

**ISOLASI METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ETIL ASETAT
KAYU ANGIN (*Usnea mekista* Stirt. *G. Awasthi*) DAN UJI
AKTIVITAS ANTIJAMUR *Candida albicans***

SKRIPSI



Oleh :

NURLISA RAHMAYANI
NIM : 15 04 048

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
PERINTIS PADANG
2019**

PERNYATAAN ORISINILITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nurlisa Rahmayani

NIM : 1504 048

Judul Skripsi : Isolasi Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Kayu Angin
(*Usnea mekista* Strit *G. Awatshi*) Dan Uji Aktivitas Antijamur
Candida albicans

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, terhindar dari unsur plagiarisme, dan data beserta seluruh isi skripsi tersebut adalah benar adanya.
2. Saya menyerahkan hak cipta dari skripsi tersebut Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang untuk dapat dimanfaatkan dalam kepentingan akademis.

Padang, 27 Agustus 2019

Nurlisa Rahmayani

Lembar Pengesahan Skripsi

Dengan ini dinyatakan bahwa :

Nama : Nurlisa Rahmayani
NIM : 1504048
Judul Skripsi : Isolasi Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Kayu Angin
(*Usnea mekista* Stirt. *G. Awatshi*) dan Uji Aktivitas
Antijamur *Candida albicans*

Telah diuji dan disetujui skripsinya sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) melalui ujian sarjana yang diadakan pada tanggal 27 Agustus 2019 berdasarkan ketentuan yang berlaku.

Ketua Sidang

Farida Rahim, S. Si, M. Farm, Apt

Pembimbing I

Anggota Penguji I

Dr. Friardi, Apt

Noni Rahayu Putri, M. Farm, Apt

Pembimbing II

Anggota Penguji II

Verawati, M. Farm, Apt

Lola Azyenela, M. Farm, Apt

Mengetahui

Ketua Program Studi S1 Farmasi

Farida Rahim, S. Si, M. Farm, Apt

Halaman Persembahan



Bismillahirrahmanirrahim

Niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu beberapa derajat (QS. Al-Mujadalah 11)

Maka nikmat Tuhanmu yang manakah yang kamu dustakan? (QS. Ar-Rahman 13)

Ku persembahkan karya sederhana ini kepada orang yang kusayangi

Teristimewa untuk Ayahanda **Syofian**, Ibunda **Indra Gusriani**
Terimakasih telah memberikan kasih sayang serta do'a yang tulus ikhlas,
memberi motivasi bekerja keras, mengajarkan arti kesabaran
sesungguhnya, mengajarkan sikap bagaimana menghadapi orang-orang
yang tidak menyukai kita...

Yang juga telah memberikan dukungan moril maupun materil yang tiada
henti-hentinya yang tidak terhingga yang tidak mungkin dapat ku balas
hanya dengan selebar kertas ini

Aku berharap semoga ini bisa menjadi awal untuk membuat keluarga
bahagia dan bangga

Terimakasih Ayah... Terimakasih Ibu...

Dan untuk Adik-adik kakak tercinta **Randi Rahman S.** dan **M. Marcel Triandra**

Semoga kakak bisa menjadi kakak yang baik bagi kalian, bisa menjadi
panutan bagi kalian, dan bisa menjadi tempat pengaduan keluh kesah
bagi adik-adik kakak

Kita ini bersaudara, janganlah sampai terpecah belah...

Seperti kata pepatah melayu lama...

"Adik beradik sampai golek"

Kita akan selamanya seperti itu... Aamiin

Terimakasih adik-adik... Kakak sayang kalian...

Teristimewa pula untuk Datuk dan Nenek yang telah sabar, menyayangi
dan menjagaku selama berada diperantauan... yang memberikan
semangat dan do'a untuk ku dalam menjalani studi ku...

Dan untuk adik ku Fitri Sabrina yang telah menjadi tour guide ku selama
berada disini... yang selalu mengajakku ketempat-tempat yang belum
pernah ku datangi sebelumnya... yang mengajakku berwisata ria guna
menghilangkan penatnya tugas kuliah...

Terimakasih Datuk, Nenek dan Adik...

Terkhusus partner "Isolation Squad" teman seperjuangan Yurike Irse dan kak Desy Muthia

Terimakasih telah berjuang bersama, sudah banyak membantu dan bekerja keras demi mendapatkan gelar Sarjana Farmasi...

Perjalanan dari Lubuk buaya-Limau manis hari-hari itu tidak akan ku lupakan...

Terimakasih partner... semoga semua yang sudah kita lalui menjadi pengalaman dan pelajaran yang berharga dan menjadikan kita lebih baik dimasa mendatang... Amiin

Untuk sahabat kos sholeha (Elsi Yuwanda dan Siska Indah) yang sudah bersama-sama lebih kurang 2 tahun ini menemani ku... berada dikos kita... rumah singgah kita...

Canda, tawa, suka, duka, curhatan, keluhan bahkan hal-hal aneh kita lakukan bersama

Semua itu adalah kenangan manis yang tak mungkin dilupakan...
Terimakasih sahabat kos sholeha ku...

Untuk sahabat sepermainan ku dari awal perkuliahan sampai saat ini (Nurmita Syakinah, Lisa Utari Rahayu, Naziva Annisa, Weli Hastuti, Miftahul Nailur Rahmi, Siska Permata Sari) yang selalu memberi motivasi, dukungan dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini...

Kalian semua sudah menjadi salah satu bagian terbaik dalam perjalanan hidupku...

Terimakasih sahabat-sahabatku...

Dan tak lupa pula teruntuk sahabat ku nan jauh disana (Azizi Hijrin, Widia Meidina, Raja Rianti Syafrima, Ifvo Deki Wirawan) yang telah memberikan semangat dan do'a nya dari luar kota sana

Walaupun dari jauh, semua do'a dan semangat yang kalian berikan sangat berharga bagi ku...

Terimakasih ku sahabat...

Semoga Allah SWT membalas kebaikan kalian semua dengan pahala yang berlipat ganda dan semoga kita semua selalu dalam lindungan Allah SWT...

Aamiin Ya Rabbal'amin...

Tanpa mereka, karya ini tidak akan tercipta. Aku menyayangi kalian...

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Syukur Alhamdulillahrabbi'l'amin penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya. Sehingga penulis telah dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi. Shalawat dan salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga, Sahabat, dan kaum muslim di jalan yang Allah ridhai. Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program pendidikan sarjana strata satu pada Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang, yang berjudul **“ISOLASI METABOLIT SEKUNDER EKSTRAK ETIL ASETAT KAYU ANGIN**

(Usnea mekista Stirt. G. Awasthi) DAN UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR Candida albicans".

Dalam penulisan skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. Friardi, Apt dan Ibu Verawati M. Farm, Apt selaku pembimbing yang telah berkenan meluangkan waktu, memberikan petunjuk, ilmu, nasehat, arahan serta bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak H. Zulkarni R, S. Si, MM, Apt selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang.
3. Ibu Hj. Diana Agustin,S.Si, M. Farm, Apt selaku Pembimbing Akademik, yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam kegiatan akademis penulis di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang.
4. Bapak/Ibu dosen yang telah mendidik serta mencurahkan ilmu kepada penulis, staf karyawan/karyawati dan analis labor yang membantu memfasilitasi administrasi dan sarana pra-sarana perkuliahan di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI) Yayasan Perintis Padang.
5. Seluruh staf di LABORATORIUM BIOTA SUMATERA, Universitas Andalas, Padang yang telah mengizinkan penulis untuk melakukan dan menggunakan fasilitas dalam melaksanakan penelitian.

Semoga Allah SWT membalas dan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Penulis berharap semoga skripsi ini menjadi sumbangan yang bernilai ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi kita semua. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan penyempurnaan skripsi ini.

Akhirnya, hanya kepada Allah SWT penulis serahkan segalanya mudah-mudahan dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi kita semua.

Padang, September 2019

Penulis

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat kayu angin *Usnea mekista* dan uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Senyawa metabolit diisolasi dengan pemisahan secara kromatografi. Dari proses isolasi telah diperoleh 3 metabolit sekunder yaitu senyawa A, senyawa B dan senyawa C. Senyawa hasil isolasi masing-masing dikarakterisasi secara organoleptis, fisika (titik leleh), kimia (KLT) dan fisikokimia (UV-Vis & IR). Kemudian dilakukan uji aktivitas antijamur menggunakan metode difusi agar. Hasil pengujian antijamur pada ekstrak etil asetat kayu angin *U. mekista* diperoleh aktivitas antijamur *C. albicans* memiliki daya hambat lemah, diketahui pada konsentrasi 20% diameter zona hambat sebesar 11.52 ± 0.28 mm. Sedangkan pengujian aktivitas antijamur metabolit sekunder hasil isolasi, pada senyawa A, senyawa B dan senyawa C tidak memiliki aktivitas antijamur *C. albicans* yang ditandai dengan tidak adanya zona bening pada sekitar cakram.

Kata kunci: Isolasi, *Usnea mekista*, metabolit sekunder, *Candida albicans*

ABSTRACT

This study aims to isolate secondary metabolites from the ethyl acetate extract of kayu angin *Usnea mecista* and test antifungal activity against *Candida albicans*. Metabolites were isolated by chromatographic separation. From the isolation process 3 secondary metabolites have been obtained, namely compound A, compound B and compound C. The isolated compounds characteristics were organoleptically, physically (melting point), chemical (TLC) and physicochemical (UV-Vis & IR). Then the antifungal activity test was carried out using agar diffusion method. Antifungal test results on the ethyl acetate extract of kayu angin *U. mecista* obtained antifungal activity of *C. albicans* has a weak inhibition, known at a concentration of 20% inhibition zone diameter of 11.52 ± 0.28 mm. While testing the antifungal activity of secondary metabolites as a result of isolation, compounds A, compound B and compound C have no antifungal activity *C. albicans* is characterized by the absence of a clear zone around the disk.

Keywords: Isolation, *Usnea mecista*, secondary metabolites, *Candida albicans*

DAFTAR ISI

JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PENYERAHAN HAK CIPTA	ii
PENGESAHAN	iii
PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Lichen (Lumuk Kerak).....	4
2.1.1 Manfaat Lichen.....	4
2.2 Tinjauan Botani Kayu Angin <i>Usnea mekista</i>	5
2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan.....	5
2.2.2 Morfologi Tumbuhan.....	6
2.2.3 Nama Daerah.....	6

2.2.4	Penyebaran.....	7
2.2.5	Kandungan Kimia.....	7
2.3	Metode Isolasi Kimia Bahan Alam.....	9
2.3.1	Penyiapan Sampel.....	9
2.3.2	Ekstraksi.....	10
2.3.3	Kromatografi Lapis Tipis	10
2.3.4	Kromatografi Kolom.....	12
2.3.5	Kromatografi Radial.....	13
2.3.6	Kromatografi Lapis Tipis Preparatif.....	14
2.4	Metode Karakterisasi Fisikokimia.....	15
2.4.1	Spektrofotometri Ultraviolet-Visible.....	15
2.4.2	Spektrofotometri <i>Infra Red</i>	16
2.5	Jamur.....	18
2.5.1	<i>Candida albicans</i>	19
2.5.2	Morfologi Jamur.....	20
2.5.3	Patogenesis.....	21
2.6	Antijamur.....	21
2.7	Metode Uji Akitivitas Antijamur.....	22
III.	PELAKSANAAN PENELITIAN.....	23
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian.....	23
3.2	Alat dan Bahan.....	23
3.2.1	Alat.....	23
3.2.2	Bahan.....	23
3.3	Prosedur Penelitian.....	24
3.3.1	Penentuan Taksonomi Kayu Angin <i>Usnea mekista</i>	24
3.3.2	Penyortiran dan Persiapan Sampel.....	24
3.4	Isolasi Kayu Angin <i>Usnea mekista</i>	24
3.4.1	Ekstraksi.....	24
3.5	Uji Aktivitas antijamur.....	25
3.5.1	Sterilisasi Alat.....	25
3.5.2	Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i>	25
3.5.3	Jamur Uji.....	25
3.5.4	Peremajaan Jamur Uji.....	25
3.5.5	Pembuatan Suspensi Uji.....	25
3.5.6	Penyiapan Sampel Uji.....	26
3.5.7	Uji Aktivitas Antijamur <i>Candia albicans</i>	26
3.6	Kromatografi Kolom.....	27
3.6.1	Penyiapan Kolom.....	27
3.5.2	Penyiapan Sampel.....	27
3.5.3	Pemisahan Sampel.....	27
3.7	Kromatografi Radial.....	28
3.8	Kromatografi Lapis Tipis Preparatif.....	29
3.9	Uji Aktivitas Antijamur <i>Candida albicans</i>	29
3.10	Karakterisasi Metabolit Hasil Isolasi.....	30
3.10.1	Organoleptis.....	30
3.10.2	Secara Fisika Pengukuran Titik Leleh.....	30
3.10.3	Secara Fisikokimia.....	31
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32

