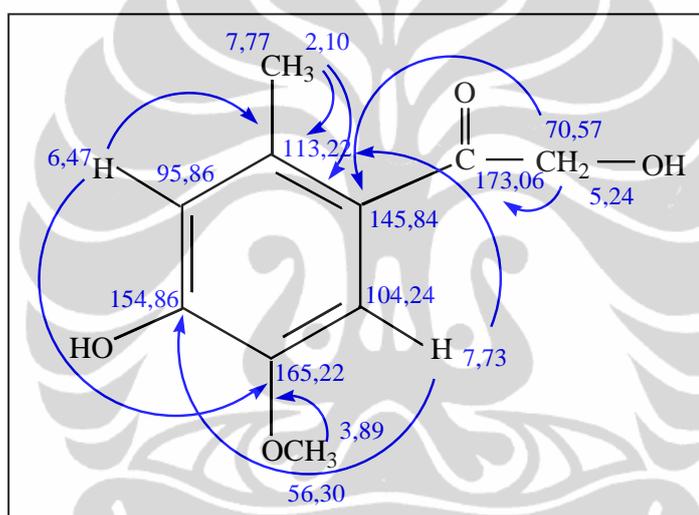
Dari hasil pengukuran spektrometri ¹H-NMR (Lampiran 39) diperoleh data pergeseran kimia yang menunjukkan adanya 2 proton aromatik yang terisolir pada pergeseran kimia δ_H = 6,47 (1H, s) dan 7,73 (1H, s). Hal ini ditunjukkan pula pada pergeseran kimia spektrum ¹³C-NMR: 95,89 ppm dan 104,24 ppm dan diperkuat oleh serapan UV pada panjang gelombang 235 nm serta pita serapan pada bilangan gelombang 1625 cm⁻¹ dan 1612 cm⁻¹. Perbedaan harga pergeseran kimia dari kedua proton aromatik ini dimana δ_H 6,47 lebih *up field* dipengaruhi oleh gugus OH sedangkan δ_H 7,73 dipengaruhi selain adanya gugus metoksi juga

adanya konjugasi dengan gugus karbonil yang menyebabkan resonansi sehingga kerapatan elektron di δ_H 7,73 berkurang jadi lebih *down field*. Adanya pergeseran kimia pada $\delta_H = 3,89$ (3H, s) menunjukkan adanya gugus metoksi dan sesuai dengan spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dengan δ_C 56,30 ppm serta diperkuat adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1195 cm^{-1} pada spektrum IR. Pergeseran kimia pada $\delta_H = 2,10$ (3H, s) menunjukkan adanya gugus CH_3 , hal ini diperkuat oleh pita serapan pada spektrum IR pada bilangan gelombang 2922 cm^{-1} dan sesuai dengan spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ pada δ_C 7,77 ppm. Pada $\delta_H = 5,24$ (2H, s) menunjukkan adanya gugus metilen yang mengikat gugus OH, hal ini didukung oleh sinyal pada spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ dengan δ_C 70,57 ppm. Data ini juga didukung oleh spektrum IR dengan serapan di daerah 3435 cm^{-1} yang merupakan serapan dari gugus OH.

Pada spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ (Lampiran 40) memberikan gambaran bahwa senyawa ini memiliki 10 atom karbon yang terdiri dari 1 gugus metil, 1 gugus metoksi, 1 gugus metilen, 2 gugus metin dan 4 atom C kuarternar yaitu pada δ_C : 113,32; 145,84; 154,86 dan 165,22 ppm. 1 atom C karbonil pada $\delta_C = 173,06$ ppm. Pergeseran kimia karbonil lebih kecil dari karbonil normal yaitu $\delta_C = 205$, hal ini disebabkan oleh adanya konjugasi antara gugus karbonil dengan ikatan rangkap dari benzena sehingga terjadi resonansi. Adanya gugus karbonil didukung oleh spektrum UV pada panjang gelombang 260 nm dan spektrum IR pada bilangan gelombang 1728 cm^{-1} . Data spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ ini di dukung oleh hasil pengukuran DEPT (Lampiran 41), diduga senyawa M_8 mempunyai rumus struktur $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$. Dari rumus kekurangan hidrogen, senyawa M_8 mempunyai harga $F = 10 - 0,5 (12) = 5$, artinya senyawa M_8 memiliki jumlah cincin dan ikatan rangkap sebanyak 5 yaitu 1 dari karbonil dan 3 berasal dari ikatan rangkap gugus $\text{C}=\text{C}$, sisanya 1 merupakan cincin benzena.

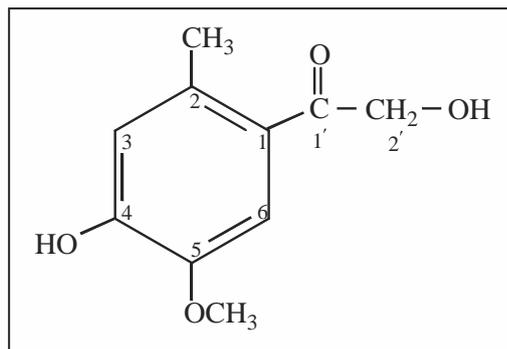
Hasil pengukuran HMQC (Lampiran 42) memperlihatkan bahwa satu proton aromatik (H-3) pada pergeseran kimia 6,47 ppm (s) terikat pada posisi C-3 (95,86 ppm), sedangkan satu proton (H-6) pada $\delta = 7,73$ ppm terikat pada C-6 (104,24 ppm). Gugus metoksi dengan $\delta_H = 3,89$ ppm terikat pada posisi C-5 (56,30 ppm). Gugus metil pada $\delta_H = 2,10$ ppm terikat pada posisi $\delta_C = 7,77$ ppm, sedangkan gugus metilen pada $\delta_H = 5,24$ ppm terikat pada posisi $\delta_C = 70,57$ ppm.

Pada spektrum HMBC (Lampiran 43) terlihat adanya korelasi antara proton pada $\delta_H = 6,47$ (s) dengan C-2 (113,22 ppm) dan C-5 (165,22 ppm), hal ini memperkuat kedudukan proton tersebut ada pada posisi H-3. Pada spektrum HMBC juga terlihat adanya korelasi antara proton pada $\delta_H = 7,73$ ppm dengan C-2 (113,22 ppm) dan C-4 (154,86 ppm) yang menunjukkan bahwa proton ini adalah proton H-8. Gugus metoksi dengan $\delta_H = 3,89$ ppm terlihat berkorelasi dengan C-5 (165,22 ppm). Proton pada $\delta_H = 2,10$ ppm berkorelasi dengan C-1 (145,84 ppm) dan C-2 (113,22 ppm), sedangkan proton pada $\delta_H = 5,24$ ppm berkorelasi dengan C-1 (145,84 ppm) dan C-1' (173,06 ppm). Analisis HMBC pada senyawa M_8 dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9. Analisis Jarak Jauh (HMBC) Senyawa M_8

Hasil analisis data spektroskopi, dapat disimpulkan bahwa senyawa M_8 adalah senyawa fenolik dengan nama **2'-hidroksi-1'-(4-hidroksi-5-metoksi-2-metil-fenil)-etanon** dengan rumus struktur $C_{10}H_{12}O_4$ seperti pada Gambar 4.10. Hasil penelusuran pustaka melalui *Scifinder*[®] menunjukkan bahwa senyawa ini belum pernah dipublikasikan dan baru pertama kali di isolasi dari *U. flexuosa* Tayl.



Gambar 4.10. Struktur Senyawa M₈

4.8. Uji Toksisitas Isolat Hasil Pemisahan Ekstrak Aseton terhadap Larva Udang *A. salina* Leach (BSLT)

Hasil pemisahan terhadap ekstrak aseton *U. blepharea* Motyka diperoleh 5 isolat yaitu isolat 1, 2, 3, 4 dan 5. Isolat 2, 3, 4 yaitu B₁, B₂, dan B₃ diuji BSLT untuk mengetahui toksisitasnya terhadap larva udang *A. salina* Leach. Toksisitas ditentukan dengan melihat nilai LC₅₀ yang dihitung berdasarkan analisis probit. Hasil pengujian toksisitas isolat dari ekstrak aseton *U. blepharea* Motyka disajikan dalam Tabel 4.12 berikut.

Tabel 4.12. Nilai LC₅₀ dengan Metode BSLT

Bahan Uji	Kons. (µg/mL)	Log K	Data awal	Mati	Hidup	Mortalitas (%)	Probit Mortalitas	LC ₅₀ (µg/mL)
B ₁	10	1	30	2	28	2,667	3,12	165,84
	100	2	30	10	20	21,053	4,19	
	200	2,3	30	11	19	47,917	4,95	
	500	2,7	30	24	6	88,679	6,23	
B ₂	10	1	30	5	25	7,463	3,52	109,03
	100	2	30	12	18	31,481	4,50	
	200	2,3	30	16	14	63,462	5,33	
	500	2,7	30	25	5	92,063	6,41	
B ₃	10	1	30	6	24	8,219	3,95	130,50
	100	2	30	9	21	25,862	4,36	
	200	2,3	30	15	15	57,692	5,20	
	500	2,7	30	23	7	88,333	6,18	

Ket : Kons. = Konsentrasi, B₁ = isolat 2, B₂ = isolat 3, B₃ = isolat 4.

Dari hasil perhitungan nilai LC₅₀ (Lampiran 54) dan disajikan dalam Tabel 4.12 diatas, diperoleh bahwa isolat B₁, B₂, B₃ mempunyai nilai LC₅₀ berturut-turut

165,84 $\mu\text{g/mL}$; 109,03 $\mu\text{g/mL}$; 130,50 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengujian ini memperlihatkan bahwa ketiga isolat ini bersifat aktif, karena suatu ekstrak dikatakan aktif jika nilai LC_{50} lebih kecil dari 1000 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil pemisahan terhadap ekstrak aseton *U. flexuosa* Tayl. diperoleh 4 isolat yaitu isolat 1, 2, 3 dan 4. Isolat 1, 2, 3 yaitu F_1 , F_2 , F_3 diuji BSLT untuk mengetahui toksisitasnya terhadap larva udang *A. salina* Leach. Hasil pengujian toksisitas isolat dari ekstrak aseton *U. flexuosa* Tayl. disajikan dalam Tabel 4.13 berikut :

Tabel 4.13. Nilai LC_{50} dengan Metode BSLT

Bahan Uji	Kons. ($\mu\text{g/mL}$)	Log K	Data awal	Mati	Hidup	Mortalitas (%)	Probit Mortalitas	LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
F_1	10	1	30	3	27	5,45	3,36	35,73
	25	1,4	30	7	23	28,57	4,45	
	100	2	30	28	2	95,00	6,65	
	500	2,7	30	30	0	100,00	8,09	
F_2	5	0,7	30	8	22	14,55	3,96	11,58
	10	1	30	15	15	47,92	4,95	
	25	1,4	30	20	10	81,13	5,88	
	100	2	30	30	0	100,00	8,09	
F_3	5	0,7	30	8	22	22,00	4,23	8,47
	10	1	30	18	12	63,04	5,33	
	25	1,4	30	25	5	91,53	6,41	
	100	2	30	30	0	100,00	8,09	

Ket : Kons. = Konsentrasi, F_1 = isolat 1, F_2 = isolat 2, F_3 = isolat 3.

Dari hasil perhitungan nilai LC_{50} (Lampiran 55) dan disajikan dalam Tabel 4.13 diatas, diperoleh bahwa isolat F_1 , F_2 , F_3 mempunyai nilai LC_{50} berturut-turut: 35,73 $\mu\text{g/mL}$; 11,58 $\mu\text{g/mL}$; 8,47 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengujian ini memperlihatkan bahwa ketiga isolat ini bersifat sangat aktif, karena suatu ekstrak dikatakan aktif jika nilai LC_{50} lebih kecil dari 1000 $\mu\text{g/mL}$.

4.9. Sitotoksitas Terhadap Sel Murine P388

Sitotoksitas terhadap sel murine P388 dilakukan pada senyawa murni hasil isolasi yaitu terhadap senyawa M₆, M₇ dan M₈. Senyawa-senyawa yang telah diuji sitotoksiknya terhadap sel murine leukemia P388 mengikuti standar NCI (*National Cancer Institute*), yaitu berdasarkan metode Alley (1988). Hasil pengamatan uji sitotoksitas terhadap sel murine P388 dapat dilihat pada Tabel 4.14. dan hasilnya pada Lampiran 45, 46, dan 47.

Tabel 4.14. Data OD (A = 540 nm) dari hasil uji sitotoksik (Sel murine P388)

Konsentrasi µg/mL	M ₆	M ₇	M ₈
100	0,189	0,087	0,031
30	0,177	0,935	0,649
10	0,179	1,314	0,938
3	0,743	1,287	0,839
1	1,011	1,160	0,835
0,3	0,946	1,172	0,846
0,1	0,961	1,313	0,877
IC₅₀	4,5	17,5	37,0

Efek sitotoksik suatu zat terhadap sel uji tumor secara *in vitro* menurut Alley (1988) dikategorikan sangat aktif (++) jika nilai IC₅₀ < 2 µg/mL, aktif (+) jika nilai IC₅₀ 2-4 µg/mL dan tidak aktif bila IC₅₀ > 4 µg/mL. Berdasarkan data hasil uji sitotoksik yaitu nilai IC₅₀ untuk senyawa eumitrin A₁ adalah 4,5 µg/mL berarti memiliki potensi aktif terhadap sel murine P388, sedangkan nilai IC₅₀ asam difraktat dan 2'-hidroksi-1'-(4-hidroksi-5-metoksi-2-metil-fenil)-etanon adalah 17,5 µg/mL dan 37,0 µg/mL sehingga kedua senyawa tersebut tidak aktif terhadap sel murine P388.

Apabila dihubungkan antara aktivitas dengan struktur, senyawa M₆ merupakan senyawa bisxanton atau xanton dimer yang mengandung 5 gugus hidroksi, sedangkan asam difraktat mengandung 1 gugus hidroksi dan senyawa 2'-hidroksi-1'-(4-hidroksi-5-metoksi-2-metil-fenil)-etanon mengandung 2 gugus hidroksi. Aktivitas suatu senyawa dapat dipengaruhi oleh polaritas, bentuk atau isomer, geometri struktur, gugus fungsi, jenis ikatan dan lain-lain (Patrick, 2001).

4.10. Uji Aktivitas Anti Malaria Terhadap *P. falciparum*

Uji aktivitas anti malaria dilakukan terhadap senyawa murni untuk mengetahui aktivitas hambatannya terhadap pertumbuhan parasit malaria *P. falciparum* FCR 3 (*for chloroquin resistance*) dengan pembanding yang digunakan adalah klorokuin. Grafik kadar klorokuin terhadap pertumbuhan *P. falciparum* dapat dilihat pada Lampiran 48. Senyawa murni yang diuji adalah (-) - asam usnat (M_1), eumitrin M (M_2), dan asam difraktat (N_1). Hasil pengujian dapat dilihat pada Lampiran 53. Data pengaruh konsentrasi pada laju pertumbuhan parasit pada Lampiran 53 dianalisis dengan program komputer sigma plot 2000. Grafik hubungan antara konsentrasi senyawa eumitrin M, (-) - asam usnat, dan asam difraktat dengan laju pertumbuhan *P. falciparum* FCR3 dapat dilihat pada Lampiran 49, 50, dan 51.

Berdasarkan data nilai IC_{50} untuk senyawa eumitrin M (M_2) adalah 2×10^{-7} M. Dari hasil uji bioaktivitas ini, memperlihatkan bahwa senyawa eumitrin M (M_2) aktif terhadap parasit malaria *P. falciparum* dengan IC_{50} 2.10^{-7} M. Keaktifan dari senyawa eumitrin M ini diduga karena struktur eumitrin M yang memiliki kerangka senyawa xanton yang tersubstitusi dengan 5 gugus hidroksi dan 1 gugus asetil. Beberapa literatur yang menyatakan hubungan struktur senyawa dengan aktivitas anti malaria terhadap *P. falciparum* yaitu keaktifan senyawa flavonoid disebabkan oleh substitusi dan posisi substitusi gugus isoprenil, gugus hidroksi dan gugus metoksi (Widyawaruyanti, 2007). Pada senyawa golongan diterpena, keaktifan dipengaruhi oleh substitusi dan posisi substitusi dari gugus hidroksi dan gugus asetil pada kerangka diterpena (Kalauni, 2006). Aktivitas anti malaria dari senyawa golongan xanton dipengaruhi oleh substitusi dan posisi substitusi gugus hidroksi dan gugus isoprenil pada kerangka xanton (Likhitwitayawuid, 1998).

Senyawa (-) - asam usnat (M_1) dan asam difraktat (M_7) tidak memberikan respon karena tidak terlihat pengaruhnya terhadap pertumbuhan parasit. IC_{50} adalah nilai yang dinyatakan untuk senyawa yang menghasilkan 50 % penghambatan pertumbuhan relatif terhadap kontrol.

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak aseton talus lichen *Usnea blepharea* Motyka dan *Usnea flexuosa* Tayl. dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Hasil isolasi dari ekstrak aseton talus lichen *U. blepharea* Motyka telah diidentifikasi senyawa yaitu senyawa dibenzofuran (-) - **asam usnat** (M_1), senyawa baru turunan bisxanton yaitu **eumitrin M** (M_2), senyawa turunan bisxanton **eumitrin A₁** (M_6) dan senyawa depsida **asam difraktat** (M_7).
2. Hasil isolasi dari ekstrak aseton talus Lichen *U. flexuosa* Tayl. telah diidentifikasi senyawa yaitu senyawa dibenzofuran (-) - **asam usnat** dan senyawa baru fenolik yang dinamai **2'-hidroksi-1'-(4-hidroksi-5-metoksi-2-metil-fenil)-etanon**.
3. Hasil uji toksisitas terhadap larva udang *A. salina* Leach isolat dari ekstrak aseton talus *U. blepharea* Motyka bersifat aktif dengan nilai LC_{50} $B_1 = 165,84 \mu\text{g/mL}$, $B_2 = 109,03 \mu\text{g/mL}$, $B_3 = 130,50 \mu\text{g/mL}$.
4. Hasil uji toksisitas terhadap larva udang *A. salina* Leach isolat dari ekstrak aseton talus Lichen *U. flexuosa* Tayl. bersifat aktif dengan nilai LC_{50} $F_1 = 35,73 \mu\text{g/mL}$, $F_2 = 11,08 \mu\text{g/mL}$, $F_3 = 8,47 \mu\text{g/mL}$.
5. Senyawa eumitrin A₁ memiliki potensi aktivitas sitotoksik terhadap sel murine P388 dengan nilai IC_{50} $4,5 \mu\text{g/mL}$, sedangkan asam difraktat dan 2'-hidroksi-1'-(4-hidroksi-5-metoksi-2-metil-fenil)-etanon tidak aktif terhadap sel murine leukemia P388 dengan IC_{50} $17,5 \mu\text{g/mL}$ dan $37,0 \mu\text{g/mL}$.
6. Senyawa eumitrin M memiliki aktivitas anti malaria terhadap parasit malaria *P. falciparum* dengan nilai IC_{50} 2×10^{-7} M, sedangkan senyawa asam usnat, dan asam difraktat tidak menghambat pertumbuhan *P. falciparum*.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan aktivitas anti malaria terhadap *P. falciparum* secara *in vivo* dari senyawa yang aktif secara *in vitro*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia murine P388 secara *in vivo* dari senyawa yang aktif secara *in vitro*.
3. Perlu dilakukan pengukuran difraksi sinar X dari kristal senyawa M₂.



PUBLIKASI ILMIAH YANG TERKAIT DENGAN DISERTASI

1. **Maulidiyah**, A. Herry Cahyana, Wahyudi Priyono Suwarso, Anti-Malarial Activity Test of Usnic Acid from *Usnea blepharea* Motyka, Bandung International Conference on Medical Chemistry, Institut Teknologi Bandung, 6-8 Agustus 2009.
2. **Maulidiyah**, A. Herry Cahyana, Wahyudi Priyono Suwarso, Toksisitas Fraksi Aseton Tallus Lichen *Usnea blepharea* Motyka, Simposium Penelitian Bahan Obat Alami XIV Mukhtar Perhipba XI, BPPT, Perhipba, DAAD, RS Kanker Dharmais, Jakarta, 11-12 Agustus 2009.
3. **Maulidiyah**, Aktivitas Sitotoksik dari Senyawa Kimia Tumbuhan Tingkat Rendah Lichen *Usnea blepharea* Motyka dan *Usnea flexuosa* Tayl.. Laporan Hasil Riset Hibah Penelitian Mahasiswa Program Doktor tahun 2009.
4. **Maulidiyah**, A. Herry Cahyana, Wahyudi Priyono Suwarso, Toksisitas Fraksi-fraksi Ekstrak Aseton Talus Lichen *Usnea flexuosa* Tayl. terhadap *Artemia salina* Leach, Seminar Nasional Kimia II, Himpunan Kimia Indonesia Jawa Tengah, Semarang, 24 Juli 2010.
5. **Maulidiyah**, A. Herry Cahyana, Wahyudi Priyono Suwarso, Isolasi Senyawa Asam Difraktat dari Talus Lichen *Usnea blepharea* Motyka yang berasal dari Gunung Bawakaraeng Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan, Seminar Nasional Himpunan Kimia Indonesia (SNHKI) 2010, Makassar, 2-3 Agustus 2010.
6. **Maulidiyah**, A. Herry Cahyana, Wahyudi Priyono Suwarso, Isolation of Chemical Compounds from Tallus Lichen *Usnea blepharea* Motyka and Their Anti-malarial Activity Test on *Plasmodium palciparum*, The 2nd International Conference on Chemical Sciences (2nd ICCS-2010), Yogyakarta, 14-16 October 2010.
7. **Maulidiyah**, A. Herry Cahyana, Wahyudi Priyono Suwarso, Anti-Mycobacterium Tuberculosis Activity of Aseton Extract of Lichen *Usnea blepharea* Motyka, International Conference and talk show on Medical Plant BPPT, DAAD, Jakarta, 19-21 October 2010.
8. **Maulidiyah**, A. Herry Cahyana, Wahyudi Priyono Suwarso, Isolasi Senyawa Asam Difraktat dari Tallus Lichen *Usnea blepharea* Motyka dan Uji Sitotoksitas terhadap Sel Murine P388, Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XVIII, Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia, Institut Teknologi Bandung (ITB), 9-10 November 2010.
9. **Maulidiyah**, A. Herry Cahyana, Wahyudi Priyono Suwarso, 2'-hydroxy -1'-(4 - hydroxyl -5- methoxy -2- methyl - phenyl) - ethanon, a New Phenolic Compound from the Indonesian Lichen *Usnea flexuosa* Tayl., J. Archives of Pharmaca Research, Korea (Submitted).

10. **Maulidiyah**, A. Herry Cahyana, Wahyudi Priyono Suwarso, Khalijah Awang, Flexuosen M, a new Phenolic Compound from the Indonesia Lichen *Usnea flexuosa* Tayl.. Malaysian Journal of Science (Communicated).



DAFTAR PUSTAKA

- Alley, M.C., et al. (1988), Feasibility of Drug Screening with Panels of Human Tumor Cells Lines Using a Microculture Tetrazolium Assay. *Cancer Re*, **48**,589-601.
- Alvin, K.L.F.L.S., Kershaw, K.L., (1963). *The Observer's Book of Lichenes*, London, England.
- Beecken, H., et al. (1961). Orcein und Lackmus. *Angew Chem*, **73**, 665-688.
- Bezivin, C., et al. (2002). Cytotoxic Activity of Tricholomatales with Murine and Human Cancer Cell Lines. *Pharm Biol*, **40**, 196-199.
- Biagini, G. A., O'Neill, N.P.M., Ward, SA., (2003). Antimalarial Chemotherapy : Young Guns or Back to The Future. *Trends in Parasitol*, 19 (**11**), 479-487.
- Brenan, S., et al. (2009). Biological Activity of Some Common Lichen. *FASEB. J.* **23**, 716.10.
- Chouldhary, M. I., et al. (2005). Bioactive Phenolic Compound from a Medicinal Lichen, *Usnea Longissima*. *Phytochemistry* **66**, 2346-2350.
- Colegate, S. M., Mollyneux, R. J., (1993). *Bioactive Natural Products, "Detection, Isolation and Structural Determinations"*. United State of America : CRC Press.
- Crittenden, P. D., Porter, N., (1991). Lichen Forming Fungi: Potensial Sources of Novel Metabolites. *Tibtech*, **9**, 409-414.
- Cullberson, C. F., (1996). *Chemical and Botanical Guide to Lichen Products*. Chapel Hill : University North Caroline Press.
- Depkes., (2004). *Penggunaan Artemisinin untuk Atasi Malaria di Daerah Resisten Klorokuin*. Lembaga Umum Pengetahuan Indonesia.
- Elix, J. A., Russell, E. K. D., (1993). *A Catalogue of Standardized Thin Layer Chromatographic Data and Biosynthetic Relationship for Lichen Substances*. Canberra, Australia : Australia National University.
- Engel, K., et al. (2007). *Usnea barbata* Extract Prevents Ultraviolet-B Induced Prostaglandin E₂ Synthesis and COX-2 Expression in HaCat Keratinocytes. *J. of Photochemistry and Photobiology*, **84** : 9-14.
- Fehmi, O., et al. (2006). Gastroprotective and Anti Oxidant Effect of Usnic Acid on Indometachin-induced Gastric Ulcer in Rats. *Journal of ethnopharmacology*.

- Fournet, A., et al. (1997). Activity of Compounds Isolated from Chilean Lichens Against Experimental Cutaneous Leishmaniasis. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **111**, 69-74.
- Galloway, D. J., (1991). *Tropical Lichen : Their Systematics, Conservation, and Ecology*. Oxford : Clarendon Press.
- Galun, M., Ronen, R., (1988). *Interaction of Lichens and Pollutants*, In : Galun, M. (Ed.), *CRC Handbook of Lichenology* vol. III. Florida : CRC Press, Boca Raton.
- Gani, L. R., (1998). *Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia yang Dikandung oleh Tumbuhan Usnea dasypoga*, Rohl., Tesis Magister Ilmu Kimia, Program Pascasarjana. Depok : Universitas Indonesia.
- Hale, ME., (1973) *The Lichens*. New York and London : Academic Press.
- Hall, I. H., et al. (1997). Antitumor Agents 21, A Proposed Mechanism for Inhibition of Cancer Growth by Tenulin and Helenulin and Related Cyclopentanones. *J. Med. Chem*, **20**, 333-337.
- Hartati, S., (2007). *Isolasi dan Penentuan Struktur Kimia serta Uji Aktivitas Biologi dari Kulit Batang Spesies Garcinia (G.tetranda Pierre, G.eugeniaefolia Wall dan G.maingayi Hook)*. Disertasi Pascasarjana Ilmu Kimia, Universitas Indonesia.
- Herzig, R., (1990). Integriertes Biologisches Messsystem Der Luftverchmutzug Mit Flechten. *Umwelttechnik*, **24**, 15-19.
- Hidalgo, M. E., et al. (1994). Antioxidant Activity of Depsides of Depsidones. *Phytochemistry*, **37**, 1585-7.
- Huneck, S., Yoshimura, I., (1996). *Identification of Lichen Substances*, 2nd ed., Springer, Berlin, New York, London, Singapore, Tokyo.
- Ingolfsdottir, K., et al. (1998). Anti Mycobacterial Activity of Lichen Metabolites *In Vitro*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **6**, 141-144.
- Ingolfsdottir, K., (2002). Molecules of Interest Usnic Acid *Phytochemistry*. **61** 723-736.
- Ito T., et al. (2003), Antitumor Effect of Resveratol Oligomers Against Human Cell Cancer Lines and the Molecular Mechanism of Apoptosis Induced by Vaticanol C. *Carcinogenesis*, **24 (9)**, 1489-1497.
- Jeran, Z., et al. (2000). Biomonitoring with Epiphytic Lichens Around Gas Treatment Plants. Biomonitoring of Atmospheric Pollution, Proceedings of an international Workshop Organized by the International Atomic Energy Agency. Portugal.

