



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI EPIFIT LIKEN  
*Parmelia dilatata* Vain. TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa***

**SKRIPSI**

Oleh

**Yuvita Dian Damayanti  
NIM 142210101025**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI EKSTRAK DAN FRAKSI EPIFIT LIKEN  
*Parmelia dilatata* Vain. TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Yuvita Dian Damayanti  
NIM 142210101025**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT. yang memberi saya kesempatan, nikmat, petunjuk, dan rahmat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Nabi Muhammad SAW. sebagai panutan terbesar dalam hidup saya;
3. Kakek Adra'i, Nenek Darwati, Ayah Heri Noviadi, Bunda Aminatus Zuhra, Adik Thouriq Nauval Rahmandani, serta anggota keluarga besar yang telah memberi saya doa dan dukungan tiada henti;
4. Guru dan dosen yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya selama ini;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

قَالَ رَبِّ اشْرَحْ لِي صَدْرِي - وَيَسِّرْ لِي أَمْرِي - وَاحْلُلْ عُقْدَةً مِّن لِّسَانِي يَفْقَهُوا قَوْلِي

*"Berkata Musa "Ya Tuhan, lapangkanlah dadaku, mudahkanlah segala urusanku,  
dan lepaskanlah kekakuan lidahku, agar mereka mengerti perkataanku"*

(Terjemahan surat Thaha ayat 25-28)<sup>1</sup>



---

<sup>1</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2015. *Al-Quran Terjemahan*. Bandung : Darus Sunnah.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Yuvita Dian Damayanti

NIM : 142210101025

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Epifit Liken *Parmelia dilatata* Vain. terhadap *Pseudomonas aeruginosa*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 Juli 2018

Yang menyatakan,

(Yuvita Dian Damayanti)

NIM 142210101025

**SKRIPSI**

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI  
EKSTRAK DAN FRAKSI EPIFIT LIKEN *Parmelia dilatata* Vain.  
TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa***

Oleh

Yuvita Dian Damayanti

NIM 142210101025

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Ari Satia Nugraha, SF., GDipSc., M.Sc  
(Res)., Ph.D., Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Epifit Liken *Parmelia dilatata* Vain. terhadap *Pseudomonas aeruginosa*" telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Jumat, 13 Juli 2018

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember


Tim Penguji :

Ketua,



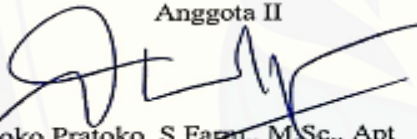
Ari S. Nugraha, SF, GDipSc., M.Sc (Res.), Ph.D., Apt  
NIP 197807212003121001

Anggota I



Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm  
NIP 198204062006042001

Anggota II



Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt  
NIP 198504282009121004

Anggota III

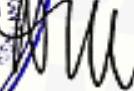


Endah Puspitasari S.Farm., M.Sc., Apt  
NIP 198107232006042002



Mengesahkan

Dekan,



Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm  
NIP 197604142002122001



## RINGKASAN

**Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Epifit Liken *Parmelia dilatata* Vain. terhadap *Pseudomonas aeruginosa***; Yuvita Dian Damayanti, 142210101025; 2018; 105 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyakit infeksi adalah salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas manusia, serta paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen, salah satunya adalah bakteri. Penggunaan antibiotik untuk infeksi akibat bakteri secara tidak rasional dapat menciptakan masalah klinis yang serius, sehingga penemuan alternatif antibiotik, contohnya yang berasal dari tumbuhan, sangat diperlukan. Penggunaan antibakteri dari tumbuhan obat telah banyak diteliti, namun hanya sedikit yang memiliki aktivitas farmakologis yang baik sebagai antibakteri. Hal ini menunjukkan penelitian tumbuhan obat Indonesia masih sangat diperlukan untuk mengetahui potensi keanekaragaman hayati di Indonesia sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agen antibakteri, salah satunya adalah liken.