4.1 Hasil	32
4.2 Pembahasan	33
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA.....	40
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	
1. Kandungan Senyawa Kimia dari Talus Lichen genus <i>Usnea</i>	8
2. Korelasi Infra Merah.....	17
3. Data Komposisi Eluen dalam Kromatografi Kolom.....	28
4. Data Komposisi Eluen dalam Kromatografi Radial.....	29
5. Hasil Organoleptis Kayu Angin <i>Usnea mekista</i>	35
6. Hasil Pemeriksaan Titik Leleh.....	35
7. Hasil Pemeriksaan Uv-Vis dan IR.....	36
8. Hasil Pengujian Nilai Zona Hambat.....	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar

1. Foto Kayu Angin <i>Usnea mekista</i>	6
2. Jamur <i>Candida albicans</i>	19
3. Sampel Senyawa Hasil Isolasi.....	45
4. KLT UV 254 nm dan Penampak Noda Senyawa Murni.....	46
5. Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak.....	47
6. Pengujian Aktivitas Antijamur Metabolit Hasil Isolasi.....	48
7. Skema Ekstraksi.....	49
8. Skema Isolasi Metabolit Sekunder.....	50
9. Skema Uji Aktivitas Antijamur.....	51
10. Spektrum UV-Vis Senyawa A.....	52
11. Spektrum UV-Vis Senyawa B.....	53
12. Spektrum UV-Vis Senyawa C.....	54
13. Spektrum IR Senyawa A.....	55
14. Spektrum IR Senyawa B.....	56
15. Spektrum IR Senyawa C.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

1. Foto Kayu Angin <i>Usnea mekista</i>	45
2. Foto Sampel Senyawa Hasil Isolasi.....	45
3. Foto KLT UV 254 nm dan Penampak Noda Senyawa Murni.	46
4. Foto Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak.	47
5. Foto Pengujian Aktivitas Antijamur Metabolit Hasil Isolasi.....	48
6. Skema Kerja Ekstraksi.....	49
7. Skema Kerja Isolasi	50
8. Skema Uji Aktivitas Antijamur.....	51
9. Spektrum UV-Vis Senyawa A.....	52
10. Spektrum UV-Vis Senyawa B.....	53
11. Spektrum UV-Vis Senyawa C.....	54
12. Spektrum IR Senyawa A.....	55
13. Spektrum IR Senyawa B.....	56
14. Spektrum IR Senyawa C.....	57

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lichen adalah tumbuhan hasil gabungan antara jamur dan alga sehingga dari segi morfologi dan fisiologi merupakan satu kesatuan. Alga yang menyusun lichen kebanyakan adalah alga biru (*cyanophyta*) atau alga hijau (*chlorophyta*). Jamur yang menyusun lichen adalah golongan *ascomycetes*, *pyrenomycetales* dan *basidiomycetes*. Sifat hubungan alga dan jamur merupakan simbiosis mutualisme (Tjitrosoepomo, 1989). Lichen memiliki sejumlah metabolit sekunder unik yang tidak dihasilkan oleh tumbuhan lain. Metabolit sekunder yang dihasilkan lichen antara lain asam usnat, senyawa fenolik, dibenzofuran, depsida, depsidon, depson, kuinon dan turunan asam pulvinat. Metabolit sekunder tersebut diketahui juga memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antioksidan dan antikanker (Balaji, 2007).

Pada penelitian ini, bahan yang digunakan adalah *Usnea mekista*. *U. mekista* merupakan lichen genus usnea. Dari penelusuran literature, *U. mekista* belum banyak diteliti kemanfaatannya, sehingga membuka peluang untuk dapat menemukan metabolit-metabolit sekundernya serta menguji aktivitas yang dimilikinya. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan (Aulia, 2018) terhadap 6 spesies usnea yang ada di Sumatera Barat, jumlah kadar asam usnat tertinggi terdapat pada ekstrak etil asetat spesies *U. mekista* dengan persentase 51,25%, namun uji aktivitasnya belum dilakukan.

Dewasa ini, penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme semakin banyak terjadi. Contohnya penyakit infeksi, infeksi yang disebabkan oleh jamur adalah salah satu penyakit yang sering muncul di tengah masyarakat Indonesia. Iklim tropis dengan kelembaban udara yang tinggi sangat mendukung pertumbuhan jamur tersebut (Hare, 1993).

Candida albicans merupakan spesies jamur yang paling sering menyebabkan infeksi. *C. albicans* tumbuh sebagai flora normal pada tubuh manusia di saluran pencernaan, saluran pernafasan, saluran genital wanita dan juga ada ditemukan dalam rongga mulut orang sehat serta di bawah kuku sebagai saprofit tanpa menyebabkan penyakit (Nurul, 2010). Tetapi apabila terjadi perubahan fisiologi atau penurunan kekebalan tubuh, maka *C. albicans* akan bersifat patogen dan timbul infeksi yang disebut dengan kandidiasis. Kandidiasis adalah penyakit jamur yang bersifat akut atau subakut yang disebabkan oleh *C. albicans* (Inge dkk, 2008). Berdasarkan laporan Magdalena (2009), telah ditemukan *C. albicans* dalam jumlah besar pada saluran pencernaan setelah pemberian antibiotika oral.

Saat ini, obat-obatan antijamur yang tersedia di pasaran semakin banyak. Penggunaan beberapa obat antijamur yang kurang efektif serta terjadinya toksisitas terhadap beberapa produk antijamur yang tersedia mendorong penelitian untuk mencari senyawa yang bersifat antijamur bahan alam. Hal ini dikarenakan penggunaan obat yang berasal dari bahan alam diyakini dapat menimbulkan efek samping yang minimal dan memberikan efek terapeutik maksimal (Nurkanto, 2010). Kayu angin *U. mekista* diduga memiliki senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai anti mikroba, sehingga mendorong untuk dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antijamur dari tanaman ini. Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk mengisolasi metabolit sekunder ekstrak etil asetat yang terkandung dalam kayu angin *U. mekista* serta menguji aktivitas antijamur pada ekstrak etil asetat dan metabolit sekunder hasil isolasi kayu angin *U. mekista* terhadap jamur *C. albicans* sebagai jamur uji.

1.2 Perumusan Masalah

1. Apakah dapat diisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat kayu angin *Usnea mekista*?
2. Bagaimana uji aktivitas antijamur ekstrak etil asetat dan metabolit sekunder hasil isolasi kayu angin *Usnea mekista* terhadap jamur *Candida albicans*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etil asetat kayu angin *Usnea mekista*.
2. Untuk mengetahui aktivitas antijamur ekstrak etil asetat dan metabolit sekunder hasil isolasi kayu angin *Usnea mekista* terhadap jamur *Candida albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Menambah wawasan, keterampilan dan pengalaman dalam mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa bahan alam.
2. Memberikan data tentang kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada kayu angin *Usnea mekista*.
3. Memberikan data aktivitas antijamur pada ekstrak etil aestat dan metabolit sekunder kayu angin *Usnea mekista* sehingga memberi nilai tambah dari tumbuhan ini.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lichen (Lumuk Kerak)

Lichen, di Indonesia dikenal sebagai lumut kerak. Lichen merupakan simbiosis mutualisme antara fungi dan alga atau. Alga menyediakan senyawa organik atau hasil fotosintesis dan vitamin untuk fungi sedangkan fungi memberikan proteksi habitat atau relung ekologi ke alga. Simbiosis-simbiosis tersebut memiliki kemampuan untuk bergabung menyatu membentuk talus sehingga secara morfologi dan fisiologi merupakan satu kesatuan menjadi individu baru (Hale 1983; Nash 2008). Lichen seringkali dijumpai pada pepohonan, bebatuan, tanah, bekas properti buatan manusia seperti beton, besi tua, bangku–bangku taman bahkan di batu nisan pekuburan. Pada umumnya lichen yang menempel berwarna hijau keabu–abuan, kuning, hijau biru, oranye, kuning cerah, coklat dan bahkan hitam (Beaching & Hill, 2007). Lichen dapat hidup didaerah pegunungan sampai ke daerah kutub. Lichen akan tumbuh subur pada daerah yang cukup mendapat sinar matahari suhu udara yang tidak terlalu panas dan udara lingkungan yang bersih bebas dari polusi. Daerah ideal untuk pertumbuhan lichen adalah di hutan tropis dan di lereng-lereng gunung (Miller, 1984).

2.1.1 Manfaat Lichen

Manfaat yang dapat diperoleh dari lichen adalah (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). 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 Biomonitoring terhadap Polusi Udara

Umumnya spesies lichen sangat sensitif terhadap gas belerang dioksida (SO^2) dan gas buangan 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 (Jeran *et al.*, 2000).

2.2 Tinjauan Botani Kayu Angin *Usnea mekista*

2.2.1 Klasifikasi Tumbuhan

Kingdom : Plantae

Divisi : Thallophyta

SubDivisi : Lichenophyta (*Lichenes*)

Classis : Ascolichenes

Ordo : Lecanorales

Famili : Usneaceae

Genus : *Usnea*

Spesies : *Usnea mekista*



Gambar 1. *Usnea mekista*

Tumbuhan yang diteliti adalah *Usnea mekista* yang diambil dari kawasan Gunung Singgalang, Agam, 2700 M yang ditemukan disekitar pepohonan atau bebatuan.

2.2.2 Morfologi Tumbuhan

Kayu angin sudah dikenal sejak 200 tahun yang lalu. Kayu angin adalah lichen yang menempel pada kulit pohon dalam posisi tegak atau berjurai seperti pada **Gambar 1**. Tumbuh di ketinggian lebih dari 1000 M di atas permukaan laut (Purpis, 1990). Kayu angin 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. Umumnya kayu angin merupakan senyawa yang relatif memiliki berat molekul rendah, berbentuk kristal, tidak larut dalam air dan dapat diekstraksi dalam pelarut organik (Kosanic, 2010).

2.2.3 Nama Daerah

Nama lain dari kayu angin adalah sebagai berikut: Kayu angin (Jawa), Cirik angin (Minang), Tae angin (Madura), Tai angin (Bugis), Tae anging (Makassar), Tahi angin (Melayu), Djenggot resi (Bali), Janggutan resi (Nusa Tenggara), Gori Maiho (Ternate) dan Dumamaata (Halmahera) (Heyne, 1987).