- Jerry L. M., C. J. Chanf., D. L. Smith., (1990). *Bioassay for The Discovery of Natural Products: An Update, Workshop On Brine Shrimp And Potato Disc Bioassay*. Universitas Bidang Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung.
- Kalauni, et al., (2006). Antimalarial Activity of Cassane and Norcassane – Type Diterpenes from *Caesalpinia crista* and their Structure Activity Relationship. *Bil – Pharum Bull.* 29 (5). 1050 – 1052.
- Kosanic, M., Rankovic, Br., Sukdolak Sl., (2010). Anti Microbial Activity of the Lichen *Lecanora frustulosa* and *Parmeliopsis hyperopta* and Their Divaricatic Acid and Zeorin Constituents African. *Journal of Microbiology Research*, 4 (9), 885-890.
- Kupchan, S. M., Kopperman, H.I., (1975). L-uscnic acid : Tumor Inhibitor Isolated from Lichens. *Experientia*, 31, 625-626.
- Likhitwitayawuid, K., et al. (1998). Antimalarial Xanthones from *Garcinia cowa*. *Planta Medica*, 64, 70-72.
- Linn, T. Z., et al. (2005). Cassane and Norcassane-Type Deterpenes from *Caesalpinia crista* of Indonesia Their Antimalarial Activity Against the Growth of *Plasmodium falciparum*. *Journal. Prod.* 68 (5) : 706-710.
- Lohesic, Le., (2002). Antiviral and Cytotoxic Activities of Some Indonesian Plants. *Fitoterapia*, 73, 400-405.
- Meyer, B. N., et al. (1992). *Planta Medika*, Vol. 45, 31-59.
- Miller, Ruth N., (1984). *Plants Types : Algae, Fungi and Lichens*. London : Hutchinson Education.
- Muller, K., (2001). Pharmaceutically Relevant Metabolites from Lichens. *Appl Microbiol Biotechnol*, 56, 9-16.
- Mulyadi (1997). *Kanker Karsinogen, Karsinogenesis dan Antikanker*. Yogya : Tiara wacana.
- Musso, H., (1960). Orcein-und Lackmusfarbstoffe. Konstitution Sermitt Lung und Konstitutionsbeweis Durch Synthese. *Plant Med*, 8, 432-446.
- Nash, T. H., (1997). *Lichen Biology*. Cambridge (UK) : Cambridge University Press.
- Neamati, N., (1997). Depsides and Depsidones As Inhibitors of HIV-1 Integrase: Discovery of Novel Inhibitors Through 3D Database Searching. *J Med Chem*, 40, 942-51.

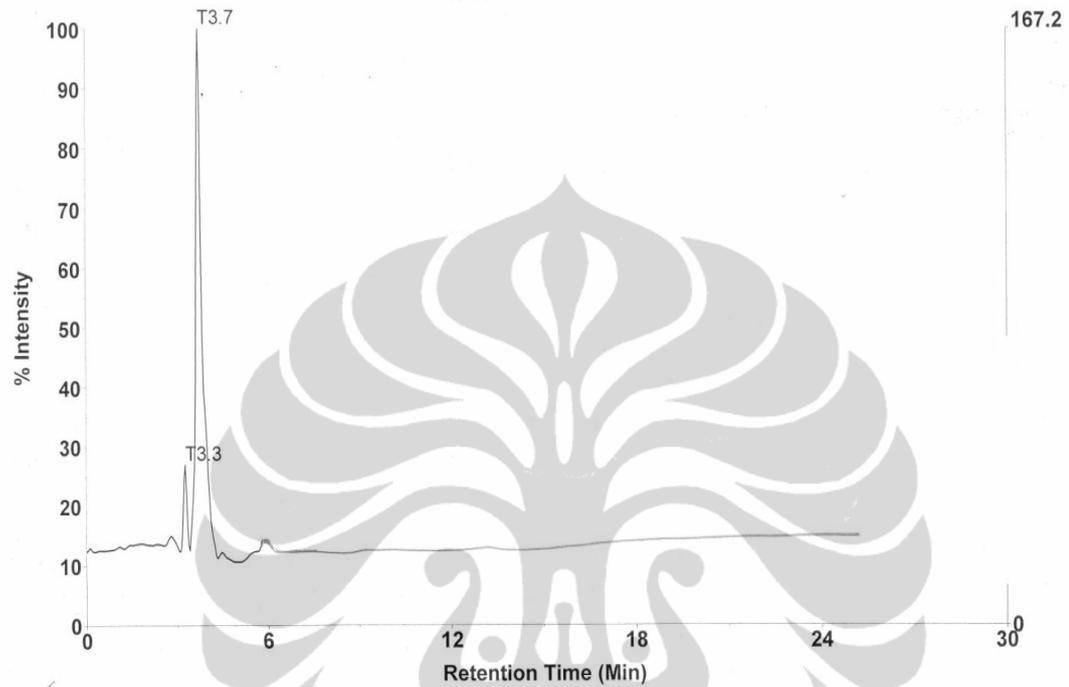
- Ogmundsdottir, HM., et al. (1998). Anti-Proliferative Effects of Lichen-Derived Inhibitors of 5-lipoxygenase on Malignant Cell-Liness and Mitogen Stimulated Lymphocytes. *J pharml Pharmacol*, **50**, 107-115.
- Okuyama, E., et al. (1995). Usnic Acid and Diffractaic Acid as Analgesic and Antipyretic Components of *Usnea diffracta*. *Planta Medica*, **61**, 113-115.
- Palupi, Rr. D., (2006). *Isolasi (-)-Asam Usnat dari Tumbuhan Lichen Usnea blepharea Motyka dan penentuan Aktivitas Anti Kanker*. Tesis Magister Ilmu Kimia. Depok : Program Pascasarjana. Universitas Indonesia.
- Patrick, G., (2001). *Instan Note Medicinal Chemistry*. Bios Scientific Publisher Limited. P. 106-125.
- Perry, NB., et al. (1999). Antimicrobial, Antiviral and Cytotoxic Activity of New Zealand Lichens. *Lichenologist*, **31**, 627-636.
- Pramyothin, P., et al. (2004). Hepatotoxic Effect of (+)- Usnic Acid from *Usnea siamensis* Wainio in Rats, Isolated rat Liver Hepatocytes and Isolated rat Liver Mitochondria. *Journal of Ethnopharmacology*, **90**, 381-387.
- Purpis, W., et al. (1990). *The Lichen Flora of Great Britain and Ireland*, London : Natural Historical Museum Publication in Association with the British Lichen Society.
- Rachmatiah, T., (2008). Kandungan Alkaloid Kulit Batang *Actinodaphne pruinos*a Nees A. *sphaerocarpa* (BI) Nees dan Daun *Cryptocarya ferrea* BI serta Uji Bioaktivitasnya terhadap *Plasmodium falciparum*, *Artemia salina* Leach dan Sel murine P388. Disertasi Pascasarjana Ilmu Kimia. Universitas Indonesia.
- Richardson, DHS., (1991). *Lichens and Man*. In Hawksworth DL, ed., *Frontiers in Mycology*.
- Savics, V. P., et al. (1976). Depsidone Synthesis, VII, Vicanicin and norvicanicin. *Aust. J. Chem.* **29**, 2263-2269.
- Saxena, S., et al. (2003). Antimalarial Agents from Plant Sources. *Curr sci*, 84 (9) : 1314-1329.
- Scirpa, P., et al. (1999). A Zinc Sulphate and Usnic Acid Preparation Used as Post-Surgical Adjuvant Therapy in Genital Lesion by Human Papillomavirus. *Minerva Ginekol*, **51**, 255-260.
- Schindler, H., (1955). Inhaltsstoffe und Prufungsmethoden und Homo Opathyschver-Wendete Heilpflanzen, Edicantor. Aulendorf, Wurt, P-231.

- Sherman, W., (1998). *Malaria, Parasite Biology, Pathogenesis and Protection*. Washinton, DC : ASM press.
- Silverstein, R. M., (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compound*. United State of America : John Wiley and Sons.
- Siswandono, Soekarjo, B., (1995). *Kimia Medisinal*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Sulayman, H., et al. (2003). Antiinflammatory and Antiulcer Effect of Aquaeus Extract of *Lobaria Pulmonaria*. *Phytomedicine*, **10**, 552-557.
- Suwarso, W. P., et al. (1999). Dasyvogalactone a New C₃-Symmetric Macrolactone from the Indonesian Lichen *Usnea dasyoga*. *Rohl. E. journal. Organic*, 1719-1721.
- Suwarso, W. P., (2004). *Lichen Tanaman Suku Rendah yang berpotensi sebagai Sumber Senyawa Kimia Bahan Alam Baru yang Berkhasiat Obat*. Pidato Pengukuhan sebagai Guru Besar Tetap Dalam Bidang Kimia Organik, FMIPA-UI.
- Suyanto, (2006). *Isolasi dan Penentuan Struktur serta Uji Aktivitas Biologi Senyawa Kimia dari Fraksi Aseton Talus Lichen Ramalia Javanica Nyl*. Disertasi Pascasarjana Ilmu Kimia, Universitas Indonesia.
- Tay, T., et al. (2004). Evaluation of the Antimicrobial Activity of the Aceton Extract Protocetraric Acid Constituents. *Z. Naturforsch*, **59 c**, 384-388.
- Tjitra, E., (2004). *Pengobatan Malaria dengan Kombinasi Artemisinin*, Proceeding Symposium of Malaria Control in Indonesia, November 29-30, 2004 Kerjasama TDC Universitas Airlangga dan JICA.
- Tjitrosoepomo, G., (1989). *Taksonomi Shizophyta, Thallophyta, Briophyta, Pteridophyta*. Yogyakarta : Gajah Mada University Perss.
- Turk, A. O., et al. (2003). The Antimicrobial Activity Extracts of the Lichen *Cetraria aculeata* and Its Protolichesterinic Acid Constituent. *Z. Naturforsehung*, **58 c**, 850-854.
- Vijayakumar, C.S., et al. (2000). Anti-inflammatory activity of (+)-usnic acid. *Fitoterapia*, **71**, 564-566.
- Vivek, K. G., (2007). Antimicrobial Activity of Lichen. *Pharmaceutical Biology*, **45 (3)**, 200-2004.
- Widyawaruyanti. A., (2007). *Potensi dan Mekanisme Anti Malaria Senyawa Flavanoid hasil Isolasi dari kulit batang Artocarpus champeden Spreng*. Disertasi. Program Studi MIPA, Universitas Airlangga, Surabaya.

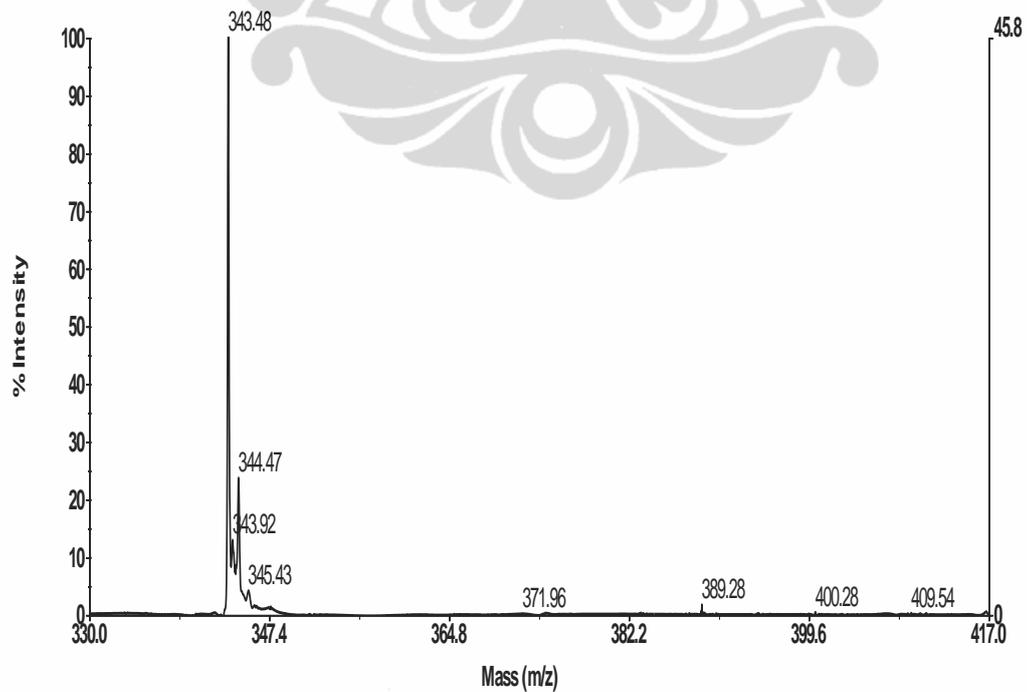
- Williams, D. H., Fleming, I., (1980). *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry* 3rd, Mc Graw Hill Book, Crudon, New York, Toronto, Sydney, Tokyo, New Delhi.
- Winiati, S., (2008). *Kajian Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia Talus Lichen Usnea dasypoga (Ach) Nyl. dan Peltigera polydectyla (Neck) Hoffm. Serta Penentuan Uji Bioaktivitasnya*. Disertasi Program Pascasarjana Ilmu Kimia, Universitas Indonesia.
- Xu, Y. J., et al. (1998). Griffipavixanthone, a Novel Cytotoxic Bixanthone from *Garcinia griffitii* and *Garcinia parvifolia*, *Tetrahedron let.*, **19**, 9103-9106.
- Yusuf, Y., (1997). *Isolasi dan Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia Serta Uji Aktivitas Biologi dari Talus Ramalina inflata, Hook. dan Tayl*. Tesis Universitas Indonesia Jakarta.

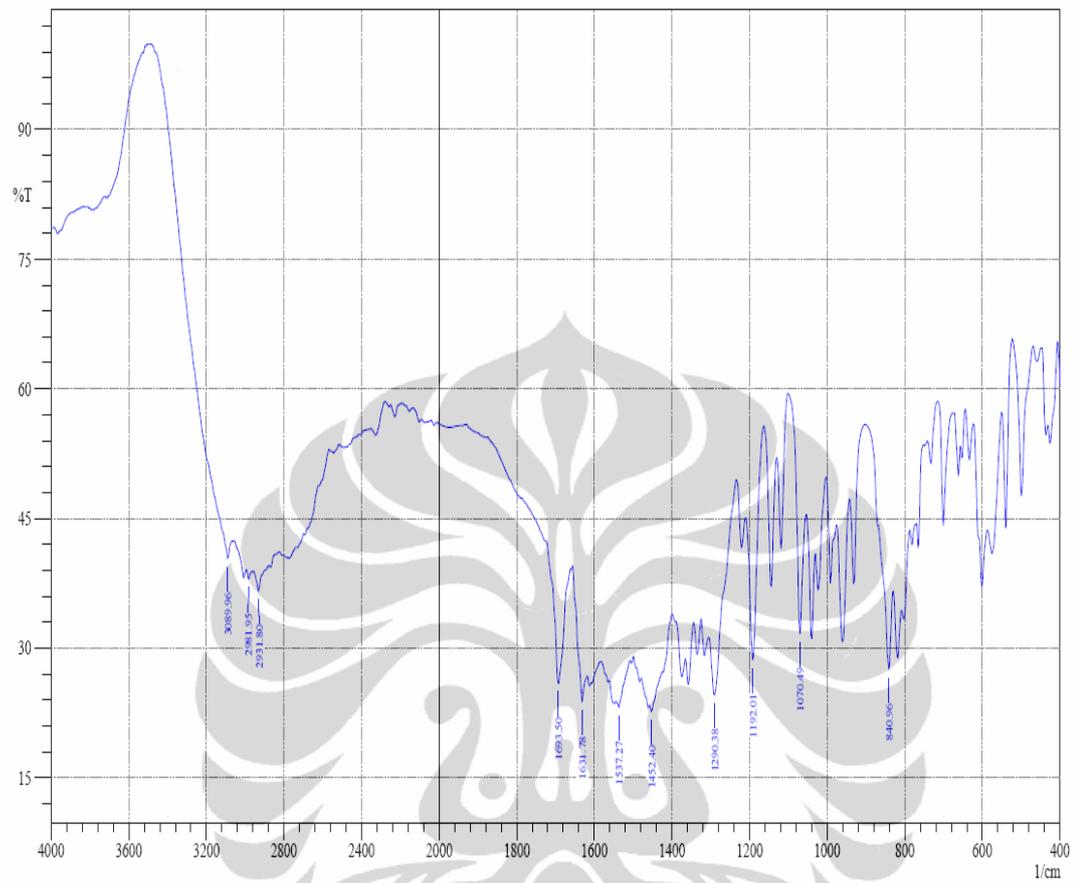
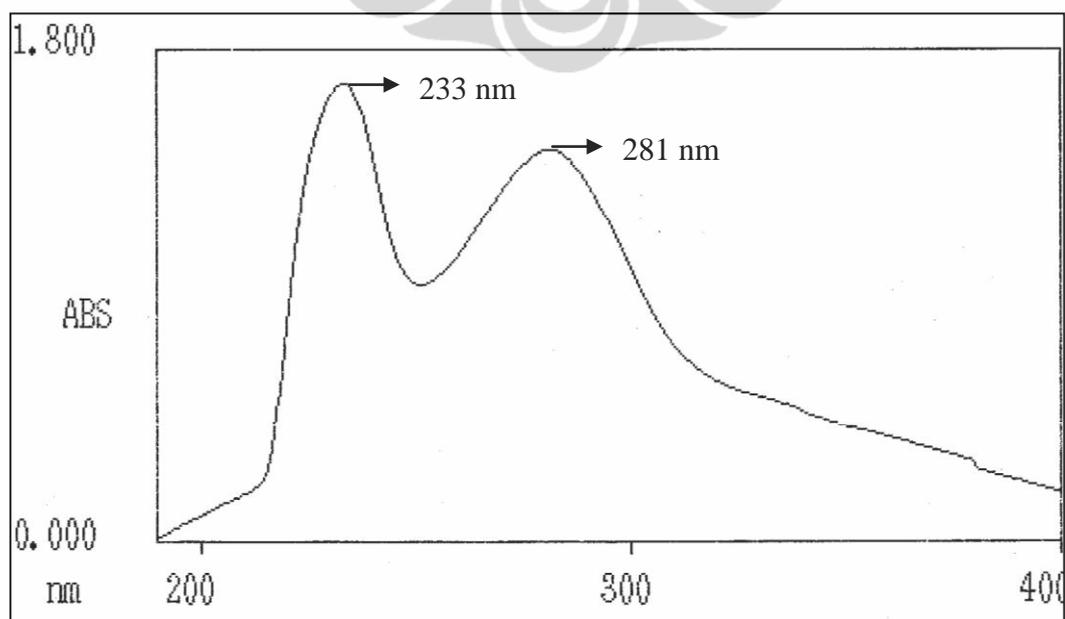


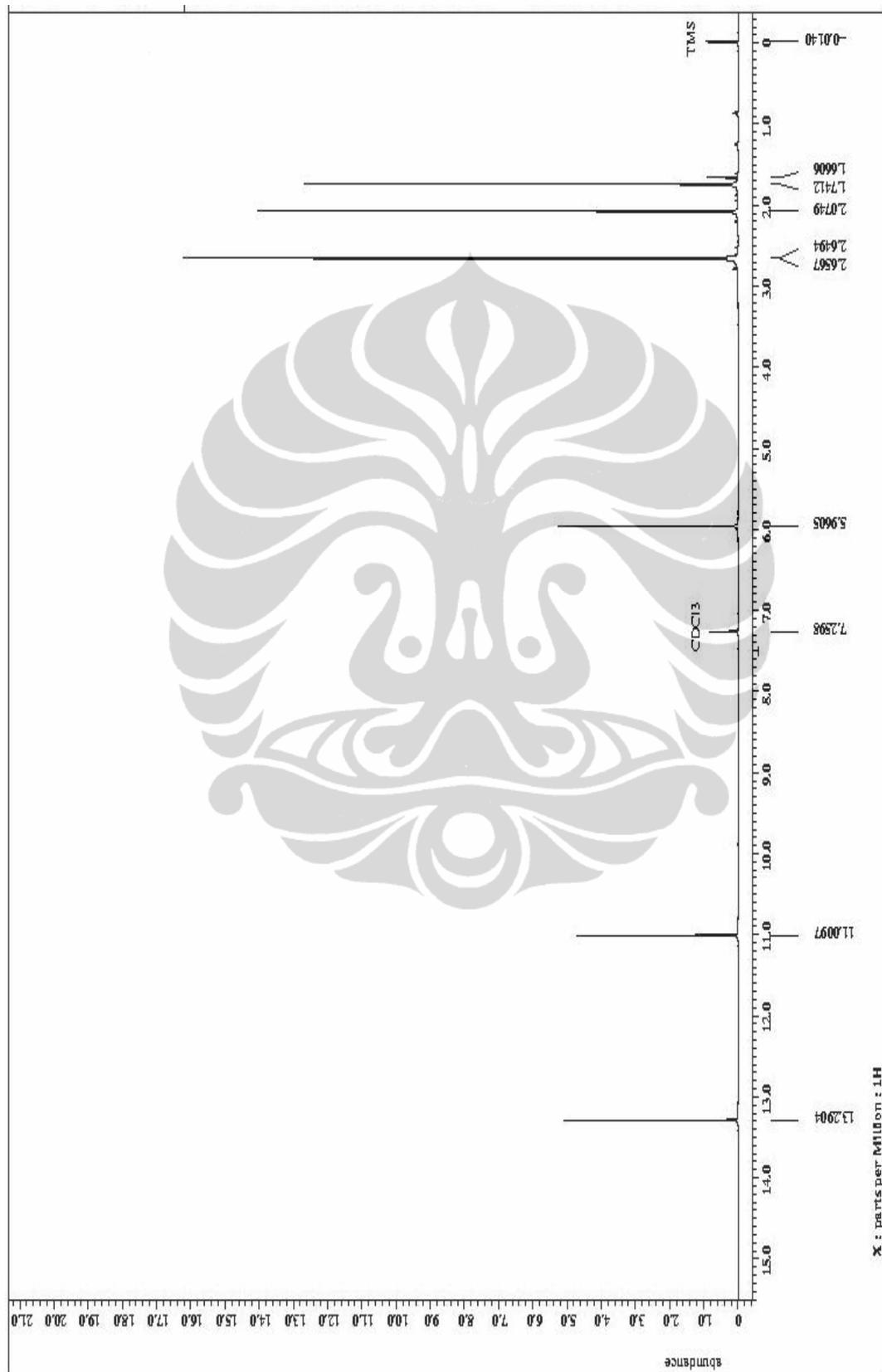
LAMPIRAN

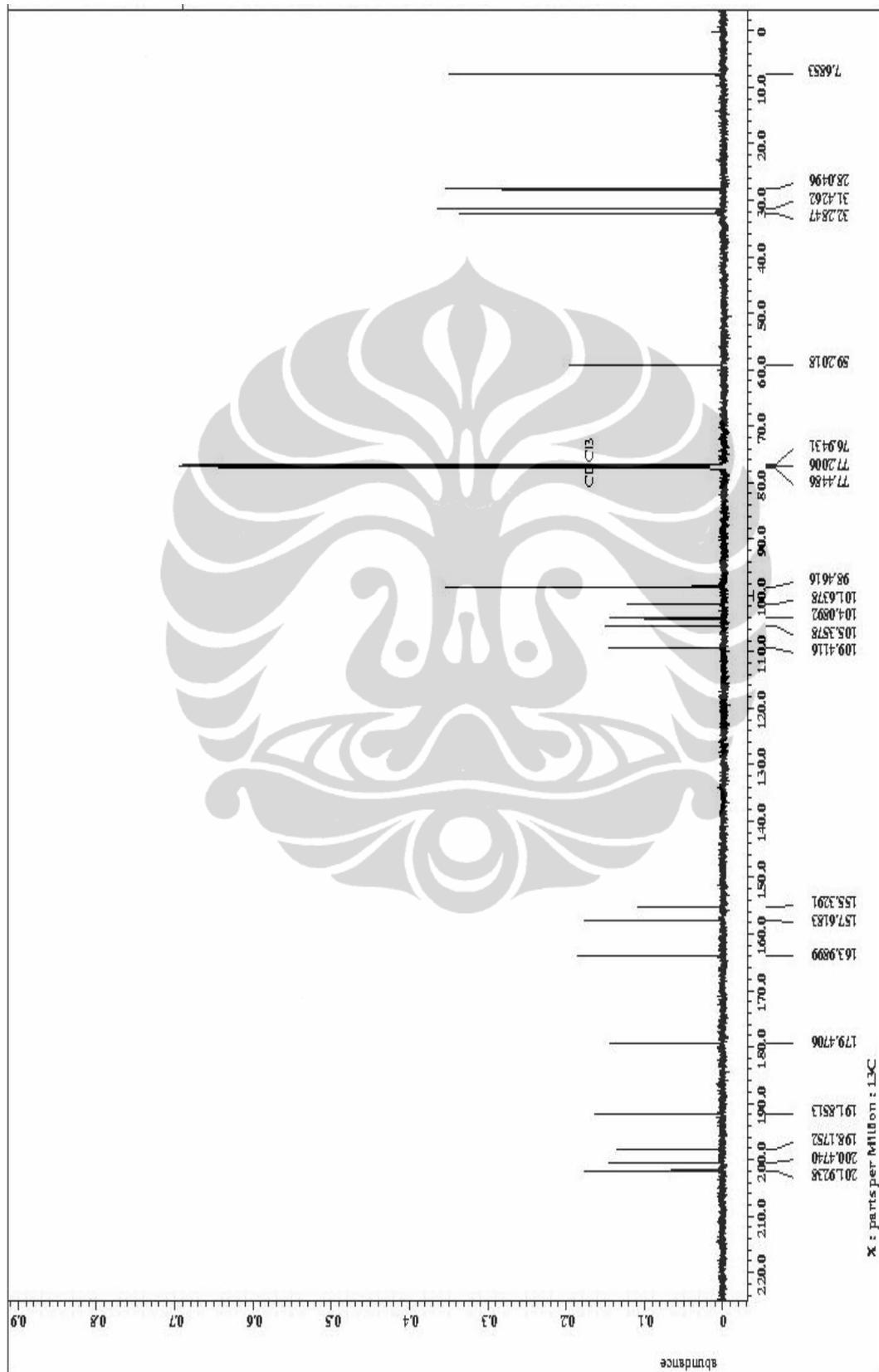
Lampiran 1. Kromatogram LC-MS Senyawa M₁

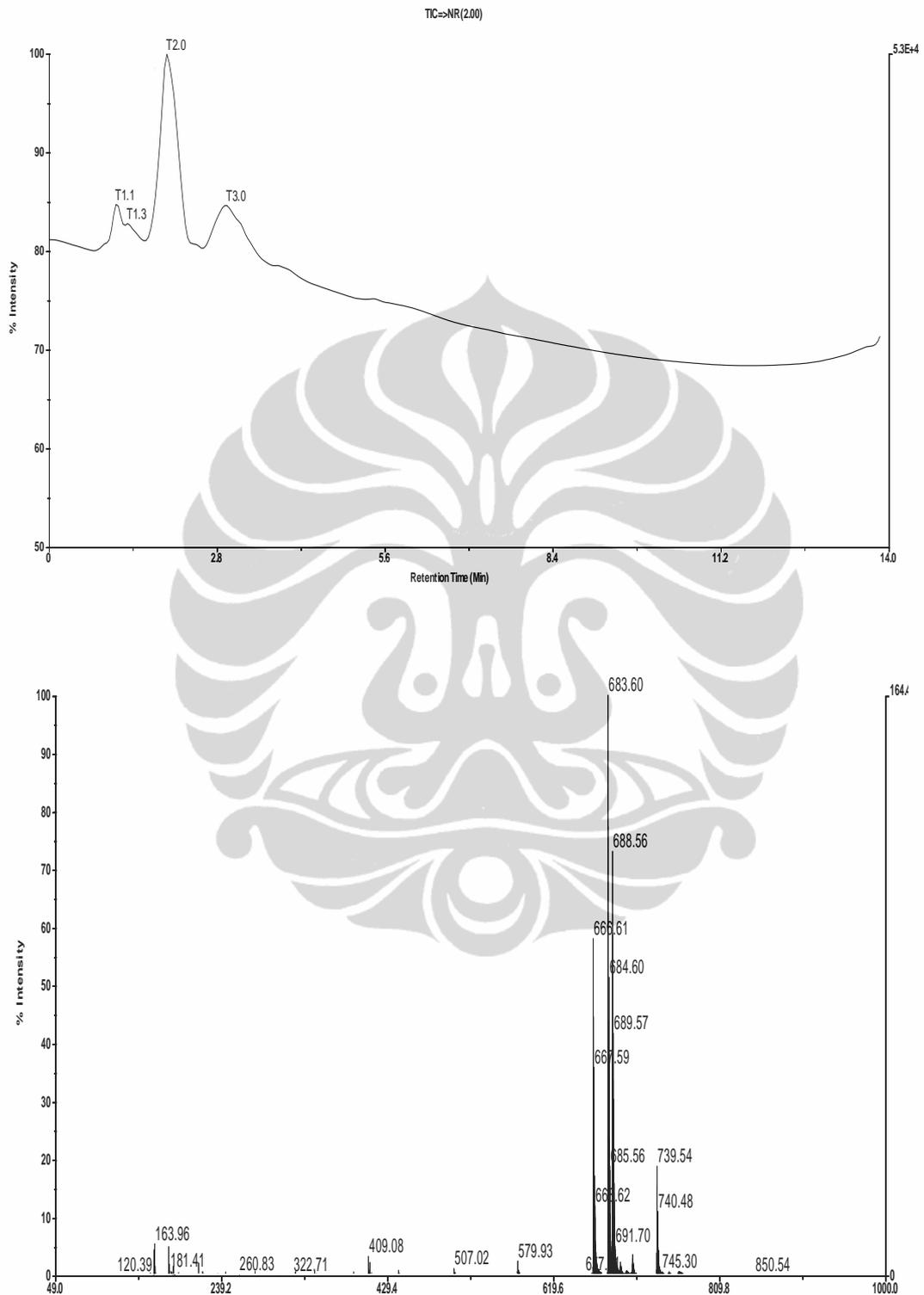
Mariner Spec /323:325 (T /12.55:12.63) -304:308 (T -12.55:12.63) ASC=>NR(2.00)[BP = 343.5, 46]