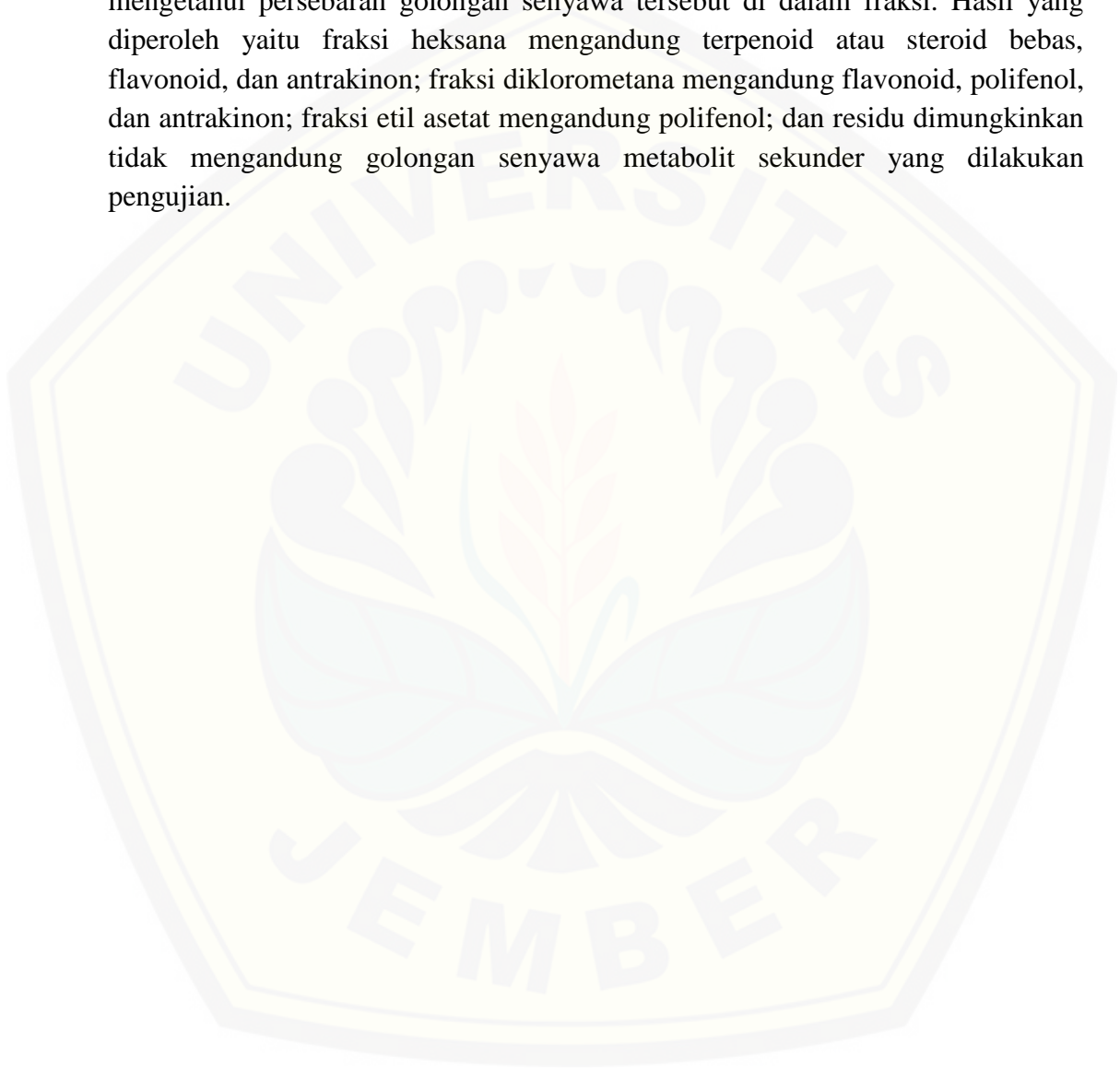
Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antibakteri dan skrining fitokimia liken terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol dan fraksi (heksana, diklorometana, etil asetat, dan residu) liken dilakukan dengan metode mikrodilusi berdasarkan protokol standar CLSI M07-A10. Hasil uji aktivitas antibakteri dilaporkan dalam *Inhibitory Concentration 50%* ( $IC_{50}$ ). Kontrol positif yang digunakan yaitu gentamisin, sedangkan kontrol negatif ekstrak dan fraksi liken yaitu DMSO 1% dalam media. Penentuan skrining fitokimia dilakukan untuk menentukan golongan senyawa metabolit dalam ekstrak metanol liken berupa alkaloid, saponin, sapogenin steroid atau triterpenoid, terpenoid atau steroid bebas, flavonoid, polifenol, dan antraknon. Skrining fitokimia dilakukan menggunakan uji buih untuk saponin dan uji KLT untuk selain saponin.