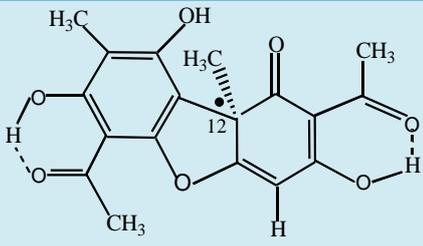
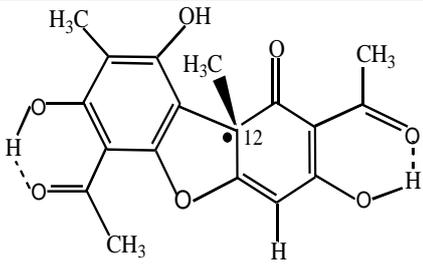
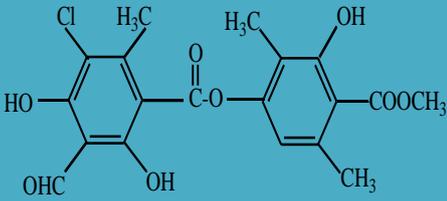
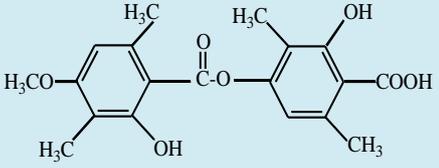
2.2.4 Penyebaran

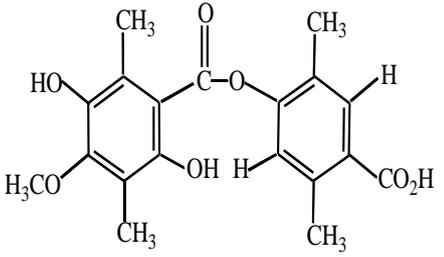
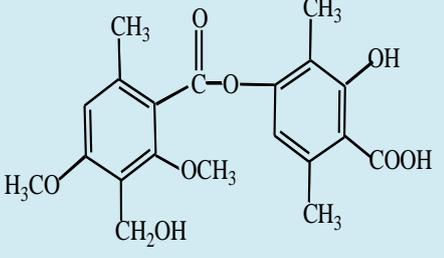
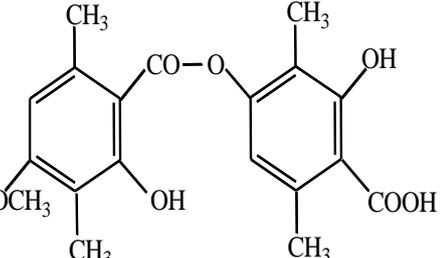
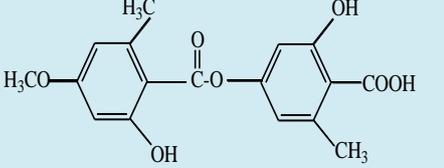
Kayu angin terdapat di daerah pegunungan di Indonesia, Malaysia, India, China, Jepang, Eropa, Amerika, Afrika, Amerika Tengah, Australia, Selandia Baru dan Inggris. Di Inggris ditemukan di daerah Wales dan Skotlandia, sedangkan di Afrika banyak ditemukan di Afrika Timur pada ketinggian 1000-4000 M dari permukaan laut. Di Indonesia, Kayu angin dapat ditemukan hampir semua pegunungan dengan ketinggian mulai 1000 M dari permukaan laut. Di Sumatera ditemukan di kaki gunung Kerinci dan gunung Singgalang. Di seluruh dunia diperkirakan ada 500 spesies. Di Indonesia dikenal beberapa spesies dari genus *usnea* antara lain: *U. mekista*, *U. articulate*, *U. dasypoga*, *U. longissima*, *U. sternaii*, *U. vrieseana*, *U. comosa*, *U. blepharea*, *U. bayleyi*, *U. javanica*, *U. flexuosa* dan lain-lain (Galloway, 1991).

2.2.5 Kandungan Kimia

Lichen atau kayu angin dapat mensintesis berbagai metabolit sekunder, terutama dari metabolisme jamur. Metabolit sekunder adalah kristal yang diendapkan pada permukaan hipotes. Mereka sukar larut dalam air dan biasanya dapat diisolasi dari lichen oleh pelarut organik (Otzurk *et al.*, 1999). Lebih dari seratus metabolit sekunder, terutama monoaromatik, depsida, depsidon, pulvinat, dibenzofuran, antrakuinon dan xanthon karakteristik lichen yang telah terdeteksi dan terisolasi (Molnar & Farkas, 2010). Beberapa kandungan senyawa kimia dari Lichen genus *Usnea* dapat dilihat pada Tabel 1. (Huneck, 1999).

Tabel 1. Beberapa Kandungan Senyawa Kimia dari Talus Lichen Genus *Usnea*

Spesies lichen	Bentuk/Sifat Fisika	Kandungan Senyawa Kimia
<i>Usnea</i>	kristal jarum/prisma berwarna kuning, mempunyai titik leleh 203-204°C.	 <p>(+) - Asam usnat</p>
	berbentuk kristal jarum/prisma berwarna kuning, mempunyai titik leleh 203-204°C.	 <p>(-) - Asam usnat</p>
<i>U. canariensis</i> (Ach.) Du Rietz	Kristal berwarna putih, mempunyai titik leleh 208-208,5°C	 <p>Kloroantranorin</p>
<i>U. barbata</i> (L.) Wigg.(3,4)	Berbentuk Kristal jarum, mempunyai titik leleh 187°C	 <p>Asam barbatat</p>

<p><i>U. diffracta</i> Vain.(2,4).</p>	<p>Mempunyai titik leleh 189-1909⁰C</p>	 <p>Asam difraktat</p>
<p><i>U. longisima</i> Ach.(3,4).</p>	<p>mempunyai titik leleh 156-158⁰C</p>	 <p>Asam 8-Hidroksi difraktat</p>
<p><i>U. comosa</i> (Ach) Rohl.</p>	<p>berbentuk kristal, mempunyai titik leleh 228-229⁰C</p>	 <p>Asam squamatat</p>
	<p>berbentuk kristal jarum, mempunyai titik leleh 270 – 272⁰C</p>	 <p>Asam evernat</p>

2.3 Metode Isolasi Kimia Bahan Alam

Isolasi adalah pemisahan suatu komponen kimia dari campuran. Pemisahan ini didasarkan atas perbandingan sifat partisi komponen tersebut terhadap adsorbennya. Isolasi ini dilakukan dengan cara ekstraksi, fraksinasi dan

kromatografi, sedangkan pemurnian suatu senyawa biasanya dilakukan dengan kromatografi dan rekristalisasi untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengotor (Harborne, 1996).

2.3.1 Penyiapan Sampel

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

2.3.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi yang dipilih untuk digunakan dalam suatu penelitian fitokimia sangat bergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang akan diisolasi. Maserasi merupakan cara ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari sampel yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam pelarut. Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut akibat kontak langsung dan waktu yang cukup lama dengan sampel (Manjang, 2004).

2.3.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

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

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

Dalam mengidentifikasi noda-noda dalam kromatografi sangat lazim menggunakan harga R_f (*Retardation Factor*) yang didefinisikan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal (cm)}}{\text{Jarak garis depan pelarut dari titik awal (cm)}}$$

Keterangan: Harga R_f beragam di mulai dari 0 sampai 1

Menurut Sastrohamidjojo (1991) nilai R_f sangat ditentukan oleh kelancaran pergerakan bercak dalam KLT, adapun faktor yang mempengaruhi pergerakan bercak adalah:

- a. Struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
- b. Sifat dari penjerap danderajat aktivitasnya
- c. Tebal dan kerataan dari lapisan penjerap

- d. Pelarut dan derajat kemurniannya
- e. Derajat kejenuhan dari uap pelarut dalam bejana elusi
- f. Teknik percobaan
- g. Jumlah sampel yang digunakan
- h. Suhu
- i. Keseimbangan

2.3.4 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam jumlah banyak. Pada dasarnya, prinsip kromatografi kolom sama dengan KLT, dimana senyawa-senyawa dalam campuran terpisah oleh karena adsorpsi antara suatu padatan penyerap sebagai fase diam dan suatu pelarut sebagai fase gerak. Kolom kromatografi biasanya berupa pipa gelas yang dilengkapi sebuah kran. Untuk menahan penyerap didalam kolom dapat digunakan wol kaca atau kapas (Sastrohamidjojo, 1985).

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

Sebagian besar prinsip pemisahan kromatografi kolom didasarkan pada afinitas kepolaran analit dengan fase diam. Sedangkan fase gerak selalu memiliki kepolaran yang berbeda dengan fase diam. Pada sebagian besar kromatografi kolom, menggunakan fase diam yang bersifat polar dengan fase gerak yang non-

polar akan menjadikan waktu retensi lebih singkat. Semakin cepat pergerakan fase gerak, akan meminimalkan waktu yang diperlukan untuk bergerak di sepanjang kolom. Laju aliran kolom dapat ditingkatkan dengan memperluas aliran eluent di dalam kolom dengan mengisi fase diam pada bagian bawah atau dikurangi dengan mengontrol kran. Laju aliran yang lebih baik dapat dicapai dengan menggunakan pompa atau dengan menggunakan gas dengan kompresi (misalnya nitrogen atau argon) untuk mendorong pelarut melalui kolom. Kolom (tabung gelas) diisi dengan bahan seperti alumina, silika gel atau pati yang dicampur dengan adsorben, dan pastinya diisikan ke dalam kolom. Larutan sampel kemudian diisikan ke dalam kolom dari atas sehingga sampel diadsorpsi oleh adsorben. Kemudian pelarut (fase gerak; pembawa) ditambahkan tetes demi tetes dari atas kolom. Partisi zat terlarut berlangsung di pelarut yang turun ke bawah (fase gerak) dan pelarut yang teradsorpsi oleh adsorben (fase diam). Selama perjalanan turun, zat terlarut akan mengalami proses adsorpsi dan partisi berulang-ulang. Laju penurunan berbeda untuk masing-masing zat terlarut dan bergantung pada koefisien partisi masing-masing zat terlarut (Sastrohamidjojo, 2005).

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

2.3.5 Kromatografi Radial

Kromatografi radial merupakan suatu teknik pemisahan untuk hasil fraksinasi. Dalam hal ini, fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom belum

memuaskan maka teknik ini dapat dipakai untuk memisahkan satu persatu komponen senyawa hasil pemisahan KLT maupun kromatografi kolom. Pada prinsipnya kromatografi radial adalah kromatografi klasik dengan aliran fase gerak yang dipercepat oleh gaya sentrifugal. Bentuknya sederhana, dengan desain yang baru berupa plat yang berbentuk piringan dari bahan kaca dengan garis tengah 24 cm, serta penyerapannya menggunakan silika gel PF254 yang umumnya digunakan untuk pemisahan yang lebih baik. Rotor terdapat dalam ruang yang tertutup dengan pelat kaca kuarsa. Penutup ini memungkinkan kita mengamati bercak yang tidak berwarna tetapi dapat menyerap sinar UV dengan memakai lampu UV. Teknik ini menggunakan aliran gas nitrogen untuk mencegah pengembunan pelarut pengelusi dan untuk mencegah oksidasi cuplikan (Hostettmann *et al.*, 1995).

2.3.6 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Kromatografi lapis tipis preparatif merupakan metode yang relatif sederhana, murah, cepat dan memiliki daya pisah yang cukup baik. Metode ini tidak dianjurkan untuk pemisahan awal, tetapi digunakan untuk pemurniaan akhir dalam prosedur isolasi senyawa (Harborne, 1987).

KLT preparatif adalah cara yang ideal untuk pemisahan cuplikan kecil (50 mg sampai 1 g) dari senyawa yang kurang atsiri. Cara ini berguna untuk memisahkan campuran reaksi sehingga diperoleh senyawa murni untuk meneliti bahan alam yang lazimnya berjumlah kecil dan campurannya rumit. Cuplikan yang akan dipisahkan ditotolkan berupa garis pada salah satu sisi plat lapisan besar (lapisan tebal sampai 1 mm) dan dikembangkan secara tegak lurus pada

garis cuplikan sehingga campuran akan terpisah menjadi beberapa pita. Penjerap yang mengandung pita dikerok dari plat kaca (Roy *dkk*, 1991).

Hal yang harus diperhatikan pada KLT preparatif adalah penyapuan pelat kaca dengan penyerap. Pelat kaca harus dibersihkan hati-hati dengan aseton untuk menghilangkan lemak. Kemudian bubuk silika gel atau penyerap lainnya dalam air harus dikocok kuat-kuat selama jangka waktu tertentu sebelum penyapuan. Apabila diperlukan, penambahan kalsium sulfat hemihidrat (15%) untuk membantu melekatkan penyerap pada plat kaca. Setelah penyaputan, plat harus dikeringkan pada suhu kamar dan kemudian diaktifkan dengan pemanasan dalam tanur pada suhu 100 – 110⁰ C selama 30 menit (Harborne, 1987).

2.4 Metode Karakterisasi Fisikokimia

2.4.1 Spektrofotometri Ultraviolet-Visible

Spektrofotometri UV-Vis merupakan pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektrofotometri UV-Visible biasanya digunakan untuk menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap terkonjugasi dan ausokrom dari suatu senyawa organik, yang menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum dari suatu senyawa serta mampu menganalisa senyawa organik secara kuantitatif menggunakan hukum Lambert-Beer (Dachriyanus, 2004).