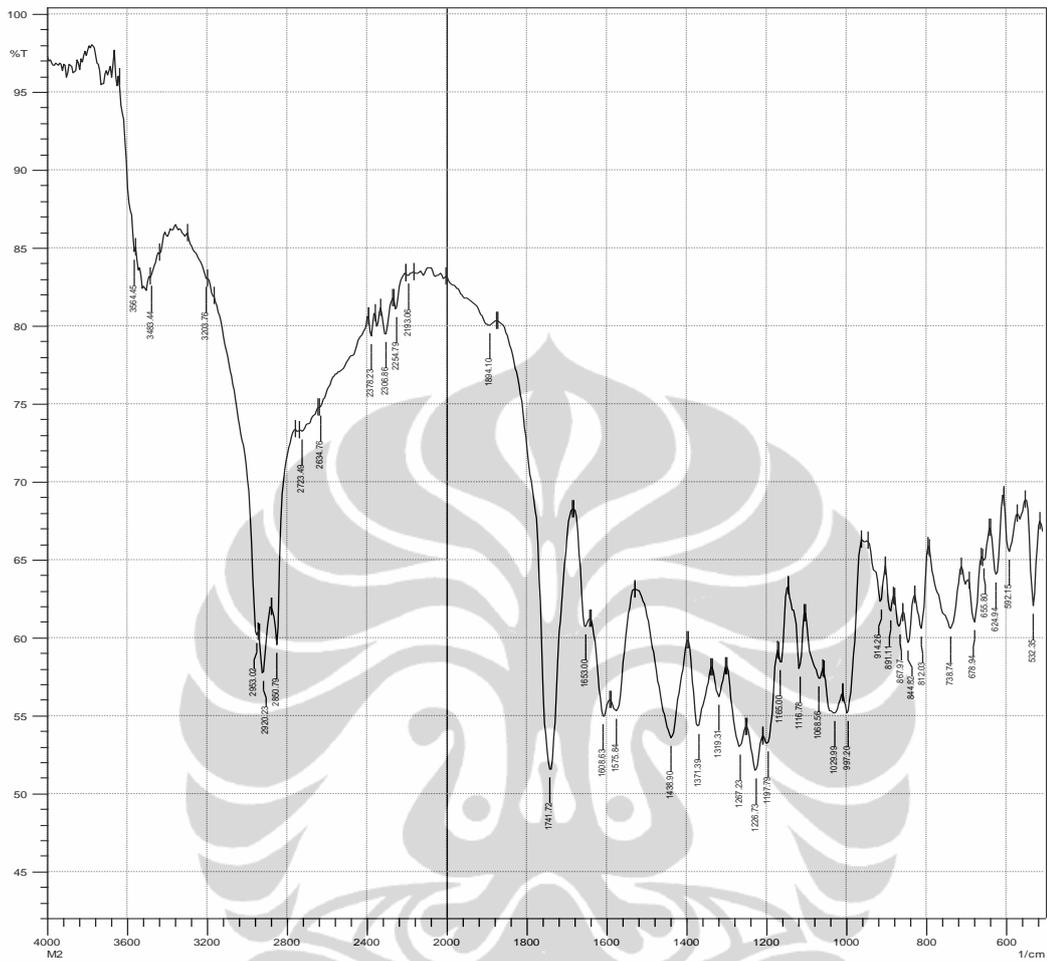
Lampiran 2. Spektrum FT-IR Senyawa M₁**Lampiran 3. Spektrum UV Senyawa M₁**

Lampiran 4. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa M_1 

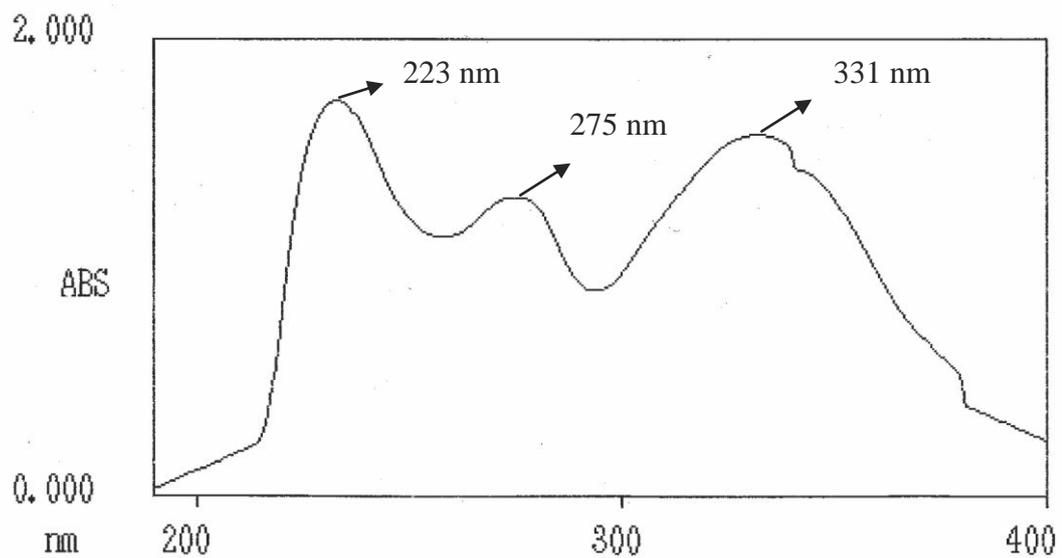
Lampiran 5. Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa M_1 

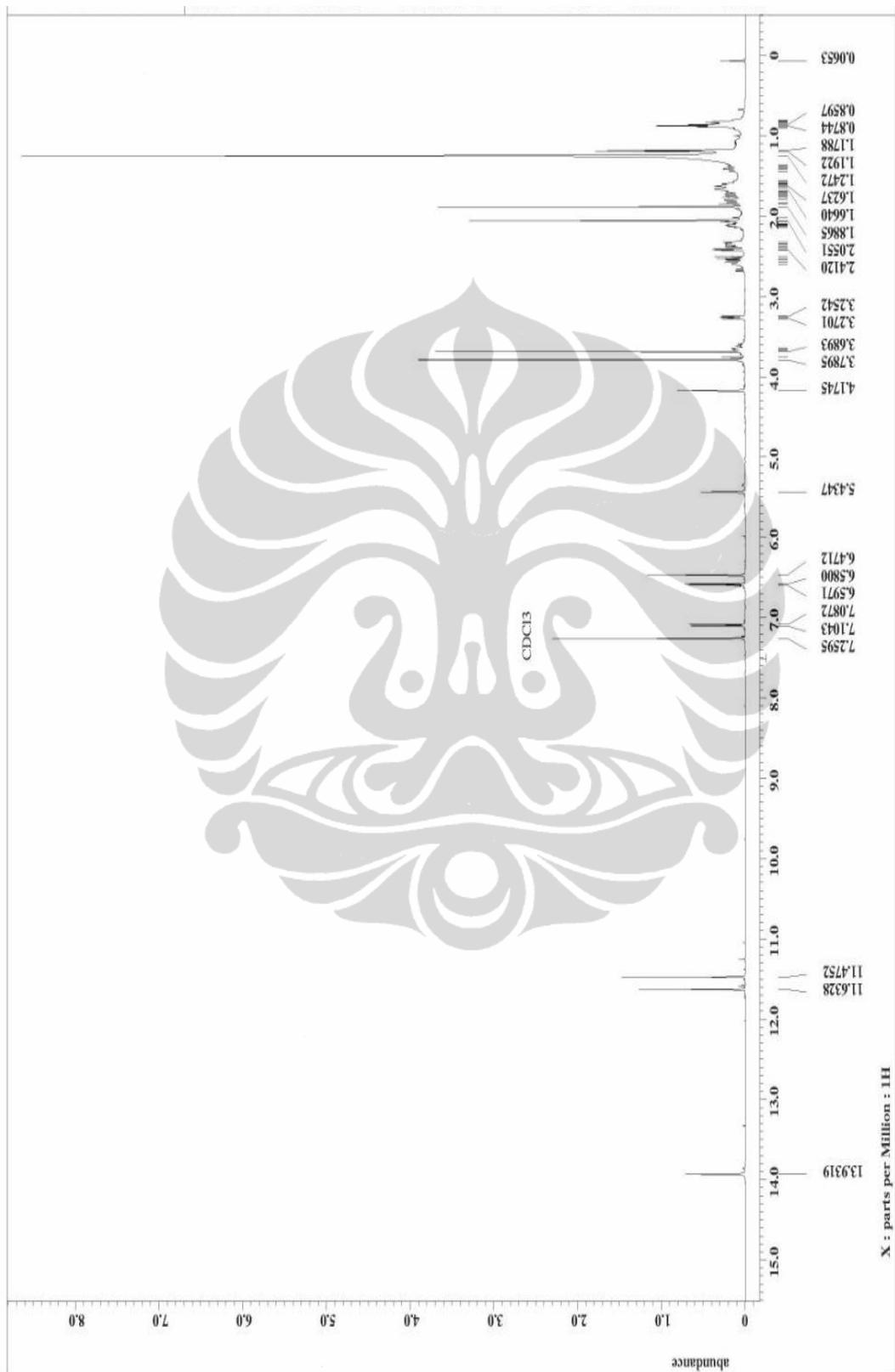
Lampiran 6. Kromatogram LC-MS Senyawa M₂

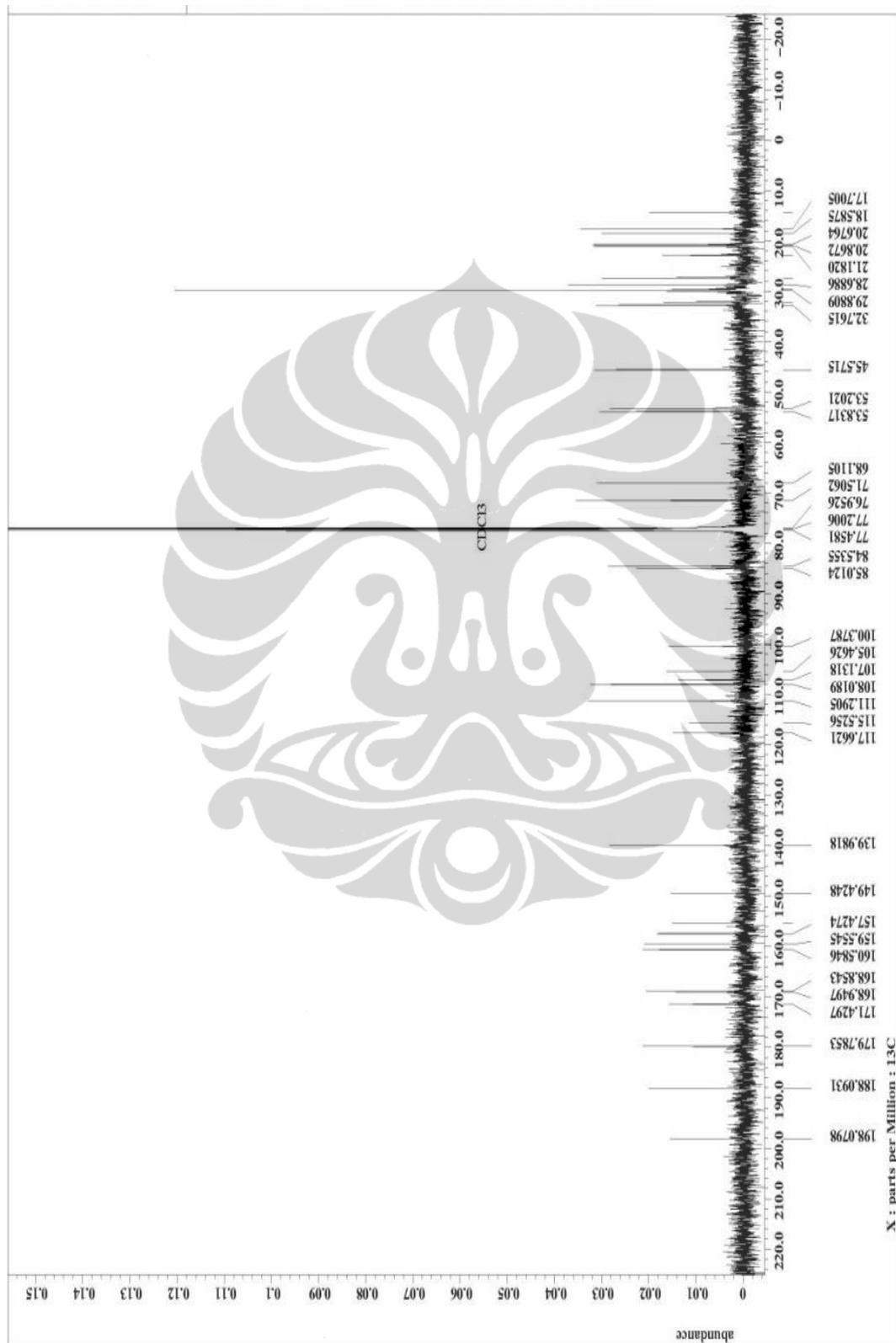
Lampiran 7. Spektrum FT-IR Senyawa M₂

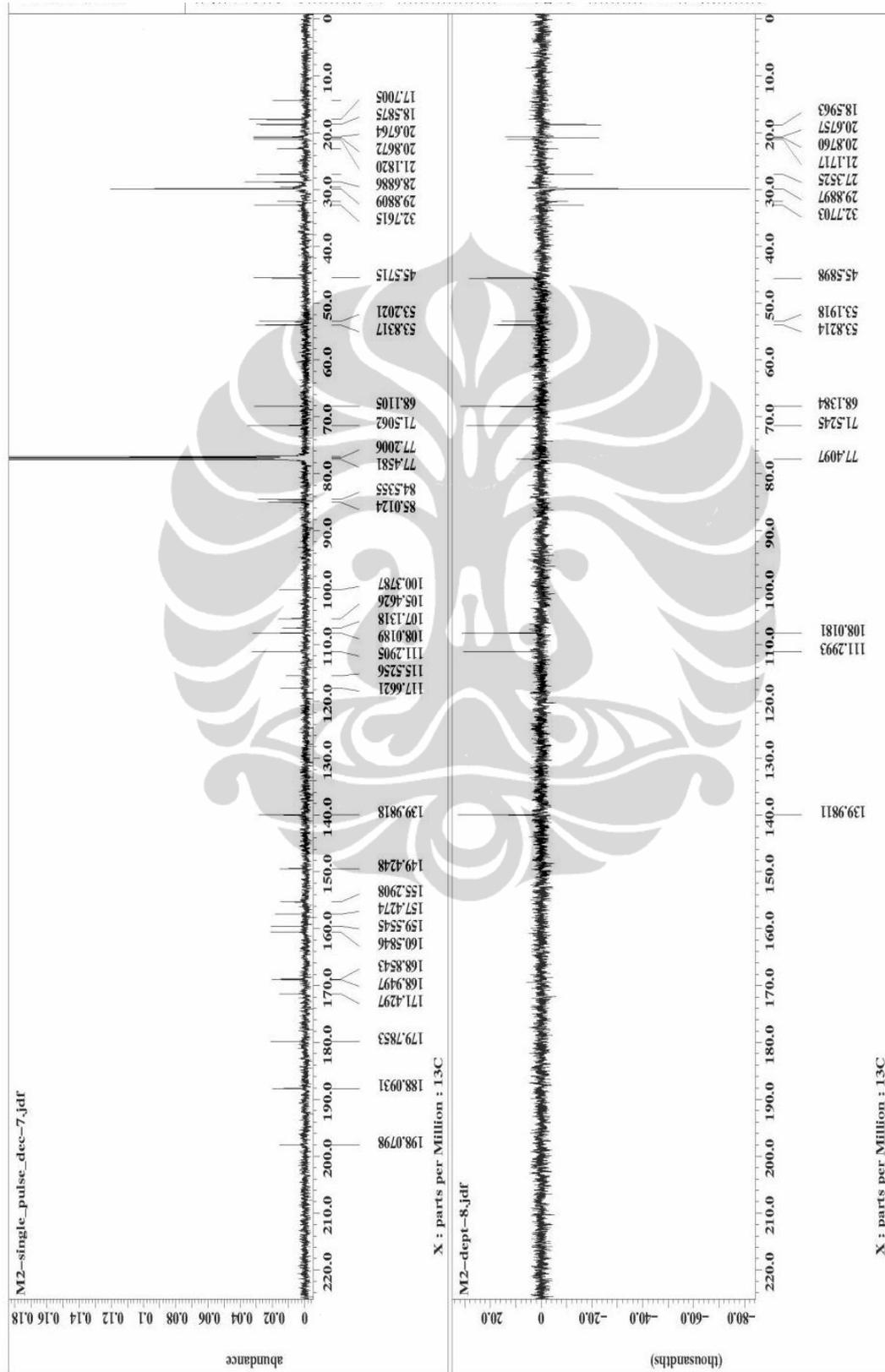


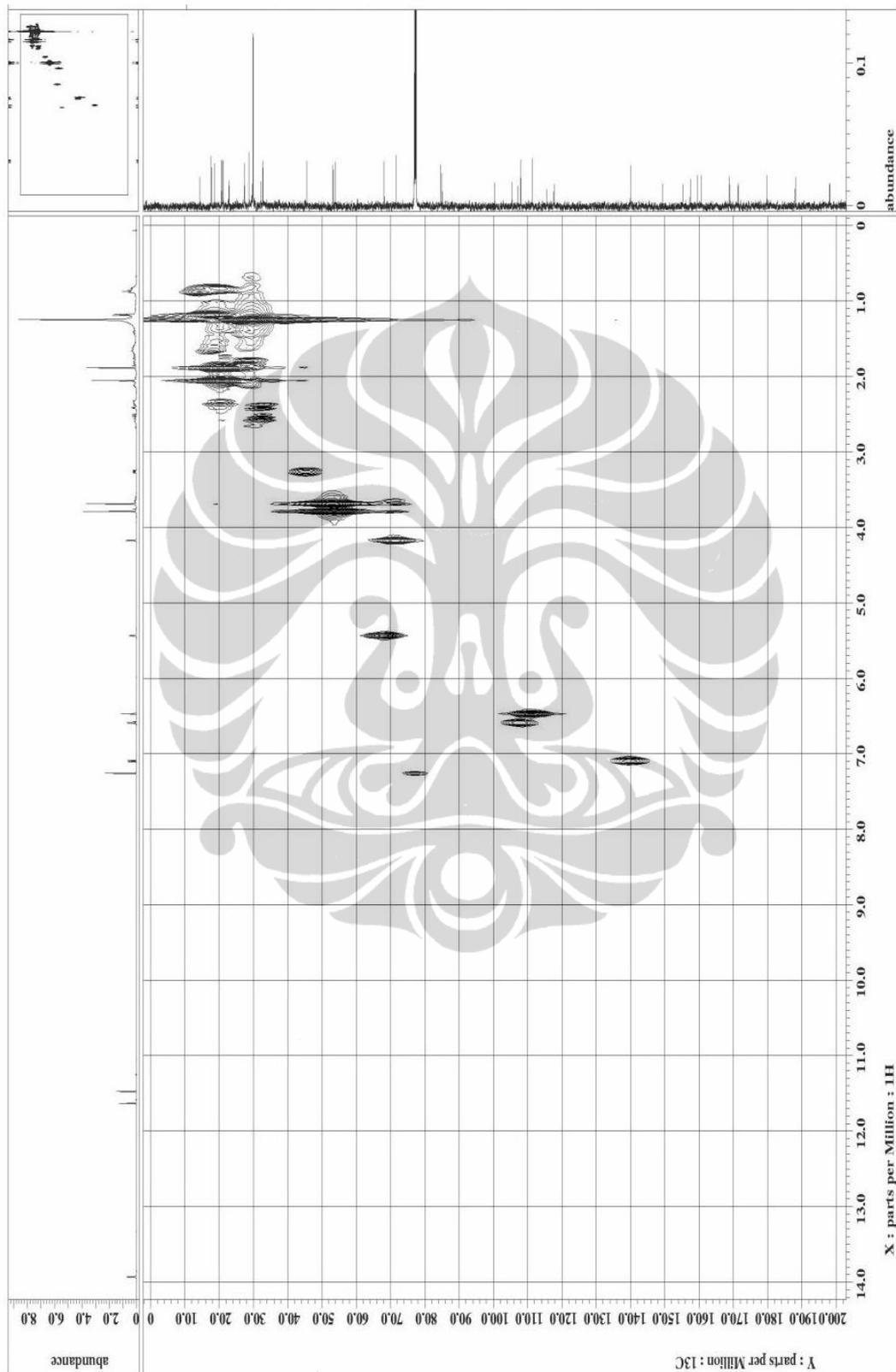
Lampiran 8. Spektrum UV Senyawa M₂

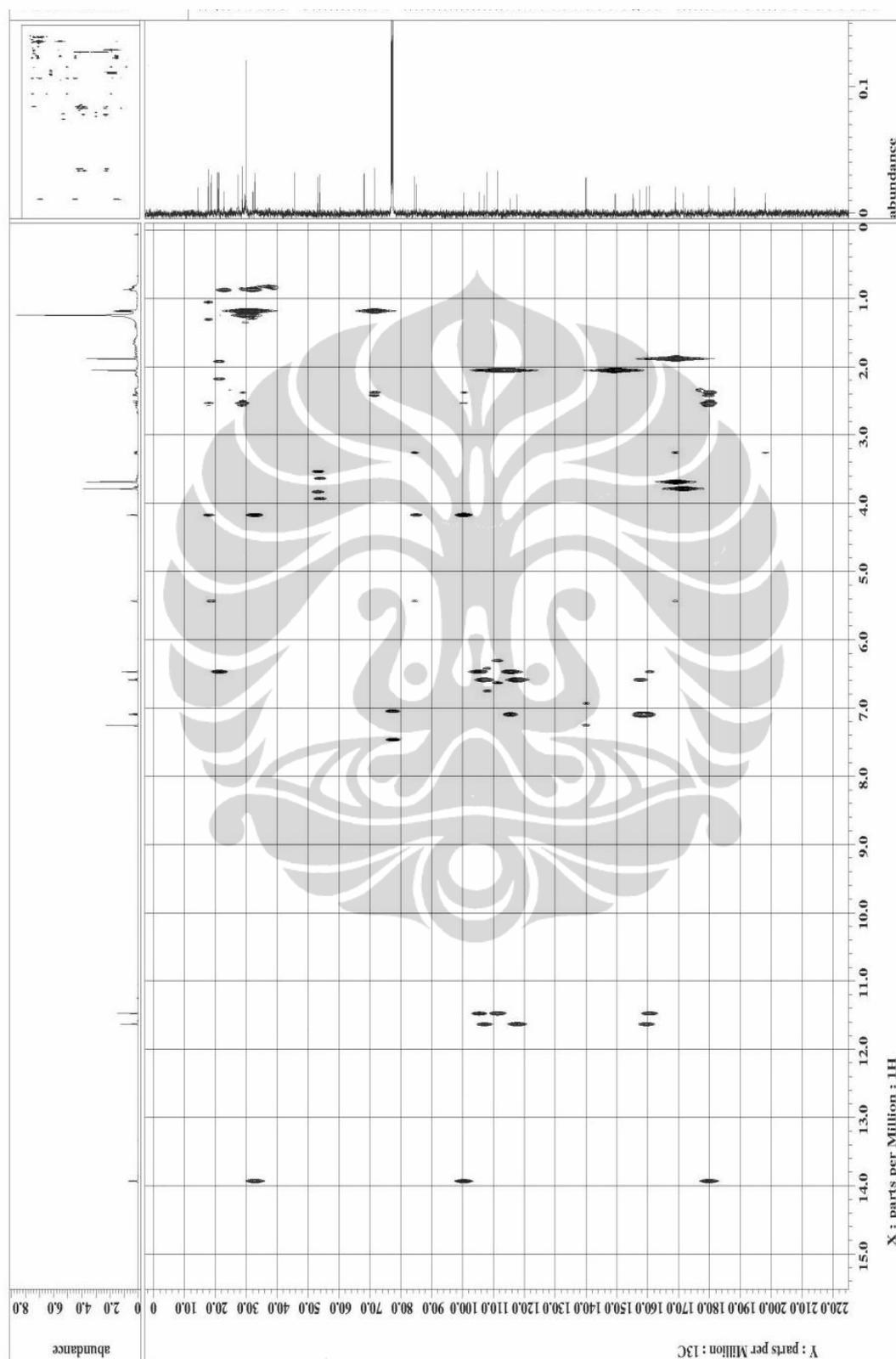


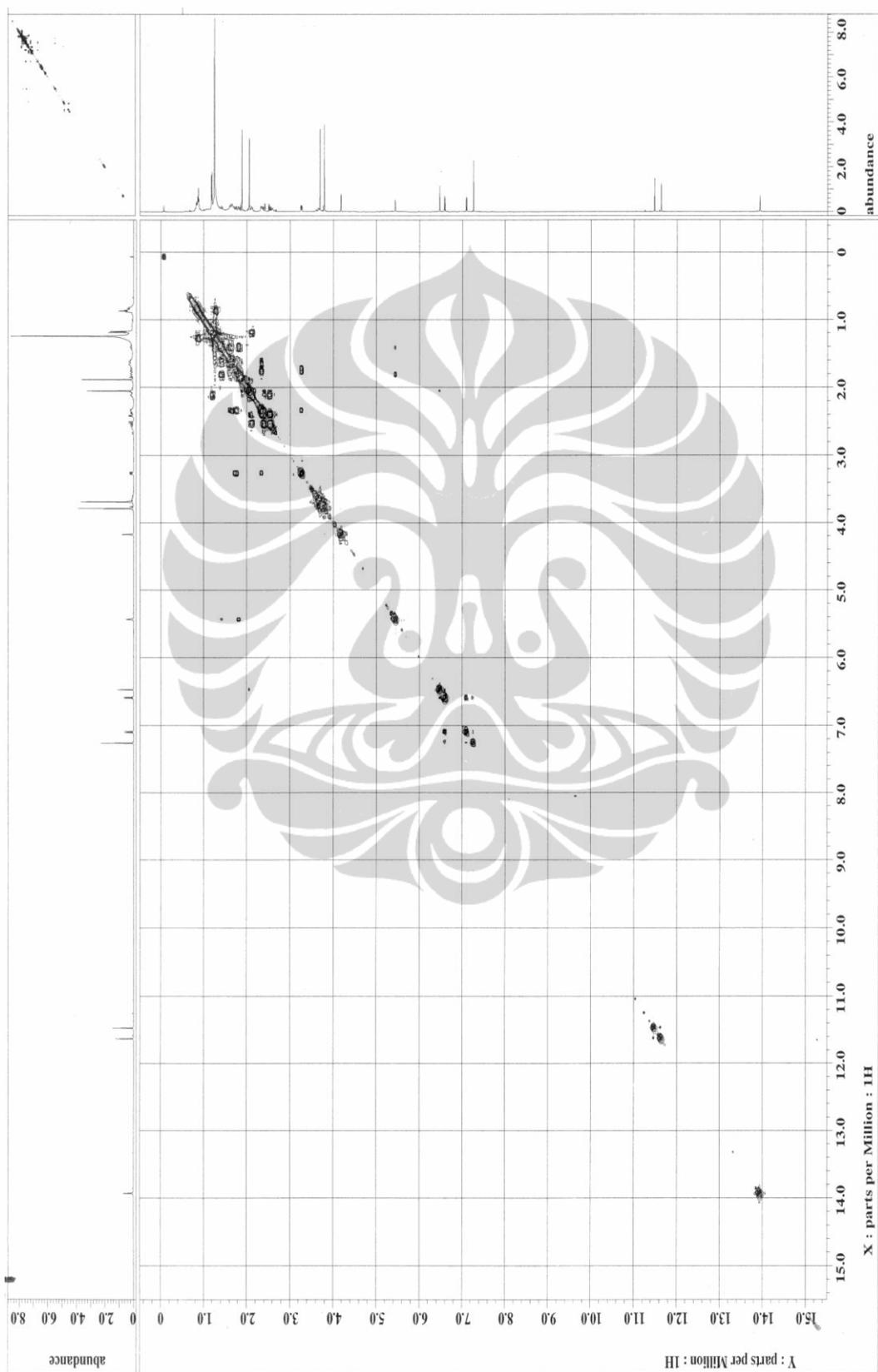
Lampiran 9. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa M_2 