Hasil uji aktivitas antibakteri dilihat dari nilai  $IC_{50}$ . Semakin kecil  $IC_{50}$ , maka kemampuan kelompok uji sebagai antibakteri tersebut semakin besar. Urutan  $IC_{50}$  yang dari terkecil yaitu fraksi diklorometana ( $907,296 \pm 30,822 \mu\text{g/ml}$ ) lalu residu ( $1645,383 \pm 83,446 \mu\text{g/ml}$ ) dan diikuti ketiga kelompok lain yang tidak berbeda signifikan, yaitu fraksi n-heksana ( $1942,809 \pm 21,379 \mu\text{g/ml}$ ), ekstrak ( $2003,033 \pm 21,616 \mu\text{g/ml}$ ), dan fraksi etil asetat ( $2004,190 \pm 48,635 \mu\text{g/ml}$ ). Gentamisin sebagai kontrol positif didapatkan nilai KHM 0,5 ppm dengan persen penghambatan sebesar 81,086 ppm dan CV 0,938%. Hal tersebut sesuai dengan keterangan pada protokol standar CLSI M07-A10, bahwa KHM gentamisin yaitu berkisar pada konsentrasi 0,5-2  $\mu\text{g/ml}$ . DMSO 1% yang



digunakan sebagai pelarut ekstrak dan fraksi atau kontrol negatif tidak memberikan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri.

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa kandungan ekstrak liken *Parmelia dilatata* Vain. yaitu saponin, terpenoid atau steroid bebas, flavonoid, polifenol, dan antrakinon. Golongan senyawa yang dimungkinkan tidak terdapat dalam liken *Parmelia dilatata* Vain. yaitu alkaloid dan sapogenin steroid atau triterpenoid. Skrining fitokimia juga dilakukan pada sampel fraksi liken untuk mengetahui persebaran golongan senyawa tersebut di dalam fraksi. Hasil yang diperoleh yaitu fraksi heksana mengandung terpenoid atau steroid bebas, flavonoid, dan antrakinon; fraksi diklorometana mengandung flavonoid, polifenol, dan antrakinon; fraksi etil asetat mengandung polifenol; dan residu dimungkinkan tidak mengandung golongan senyawa metabolit sekunder yang dilakukan pengujian.



## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Epifit Liken *Parmelia dilatata* Vain. terhadap *Pseudomonas aeruginosa*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan proposal skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan berbagai pihak baik secara lisan maupun tulisan, maka penulis berterima kasih kepada:

1. Allah SWT. yang telah memberikan nikmat dan kesempatan luar biasa kepada penulis hingga skripsi ini selesai;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Ika Norcahyanti, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberi semangat selama penulis menempuh S1 Farmasi;
4. Bapak Ari Satia Nugraha, SF., GDipSc., M.Sc (Res)., Ph.D., Apt. dan Bapak Dwi Koko Pratoko, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan anggota yang telah memberikan bimbingan serta arahan sehingga skripsi ini dapat tersusun dengan baik;
5. Ibu Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt., M.Farm dan Ibu Endah Puspitasari S.Farm., M.Sc., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan kritik , dan saran yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu, pengalaman, dan motivasi penulis;
7. Kakek Adra'i, Nenek Darwati, Ayah Heri Noviadi, Bunda Aminatus Zuhra, adik Thouriq Nauval Rahmandani, serta anggota keluarga besar, terimakasih atas doa dan semangat serta motivasi demi kelancaran dan keberhasilan dalam menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;

8. Sahabat “*Istiqomah*”, Feni P.D., Sutatik, Huuril M.A., dan Nadia R.S.N.H yang selalu memberi semangat, hiburan, dan tawa di antara resah;
9. Teman seperjuangan “DDRГ”, Nadya D.L., Tinton A.L., Ifan A.M., N. Alfi S., Mbak Ayunda N.H., dan Anggi yang telah berjuang bersama di dalam grup;
10. Teman seperjuangan “Lichen Group”, Nadya D.L., Tinton A.L., Chyntia, Lila;
11. Teman-teman Fakultas Farmasi angkatan 2014 yang selalu memberikan bantuan, support, dan semangatnya dalam penyusunan proposal skripsi ini;
12. Semua pihak yang telah berperan membantu menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih ada kelemahan dan kekurangan baik dalam segi materi ataupun teknik penulisan skripsi ini. Peneliti sangat mengharapkan kritik dan saran dari pembaca agar proposal skripsi ini menjadi lebih baik.