Hukum Lambert-beer adalah hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit. Biasanya hukum Lambert-beer ditulis dengan:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Keterangan:

A = Absorban

ϵ = Koefisien ekstingsi molar ($M^{-1}cm^{-1}$)

B = Tebal kuvet (cm)

C = Konsentrasi (M)

Hukum Lambert-Beer menjadi dasar aspek kuantitatif spektrofotometri dimana konsentrasi dapat dihitung berdasarkan rumus di atas. Absorptivitas (a) merupakan konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorptivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul dan panjang gelombang radiasi (Day & Underwood, 2002; Rohman, 2007).

2.4.2 Spektrofotometri *Infra Red*

Spektrofotometri inframerah (*Infra Red*) didasarkan pada penyerapan sinar inframerah oleh molekul senyawa (Adijuwana & Anwar, 1989). Alat ini digunakan untuk mengetahui gugus fungsi suatu senyawa kimia, khususnya senyawa organik (Khopkar, 1990). Cuplikan yang dianalisis dapat berupa zat cair atau zat padat. Bila radiasi inframerah dilewatkan melalui cuplikan, molekul-molekul senyawa dapat mengadsorpsi energi yang hanya dapat menyebabkan molekul mengalami rotasi dan vibrasi (Adijuwana & Anwar, 1989).

Radiasi IR dengan bilangan gelombang antara 10.000-100 cm^{-1} diserap dan diubah oleh molekul organik menjadi energi molekular vibrasi. Penyerapan ini juga terkuantisasi, tetapi spektrum vibrasi menunjukkan ikatan-ikatan sebagai garis-garis, dikarenakan perubahan suatu energi vibrasi tunggal yang diikuti oleh perubahan energi rotasi. Sebagian besar hal ini terjadi di daerah bilangan gelombang antara 4000-400 cm^{-1} . Frekuensi atau panjang gelombang absorpsi tergantung pada massa relatif atom-atom, tetapan gaya dari ikatan-ikatan dan geometri atom-atom (Silverstein *et al.*, 2002).

Tabel 2. Tabel Korelasi Infra Merah (Pavia, *dkk.* 2009)

Ikatan tunggal ke hydrogen	Jenis ikatan	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Keterangan
	C-H	3000-2850	Alkana jenuh
	=C-H	3100-3000	Alkana tak jenuh atau aromatic
	O=C-H	2800-2700	Aldehid dua puncak lemah
	O-H	3400-3000	Alkohol,air,fenol.
	O-H bebas	3600	-
	N-H	3450-3100	Amina
Rangkap dua	C=O	1840-1800 dan 1780-1740	Anhidrida
	C=O	1750-1715	Ester

	C=O	1740-1680	Aldehid
	C=O	1725-1665	Asam karboksilat
	C=O	1690-1630	Amida
	C=C	1675-1600	-
	C=N	1690-1630	-
	N=O	1650-1510 dan 1370-1330	Senyawa nitro
Ikatan tunggal (bukan hydrogen)	C-C	Tak tetap	-
	C-O, C-N	1400-1000	-
Rangkap tiga	C rangkap tiga	2260-2120	-

2.5 Jamur

Jamur merupakan suatu mikroorganisme *eukariotik* yang mempunyai ciri-ciri spesifik yaitu mempunyai inti sel, memproduksi spora, tidak mempunyai klorofil, dapat berkembang biak secara aseksual dan beberapa jamur mempunyai bagian-bagian tubuh berbentuk filamen-filamen dan sebagian lagi bersifat uniseluler (Fardiaz, 1989). Beberapa jamur meskipun saprofitik, dapat juga menyerbu inang

yang hidup lalu tumbuh dengan subur sebagai parasit dan menimbulkan penyakit pada tumbuhan, hewan, termasuk manusia (Pelczar & Chan, 1986).

Jamur dapat lebih bertahan dalam keadaan alam sekitar yang tidak menguntungkan dibanding dengan jasad-jasad renik lainnya. Jamur dapat hidup pada pH 3,8-5,6 bersifat fakultatif artinya dapat hidup dalam keadaan aerobik (ada oksigen) maupun anaerobik (tidak ada oksigen). Jamur dapat tumbuh dalam kisaran suhu 22-30°C (saprofit) dan 30-37°C (parasit), tanpa cahaya dengan komponen struktural dinding sel kitin, selulose atau glukon. Jamur dapat hidup dalam kadar gula 4-5%, resisten terhadap penisilin, tetrasiklin, kloramfenikol dan peka terhadap griseofulvin (Pelczar & Chan, 1986).

2.5.1 *Candida albicans*



Candida albicans

Gambar 2. Jamur *Candida albicans*

Klasifikasi dari *Candida albicans* adalah sebagai berikut (Waluyo, 2004) :

Kingdom : Fungi

Division : Thallophyta

Subdivision : Fungi

Class : Deuteromycetes

Orde : Moniliales

Family : Cryptococcaceae

Genus : *Candida*

Species : *Candida albicans* (C.P. Robin)

2.3.2 Morfologi Jamur

Candida albicans tampak sebagai ragi lonjong, kecil, berdinding tipis, bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4-6 μm yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa) terlihat pada **Gambar 2**. *C. albicans* membentuk pseudohifa ketika tunas-tunas terus tumbuh tetapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel

yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada septasi-septasi diantara sel. *C. albicans* bersifat dimorfik, selain ragi-ragi dan pseudohifa, ia juga bisa menghasilkan hifa sejati (Brooks *et al.*, 2007). Pada media agar yang dieramkan pada suhu kamar atau 37°C selama 3x24 jam, *C. albicans* menghasilkan koloni-koloni halus berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. Pertumbuhan permukaan terdiri atas sel-sel bertunas lonjong. Pertumbuhan di bawahnya terdiri atas pseudomiselium. Ini terdiri atas pseudohifa yang membentuk blastokonidia pada nodus-nodus dan kadang-kadang klamidokonidia pada ujung-ujungnya. Dua tes morfologi sederhana membedakan *C. albicans* yang paling patogen dari spesies *Candida* lainnya yaitu setelah inkubasi dalam serum selama sekitar 90 menit pada suhu 37°C, sel-sel ragi *C. albicans* akan mulai membentuk hifa sejati atau tabung benih dan pada media yang kekurangan nutrisi *C. albicans* menghasilkan chlamydospora bulat dan besar. *C. albicans* meragikan glukosa dan maltosa, menghasilkan asam dan gas, asam dari sukrosa dan tidak bereaksi dengan laktosa. Peragian karbohidrat ini, bersama dengan sifat-sifat koloni dan morfologi, membedakan *C. albicans* dari spesies *Candida* lainnya (Brooks *et al.*, 2007).

2.3.3 Patogenitas

Candida albicans dapat hidup sebagai saprofit tanpa menyebabkan kelainan di dalam berbagai organ tubuh manusia maupun hewan. Faktor rentan dapat menyebabkan *C. albicans* dapat berubah menjadi patogen dan menyebabkan penyakit yang disebut kandidiasis. Kandidiasis adalah suatu infeksi akut atau

subakut yang dapat menyerang berbagai jaringan tubuh (Siregar,2004). Misalnya kandidiasis mulut (sariawan), kandidiasis vagina (vaginitis), kandidiasis kulit yang sifatnya sistemik. Beberapa faktor yang menyebabkan *C. albicans* menjadi patogen adalah daya tahan tubuh menurun, pemberian antibiotik yang terlalu lama dan berlebihan. Pada mulanya penyakit kandidiasis dianggap hanya penyakit ringan, tetapi setelah ditemukan kasus yang fatal pada penderita kandidiasis, maka dapat disimpulkan bahwa kandidiasis juga dapat menyerang organ dalam seperti jantung, ginjal, paru-paru (Tjay & Rahardja, 2003).

2.6 Antijamur

Menurut Ganiswara (1995), zat antijamur merupakan bahan yang dapat membasmi jamur pada umumnya, khususnya yang bersifat patogen bagi manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, senyawa antifungi dibagi atas fungisida dan fungistatik. *Fungisida* yaitu senyawa antijamur yang mempunyai kemampuan untuk membunuh jamur sehingga dinding sel jamur menjadi hancur karena lisis, akibatnya jamur tidak dapat bereproduksi kembali, meskipun kontak dengan obat telah dihentikan. *Fungistatik* yaitu senyawa antijamur yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur sehingga jumlah sel jamur yang hidup relatif tetap. Pertumbuhan jamur akan berlangsung kembali bila kontak dengan obat dihentikan.

2.7 Metode Pengujian Aktivitas Antijamur

Suatu sampel apabila memiliki bioaktivitas terhadap jamur dapat di amati dengan respon pertumbuhan berbagai jenis jamur yang berkontak dengan ekstrak atau sampel uji. Penentuan aktivitas antijamur dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode utama berikut:

1. Metode difusi

Pada metode difusi ini yaitu uji potensi berdasarkan pengamatan luas daerah hambatan pertumbuhan jamur karena berdifusinya antijamur dari titik awal pemberian ke daerah difusi. Metode ini bertujuan untuk menguji sensitivitas antimikroba terhadap mikroorganisme. Pada metode ini ada beberapa cara yaitu cara *Kirby Bauer* dan *Pour plate* (Anonim, 1993).

2. Metode dilusi cair atau padat

Pada prinsipnya sejumlah obat antimikroba diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, kemudian ditanami jamur. Metode dilusi cair adalah metode untuk menentukan konsentrasi minimal dari suatu antijamur yang dapat menghambat atau membunuh mikroorganisme. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan jamur ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan disebut Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) pada dilusi cair (Anonim, 1993).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Biota Sumatera (LBS), Universitas Andalas, Padang dari bulan Desember 2018-Juli 2019.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan adalah *grinder, rotary vacuum evaporator, laminar air flow, autoklaf, oven, inkubator, hot plate, chamber, Fischer Jhons melting point apparatus* DMP100 Inotech®, *aluminium foil, cutter*, penggaris, timbangan analitik, plat KLT, pipet tetes, gunting, corong, erlenmeyer, lampu UV 254nm, pipet kapiler, gelas ukur, beaker glass, vial, spatel, pinset, cawan petri, bunsen, jarum ose, seperangkat alat kromatografi kolom, seperangkat alat kromatografi radial, spektrofotometri UV-Vis Pharmaspec 1700 (Shimadzu®) dan spektrofotometri FT-IR pectometer frontier Perklin Elmer®.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah tumbuhan kayu angin *Usnea mekista*, Aquadest, n-Heksan, Etil asetat, Metanol, Toluene, Asam format, Asam asetat, Anisaldehyd asam sulfat (ANS), Asam sulfat (H₂SO₄), Etanol 70%, Silica Gel, jamur *Candida albicans*, kertas saring, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), Natrium klorida 0,9% (NaCl), Nistatin dan Dimetil sulfoksida (DMSO).

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Penentuan Taksonomi Kayu Angin *Usnea mekista*

Sampel yang digunakan adalah kayu angin *Usnea mekista* segar yang diambil pada kawasan Gunung Singgalang, Agam. Kayu angin *U. mekista* telah diidentifikasi sebelumnya di Herbarium Univ. Rennes 1 dan Museum Botani BGBM, Jerman.

3.3.2 Penyortiran dan Persiapan Sampel

Kayu angin *Usnea mekista* dibersihkan dan dikering anginkan selama 4 hari. Kemudian dipotong kecil-kecil dan digrinder sampai menjadi serbuk. Serbuk kemudian ditimbang sebanyak 5 Kg.

3.4 Isolasi Kayu Angin *Usnea mekista*

3.4.1 Ekstraksi

Serbuk kayu angin *Usnea mekista* diekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 3x24 jam pada suhu kamar (Ririn, 2011). Hasil maserasi kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapatkan kental berwarna coklat. Kemudian dilakukan monitoring kandungan senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Eluen yang digunakan adalah toluene: etil asetat: asam format (70: 25: 5) yang merupakan eluen standar untuk lichen (Hunneck and Yoshimura, 1996).