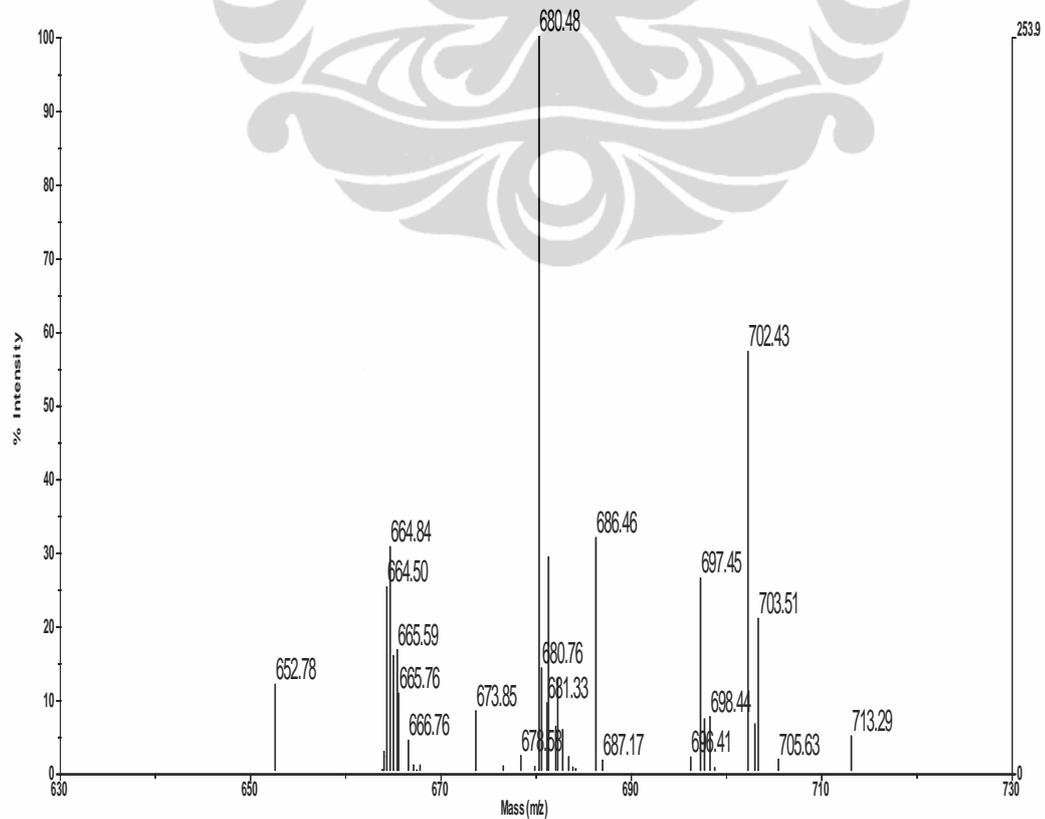
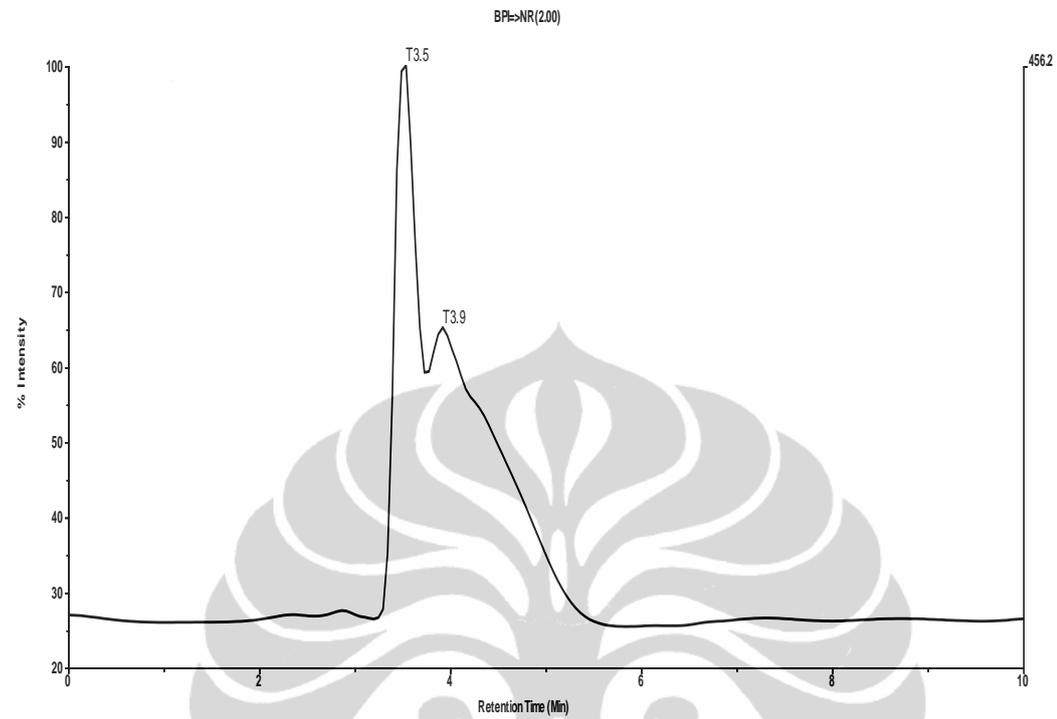
Lampiran 10. Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa M_2 

Lampiran 11. Spektrum DEPT Senyawa M₂

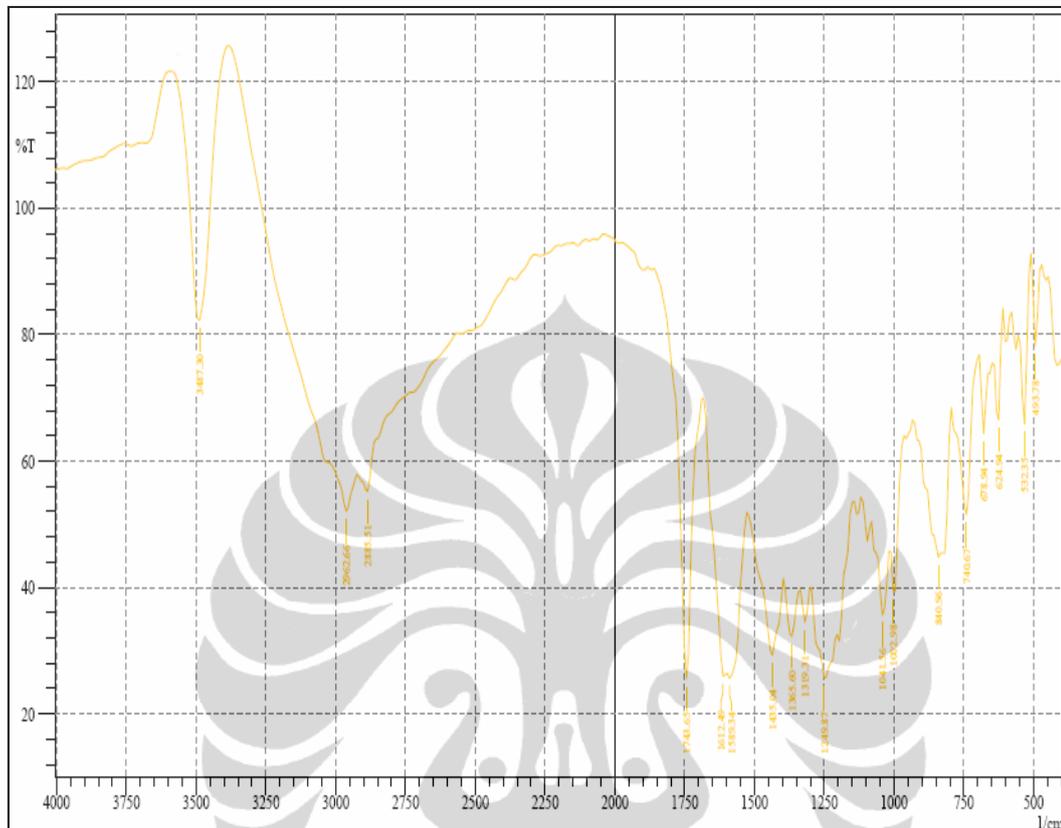
Lampiran 12. Spektrum HMQC Senyawa M₂

Lampiran 13. Spektrum HMBC Senyawa M₂

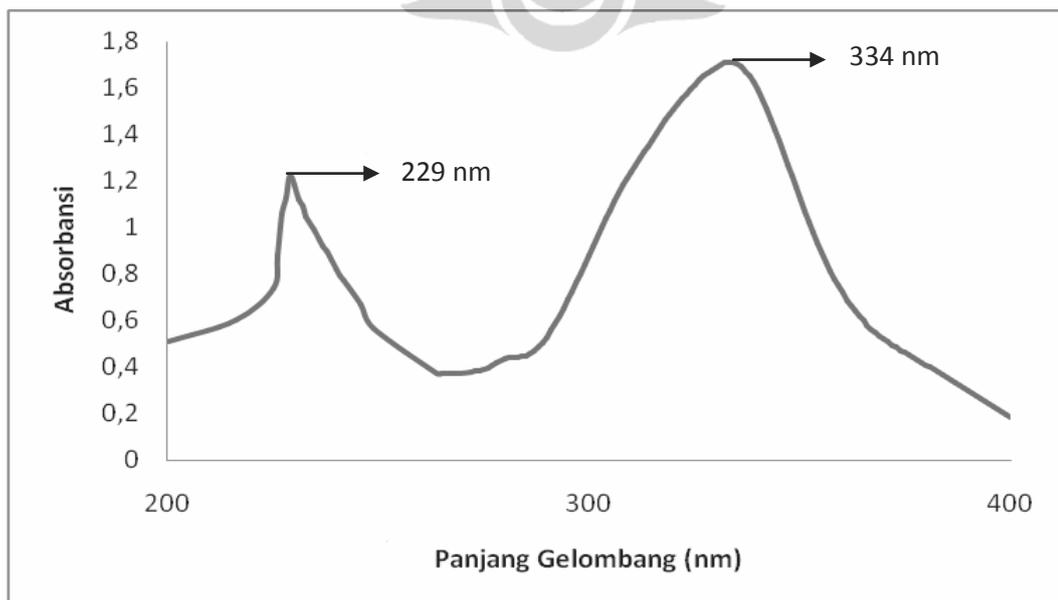
Lampiran 14. Spektrum COSY Senyawa M₂

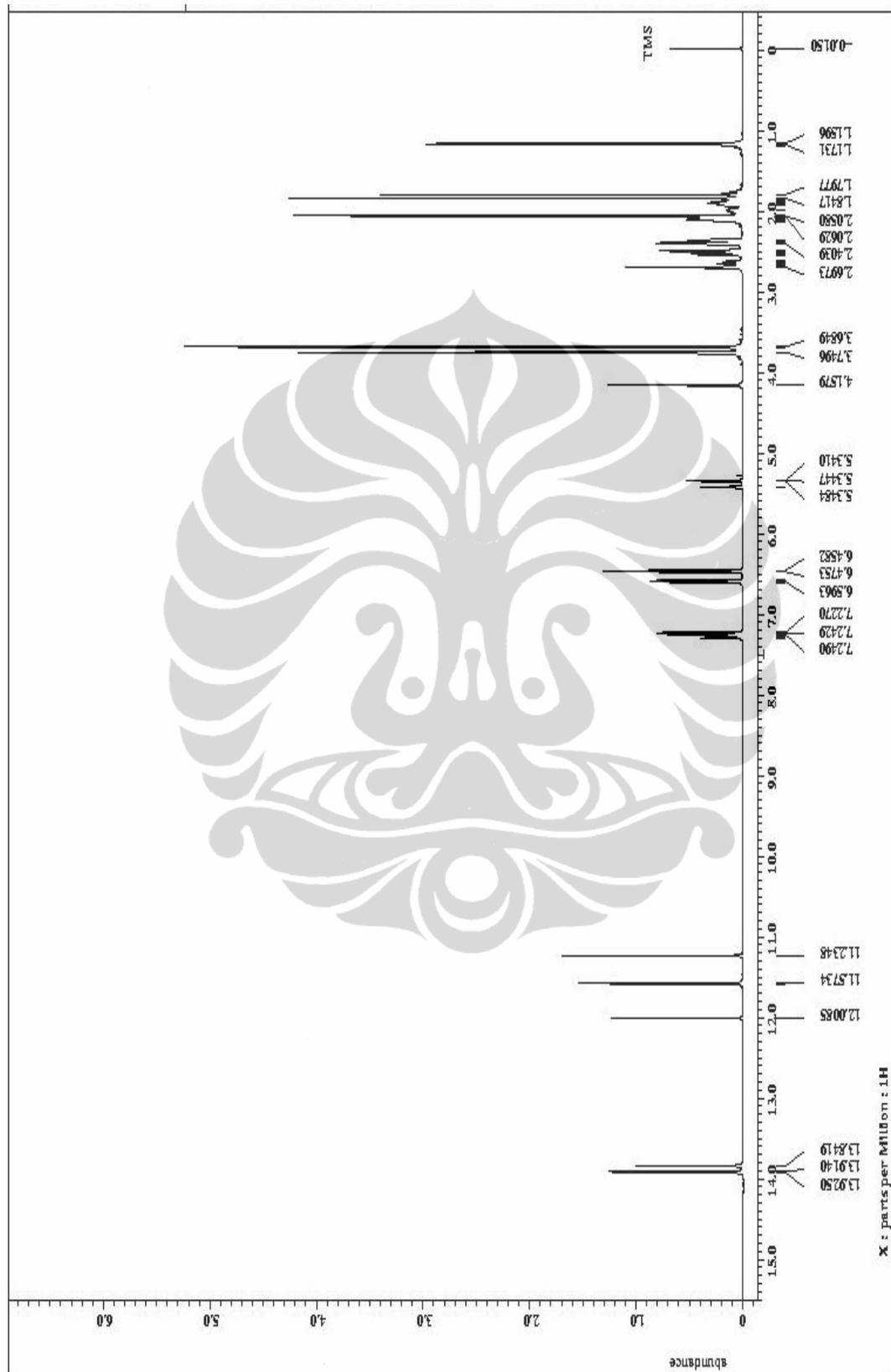
Lampiran 15. Kromatogram LC-MS Senyawa M₆