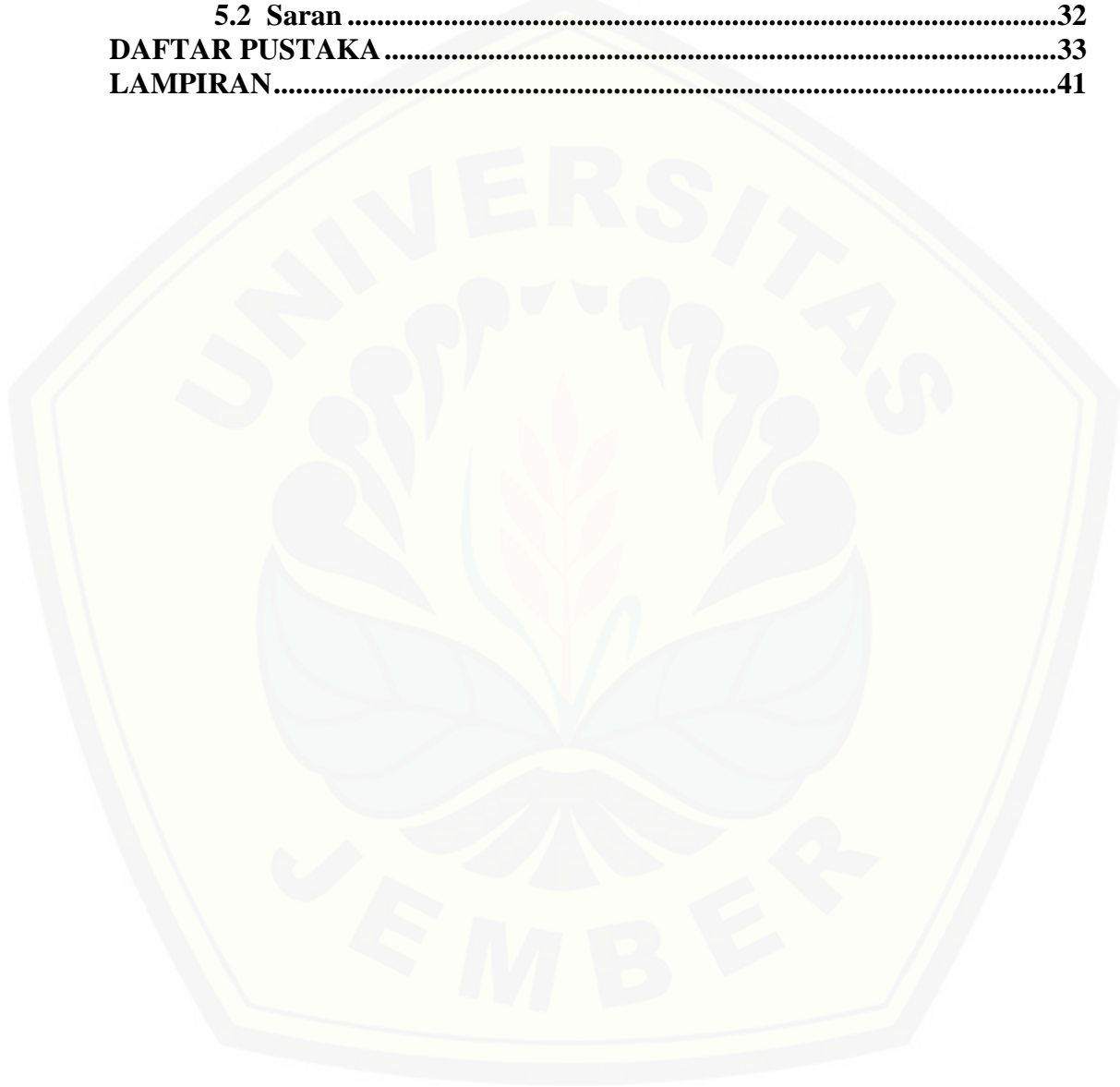
Jember, 13 Juli 2018

Yuvita Dian Damayanti

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	Error! Bookmark not defined.
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Penyakit Infeksi Bakteri.....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Infeksi Bakteri .....	5
2.1.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	6
<b>2.2 Liken .....</b>	<b>7</b>
2.2.1 Deskripsi.....	7
2.2.2 Metabolit yang Terkandung dalam Liken .....	8
2.2.3 Penelitian Terkait Liken .....	8
<b>2.3 Metode Uji Antibakteri .....</b>	<b>10</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>11</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>11</b>
<b>3.3 Variabel Penelitian .....</b>	<b>11</b>
3.3.1 Variabel Bebas .....	11
3.3.2 Variabel Terikat.....	11
3.3.3 Variabel Terkendali.....	11
<b>3.4 Definisi Operasional .....</b>	<b>12</b>
<b>3.5 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>13</b>
<b>3.6 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>14</b>
3.6.1 Alat .....	14
3.6.2 Bahan.....	14
<b>3.7 Prosedur Kerja.....</b>	<b>14</b>
3.7.1 Pembuatan Serbuk Simplisia Liken <i>Parmelia dilatata</i> Vain. .	14
3.7.2 Pembuatan Ekstrak Liken <i>Parmelia dilatata</i> Vain.....	15
3.7.3 Fraksinasi Ekstrak Liken <i>Parmelia dilatata</i> .....	15
3.7.4 Uji Aktivitas Antibakteri .....	15