3.5 Uji Aktivitas Antijamur

3.5.1 Sterilisasi Alat

Seluruh alat yang akan digunakan dicuci bersih dan dikeringkan. Tabung reaksi, gelas ukur, erlemeyer berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA) ditutup mulutnya dengan kapas dan cawan petri dibungkus dengan kertas. Sterilisasi kemudian dilakukan menggunakan *autoklaf* pada suhu 121°C dan tekanan 15 atm selama 30 menit. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara memijarkan pada

api bunsen (Pratiwi, 2010). *Laminar air flow* dibersihkan dan disemprot dengan etanol 70% dan sterilkan dengan menyalakan lampu UV selama 15 menit.

3.5.2 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

3,9 g serbuk PDA dimasukkan ke beaker glass lalu dilarutkan dalam 100 ml aquadest dan dihomogenkan menggunakan *hotplate*. Media kemudian disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 15 atm selama 15 menit (Krisyanella *dkk*, 2012).

3.5.3 Jamur Uji

Jamur *Candida albicans* ATCC 10231 didapatkan dari Laboratorium Biota Sumatera, Universitas Andalas.

3.5.4 Peremajaan Jamur Uji

Jamur diremajakan dengan menggoreskan sejumlah jamur menggunakan jarum ose pada media agar miring. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama \pm 5 hari (Setyaningsih *dkk.*, 2012).

3.5.5 Pembuatan Suspensi Jamur

Kultur jamur murni diambil menggunakan jarum ose kemudian dimasukkan ke dalam 1 ml NaCl 0,9% lalu divortex hingga kekeruhan homogen. Kekeruhan suspensi dilihat berdasarkan standar 0.5 Mc Farland (10^8 CFU/ml) (Gandhy, 2012).

3.5.6 Penyiapan Sampel Uji

Sampel ekstrak etil asetat kayu angin *Usnea mekista* dibuat menjadi beberapa konsentrasi. Ekstrak ditimbang masing-masing 5 mg dan 10 mg kemudian dilarutkan dalam 50 μ l DMSO sehingga didapatkan konsentrasi 10% dan 20% .

3.5.7 Uji Aktivitas Antijamur *Candida albicans*

Pengujian aktivitas antijamur dilakukan dengan metode tuang. Diambil 1 ml suspensi jamur lalu tuangkan ke dalam cawan petri. Kemudian diambil media agar ± 20 ml lalu dituangkan ke dalam cawan petri. Secara perlahan cawan petri digoyang dengan gerakan memutar tanpa diangkat dari permukaan meja sehingga tercampur rata dan didiamkan sampai memadat (Irianto, 2012).

Kertas cakram dibuat dari kertas saring yang dibuat bulat dengan alat pelubang kertas sehingga didapatkan kertas cakram dengan diameter 6 mm (Sunarmi, 2010). Kemudian celupkan kertas cakram ke masing-masing larutan uji selama ± 10 menit, kemudian diangin-anginkan sampai tidak ada larutan yang menetes (Hakim, 2009). Letakkan kertas cakram diatas permukaan medium agar, lalu cawan petri ditutup kemudian diinkubasi selama ± 5 hari pada suhu ruang (Setyaningsih *dkk.*,2012).

Aktivitas antijamur diamati berdasarkan diameter daerah hambat yang ditunjukkan dengan daerah bening yang dibentuk disekeliling kertas cakram. Diameter daerah hambat diukur menggunakan jangka sorong (Ningrum *dkk.*, 2013).

3.6 Kromatografi Kolom

3.6.1 Penyiapan Kolom

Timbang silica gel secukupnya lalu ditambahkan pelarut n-heksan hingga berbentuk bubur (*slurry*). Kemudian bagian bawah kolom dimasukkan kapas dan ditutup dengan kertas saring. Selanjutnya *slurry* dimasukkan kedalam kolom dan dipadatkan hingga tidak ada rongga udara.

3.6.2 Penyiapan Sampel

Sampel di buat preabsorpsi yaitu massa sampel di campurkan dengan silica gel dengan perbandingan 1:1 kemudian ditambahkan pelarut etil asetat dan diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga kering.

3.6.3 Pemisahan Sampel

Sampel dimasukkan ke dalam kolom melalui bagian atas. Pada bagian atas dilapisi dengan kapas. Setelah itu proses elusi dapat dilakukan. Proses elusi dimulai dengan menuangkan eluen mulai dari eluen yang non polar ke dalam kolom. Setelah melewati kolom, maka akan keluar eluat yang ditampung dalam wadah. Eluat yang keluar pertama disebut dengan fraksi pertama, eluat kedua sebagai fraksi kedua dan seterusnya. Proses ini dilakukan terus menerus dengan peningkatan kepolaran eluen secara gradien sampai dengan eluen paling polar. Hasil dari fraksi–fraksi kemudian di cek kembali dengan KLT.

Tabel 3. Data Komposisi Eluen dalam Kromatografi Kolom

No. Eluen	Eluen (<i>n</i> -heksan (mL) : etilasetat (mL))	Volume <i>n</i> -heksan (mL)	Volume etilasetat (mL)	Volume Metanol (mL)	Total Volume Eluen (mL)
1	10:0	1000	0	-	1000
2	9:1	950	50	-	1000
3	8:2	400	100	-	500

4	7:3	350	150	-	500
5	6:4	120	80	-	200
6	1:1	100	100	-	200
7	Metanol	-	-	200	200

3.7 Kromatografi Radial

Kromatografi ini menggunakan rotor yang dimiringkan yang terdapat dalam ruang tertutup oleh plat kaca kuarsa, sedangkan lapisan penyerapnya berupa plat kaca yang dilapisi oleh silika gel. Plat dipasang pada motor listrik dan diputar dengan kecepatan 800 *rpm*. Pelarut pengelusi dimasukkan ke bagian tengah pelarut melalui pompa torak sehingga dapat mengalir dan merambat melalui lapis tipis karena adanya gaya sentrifugal untuk mengetahui jalannya proses elusi dimonitor dengan lampu UV. Gas nitrogen dialirkan kedalam ruang plat untuk mencegah pengembunan pelarut pengelusi dan mencegah oksidasi sampel. Pemasukan sampel diikuti dengan pengelusian menghasilkan pita-pita komponen berupa lingkaran sepusat. Pada tepi plat, pita-pita akan terputar keluar dengan gaya sentrifugal dan ditampung dalam botol fraksi kemudian di cek dengan KLT kembali (Hostettmann, 1995).

Plat yang digunakan harus dibasahkan terlebih dahulu dengan n-heksan. Selanjutnya masukkan sampel yang sudah ditimbang dan dilarutkan menggunakan aseton. Masukkan sampel, setelah semua sampel masuk maka biarkan mengering, setelah kering lalu lakukan elusidasi menggunakan eluen yang telah ditentukan. Amati pemisahannya dengan lampu UV. Eluat yg keluar kemudian ditampung dan di cek dengan KLT kembali.

Tabel 4. Data komposisi eluen dalam Kromatografi Radial

No. Eluen	Eluen (<i>n</i> -heksan (mL) : etilasetat (mL))	Volume <i>n</i> -heksan (mL)	Volume etilasetat (mL)	Volume Metanol (mL)	Total Volume Eluen (mL)
1	10:0	500	0	-	500
2	9:1	270	30	-	300
3	8:2	240	60	-	300
4	7:3	210	90	-	300
5	6:4	120	80	-	200
6	1:1	100	100	-	200
7	Metanol	-	-	200	200

3.8 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Sampel ditimbang lalu dilarutkan dengan etil asetat sampai benar-benar larut. Kemudian sampel ditotolkan pada plat kaca yang tebalnya 1 mm dan di elusidasi menggunakan eluen toluene: etil asetat: asam format (70: 25: 5). Setelah itu keringkan plat menggunakan pemanas dan amati pada lampu UV 254 nm. Bercak noda yang terpisah di tandai kemudian dikerok, hasil kerokan direndam menggunakan pelarut sesuai. Hasil rendaman yang didapatkan kemudian di cek dengan KLT. Jika noda yang dihasilkan pada plat KLT tunggal, maka senyawa dianggap telah murni.

3.9 Uji Aktivitas Antijamur *Candida albicans*

Sampel metabolit sekunder hasil isolasi masing-masing ditimbang 0,6 mg kemudian dilarutkan dalam 100 µl DMSO sehingga didapatkan larutan induk 0,6%, dari larutan induk kemudian diencerkan menjadi 0,3% dan 0,15%.

Diambil 1 ml suspensi jamur lalu dituangkan ke dalam cawan petri. Kemudian ambil media agar \pm 20 ml lalu dituangkan ke dalam cawan petri. Secara perlahan cawan petri digoyang dengan gerakan memutar tanpa diangkat dari permukaan meja sehingga tercampur rata dan didiamkan sampai memadat (Irianto, 2012). Kemudian celupkan kertas cakram ke masing-masing larutan uji, kemudian diangin-anginkan sampai tidak ada larutan yang menetes (Hakim, 2009). Letakkan kertas cakram diatas permukaan medium agar, lalu cawan petri ditutup kemudian diinkubasi selama \pm 5 hari pada suhu ruang (Setyaningsih *dkk.*,2012).

Aktivitas antijamur diamati berdasarkan diameter daerah hambat yang ditunjukkan dengan daerah bening yang dibentuk disekeliling kertas cakram. Diameter daerah hambat diukur menggunakan jangka sorong (Ningrum *dkk.*, 2013).

3.10 Karakterisasi Metabolit Hasil Isolasi

Karakterisasi metabolit hasil isolasi dilakukan dengan berbagai parameter yaitu:

3.10.1 Organoleptis

Sampel diperiksa secara organoleptis, yaitu pemeriksaan terhadap bentuk, warna, bau dan rasa.

3.10.2 Secara Fisika Pengukuran Titik Leleh

Langkah-langkah penentuan titik leleh menggunakan Melting point apparatus adalah (Martin, 1990):

Sampel dimasukkan kedalam pipa kapiler secukupnya. Kemudian dimasukkan pipa kapiler yang telah berisi sampel tersebut ke dalam alat dan

diamati dengan kaca pembesar pada alat. Selanjutnya nyalakan alat dan mulailah mengamati kenaikan suhunya. Catat suhu jika sampel mulai meleleh dan catat suhu saat seluruh sampel telah meleleh.

3.10.3 Secara Fisikimia

Untuk menentukan panjang gelombang serapan maksimum ialah menggunakan spektrofotometri UV-Vis, caranya sampel ditimbang sebanyak 0,5 mg dan dilarutkan dalam 5 ml metanol. Kemudian dimasukkan sampel kedalam kuvet dan dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan rentang spektrum panjang gelombang 200-800 nm (Markham, 1988).

Untuk menentukan gugus fungsi ialah menggunakan spektrofotometri *Infra Red*, caranya sampel ditimbang sebanyak 0,1 mg kemudian sampel dimasukkan kedalam alat dan dianalisis pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Kemudian ditunggu proses pembacaan data sehingga muncul kromatogram pada komputer (Ulfa, 2016).