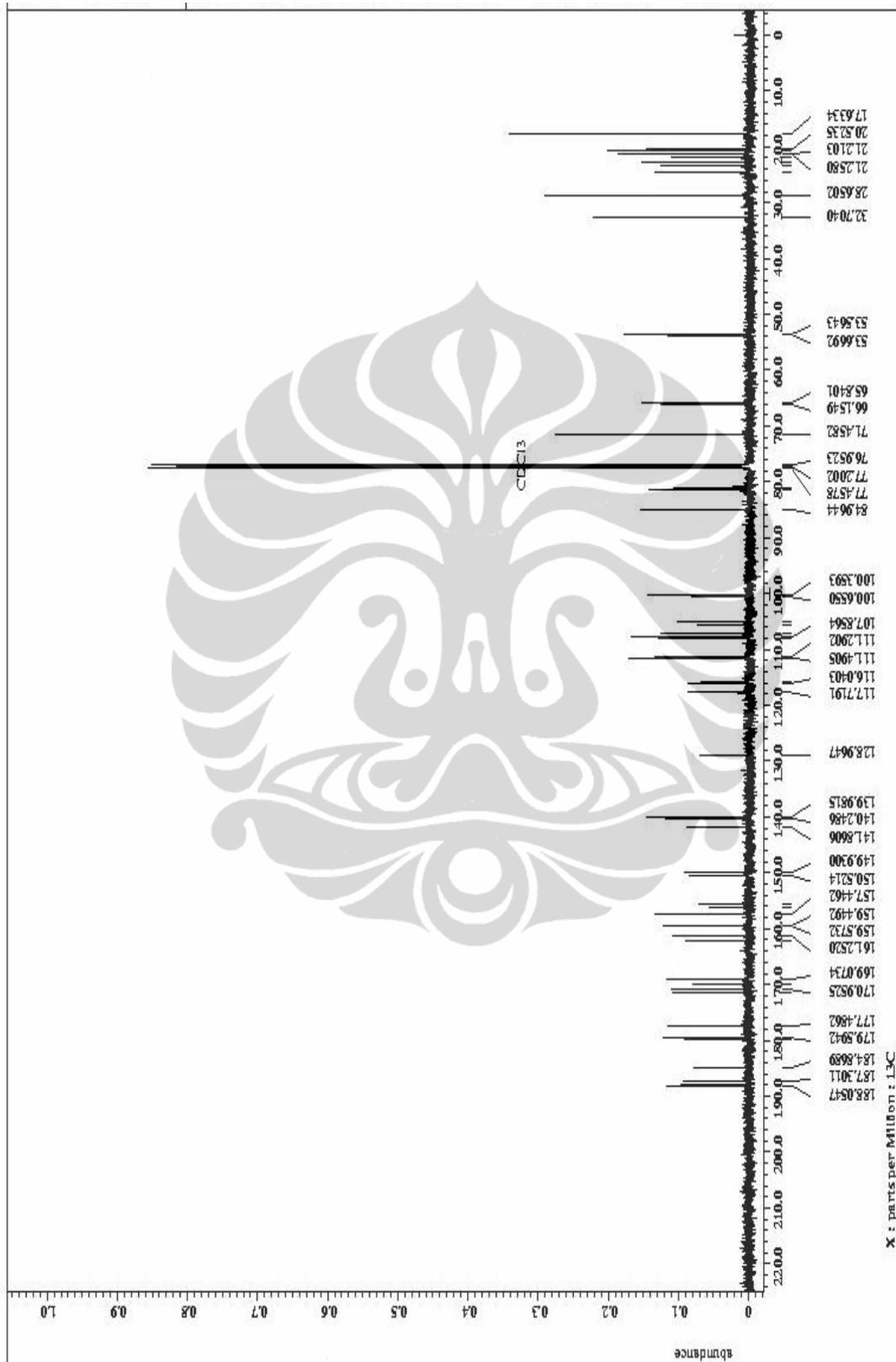
Lampiran 16. Spektrum FT-IR Senyawa M₆

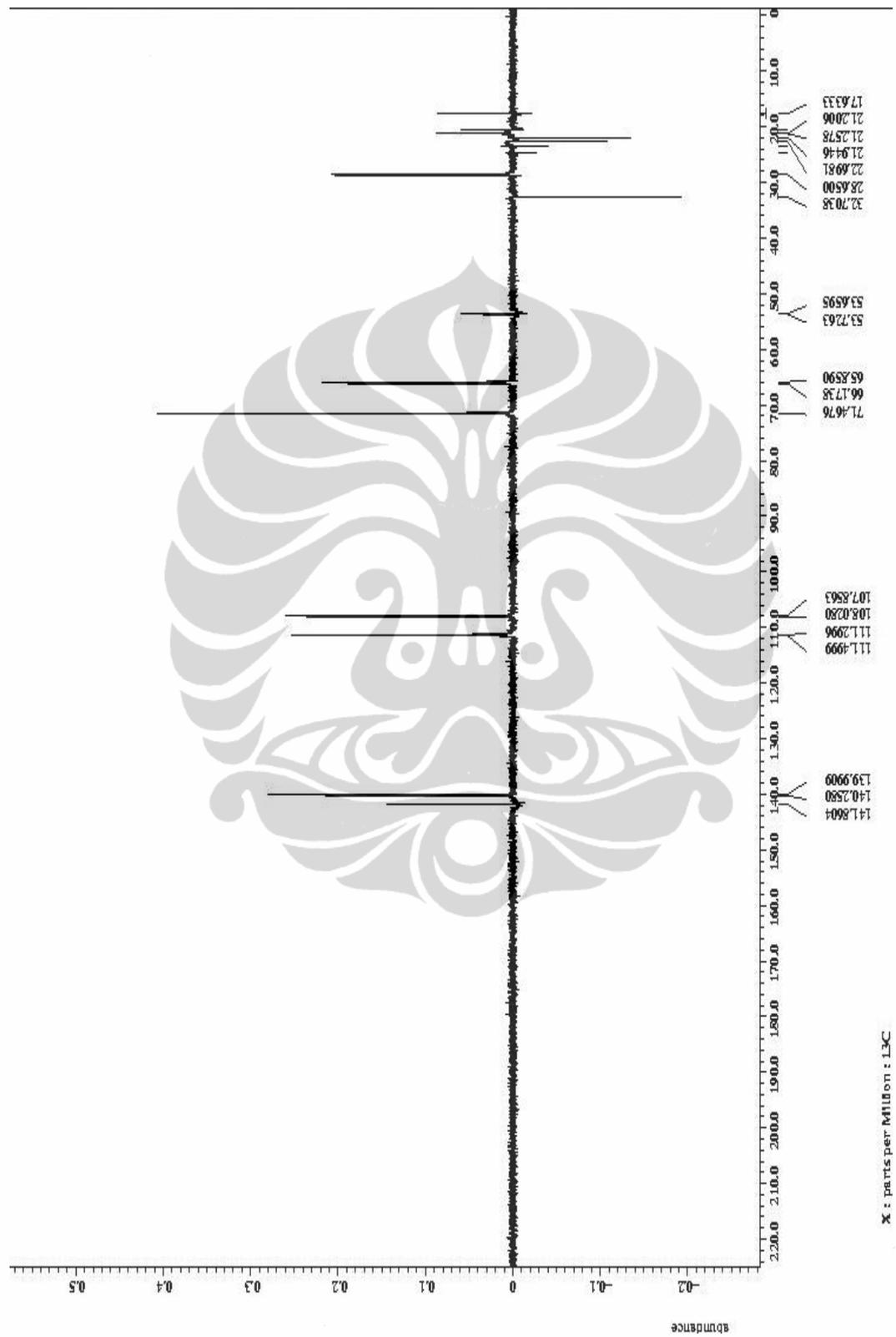


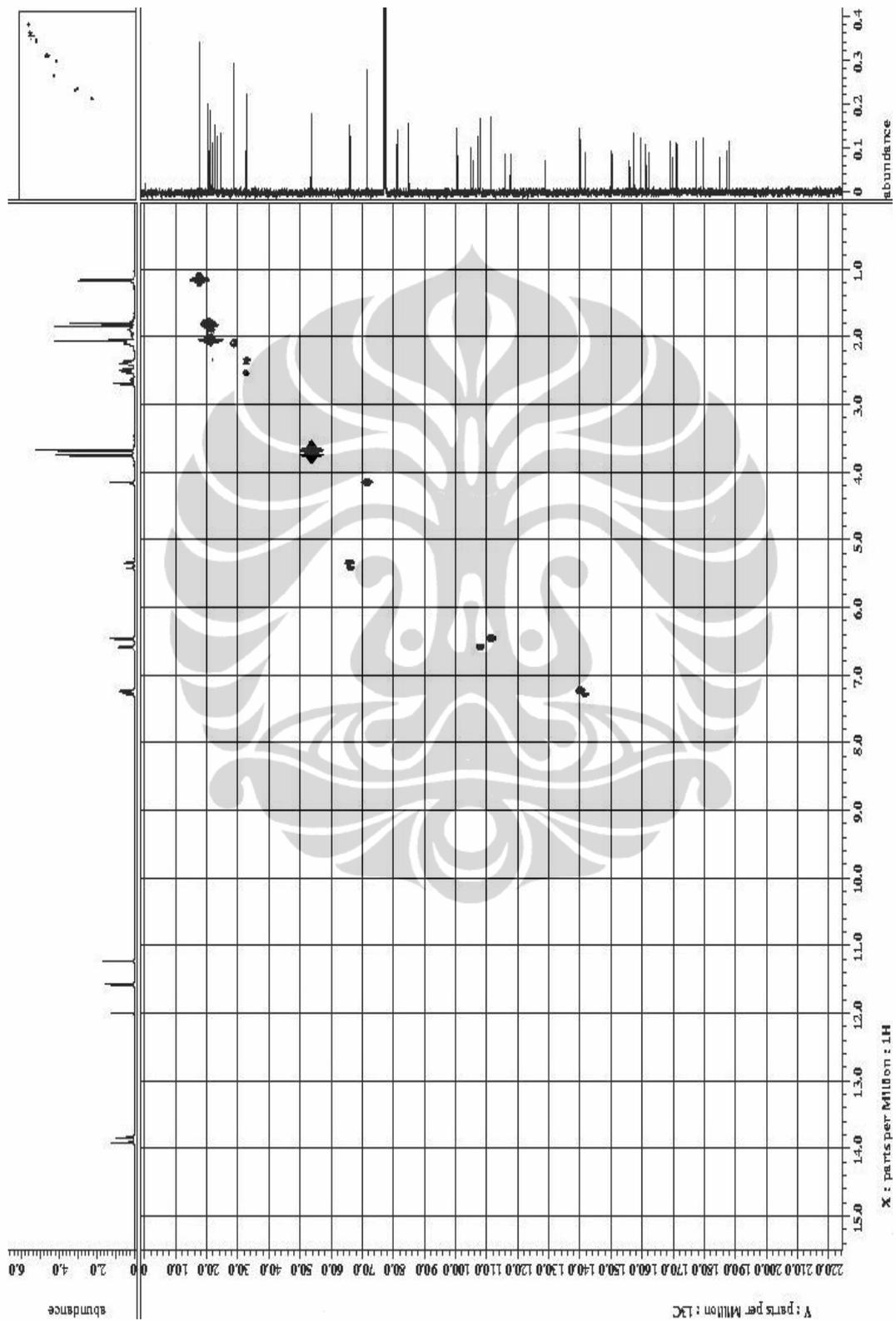
Lampiran 17. Spektrum UV Senyawa M₆

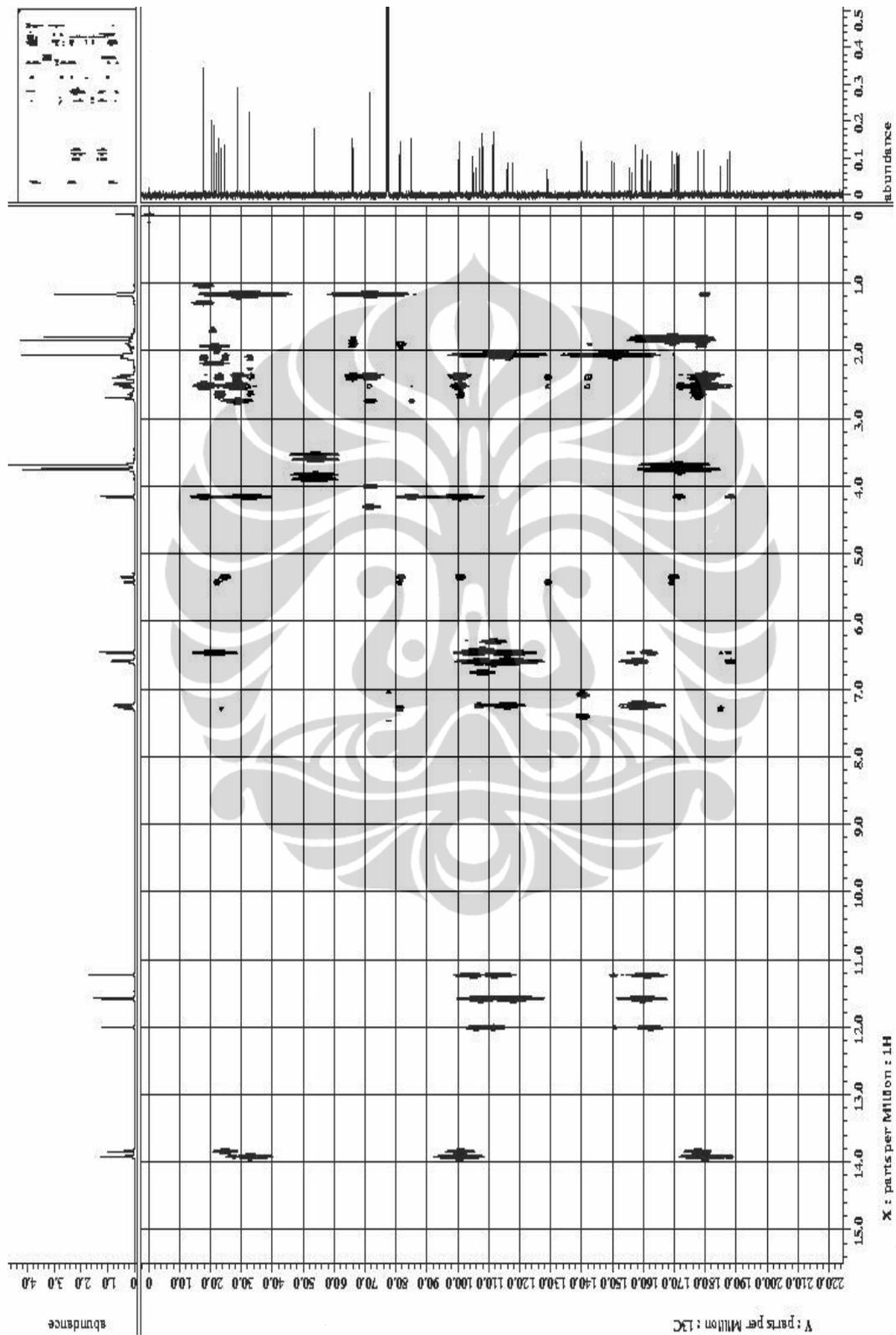


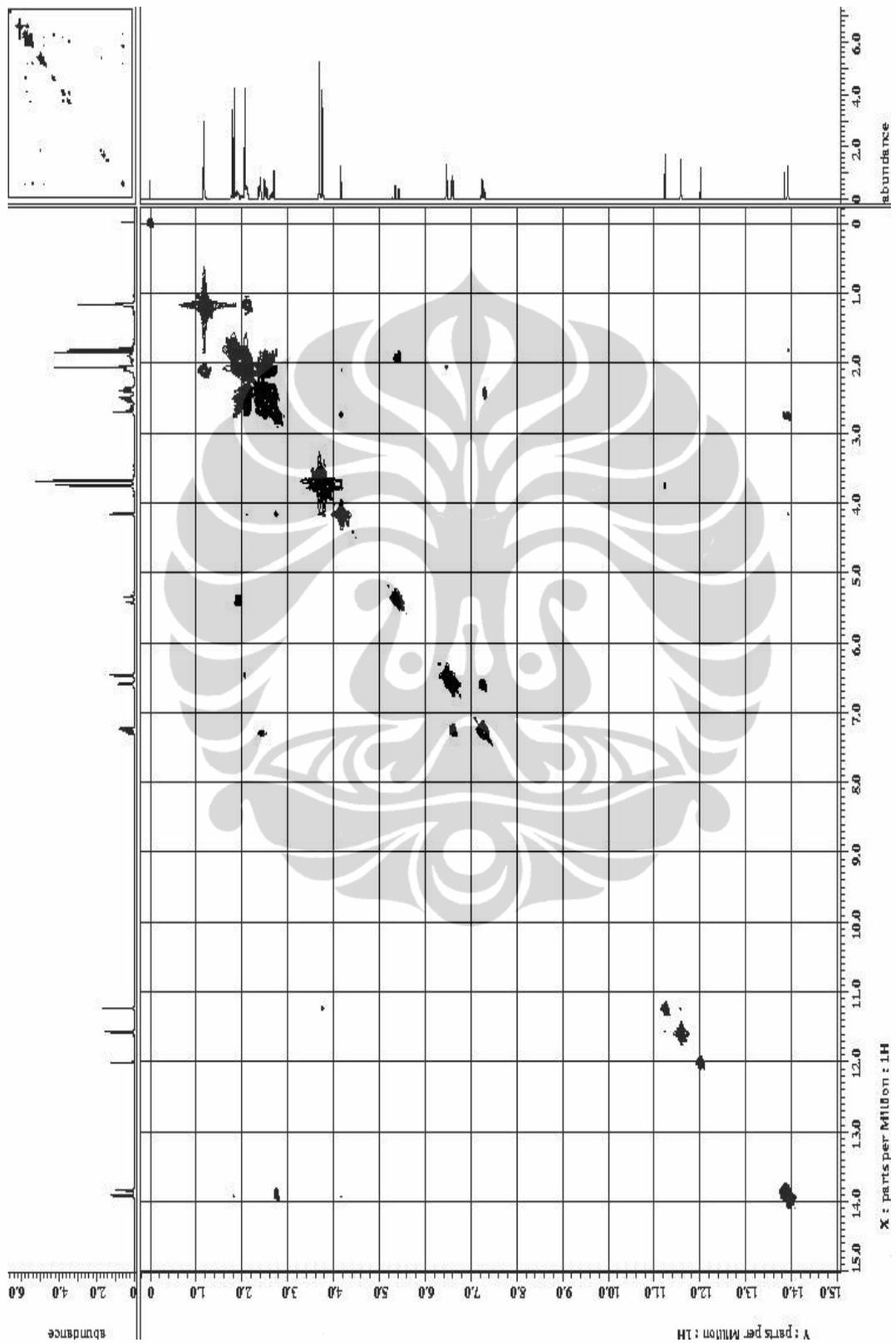
Lampiran 18. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa M_6 

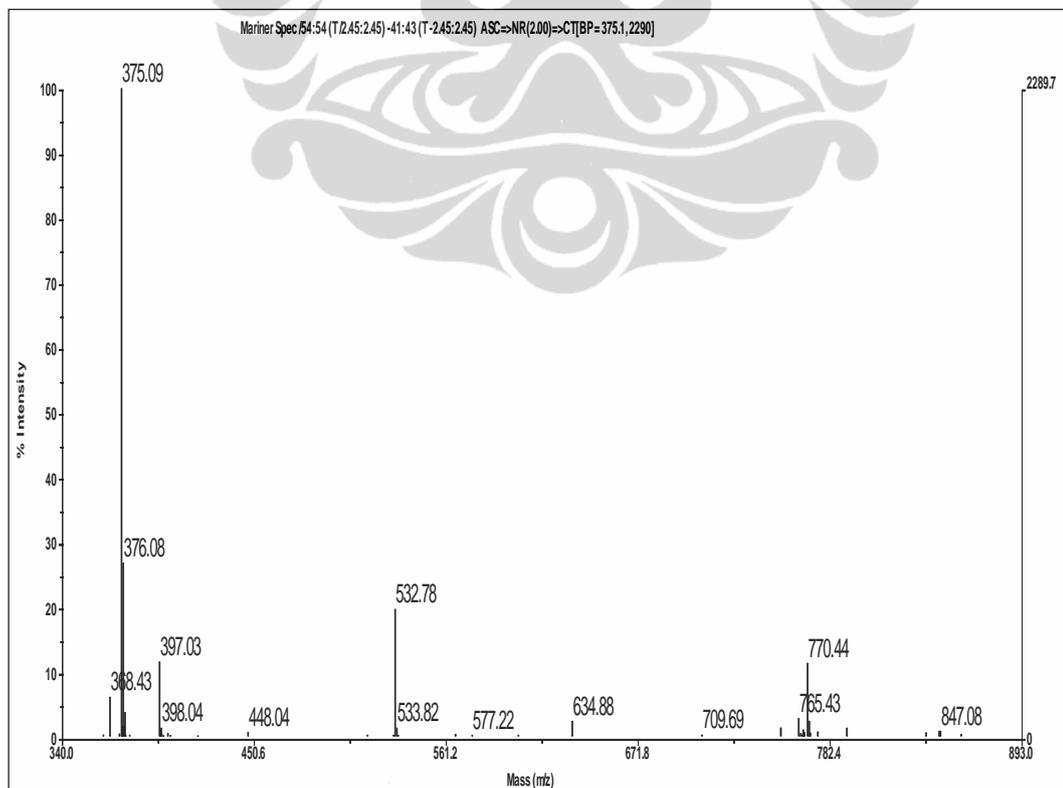
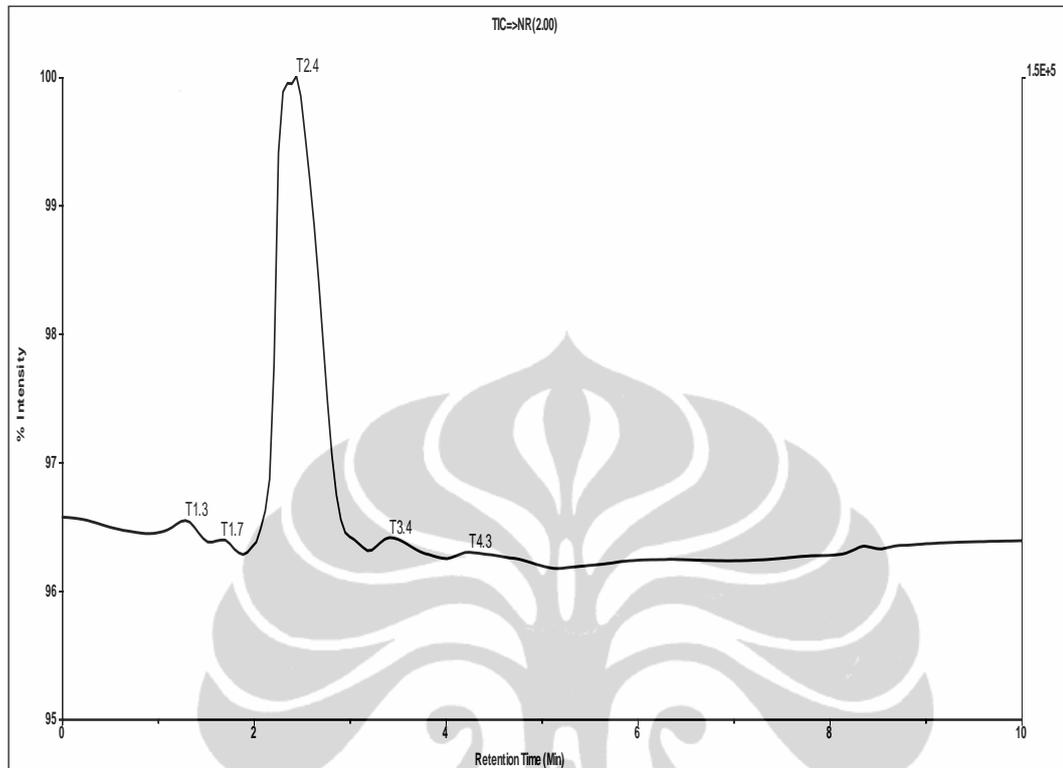
Lampiran 19. Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa M_6 

Lampiran 20. Spektrum DEPT Senyawa M₆

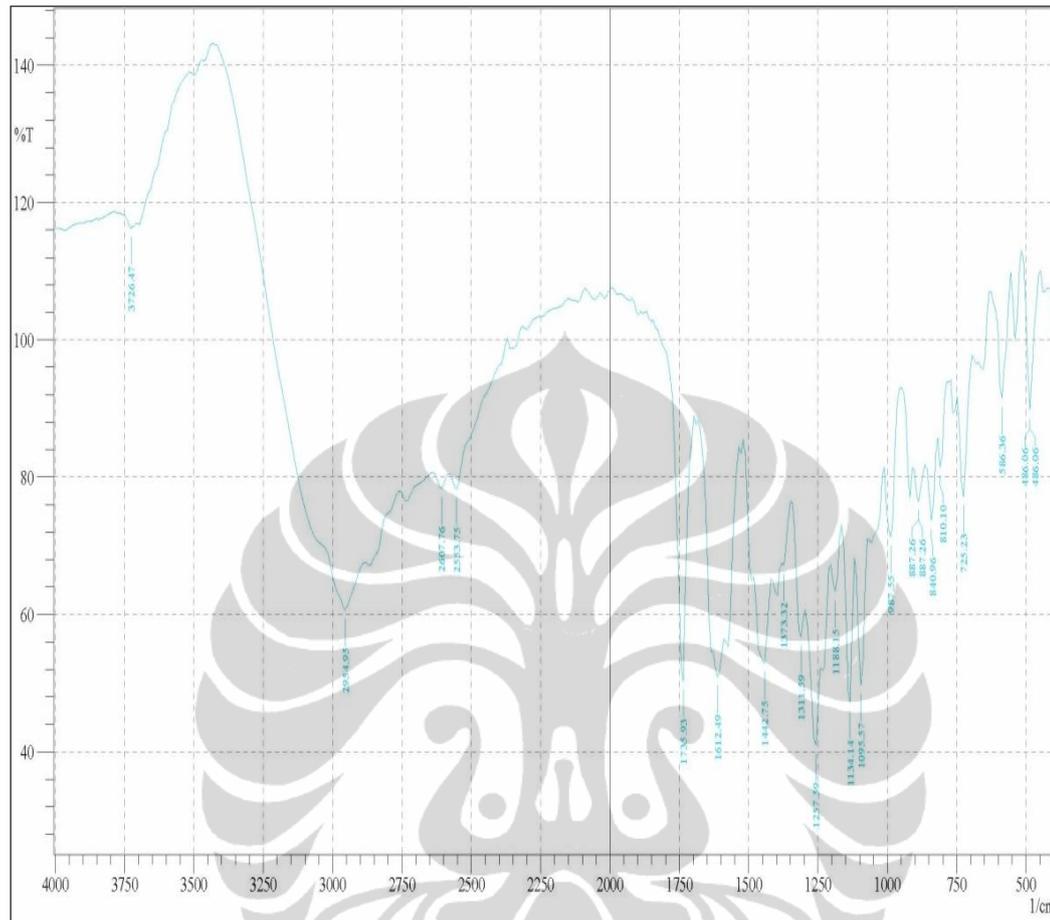
Lampiran 21. Spektrum HMQC Senyawa M₆

Lampiran 22. Spektrum HMBC Senyawa M₆

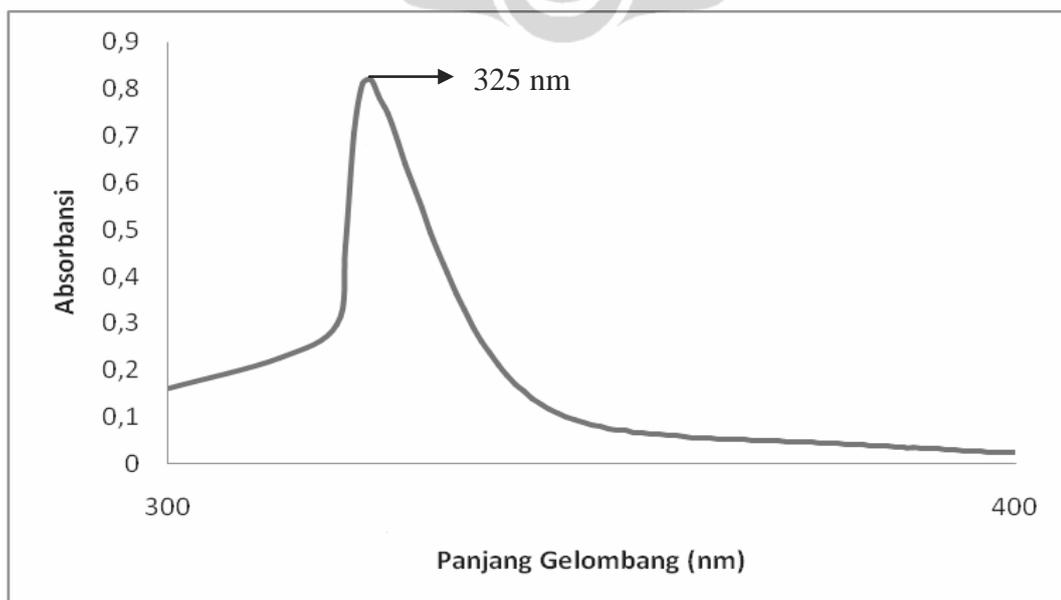
Lampiran 23. Spektrum COSY Senyawa M₆

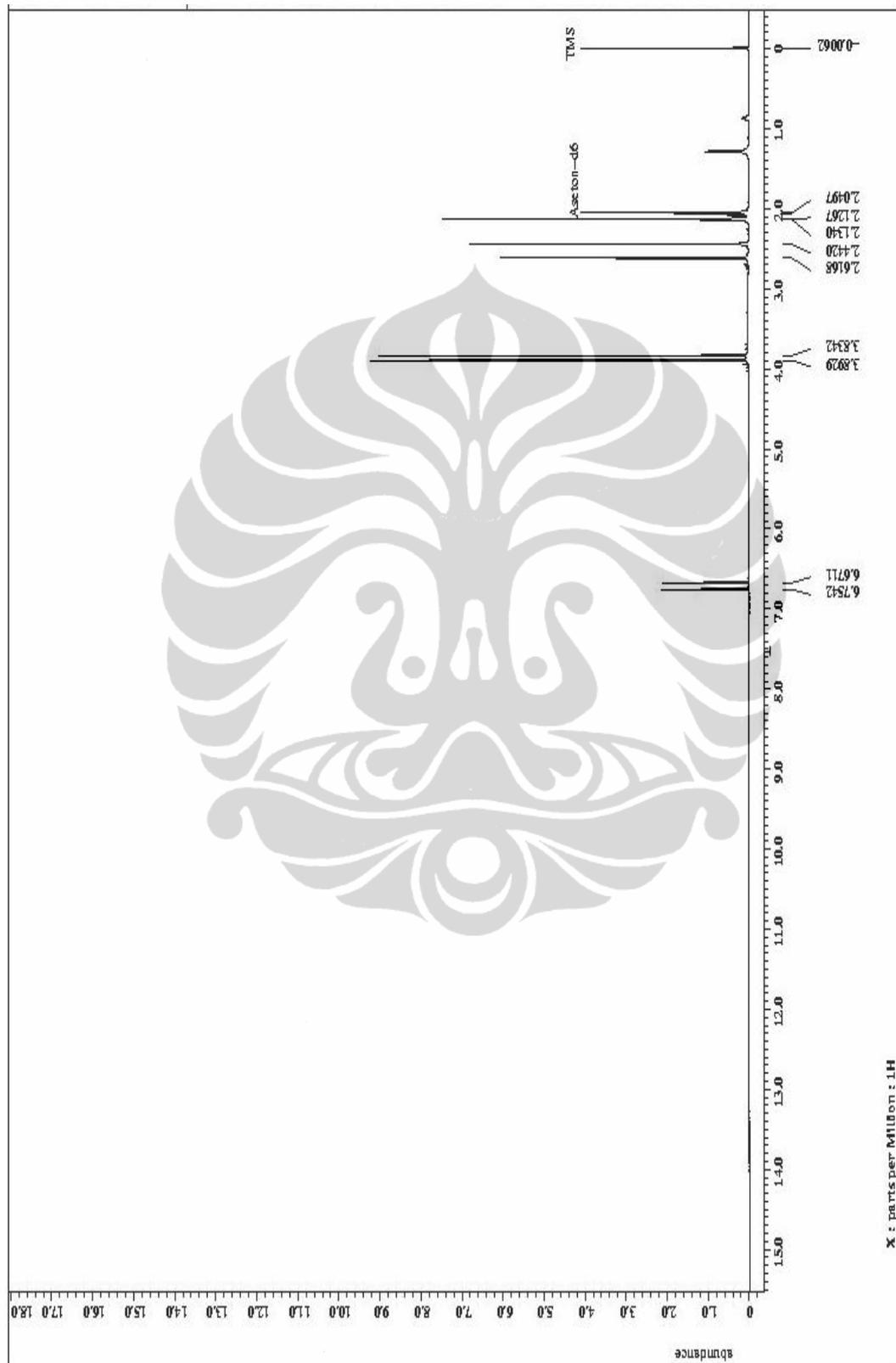
Lampiran 24. Kromatogram LC-MS Senyawa M₇