3.7.5 Skrining Fitokimia.....	20

3.7.6 Analisis Data .....	22
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>24</b>
4.1 Determinasi Sampel Liken .....	24
4.2 Ekstraksi dan Fraksinasi Liken <i>Parmelia dilatata</i> Vain.....	24
4.3 Uji Aktivitas Antibakteri.....	25
4.4 Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Liken.....	27
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>32</b>
5.1 Kesimpulan.....	32
5.2 Saran .....	32
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>33</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>41</b>



**DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1 Hasil fraksinasi sampel liken .....	25
Tabel 4.4 Hasil uji antibakteri ekstrak dan fraksi liken .....	26
Tabel 4.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol liken <i>P.dilatata</i> .....	28
Tabel 4.3 Hasil skrining fitokimia fraksi liken <i>P.dilatata</i> menggunakan KLT ....	29





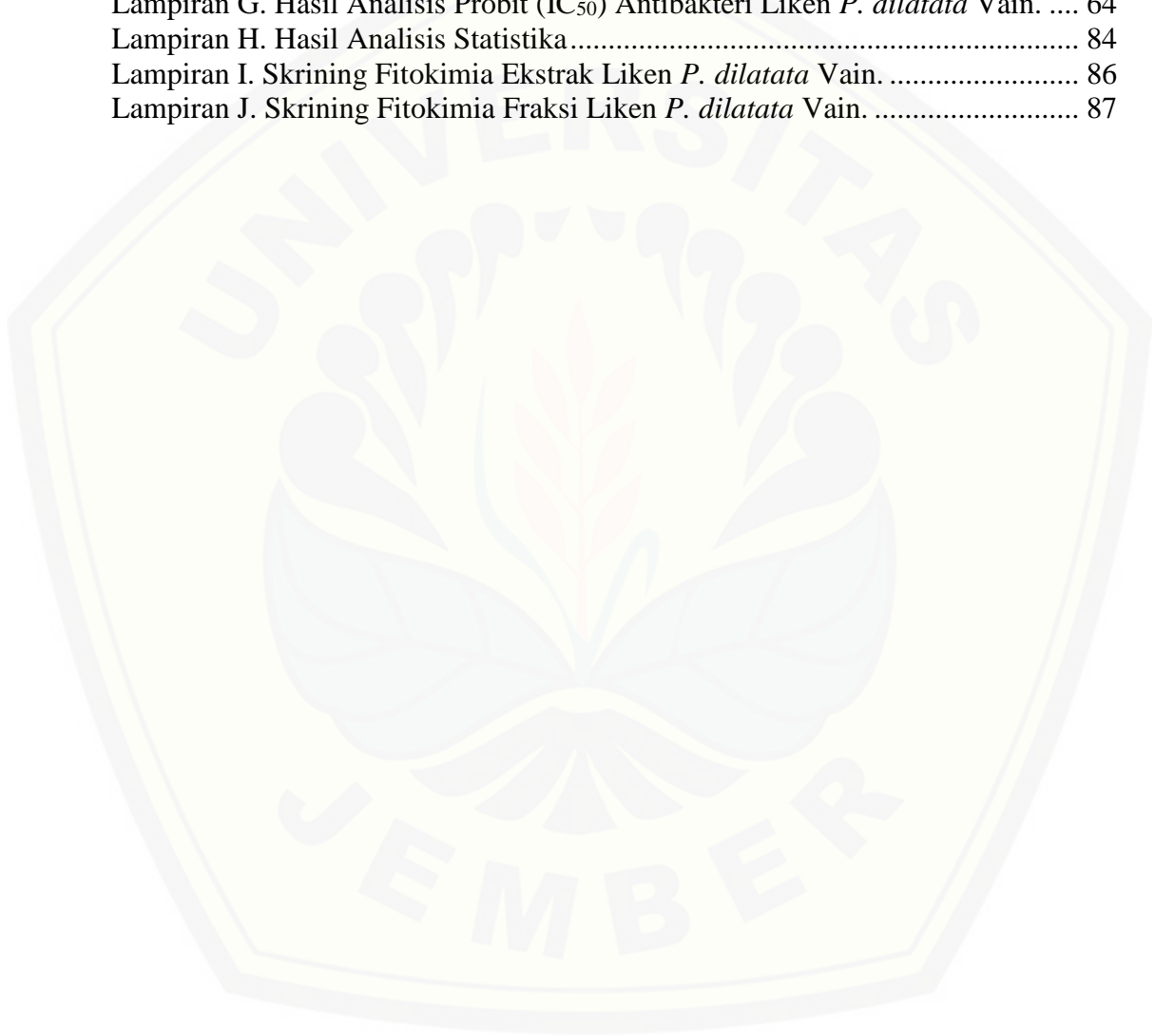
**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
Gambar 2.1 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Brooks dkk., 2013).....	6
Gambar 2.2 Sampel liken <i>Parmelia dilatata</i> Vain.....	7
Gambar 2.3 Beberapa metabolit sekunder liken .....	9
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian.....	13
Gambar 3.3 Desain <i>microplate</i> uji antibakteri liken metode mikrodilusi.....	19