BAB IV.HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Dari 5 Kg serbuk kayu angin *Usnea mekista* diperoleh 3 metabolit sekunder hasil isolasi yaitu senyawa A dengan nilai Rf 0.76 memiliki bobot 359 mg, senyawa B dengan nilai Rf 0.61 memiliki bobot 59 mg dan senyawa C dengan nilai Rf 0.46 memiliki bobot 25 mg.
2. Hasil identifikasi metabolit sekunder hasil isolasi kayu angin *Usnea mekista* adalah sebagai berikut :
 - a. Organoleptis :
 - Senyawa A bercak noda berwarna ungu, bentuk kristal dan berbau khas. (Tabel 5, halaman 35)
 - Senyawa B bercak noda berwarna jingga, bentuk kristal dan berbau khas. (Tabel 5, halaman 35)
 - Senyawa C bercak noda berwarna kuning, bentuk kristal dan berbau khas. (Tabel 5, halama 35)
 - b. Fisika :
 - Senyawa A memiliki titik leleh 203-205°C (Tabel 6, halaman 35)
 - Senyawa B memiliki titik leleh 145-147°C (Tabel 6, halaman 35)
 - Senyawa C memiliki titik leleh 138-140°C (Tabel 6, halaman 35)
 - c. Fisikokimia :
 - Senyawa A memiliki panjang gelombang serapan maksimum pada 226 nm (absorban 0.665) dan pada *Infra Red* menyerap pada bilangan gelombang 3090 cm⁻¹ gugus fungsi (O-H), bilangan gelombang 2926

cm⁻¹ gugus fungsi (C-H), bilangan gelombang 1668 cm⁻¹ gugus fungsi (C=C) dan bilangan gelombang 1609 cm⁻¹ gugus fungsi (C=O). (Tabel 7, halaman 36)

- Senyawa B memiliki panjang gelombang serapan maksimum pada 212 nm (absorban 0.681) dan pada *Infra Red* menyerap pada bilangan gelombang 2930 cm⁻¹ memiliki gugus fungsi (C-H), bilangan gelombang 2549 cm⁻¹ gugus fungsi (C-H) dan bilangan gelombang 1118 cm⁻¹ gugus fungsi (C-O). (Tabel 7, halaman 36)
- Senyawa C memiliki panjang gelombang serapan maksimum 206 nm (absorban 0.404) dan pada *Infra Red* menyerap pada bilangan gelombang 3471 cm⁻¹ memiliki gugus fungsi (N-H), bilangan gelombang 2946 cm⁻¹ gugus fungsi (C-H), bilangan gelombang 1735 cm⁻¹ gugus fungsi (C=O) dan bilangan gelombang 1431 cm⁻¹ gugus fungsi (C=C). (Tabel 7, halaman 36)

3. Pengujian antijamur terhadap ekstrak etil asetat kayu angin *Usnea mekista* pada konsentrasi 10% memiliki diameter zona hambat sebesar 10.85 mm ±0.57 dan pada konsentrasi 20% memiliki diameter zona hambat sebesar 11.52 mm ±0.28. (Tabel 8, 38)

4. Pengujian antijamur terhadap metabolit sekunder hasil isolasi pada senyawa A, B dan C tidak memiliki daerah zona hambat. (Tabel 8, halaman 38)

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan isolasi metabolit sekunder dari kayu angin *Usnea mekista* serta uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Sampel

yang digunakan adalah tumbuhan kayu angin *U. mekista* yang diambil pada kawasan Gunung Singgalang, Agam. Kayu angin *U. mekista* sebelumnya telah diidentifikasi di Herbarium Univ. Rennes 1 dan Museum Botani BGBM, Jerman.

Pada penelitian ini untuk mengisolasi metabolit sekunder dilakukan dengan menggunakan teknik isolasi. Prosedur kerja dimulai dari sampel diberlakukan perajangan terlebih dahulu, tujuan dilakukan perajangan adalah untuk memperluas permukaan sampel sehingga penetrasi pelarut ke dalam sampel lebih meningkat. Kayu angin *U. mekista* kemudian dibersihkan dan dikering anginkan selama ± 4 hari. Kemudian dipotong kecil-kecil dan digrinder sampai menjadi serbuk. Serbuk yang didapat lalu ditimbang sebanyak 5 Kg untuk selanjutnya dimaserasi.

Sampel dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat. Maserasi adalah salah satu proses ekstraksi yang sederhana dan sangat mudah. Tujuan dilakukan maserasi ialah untuk menarik komponen-komponen kimia yang terkandung pada serbuk kayu angin *U. mekista* tersebut. Maserasi sampel dilakukan sebanyak 3x24 jam pada suhu kamar. Kemudian hasil maserasi disaring dan filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental berwarna coklat. Ekstrak yang didapat tersebut kemudian dilakukan pemisahan menggunakan beberapa teknik kromatografi, dimulai dari kromatografi kolom gravitasi, kromatografi radial, sampai kromatografi lapis tipis preparatif. Dari pemisahan yang dilakukan tersebut maka akhirnya didapatkan metabolit sekunder dari kayu angin *U. mekista* ini. Metabolit sekunder tersebut yaitu, senyawa A memiliki bobot 359 mg, senyawa B memiliki bobot 59 mg dan senyawa C memiliki bobot 25 mg.

Setelah beberapa metabolit sekunder didapatkan, kemudian dilakukan karakterisasi metabolit hasil isolasi dengan cara memeriksa organoleptis. Organoleptis dapat dijelaskan pada Tabel 5.

Tabel 5. Organoleptis Kayu Angin *Usnea mekista*

Parameter	Senyawa A	Senyawa B	Senyawa C
- Warna	Ungu	Jingga	Kuning
- Bentuk	Kristal	Kristal	Kristal
- Bau	Khas	Khas	Khas
- Rasa	-	-	-

Selanjutnya pemeriksaan secara fisika dengan titik leleh menggunakan *melting point apparatus*, masing-masing dapat dijelaskan pada Tabel 6.

Tabel 6. Pemeriksaan Titik Leleh

Senyawa A	Senyawa B	Senyawa C
203-205°C	145-147°C	138-140°C

Titik leleh adalah suhu dimana suatu senyawa atau zat mulai beralih fasa dari padatan menjadi fasa cairan sempurna. Titik leleh dapat digunakan sebagai acuan apakah senyawa yang didapatkan tersebut murni atau tidak. Senyawa murni biasanya mempunyai rentang titik leleh tak lebih dari 3°C.

Pemeriksaan selanjutnya adalah menentukan panjang gelombang serapan maksimum menggunakan spektrofotometri Uv-Vis. Adapun cara kerja dari pemeriksaan ini ialah sampel ditimbang 0,5 mg kemudian dilarutkan dalam 5 ml metanol. Kemudian sampel dimasukkan kedalam kuvet lalu dimasukkan kedalam alat dan dianalisis pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Dari

pemeriksaan tersebut didapatkan pada senyawa A memiliki panjang gelombang 226 nm (absorban 0,665), senyawa B 212 nm (absorban 0,681) dan senyawa C 206 nm (absorban 0,404). Selanjutnya untuk menentukan gugus fungsi ialah menggunakan spektrofotometri *Infra Red*. Caranya timbang sampel sebanyak 0,1 mg kemudian sampel diletakkan pada alat dan dianalisis pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Hasil pemeriksaan dapat dijelaskan pada Tabel 7.

Tabel 7. Pemeriksaan UV-Vis dan IR

Parameter	Senyawa A	Senyawa B	Senyawa C
UV-Vis	λ max 226 nm (absorban 0,665)	λ max 212 nm (absorban 0,681)	λ max 206 nm (absorban 0,404)
IR	-bilangan gelombang 3090 cm^{-1} gugus (O-H)	-bilangan gelombang 2930 cm^{-1} gugus (C-H)	-bilangan gelombang 3471 cm^{-1} gugus (N-H)
	-bilangan gelombang 2926 cm^{-1} gugus (C-H)	-bilangan gelombang 2549 cm^{-1} gugus (C-H)	-bilangan gelombang 2946 cm^{-1} gugus (C-H)
	-bilangan gelombang 1668 cm^{-1} gugus (C=C)	-bilangan gelombang 1118 cm^{-1} gugus (C-O)	-bilangan gelombang 1735 cm^{-1} gugus (C=O)
	- bilangan gelombang 1609 cm^{-1} gugus (C=O)		-bilangan gelombang 1431 cm^{-1} gugus (C=C)

Pemeriksaan selanjutnya adalah pengujian aktivitas antijamur, dimana ekstrak dan metabolit sekunder hasil isolasi di uji menggunakan jamur *Candida albicans*. Tujuan pengujian ini ialah untuk mengetahui ada atau tidak aktivitas antijamur dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*. Jamur *C. albicans* merupakan salah satu spesies jamur yang paling sering menyebabkan infeksi. *C. albicans* tumbuh sebagai flora normal pada tubuh manusia, tetapi apabila tubuh terjadi perubahan penurunan kekebalan tubuh, maka *C. albicans* akan bersifat patogen dan akan menimbulkan infeksi yang sering disebut dengan kandidiasis.

Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antijamur ini ialah dengan difusi cakram. Metode difusi cakram merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan antijamur terhadap suatu antibiotik. Pada cara ini digunakan suatu cakram kertas saring yang telah dibuat bulat dengan alat pelubang kertas sehingga didapatkan kertas cakram dengan diameter 6 mm (Sumarni, 210). Kertas cakram kemudian dicelupkan ke masing-masing sampel uji dan diangin-anginkan sampai kertas cakram mengering. Kertas cakram tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasikan jamur uji, dan diinkubasi pada suhu ruang \pm 5 hari.

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh ekstrak etil asetat kayu angin *U. mekista* pada konsentrasi 10% memiliki diameter zona hambat sebesar 10.85 ± 0.57 mm dan pada konsentrasi 20% memiliki diameter zona hambat sebesar 11.52 ± 0.28 mm. Sedangkan pada metabolit sekunder hasil isolasi pada senyawa A, B dan C tidak ditemukan aktivitas yang ditandai dengan tidak adanya zona bening disekitar cakram. Menurut Greenwood (1995), respon hambatan pertumbuhan mikroba dapat diklasifikasikan sebagai berikut, apabila diameter

zona hambatan >20 mm maka dikategorikan kuat, zona hambatan 16-20 mm dikategorikan sedang, zona hambatan 10-15 mm dikategorikan lemah dan zona hambatan <10 dikategorikan kurang efektif. Pemeriksaan diameter zona hambatan dapat dijelaskan pada Tabel 8.

Tabel 8. Nilai Zona Hambatan Antijamur Ekstrak Kayu Angin *Usnea mekista*

Pengulangan	(+)	(-)	E10%	E20%
1	26.18	-	10.81	11.43
2	26.75	-	10.76	11.84
3	26.39	-	10.99	11.29
Jumlah	79.32	-	32.56	34.56
Rerata ±SD	26.44±0.28	-	10.85±0.57	11.52±0.28

Keterangan :

(+) : Nistatin

(-) : DMSO

E10% : Ekstrak etil asetat 10%

E20% : Ekstrak etil asetat 20%

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan telah didapatkan 3 metabolit sekunder hasil isolasi yaitu senyawa A memiliki bobot 359 mg, senyawa B bobot 59 mg dan senyawa C bobot 25 mg. Pada pengujian aktivitas antijamur ekstrak etil asetat kayu angin *usnea mekista* didapatkan bahwa aktivitas antijamur *Candida albicans* memiliki daya hambat yang lemah, diketahui pada konsentrasi 20% diameter zona hambat sebesar 11.52 mm \pm 0.28. Sedangkan pada pengujian aktivitas antijamur metabolit sekunder hasil isolasi kayu angin *usnea mekista*, pada senyawa A, B dan C tidak ditemukan aktivitas antijamur *Candida albicans* yang ditandai dengan tidak adanya zona bening pada sekitar cakram.