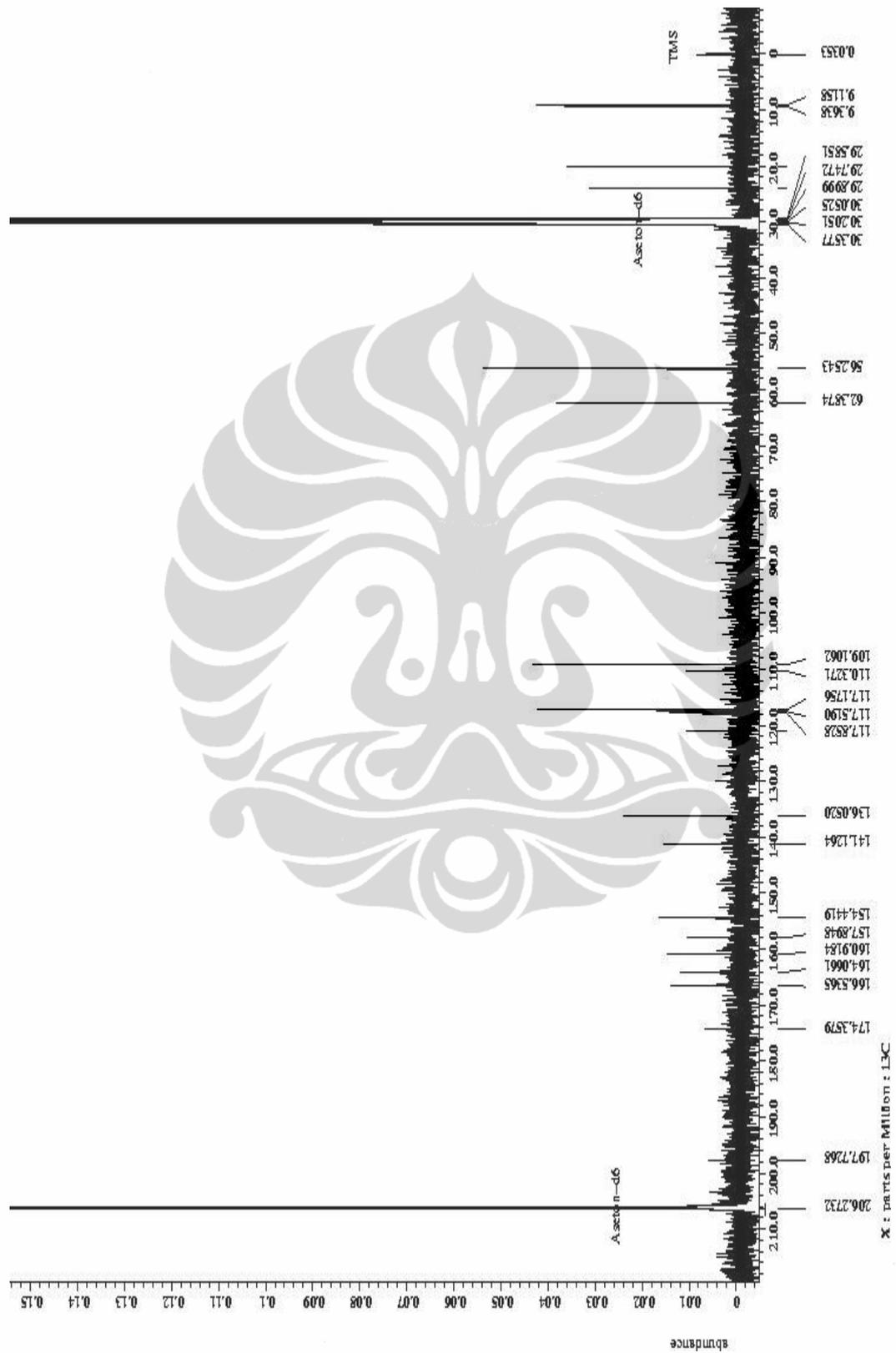
Lampiran 25. Spektrum FT-IR Senyawa M₇

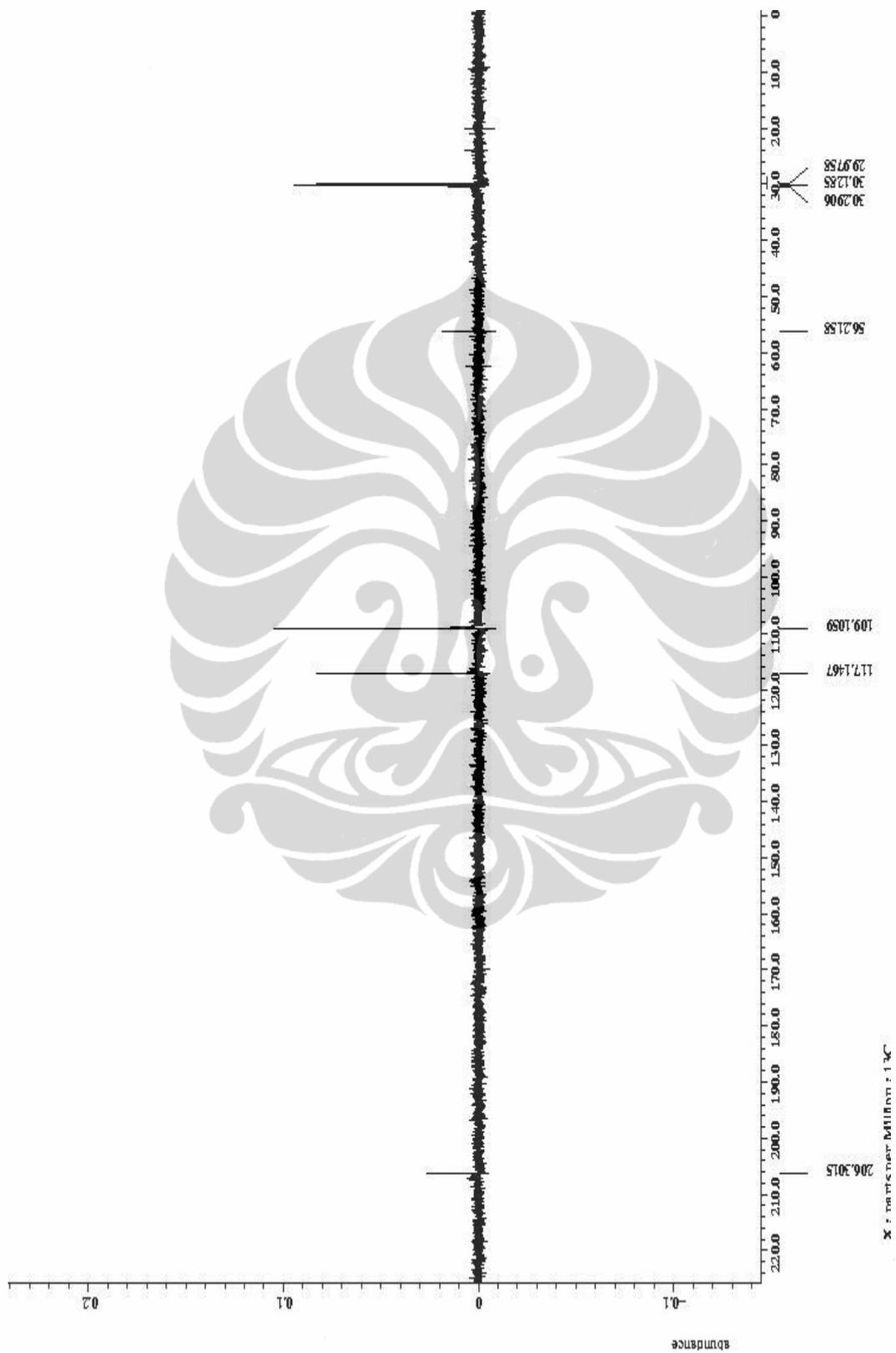


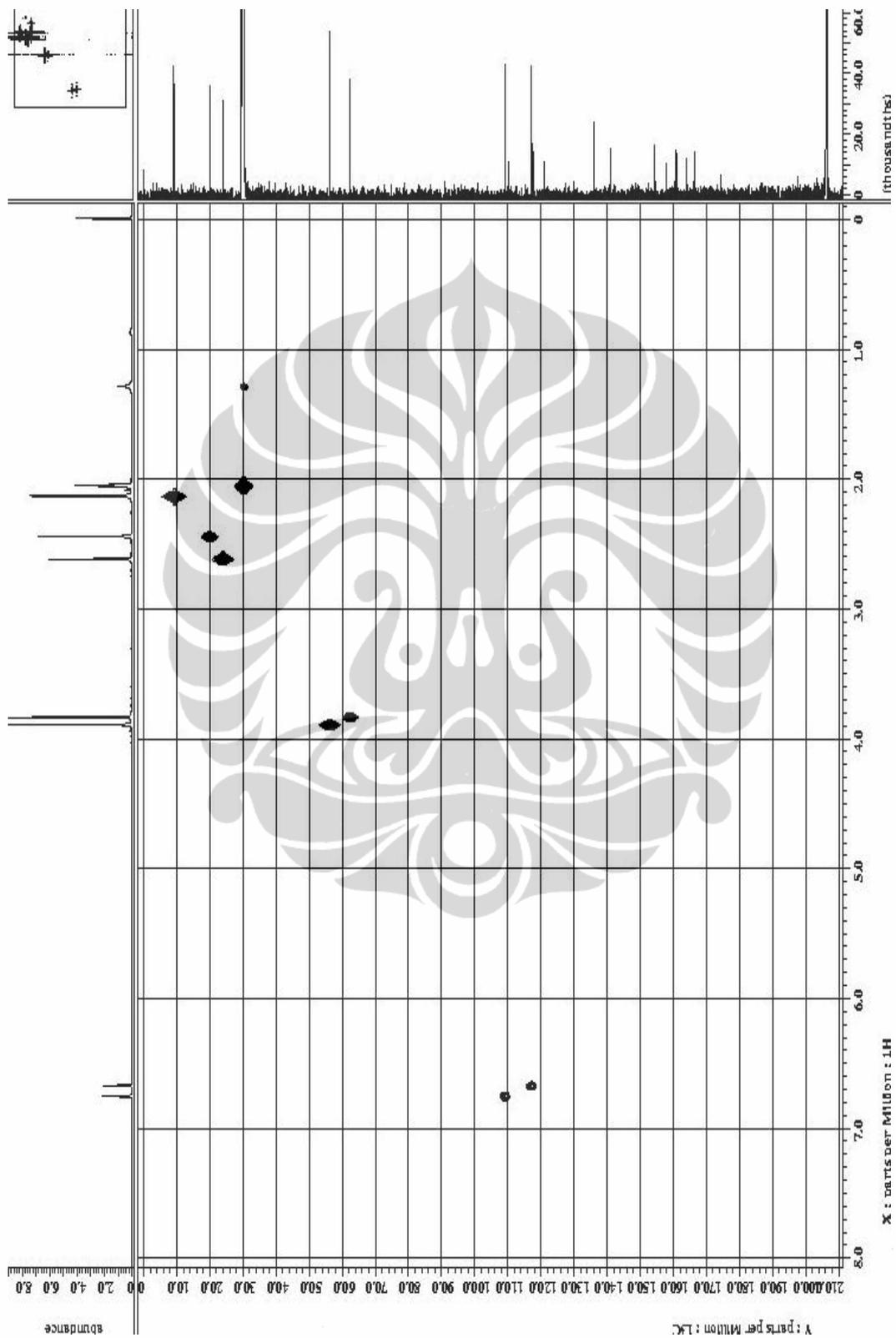
Lampiran 26. Spektrum UV Senyawa M₇

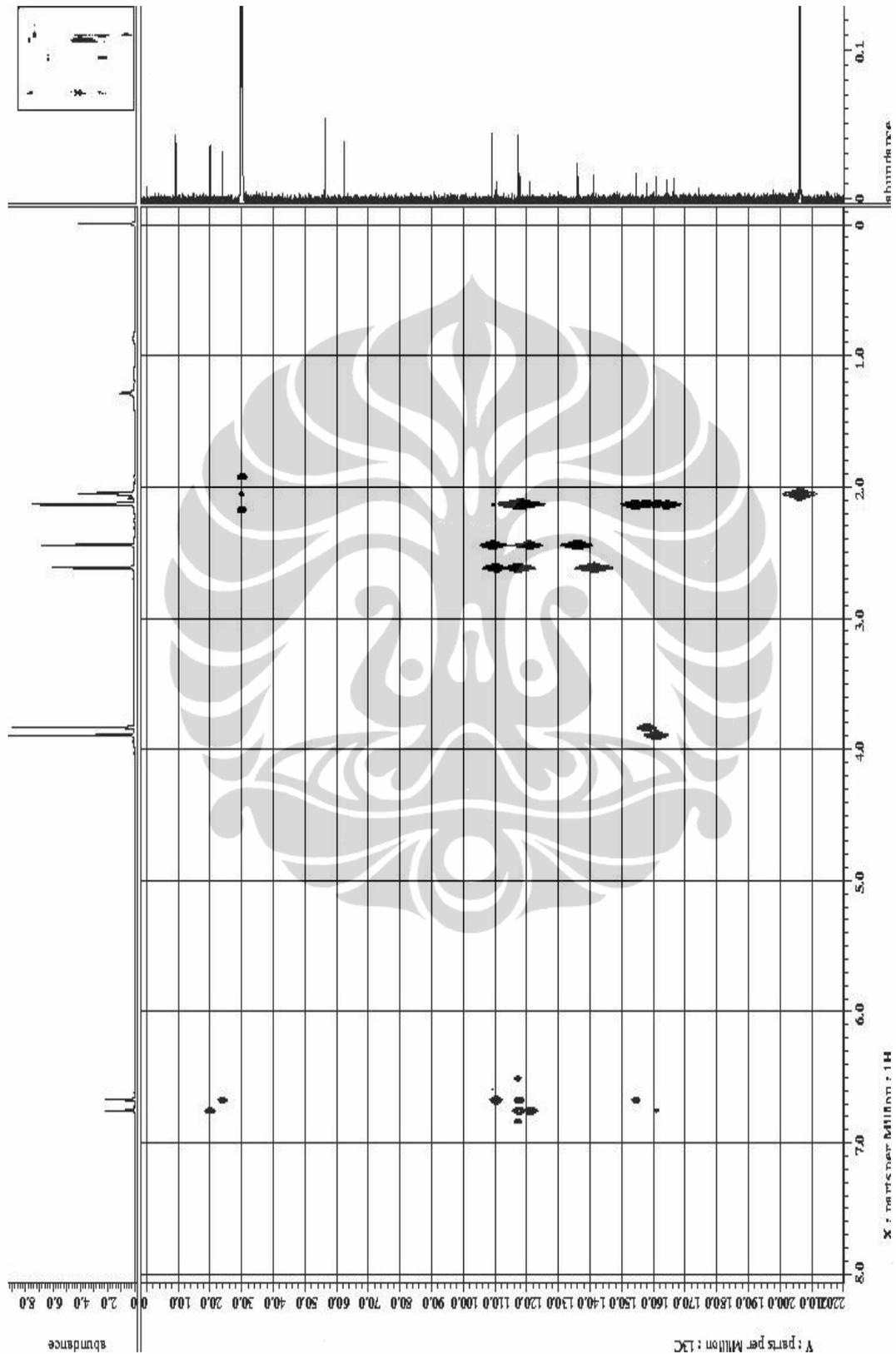


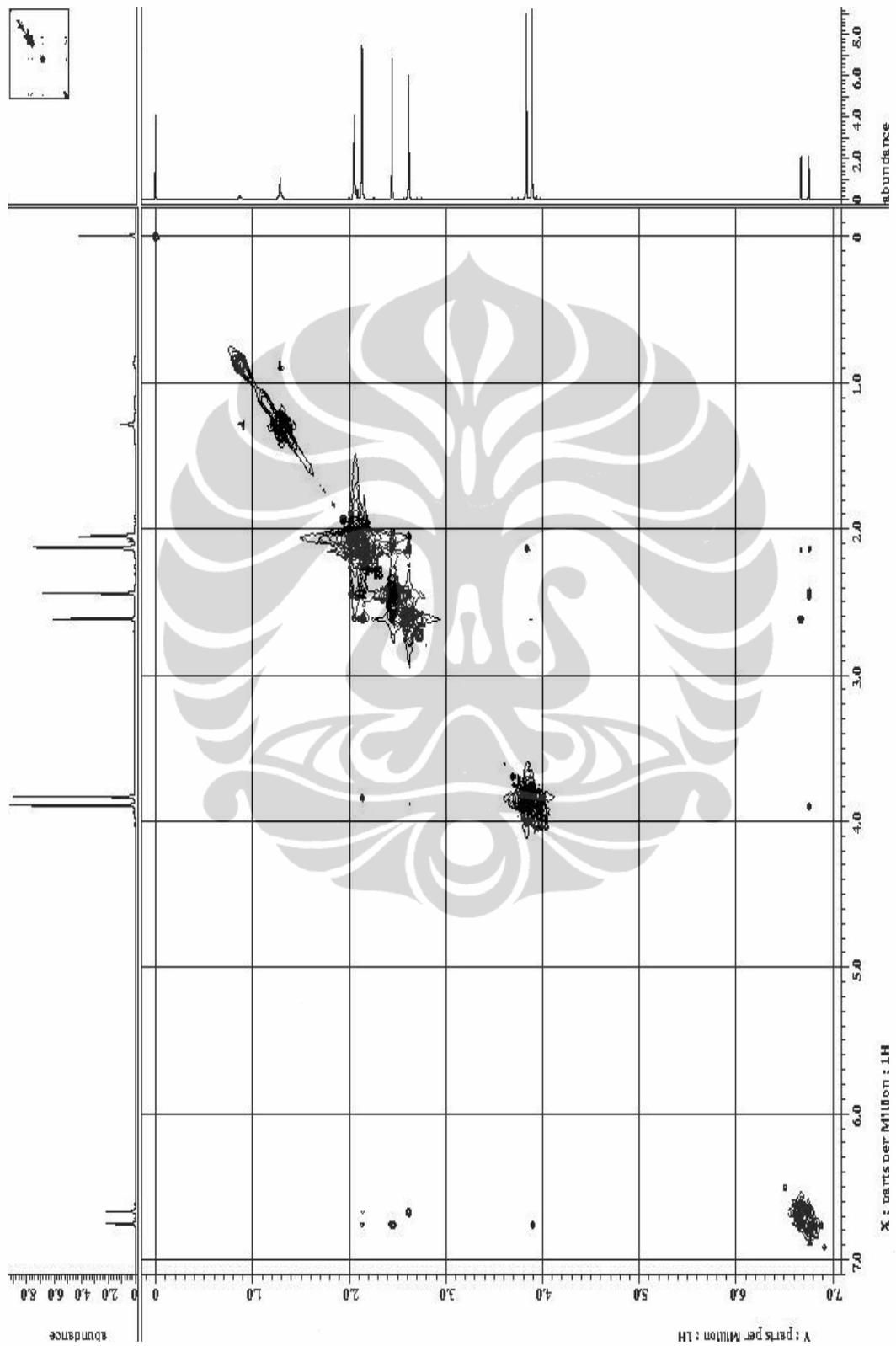
Lampiran 27. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa M_7 

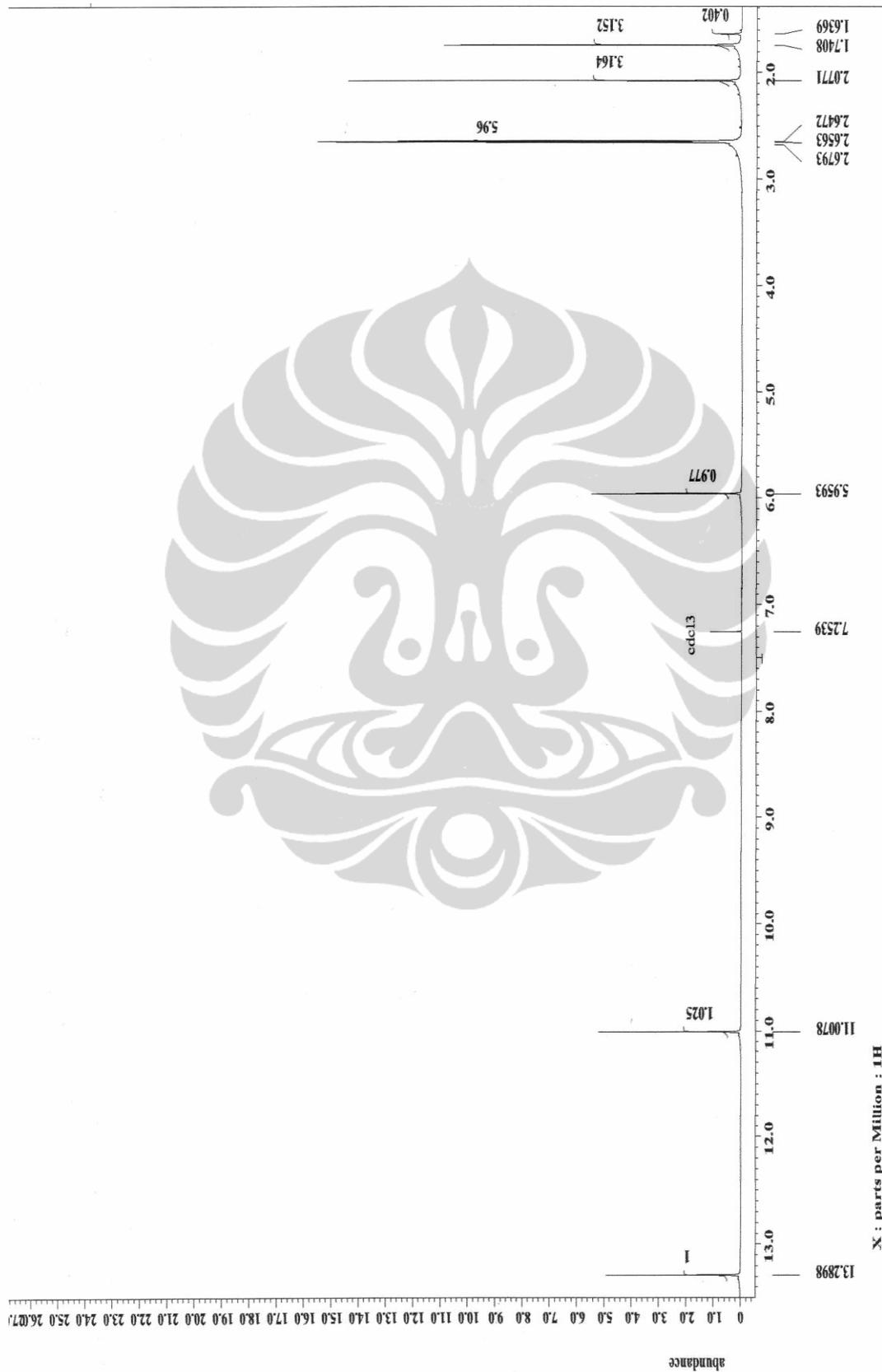
Lampiran 28. Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa M_7 

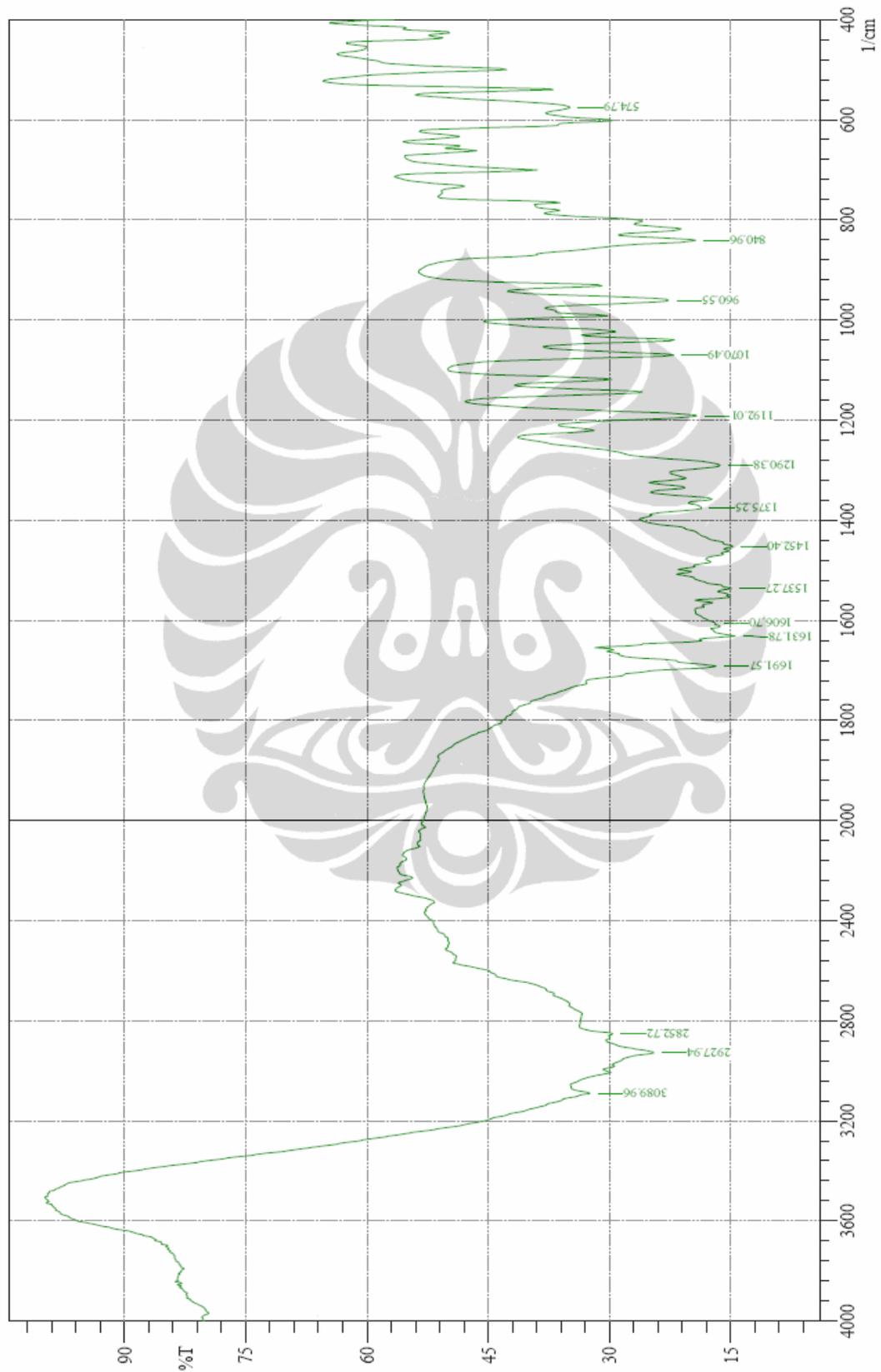
Lampiran 29. Spektrum DEPT Senyawa M₇

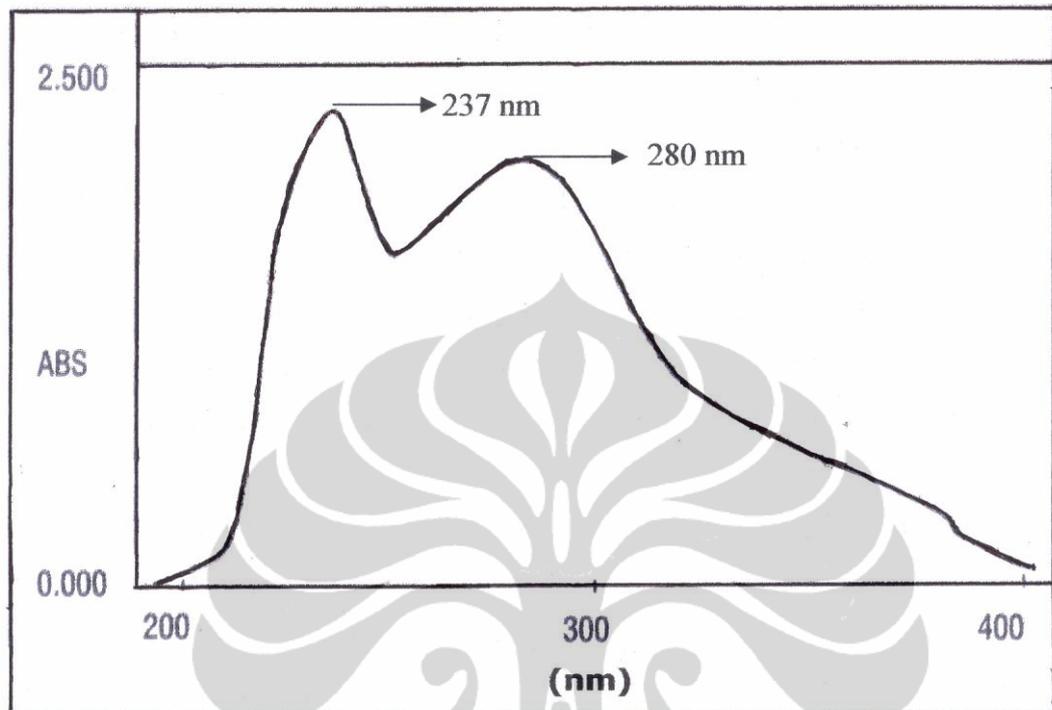
Lampiran 30. Spektrum HMQC Senyawa M₇

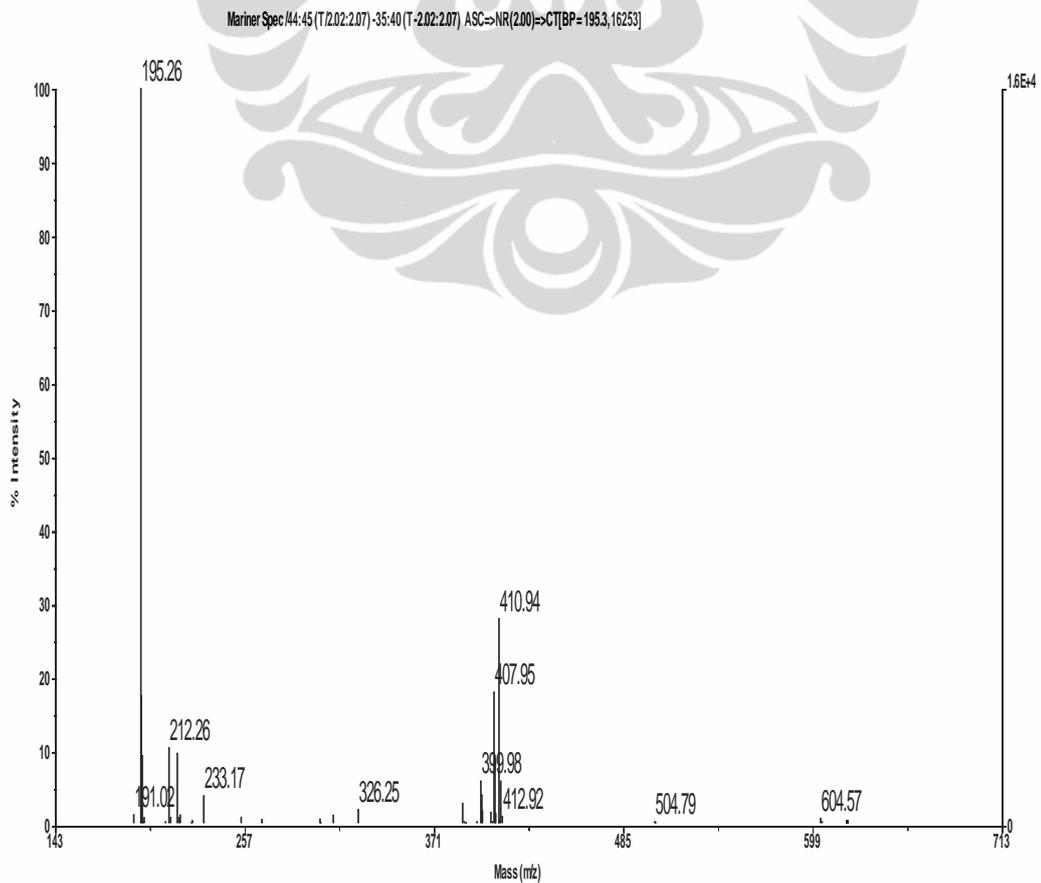
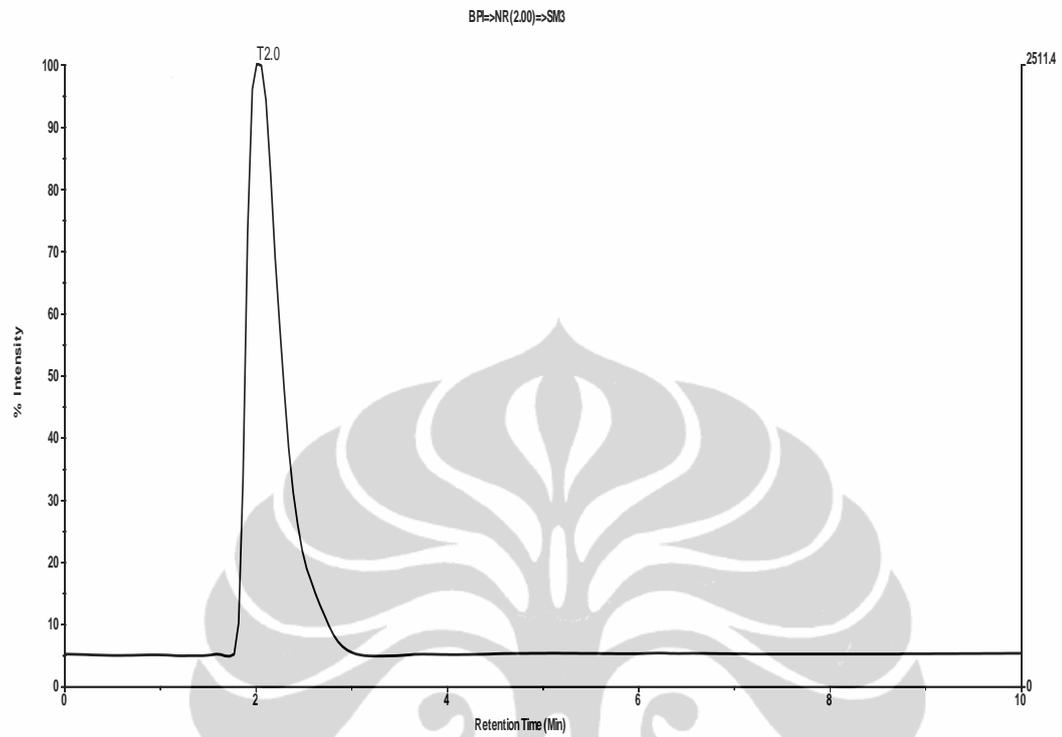
Lampiran 31. Spektrum HMBC Senyawa M₇