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Hasil Determinasi Sampel Liken .....	41
Lampiran B. Data Rendemen Ekstrak dan Fraksi Liken <i>Parmelia dilatata</i> Vain.	42
Lampiran C. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi Liken <i>Parmelia dilatata</i> Vain. untuk Uji Antibakteri .....	46
Lampiran D. Perhitungan Konsentrasi Gentamisin untuk Uji Antibakteri .....	48
Lampiran E. Hasil Uji Antibakteri Metode Mikrodilusi .....	49
Lampiran F. Perhitungan Uji Antibakteri .....	53
Lampiran G. Hasil Analisis Probit (IC <sub>50</sub> ) Antibakteri Liken <i>P. dilatata</i> Vain. ....	64
Lampiran H. Hasil Analisis Statistika .....	84
Lampiran I. Skrining Fitokimia Ekstrak Liken <i>P. dilatata</i> Vain. ....	86
Lampiran J. Skrining Fitokimia Fraksi Liken <i>P. dilatata</i> Vain. ....	87



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi adalah salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas manusia (Yanling dkk., 2013). Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa pada tahun 2016, penyakit infeksi saluran nafas bagian bawah adalah penyebab kematian ketiga tertinggi, yaitu mencapai 3 juta kematian di seluruh dunia. Penyebab kematian selanjutnya yaitu diare (1,4 juta kematian selama tahun 2016), tuberkulosis (1,3 juta kematian), dan HIV/AIDS (1 juta kematian selama tahun 2016) (WHO, 2018). Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia (Radji, 2011). Penyakit infeksi dapat menyebar, secara langsung atau tidak langsung, dari satu orang ke orang lain. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit atau jamur (WHO, 2016).

Penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri dapat diterapi menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik secara tidak rasional telah menyebabkan perkembangan resistensi oleh mikroba terhadap banyak antibiotik (Hashemi dkk., 2013). Hal tersebut menciptakan masalah klinis yang serius dalam pengobatan penyakit infeksi, sehingga penemuan alternatif antibiotik untuk bakteri gram positif maupun gram negatif sangat diperlukan (Farha dkk., 2016). Penemuan antibakteri baru yang efektif melawan bakteri gram negatif merupakan tantangan utama karena banyak senyawa yang aktif terhadap bakteri gram positif, namun kurang aktif terhadap bakteri gram negatif (Silver, 2011). Hal ini disebabkan karena susunan membran sel bakteri gram negatif terdiri dari lipopolisakarida dan fosfolipid, sehingga permeabilitasnya rendah terhadap beberapa senyawa (Westfall dkk., 2017).