5.2 Saran

Disarankan untuk peneliti selanjutnya melakukan isolasi kayu angin *usnea mekista* untuk menemukan metabolit sekunder lainnya serta menguji aktivitas yang dimilikinya sehingga dapat dikembangkan sebagai produk farmasi yang bermanfaat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adjuwana H dan Anwar Nur M. 1989. *Teknik Pemisahan dan Analisis Biologi*. Bogor : Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat IPB.
- Afifah, Nurul. 2010. Analisis Kondisi dan Potensi Lama Fermentasi Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) dalam Menghambat Bakteri Patogen *Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus*. *Skripsi*. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Inrahim.
- Anonim. 1993. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi revisi, Universitas Indonesia Press, Jakarta : 106-110.
- Aulia, Dwi Putri. 2018. Validasi Metode Analisis Penetapan Kadar Asam Usnat pada beberapa Ekstrak *Usnea Sp* Secara Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi Densitometri. *Skripsi*. Universitas Andalas : Padang.
- Balaji, P., Hariharan, G.N., 2007, Invitro Antimicrobial Activity of *P. Praesoredium thallus* Extract. *Research J. Botany* (1), 54-59.
- Beaching, S.Q., and Hill, R. 2007. *Guide to Twelvw Common and Conspicuous Lichens of Georgia's Piedmont*. Georgia : University of Georgia Atlanta (UGA).
- Beecken H, Gottschalk EM, Gizycki UV, Kramer H, Maassen D, Matthies HG, Musso H, Rathjen C, Zahorszky. 1961. Orcein and Lackmus. *Angew J Chem*. 72 (21) : 665-673.
- Betnina, V. 1973. Bioautography in Paper and Thin Layer Chromatography and Its Scope in The Antibiotic Field. *J. Chromatography*. (78) : 31-34.
- Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen A.M. 2007. Jawetz, Melnick and Adelbergs, *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*, Alih Bahasa oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., dan Alimsardjono, L. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik secara Spektroskopi*. cetakan pertama. Andalas University Press : Padang.
- Day, R. A. dan A. L. Underwood. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Erlangga : Jakarta.
- Fardiaz S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Galloway, D. J., 1991. *Tropical Lichen : Their Systematics, Conservation, and Ecology*. Oxford : Clasendon 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.
- Gandhy, B. Y. 2012. Uji Daya Antifungi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polianthum [Wight] Walp.*) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 Secara In vitro. *Skripsi.* Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ganiswara, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi.* Bagian Farmakologi FKUI, Jakarta.
- Hakim, A. R. 2009. Uji Potensi Antifungi Ekstrak Etanol Rimpang Kecombrong (*Nicolaia speciosa Horan*) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Trichophyton rubrum.* *Skripsi.* Jakarta : UIN Syarif Hidayatullah.
- Hale, ME. 1973. *The Lichens.* New York and London: Academic Press.
- Hale, ME. 1983. *The Biology of Lichens.* Victoria (GB) : Edward Arnold.
- Hall, I. H., & Guyton A. C. 1997. *Antitumor Agents 21, A Proposed Mechanism for Inhibition of Cancer Growth by Tenulin and Helenulin and Related Cyclopentanones.*
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Penerbit : ITB, Bandung.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan.* Penerbit : terbitan Kedua ITB, Bandung.
- Hare, R., 1993. *Mikrobiologi dan Imunolog., 1-2, 197,* diterjemahkan oleh Praseno. Penerbit Yayasan Essentia Medica. Yogyakarta.
- Heyne, K, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia.* Jakarta. Yayasan Wanajaya.
- Herzig, R., 1990. *Integriertes Biologisches Messsystem Der Luftverchmutzug Mit Flechten.* Umwelttechnik, 24, 15-19.
- Huneck, S., Yoshimura, I., 1996. *Identification of Lichen Substances, 2 ed.,* Springer, Berlin, New York, London, Singapore, Tokyo.
- Hunneck S, 1999. The Significance of Lichens and Their Metabolites. *Naturwissenschaften.* 86 (12), 559-570.
- Hostettmann K, Hostettmann M, Marston A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif.* Penerbit : ITB, Bandung.

- Irianto, K. 2012. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganismen*. Jilid 1. Bandung : Yrama Widya.
- Jawetz, M., & Adelberg's. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran* (23 ed.). (H. Hartanto, Trans.) Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran ECG.
- 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.
- Khopkar, S.M., 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.
- 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*.
- Krisyanella, Dachriyanus, dan Marlina. 2012. *Karakterisasi Simplisia dan Ekstrak serta Isolasi Senyawa Aktif Antibakteri dari Daun Karamunting (Rhodomyrtus tomentosa (W.Ait) Hassk)*. Padang : Universitas Andalas. Artikel.
- Magdalena, M. 2009. *Candida albicans*, Medan : Universitas Sumatera Utara.
- Manjang, Y., 2004. *Penelitian Kimia Organik Bahan Alam. Pelestarian dan Perkembangan Melalui Tanah Agrowisata*. Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan. Universitas Andalas, Padang.
- Martin, A., Swarbrick, J., dan Cammarata, A. 1990. *Dasar-dasar Farmasi Fisik dalam Ilmu farmasetik*. Jakarta : Universitas Indonesia Pres.
- Miller, Ruth N., 1984. *Plants Types : Algae, Fungi and Lichens*. London : Hutchinson Education.
- Molnar, K., Farkas, E., 2010, *Current result on biological activities of Lichen Secondary Metabolite: a review*. Zeitschrift fur Naturforschung C.
- Nurkanto A. 2010. Eksplorasi mikroba dari tumbuhan marga Piperaceae yang berfungsi sebagai drug discovery senyawa antikanker dan antimikrobakteria. *Laporan Akhir Kegiatan Program Insentif Penelitian dan Rekayasa LIPI*. Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Jakarta.
- Otzurk, S., Guvenc, S., Arıkan, N., Yılmaz, O., 1999. Effect of Usnic Acid on Mitotic Index in Root Tips of *Allium cepa* L. *Lagascalıa Research*. 21 : 47-52.

- Pavia, D.L., Lampnan, G.M., and Kriz-jr, G.S. 2009. *Introduction to Spectroscopy: A Guide for Student of Organic Chemistry*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S. 2009. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta : UI Press.
- Purpis, W. 1990. *The Lichen Flora of Great Britain and Ireland*. London : Natural Historical Museum Publication in Association with the British Lichen Society.
- Radji, M. 2005. *Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal*. Majalah ilmu Kefarmasian 3.
- Rahman, A. 2009. *Kromatografi Untuk Analisis Obat*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Belajar.
- Roy J. Gritter, James M. Bobbit, Arthur E. S. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Penerbit : ITB, Bandung.
- Sastrohamidjojo, H. 1985. *Kromatografi, Edisi I, Cetakan I*, Penerbit : Liberty Press, Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta : Liberty Press.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2005. *Kimia Dasar*. Yogyakarta : UGM Press.
- Schindler, H., 1955. *Inhaltsstoffe Und Prufungsmethoden Und Homo Opathysebuer Wendete*. Hellepflanzen, Edicantor. Aulendorf, Wurt.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. 2012. *Penyidikan Spektrometrik Senyawa Organik Edisi IV*. Jakarta : Eerlangga.
- Siregar RS. 2004. *Penyakit Jamur Kulit Edisi 2*. Jakarta : EGC.
- Sunarmi, N. 2010. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit dari Akar Tanaman Kentang sebagai Antijamur (*Fusarium* sp. *Phytophora infestans*) dan Antibakteri (*Ralstonia solanacaerum*). *Skripsi*. Malang : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Sudjadi. 1986. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta : UGM Press.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Penerbit : Kanisius, Yogyakarta.

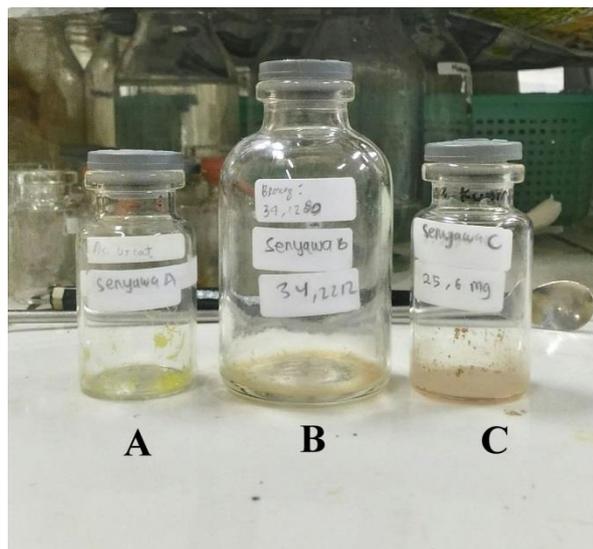
- Setyaningsih, I., Desniar, dan Purnamasari, E. 2012. Antimikroba dari *Chaetoceros gracilis* yang dikultivasi dengan Penyinaran Berbeda. *Jurnal Akuatika*. Vol III (2) : 183.
- Sutanto, Inge, Is Suhariah I, Pudji K. S, Saleha S. 2008. *Parasitologi Kedokteran, Edisi Keempat*, Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- Tjay, T.H. & Rahardja, K. 2007. *Obat-Obat Penting, Khasiat, dan Penggunaannya. Edisi 6*. Jakarta : Elex Media Computindo.
- Tjitrosoepomo, Gembong, 1989. *Morfologi Tumbuhan*. Universitas Gajah Mada, Press. Yogyakarta.
- 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.
- Waluyo, Lud. 2004. *Mikrobiologi Umum*. UMM PRESS, Malang.

Lampiran 1. Foto Kayu Angin *Usnea mekista*



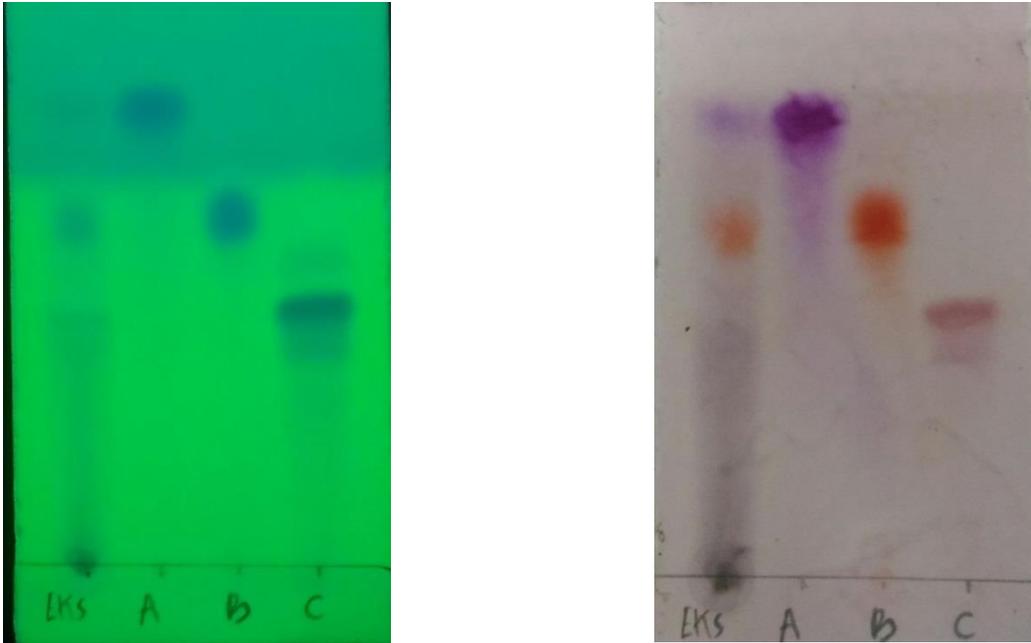
Gambar 1. *Usnea mekista*

Lampiran 2. Foto Sampel Senyawa Hasil Isolasi



Gambar 3. Sampel Senyawa Hasil Isolasi

Lampiran 3. Foto KLT UV 254 dan Penampak Noda Senyawa Murni



Gambar 4. KLT UV 254 dan Penampak Noda Senyawa Murni

Keterangan :

Eks : Ektrak etil asetat kayu angin *Usnea mekista*

A : Senyawa A

B : Senyawa B

C : Senyawa C

Eluen : Toluene: etil asetat: asam format (70: 25: 5)

Penampak Noda : Anisaldehyd asam sulfat (ANS)

Nilai Rf : Rf A 0,7; Rf B 0,61; Rf C 0,46

Lampiran 4. Foto Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak



Gambar 5. Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak

Keterangan:

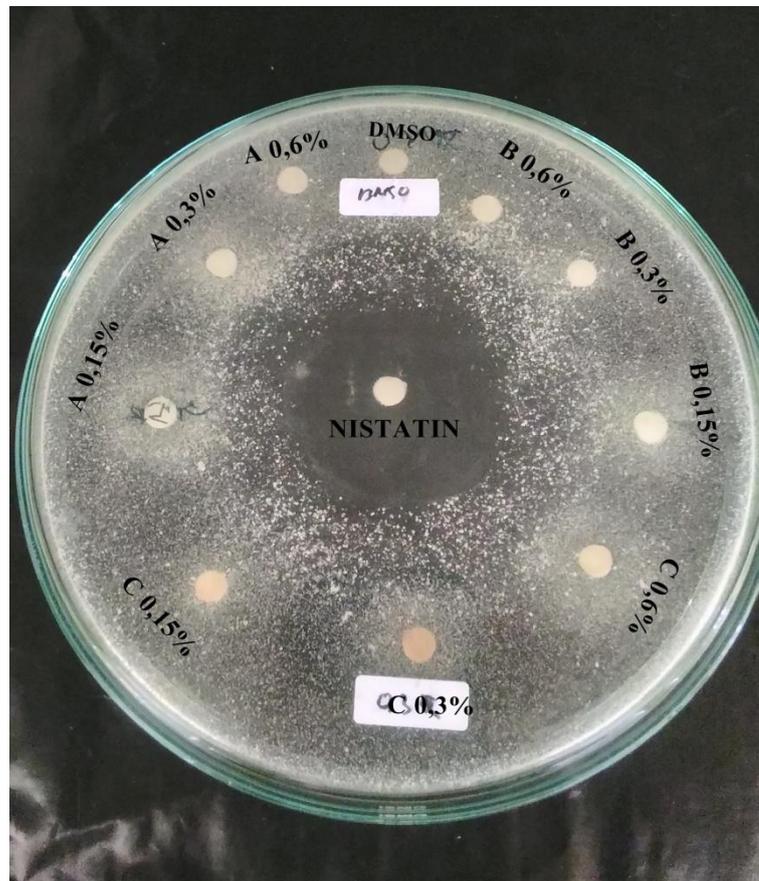
(+) : Nistatin

(-) : DMSO

E10% : Ekstrak etil asetat 10%

E20% : Ekstrak etil asetat 20%

Lampiran 5. Pengujian Aktivitas Antijamur Metabolit Hasil Isolasi

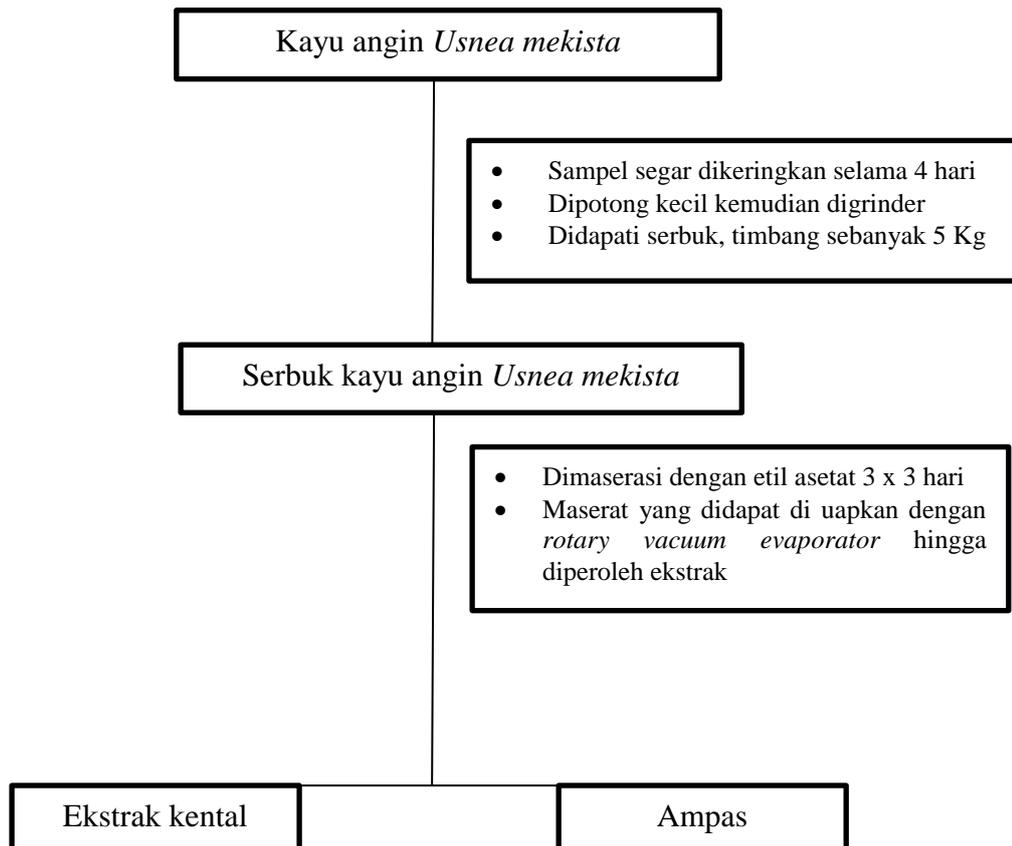


Gambar 6. Pengujian Aktivitas Antijamur Metabolit Hasil Isolasi

Keterangan :

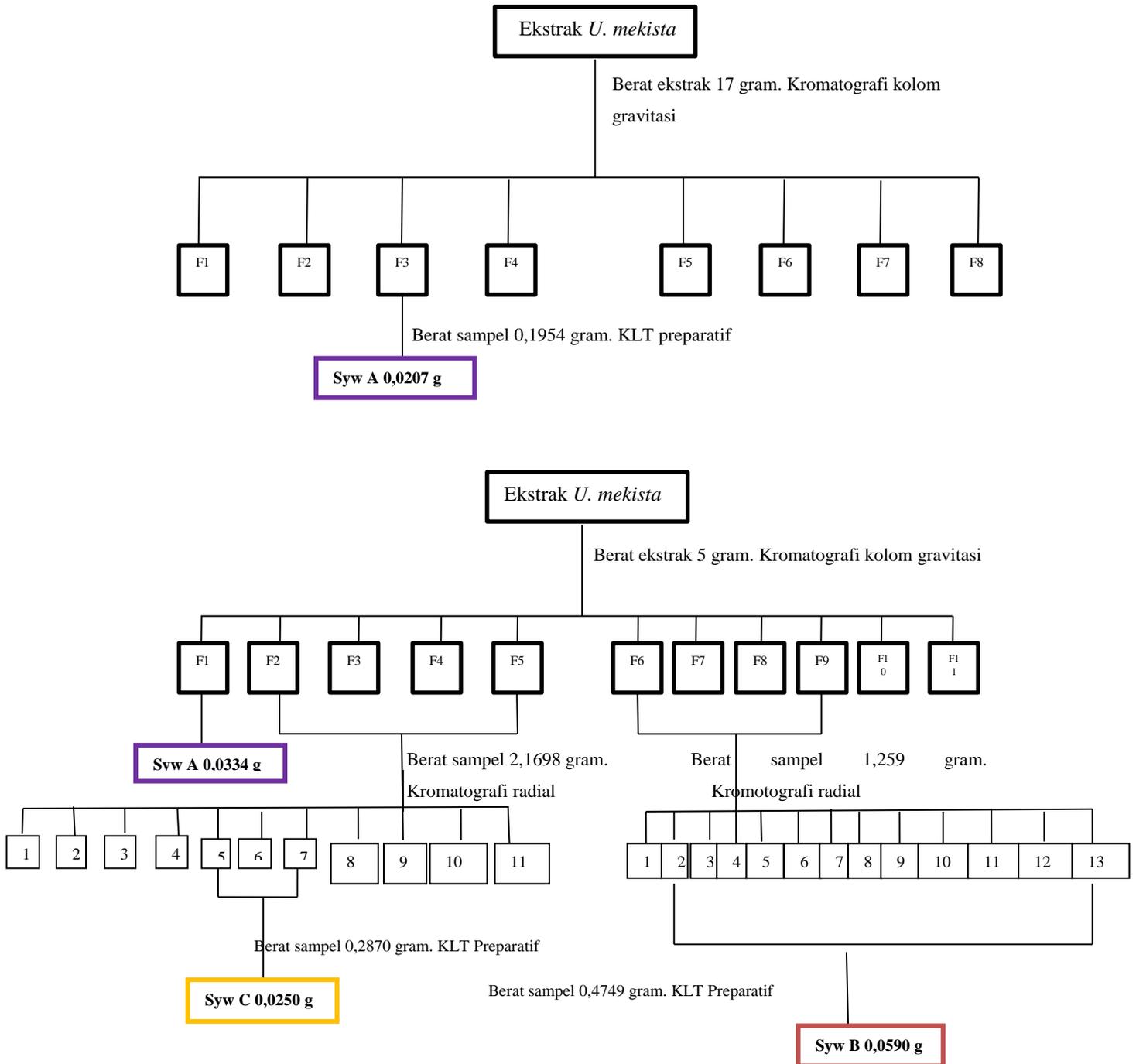
A 0,6 %	: Senyawa A	(+)	: Nistatin
A 0,3%	: Senyawa A	(-)	: DMSO
A 0,15%	: Senyawa A		
B 0,6%	: Senyawa B		
B 0,3%	: Senyawa B		
B 0,15%	: Senyawa B		
C 0,6%	: Senyawa C		
C 0,3%	: Senyawa C		
C 0,15%	: Senyawa C		

Lampiran 6. Skema Kerja Ekstraksi



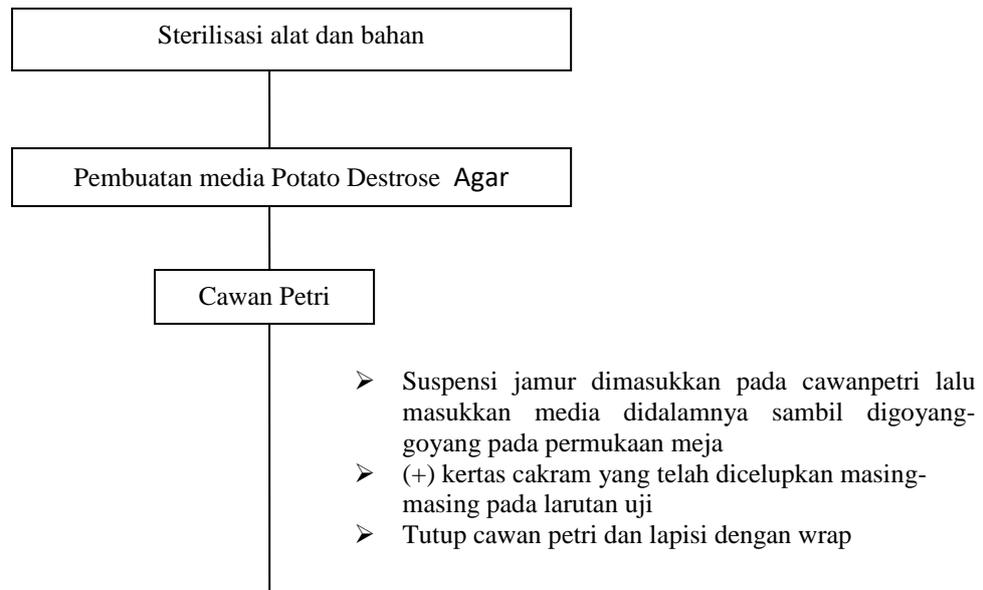
Gambar 7. Skema Ekstraksi

Lampiran 7. Skema Kerja Isolasi



Gambar 8. Skema Isolasi Metabolit Sekunder

Lampiran 8. Skema Uji Aktivitas Antijamur



Gambar 9. Skema Uji Aktivitas Antijamur

Lampiran 9. Spektrum UV-Vis Senyawa A

Gambar 10. Spektrum UV-Vis Senyawa A

Lampiran 10. Spektrum UV-Vis Senyawa B

Gambar 11. Spektrum UV-Vis Senyawa B

Lampiran 11. Spektrum UV-Vis Senyawa C

Gambar 12. Spektrum UV-Vis Senyawa C

Lampiran 12. Spektrum IR Senyawa A

Gambar 13. Spektrum IR Senyawa A

Parameter	Senyawa A
IR	-bilangan gelombang 3090 cm^{-1} gugus (O-H)
	-bilangan gelombang 2926 cm^{-1} gugus (C=O)
	-bilangan gelombang 1668 cm^{-1} gugus (C=C)
	bilangan gelombang 1609 cm^{-1} gugus (C=O)

Lampiran 13. Spektrum IR Senyawa B

Gambar 14. Spektrum IR Senyawa B

Parameter	Senyawa B
IR	-bilangan gelombang 2930 cm^{-1} gugus (C-H)
	- bilangan gelombang 2549 cm^{-1} gugus (C-H)
	-bilangan gelombang 1118 cm^{-1} gugus (C-O)

Lampiran 14. Spektrum IR Senyawa C

Gambar 15. Spekrum IR Senyawa C

Parameter	Senyawa C
IR	- bilangan gelombang 3471 cm^{-1} gugus (N-H)
	-bilangan gelombang 2946 cm^{-1} gugus (C-H)
	-bilangan gelombang 1735 cm^{-1} gugus (C=O)
	-bilangan gelombang 1431 cm^{-1} gugus (C=C)