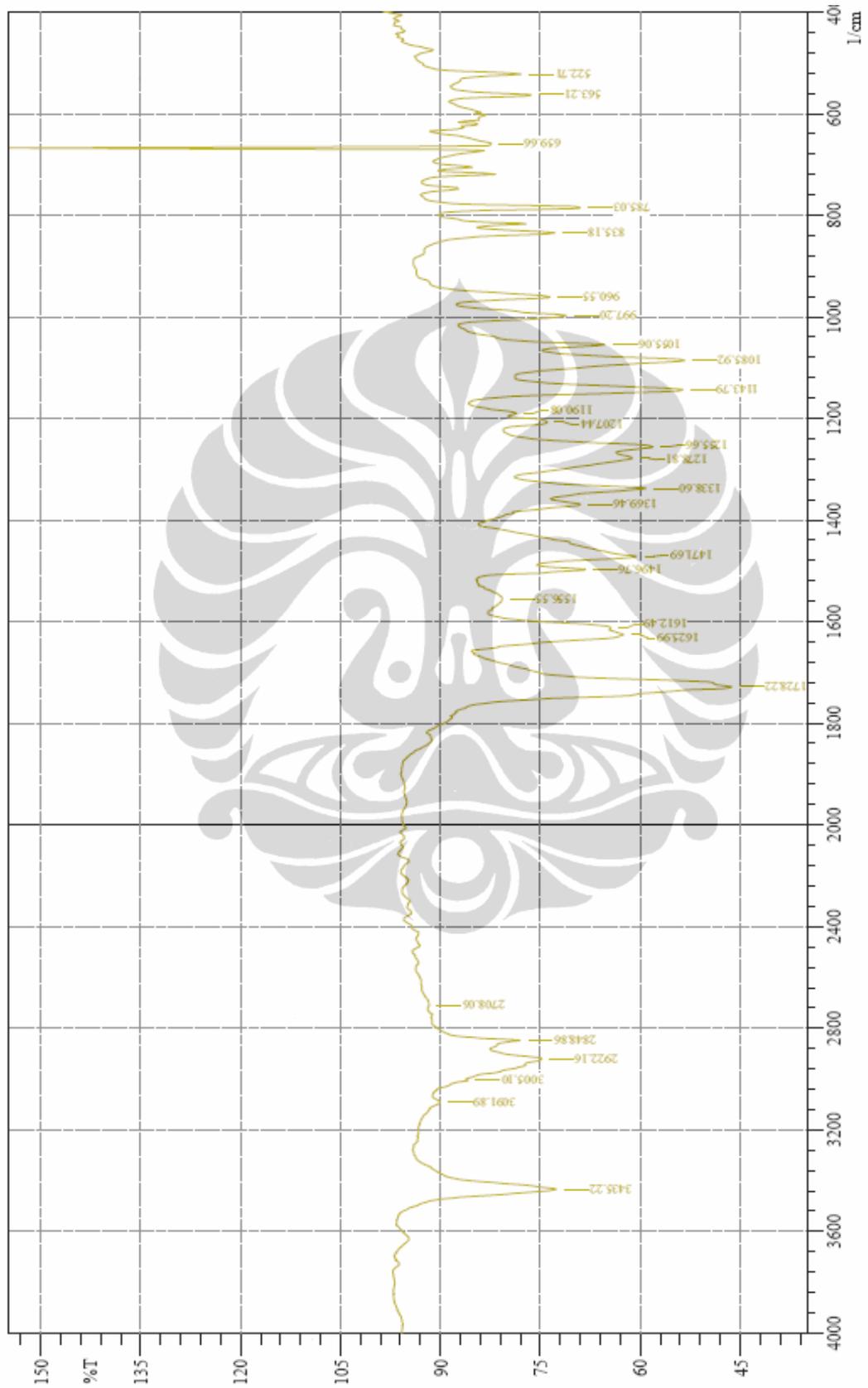
Lampiran 32. Spektrum COSY Senyawa M₇

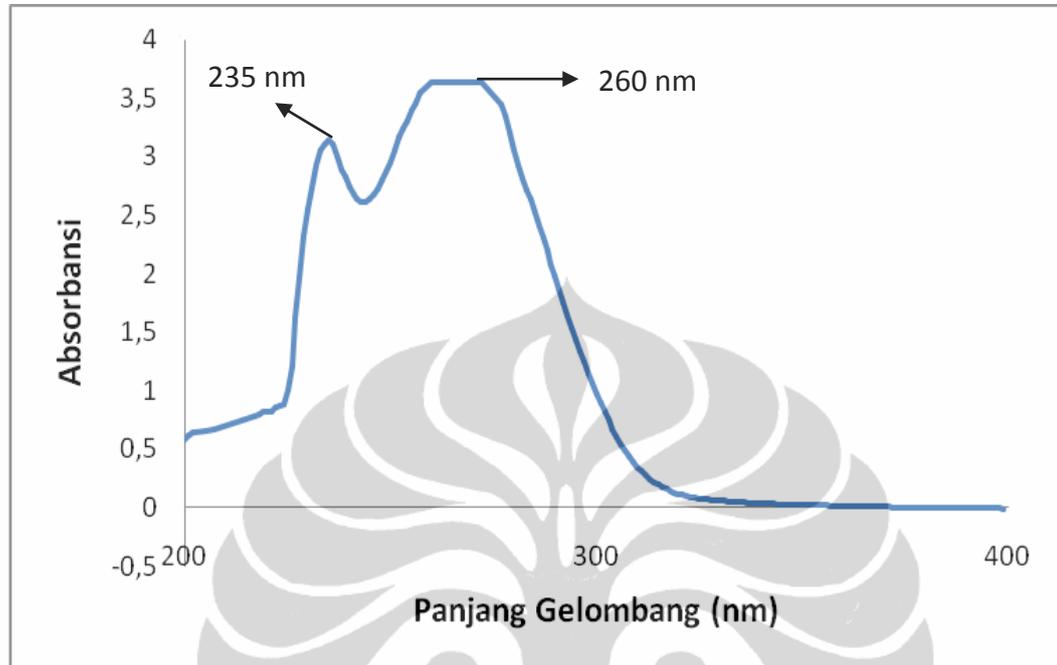
Lampiran 33. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa M_1F 

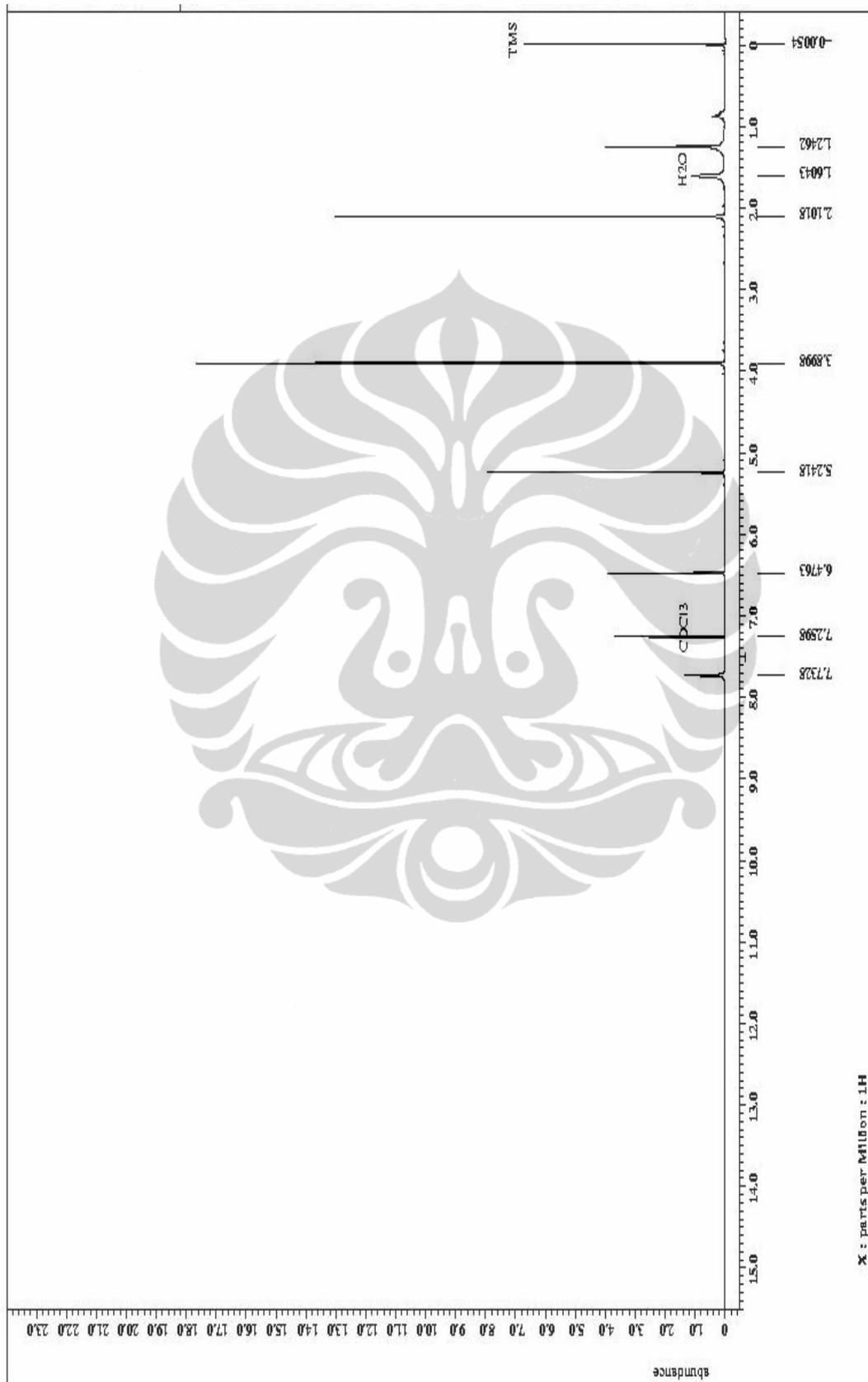
Lampiran 34. Spektrum FT-IR Senyawa M₁F

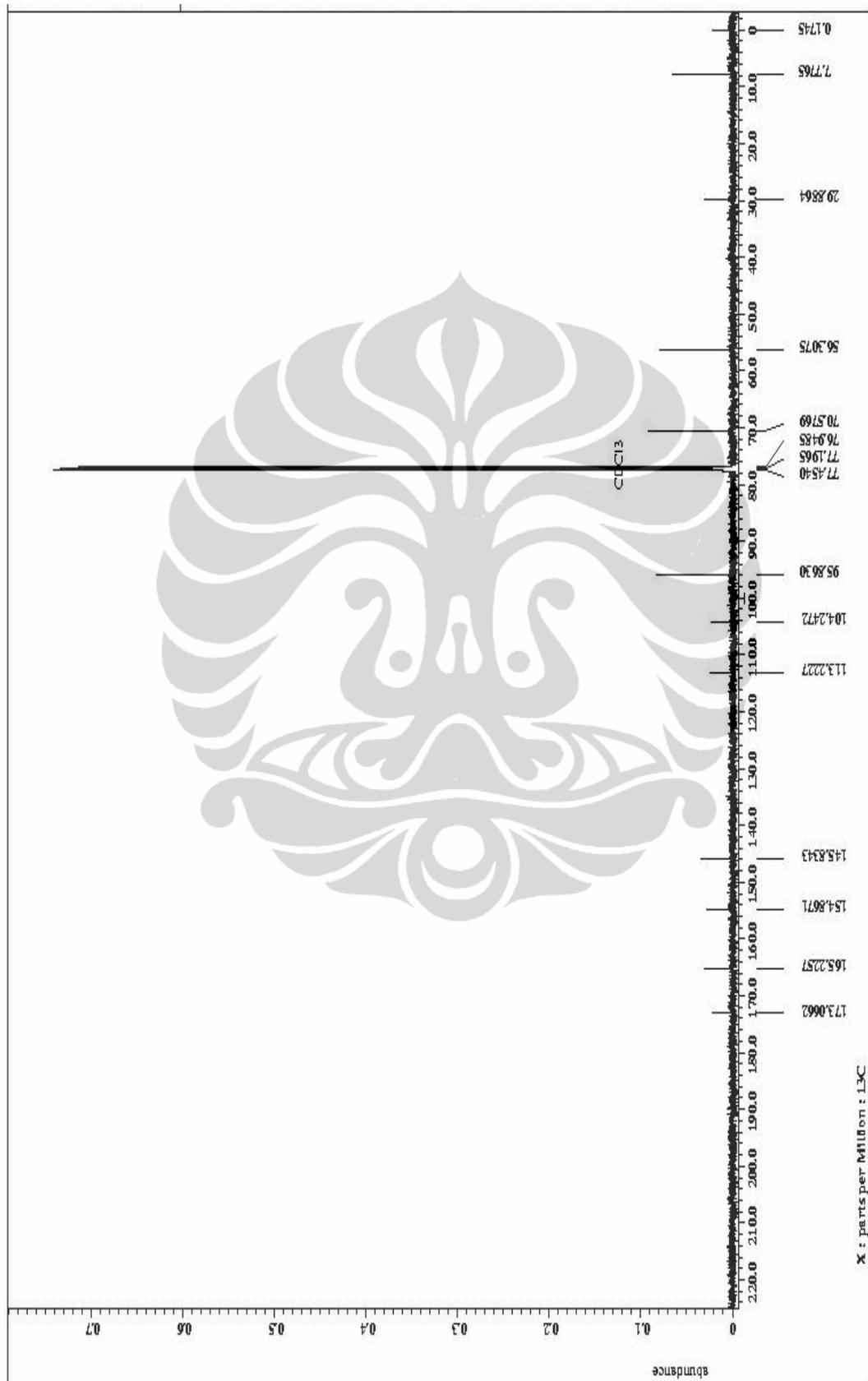
Lampiran 35. Spektrum UV Senyawa M₁F

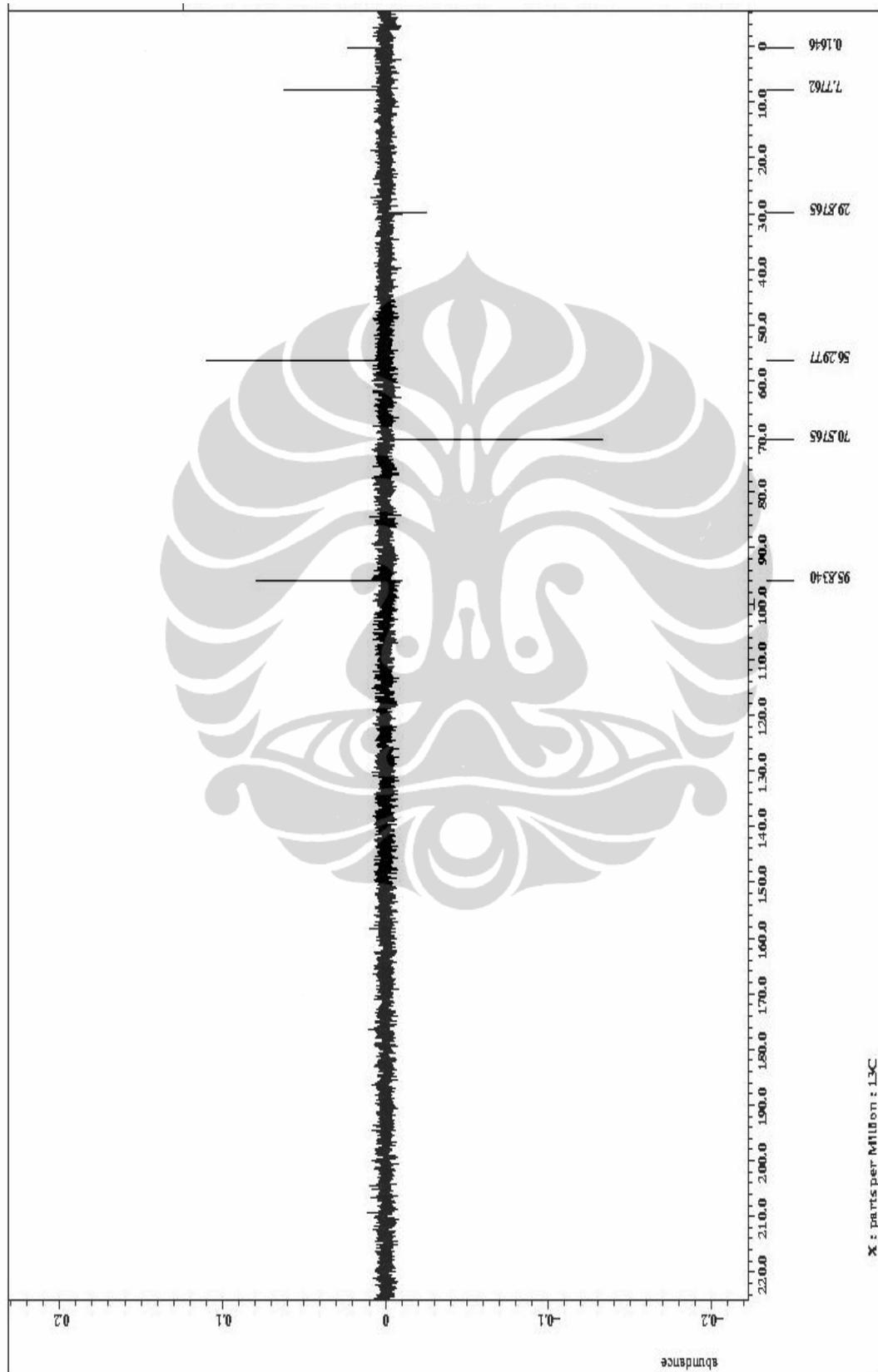
Lampiran 36. Kromatogram LC-MS Senyawa M₈

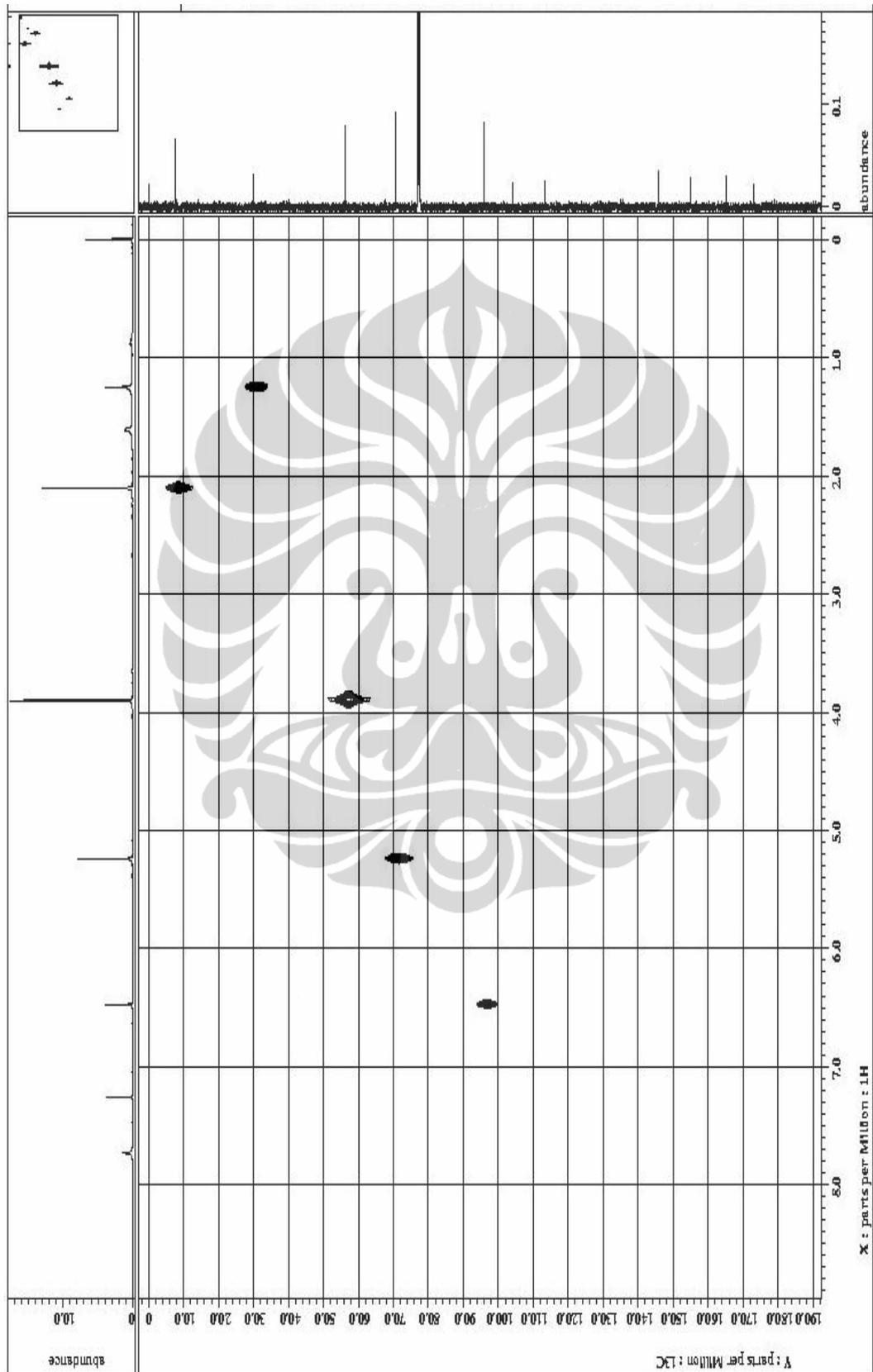
Lampiran 37. Spektrum FT-IR Senyawa M₈

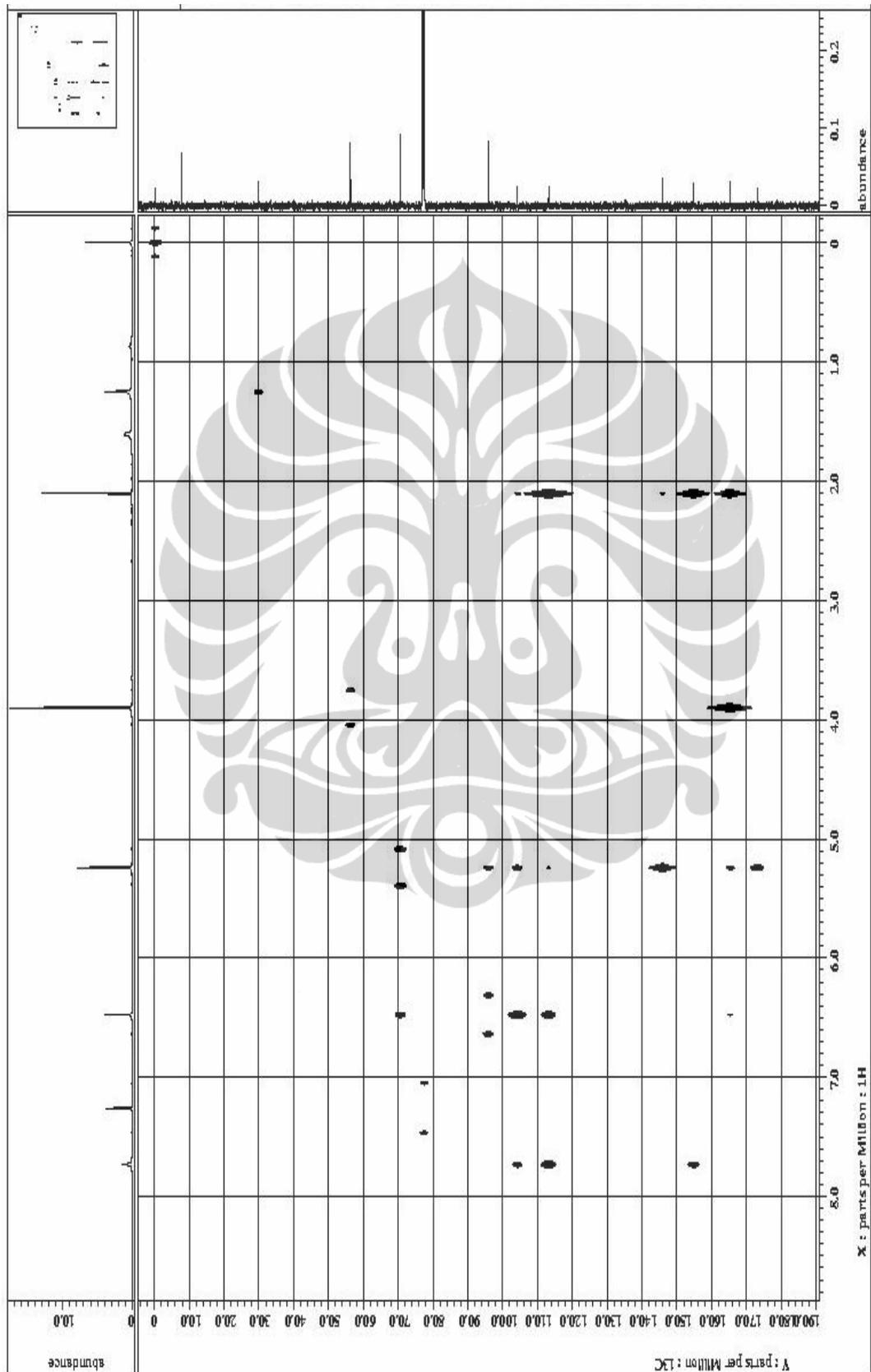
Lampiran 38. Spektrum UV Senyawa M₈

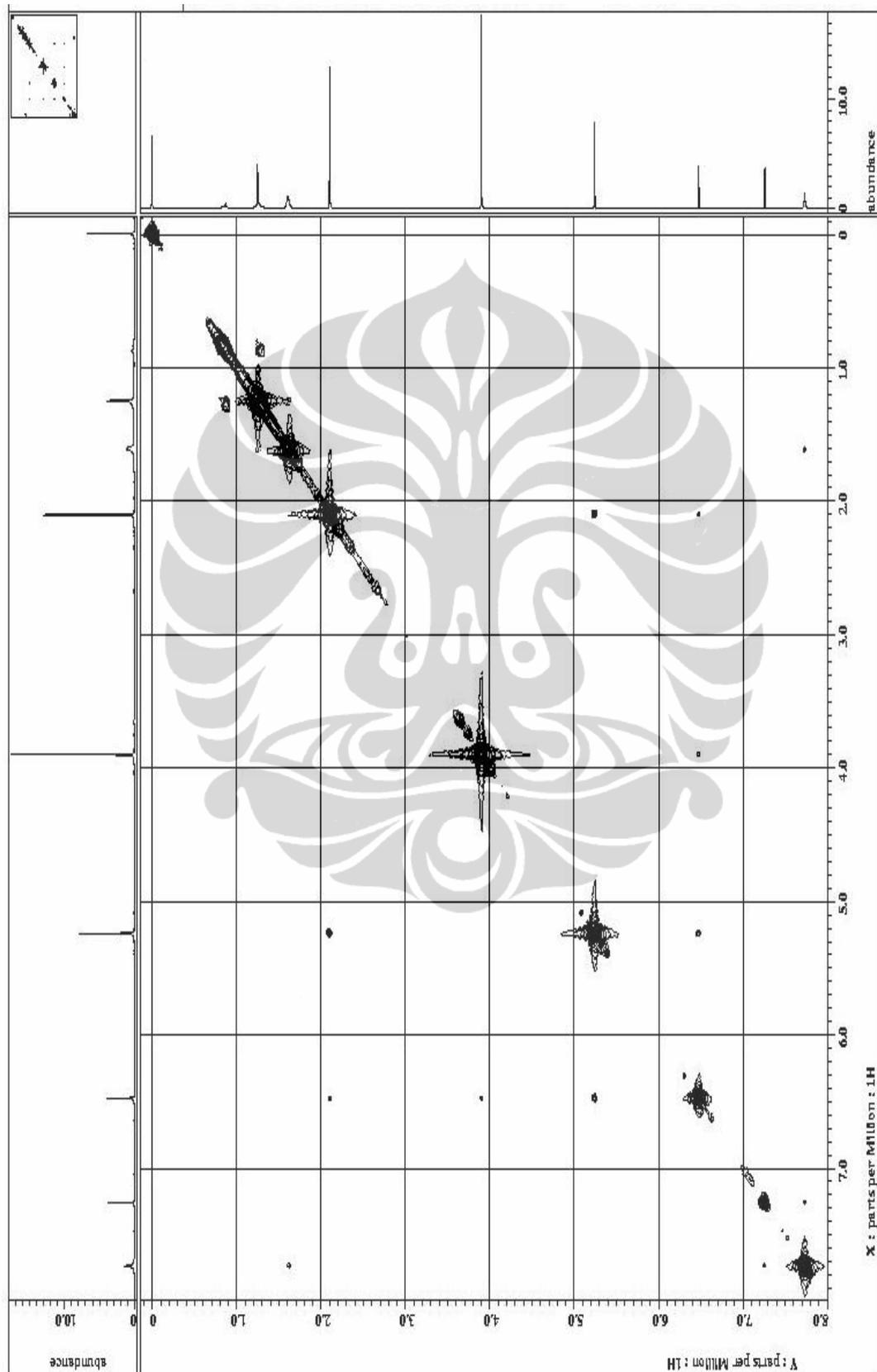
Lampiran 39. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Senyawa M_8 

Lampiran 40. Spektrum ^{13}C -NMR Senyawa M_8 

Lampiran 41. Spektrum DEPT Senyawa M₈

Lampiran 42. Spektrum HMQC Senyawa M₈

Lampiran 43. Spektrum HMBC Senyawa M₈

Lampiran 44. Spektrum COSY Senyawa M₈

Lampiran 45. Hasil Uji Sitotoksik Terhadap Sel Murine P388 Senyawa M₆

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)]

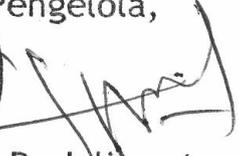
Tanggal penerimaan : 4 Maret 2011
Tanggal pengerjaan : 8 Maret 2011
Nama sampel : M₆
Nilai IC₅₀ : 4.5 µg/ml
Analisis : Suzany & e



Pengelola,

Lia D. Juliawaty
Dr. Lia D. Juliawaty

Lampiran 46. Hasil Uji Sitotoksik Terhadap Sel Murine P388 Senyawa M₇

	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>9 Juli 2009</u>
Tanggal pengerjaan	: <u>14 Juli 2009</u>
Nama sampel	: <u>ULY - M1</u>
Nilai IC ₅₀	: <u>17,5</u> µg/ml
Analisis	: <u>Suzany. d. e.</u>
 Pengelola,  <u>Dr. Lia D. Juliawaty</u>	

Lampiran 47. Hasil Uji Sitotoksik Terhadap Sel Murine P388 Senyawa M₈

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)]

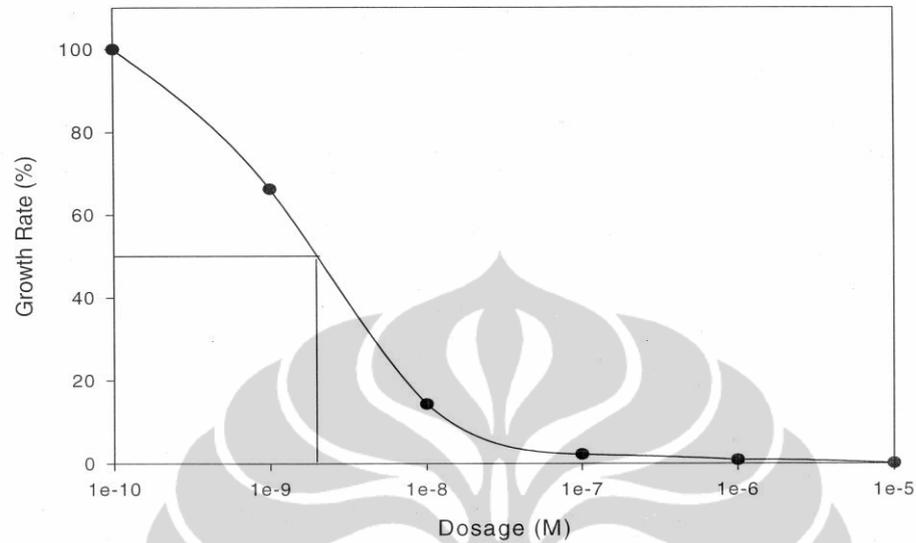
Tanggal penerimaan : 4 Maret 2011
Tanggal pengerjaan : 8 Maret 2011
Nama sampel : M8
Nilai IC₅₀ : 37,0 µg/ml
Analisis : Suzany . de



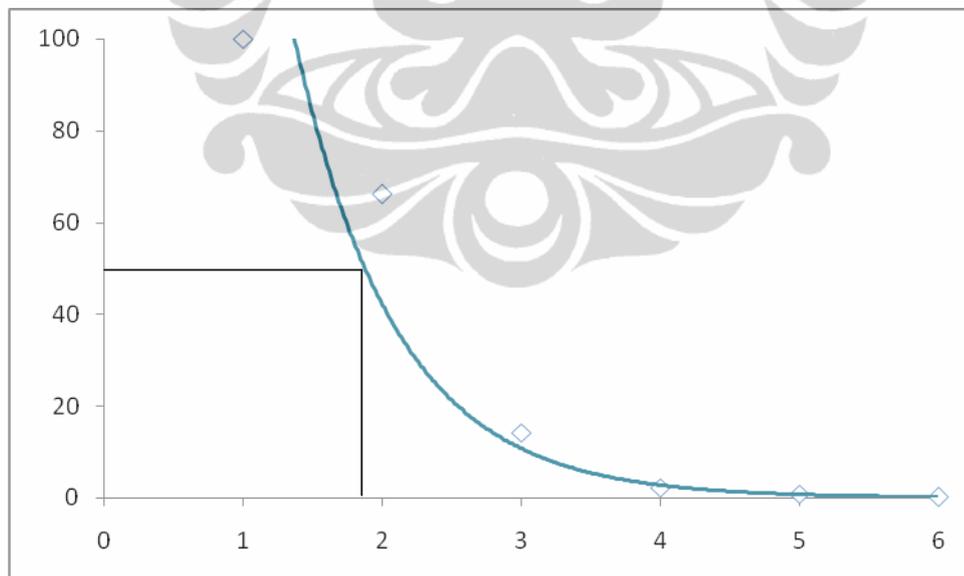
Pengelola,


Dr. Lia D. Juliawaty

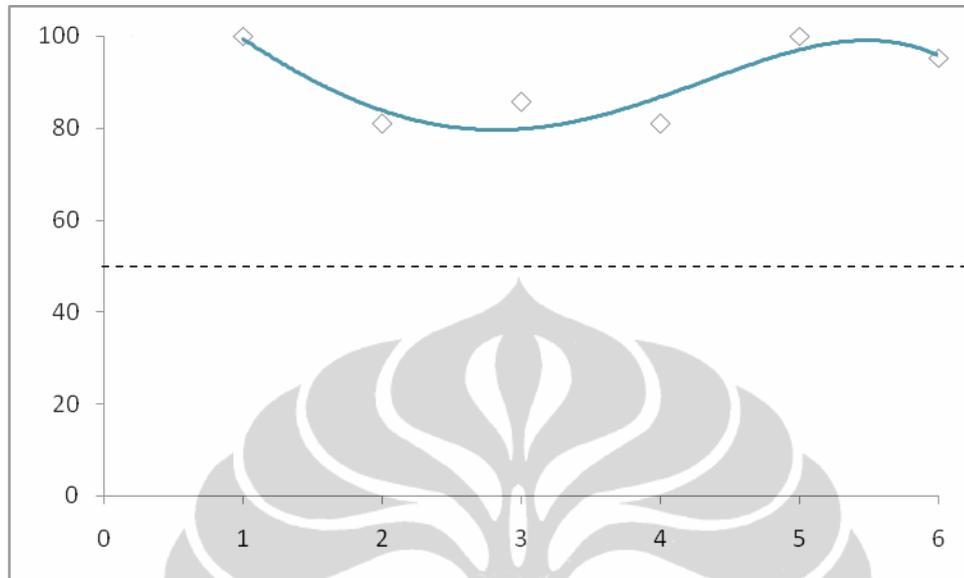
Lampiran 48. Aktivitas Chloroquin Terhadap Pertumbuhan *Plasmodium falciparum* 3D7



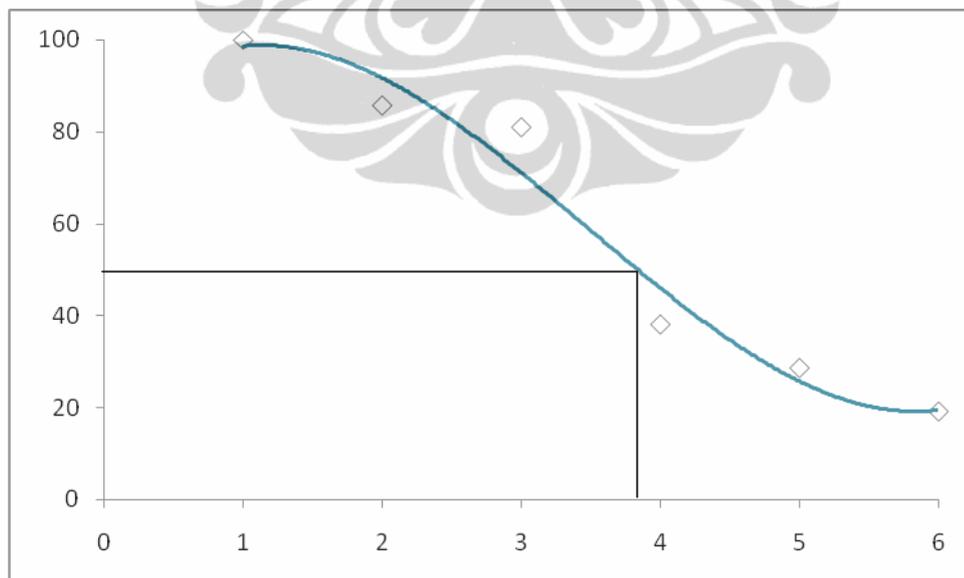
IC_{50} Chloroquine = $3 \times 10^{-9}M$, *Plasmodium falciparum* 3D7, Eijkman Institute.



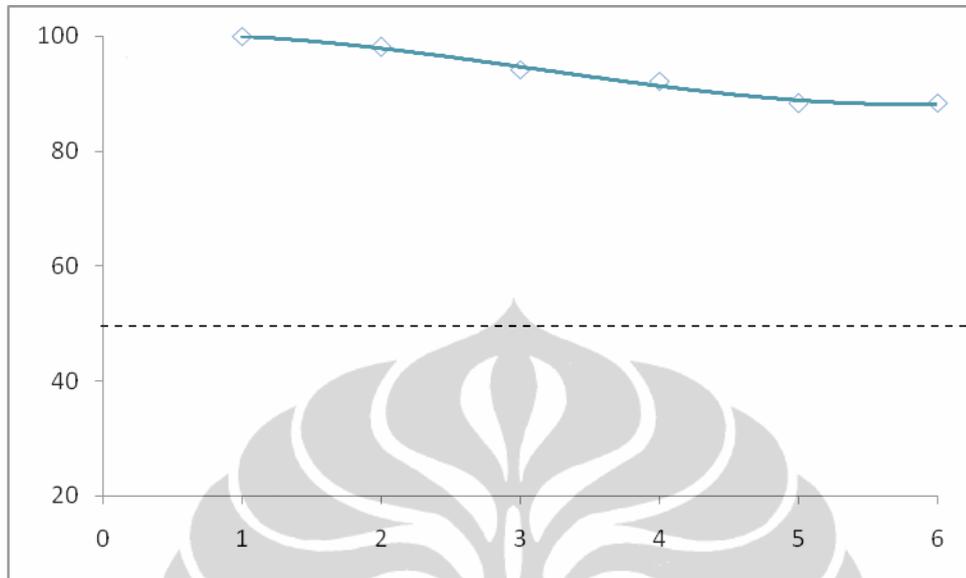
Lampiran 49. Grafik Kadar Senyawa M_1 vs Pertumbuhan *Plasmodium falciparum* 3D7



Lampiran 50. Grafik Kadar Senyawa M_2 vs Pertumbuhan *Plasmodium falciparum* 3D7



Lampiran 51. Grafik Kadar Senyawa M₇ vs Pertumbuhan *Plasmodium falciparum* 3D7



Lampiran 52. Data Pertumbuhan *Plasmodium falciparum* 3D7

For the extracts dissolved it in 100 microL DMSO to get a solution in mg/ml. The highest concentration is 10-2 and then diluted 10 times do

Dosage (mg/ml)	Parasitemia(%)		Average (%)		Growth Rate (%)															
	A, Do	B, Do	A, D0	B, D0	A, D1	B, D1	A, D2	B, D2	A, D1	B, D1	A, D2	B, D2	A, D1	B, D1	A, D2	B, D2	A, D1	B, D1	D2	
N5-Uly	0		3.1																	
	1.00E-09	2.8			3.5	3.6			4.5	4.3			4.4	4.4					4.4	100.00%
	1.00E-08				3.4	3.4			4.2	4.3			4.25	4.3					4.25	96.59%
	1.00E-07				3.3	3.5			4.3	4.4			4.35	4.4					4.35	98.86%
	1.00E-06				3.3	3.8			4.2	4.3			4.25	4.3					4.25	96.59%
1.00E-05					3.4	3.3			4.3	4.4			4.35	4.4					4.35	98.86%
					3.4	3.5			4.3	4.1			4.2	4.1					4.2	95.45%
N1-Uly	0		3.1																	
	1.00E-09	2.8			4.2	3.8			5.1	5.2			5.15	5.2					5.15	100.00%
	1.00E-08				3.8	3.7			5.1	5			5.05	5.05					5.05	98.06%
	1.00E-07				3.2	3.3			4.8	4.9			4.85	4.9					4.85	94.17%
	1.00E-06				2.5	2.5			4.7	4.8			4.75	4.8					4.75	92.23%
1.00E-05				2.2	2.3			4.6	4.5			4.55	4.5					4.55	88.35%	
					2.6	2.1			4.5	4.4			4.45	4.4					4.45	86.41%
M2-Uly	0		0.3																	
	1.00E-09	0.3			0.5	0.8			0.9	0.9			1.05	1.2					1.05	100.00%
	1.00E-08				0.4	0.7			0.9	0.9			0.9	0.9					0.9	85.71%
	1.00E-07				0.3	0.4			0.8	0.8			0.85	0.85					0.85	80.95%
	1.00E-06				0.4	0.4			0.4	0.4			0.4	0.4					0.4	38.10%
					0.3	0.3			0.3	0.3			0.3	0.3					0.3	28.57%
					0.2	0.3			0.2	0.2			0.2	0.2					0.2	19.05%
M1-Uly	0		0.3																	
	1.00E-09	0.3			0.5	0.8			0.9	0.8			1.05	1.2					1.05	100.00%
	1.00E-08				0.4	0.7			0.8	0.7			0.85	0.9					0.85	80.95%
	1.00E-07				0.3	0.4			0.8	0.8			0.9	1					0.9	85.71%
	1.00E-06				0.4	0.4			0.7	0.7			0.85	1					0.85	80.95%
					0.3	0.3			0.3	0.3			1	1.1				1.05	100.00%	
1.00E-05				0.2	0.3			0.9	0.3			1.1	1.1					1.05	95.24%	
CHLOROQUINE					0.2	0.3			0.9	0.3			1.1	1.1				1		
0					0.45	0.5			0.48	0.48			3.7	4				3.85	100	
1.00E-09					0.45	0.5			0.48	0.48			2.3	2.8				2.55	66.23	
1.00E-08					0.45	0.5			0.48	0.48			0.3	0.8				0.55	14.29	
1.00E-07					0.45	0.5			0.48	0.48			0.08	0.09				0.09	2.21	
1.00E-06					0.45	0.5			0.48	0.48			0.03	0.04				0.04	0.91	
1.00E-05					0.45	0.5			0.48	0.48			0.01	0				0.01	0.13	

Lampiran 53. Spesifikasi Alat yang digunakan dalam Penelitian

SPESIFIKASI ALAT**NMR**

Merk Jeol
 Type ECA 500
 Medan Magnet : 500 MHz
 Buatan Jepang

Spektrometri UV-Visible

Spektrofotometer Merk Hitachi U-2001

FTIR

FTIR Merk Shimadzu
 Type : IRPrestige-21

LC-MS

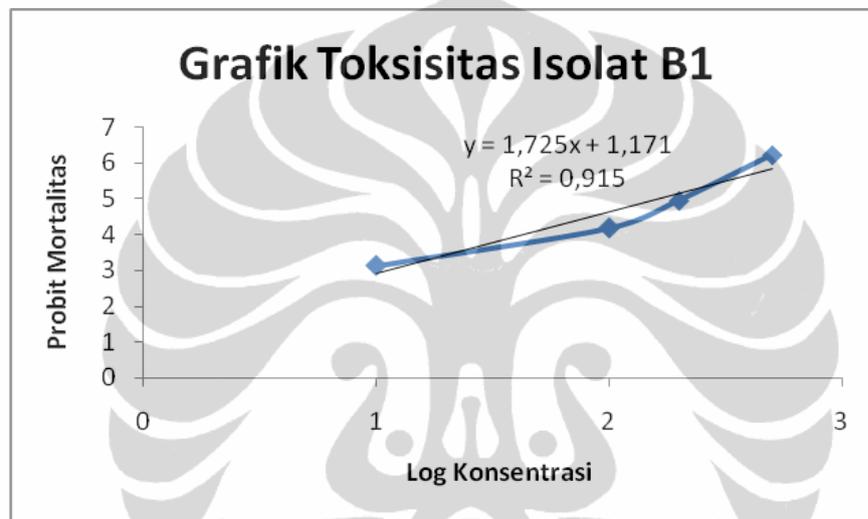
Sample
Vol injection 20 ul
Flow rate 1 ml/min
Eluent ACN+Water = 80 + 20
LC-MS : Mariner Biospectrometry
LC: Hitachi L 6200
System ESI (Electrospray Ionisation)
Positive ion mode
Kolom C18 (RP 18) Supelco
Column length : 150 mm
ID : 2 mm
Particle size : 5 µm
Analysis by : Puspa .D. Lotulung, Pusat Penelitian Kimia - LIPI

BPI = Base Peak Intensity
TIC = Total Ion Chromatogram
NR = NoiseRemoval
BC = Base Correction
MC = Mass Calibration

Lampiran 54. Grafik toksisitas isolat dari ekstrak aseton *U. blepharea* Motyka

a. Isolat B₁

Log Konsentrasi	Nilai Probit Mortalitas	Mortalitas
1	3,12	2.667
2	4,19	21.053
2,3	4,95	47.917
2,7	6,23	88.697



$$y = ax + b$$

$$5 = 1,725x + 1,171$$

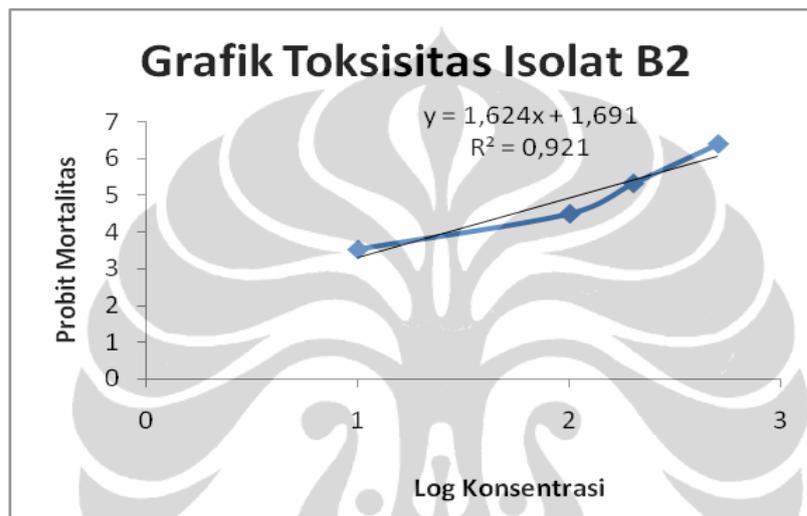
$$x = 5 - 1,171/1,725$$

$$x = 2,2197101$$

$$\mathbf{LC_{50} = 165,84}$$

b. Isolat B₂

Log Konsentrasi	Nilai Probit Mortalitas	Mortalitas
1	3,52	7,463
2	4,5	31,481
2,3	5,33	63,462
2,7	6,41	92,063



$$y = ax + b$$

$$5 = 1,624x + 1,691$$

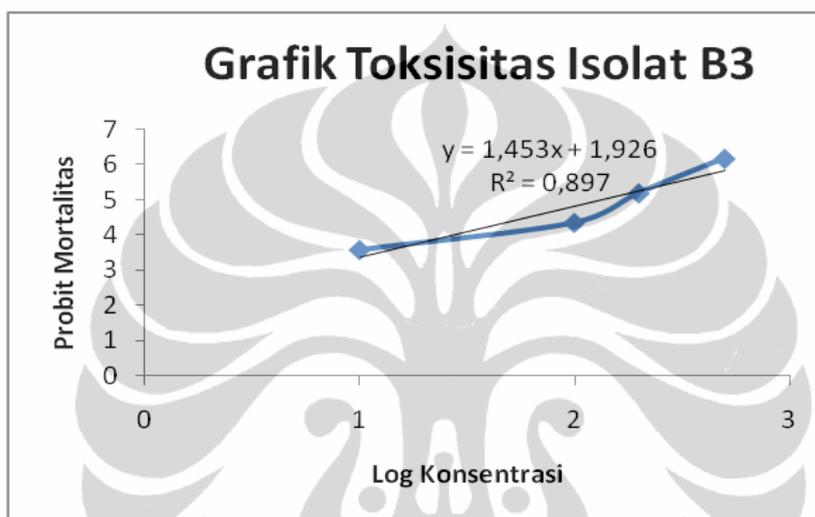
$$x = 5 - 1,691/1,624$$

$$x = 2,0375615$$

$$\mathbf{LC_{50} = 109,03}$$

c. Isolat B₃

Log Konsentrasi	Nilai Probit Mortalitas	Mortalitas
1	3,59	8,219
2	4,36	25,862
2,3	5,2	57,692
2,7	6,18	88,333



$$y = ax + b$$

$$5 = 1,453x + 1,926$$

$$x = 5 - 1,926/1,453$$

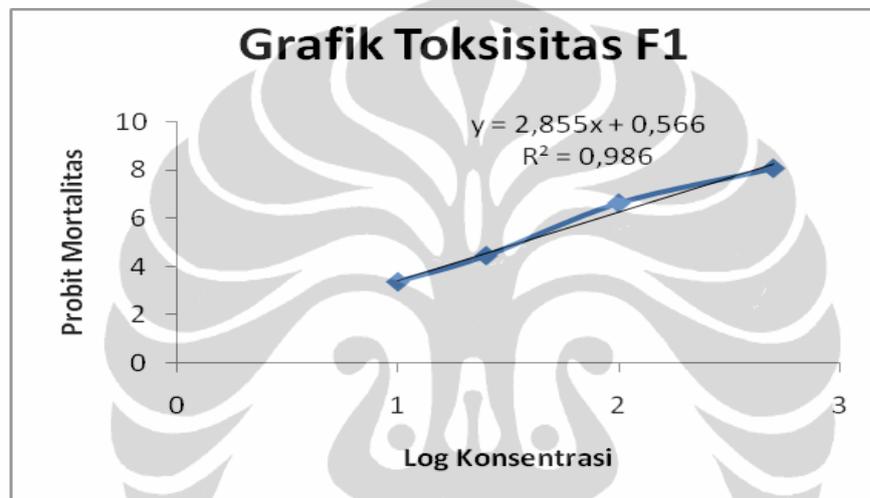
$$x = 2,1156228$$

$$\mathbf{LC_{50} = 130,50}$$

Lampiran 55. Grafik toksisitas isolat dari ekstrak aseton *U. flexuosa* Tayl.

a. Isolat F₁

Log Konsentrasi	Nilai Probit Mortalitas	Mortalitas
1	3,36	5,45
1,4	4,45	28,57
2	6,64	95
2,7	8,09	100



$$y = ax + b$$

$$5 = 2,855x + 0,566$$

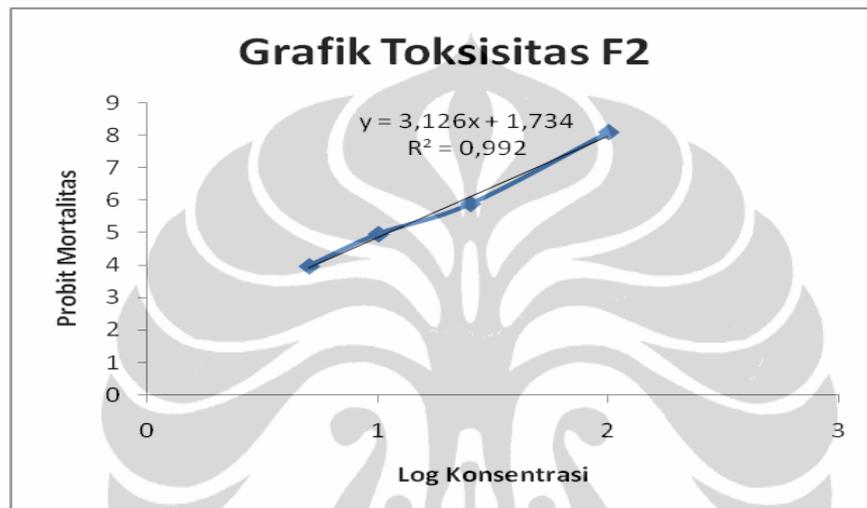
$$x = 5 - 0,566/2,855$$

$$x = 1,5530647$$

$$\mathbf{LC_{50} = 35,73}$$

b. Isolat F₂

Log Konsentrasi	Nilai Probit Mortalitas	Mortalitas
0,7	3,96	14,55
1	4,95	47,92
1,4	5,88	81,13
2	8,09	100



$$y = ax + b$$

$$5 = 3,126x + 1,734$$

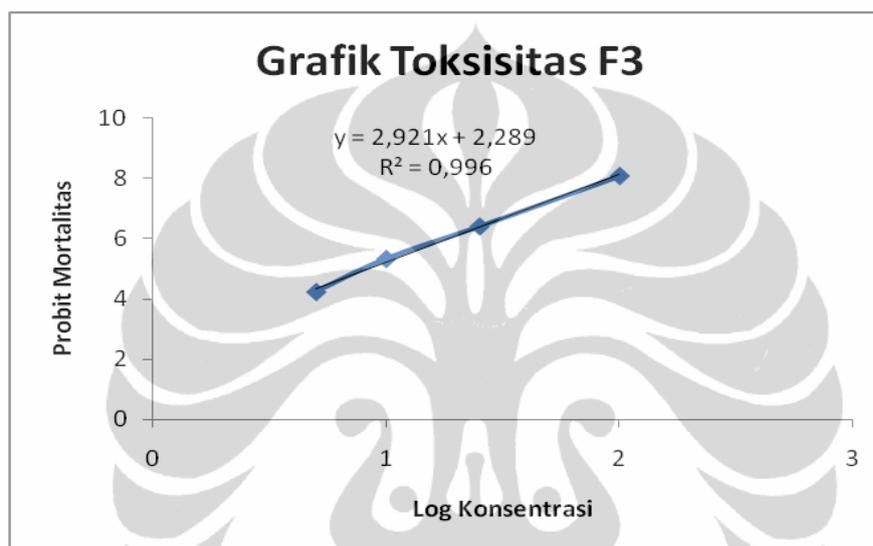
$$x = 5 - 1,734/3,126$$

$$x = 1,0447856$$

$$\mathbf{LC_{50} = 11,08}$$

c. Isolat F₃

Log Konsentrasi	Nilai Probit Mortalitas	Mortalitas
0,7	4,23	22
1	5,33	63,04
1,4	6,41	91,53
2	8,09	100



$$y = ax + b$$

$$5 = 2,921x + 2,289$$

$$x = 5 - 2,289/2,921$$

$$x = 0,9281068$$

$$LC_{50} = 8,47$$

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama Lengkap : Maulidiyah., S.Si., M.Si
 Tempat/Tanggal Lahir : Maros/09 Juni 1968
 Agama : Islam
 Orang Tua : Drs.H.A.Djamalik Yusuf dan Hj.Andi Mulya Noer
 Suami : Dr. Muh. Nurdin., M.Sc
 Anak : Ishmah Farah Adiba
 Nabilah Zulfaikah
 Ahmad Zulfan
 Pekerjaan : Staf Pengajar pada Departemen Kimia FMIPA
 Universitas Haluoleo
 Alamat Kantor : Jurusan Kimia FMIPA Universitas Haluoleo
 Kampus Baru Anduonohu Kendari
 Sulawesi Tenggara
 Alamat Rumah : - Kompleks Dosen Universitas Haluoleo Blok V
 No. 28 Kampus Baru Anduonohu Kendari
 Sulawesi Tenggara
 - Jl. Raya Lenteng Agung No 11 A RT.03/RW.01
 Srengseng Sawah Jagakarsa Jakarta Selatan
 E-mail : maulid06@yahoo.com
 Pendidikan : 2011 S3 Kimia Universitas Indonesia
 2000 S2 Kimia Universitas Gadjah Mada
 1993 S1 Kimia Universitas Hasanuddin
 1986 SMAN 1 Maros
 1983 SMPN 1 Maros
 1980 SDN 1 Maros