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri patogen gram negatif yang dapat menyebabkan berbagai gangguan kesehatan antara lain sepsis pneumonia, infeksi saluran kemih, bakteremia, serta kerusakan dan insufisiensi

paru-paru pada pasien dengan fibrosis kistik (Lyczak dkk., 2000). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri patogen penyebab utama terjadinya infeksi nosokomial (Wu dkk., 2014). Angka kejadian infeksi yang disebabkan oleh bakteri *P. aeruginosa* sekitar 26,16% pada tahun 2014 dan hal tersebut meningkat dibandingkan tahun 2007 yaitu sebesar 10,20% (Dou dkk., 2017). Penelitian mengenai infeksi bakteri terbanyak di beberapa rumah sakit di Indonesia juga menyebutkan bahwa salah penyebab utama infeksi yaitu *Pseudomonas aeruginosa* dengan persentase kejadian sekitar 10,0-18,1% (Taslim dan Maskoen, 2016).

Penggunaan antibakteri dari tumbuhan obat telah banyak diteliti (Tanaka dkk., 2006), namun hanya sedikit yang memiliki aktivitas farmakologis yang baik sebagai antibakteri (Gibbons, 2003). Meskipun Indonesia mempunyai kekayaan keragaman hayati kedua di dunia, hanya sekitar 200 spesies yang sudah diteliti potensinya sebagai sumber agen anti infeksi (Keller dan Nugraha, 2011). Hal ini menunjukkan penelitian tumbuhan obat Indonesia masih sangat diperlukan untuk mengetahui potensi keanekaragaman hayati di Indonesia sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agen antibakteri, salah satunya adalah liken.

Liken adalah organisme simbiosis obligat yang terdiri dari jamur dan alga eukariotik atau cyanobakteri, dan terkadang terdapat bakteri non-fotosintetik (Selbmann dkk., 2010). Liken dapat tumbuh di daerah tropis hingga daerah kutub (Brodo dkk., 2001). Jumlah total liken di dunia dapat mencapai  $\pm 100.000$  spesies dan  $\pm 17.000$  diantaranya ada di Indonesia (Negi, 2003). Lebih dari 1050 metabolit sekunder liken telah dilaporkan dan di antaranya terdiri dari golongan depsida, depsidon, dibenzofuran, xanthon, dan turunan terpen (Molnár dan Farkas, 2010). Metabolit liken memberikan berbagai macam aksi biologis yaitu antibakteri, antivirus, anti-inflamasi, analgesik, antipiretik, antiproliferatif dan sitotoksik (Müller, 2001).

Sifat antibakteri metabolit liken pertama kali dilakukan oleh Burkholder dkk (1944). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa 27 dari 42 ekstrak liken dengan spesies yang berbeda aktif terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*, namun tidak ada yang aktif terhadap *Escherichia coli*. Shrestha (2014)

melaporkan bahwa 16 dari 34 ekstrak liken dengan spesies yang berbeda dari Amerika Utara menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai konsentrasi hambat minimum  $<16\mu\text{g/ml}$ . Meskipun banyak spesies liken telah diteliti, namun masih banyak spesies liken yang belum tereksplorasi kandungan senyawa dan aktivitasnya, terutama sebagai antibakteri.

Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia dan uji aktivitas antibakteri liken terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Penentuan skrining fitokimia dilakukan untuk menentukan golongan senyawa metabolit dalam ekstrak metanol dan fraksi (n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan residu) liken berupa alkaloid, saponin, sapogenin steroid atau triterpenoid, terpenoid atau steroid bebas, flavonoid, polifenol, dan antrakinon. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi liken dilakukan dengan metode mikrodilusi.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, masalah yang dapat dirumuskan pada penelitian ini antara lain

1. Berapa *Inhibitory Concentration* 50% ( $\text{IC}_{50}$ ) ekstrak metanol dan fraksi (n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan residu) liken *Parmelia dilatata* Vain. terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?
2. Golongan senyawa metabolit apa sajakah yang terkandung dalam ekstrak metanol dan fraksi (n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan residu) liken *Parmelia dilatata* Vain?

## 1.3 Tujuan Penelitian

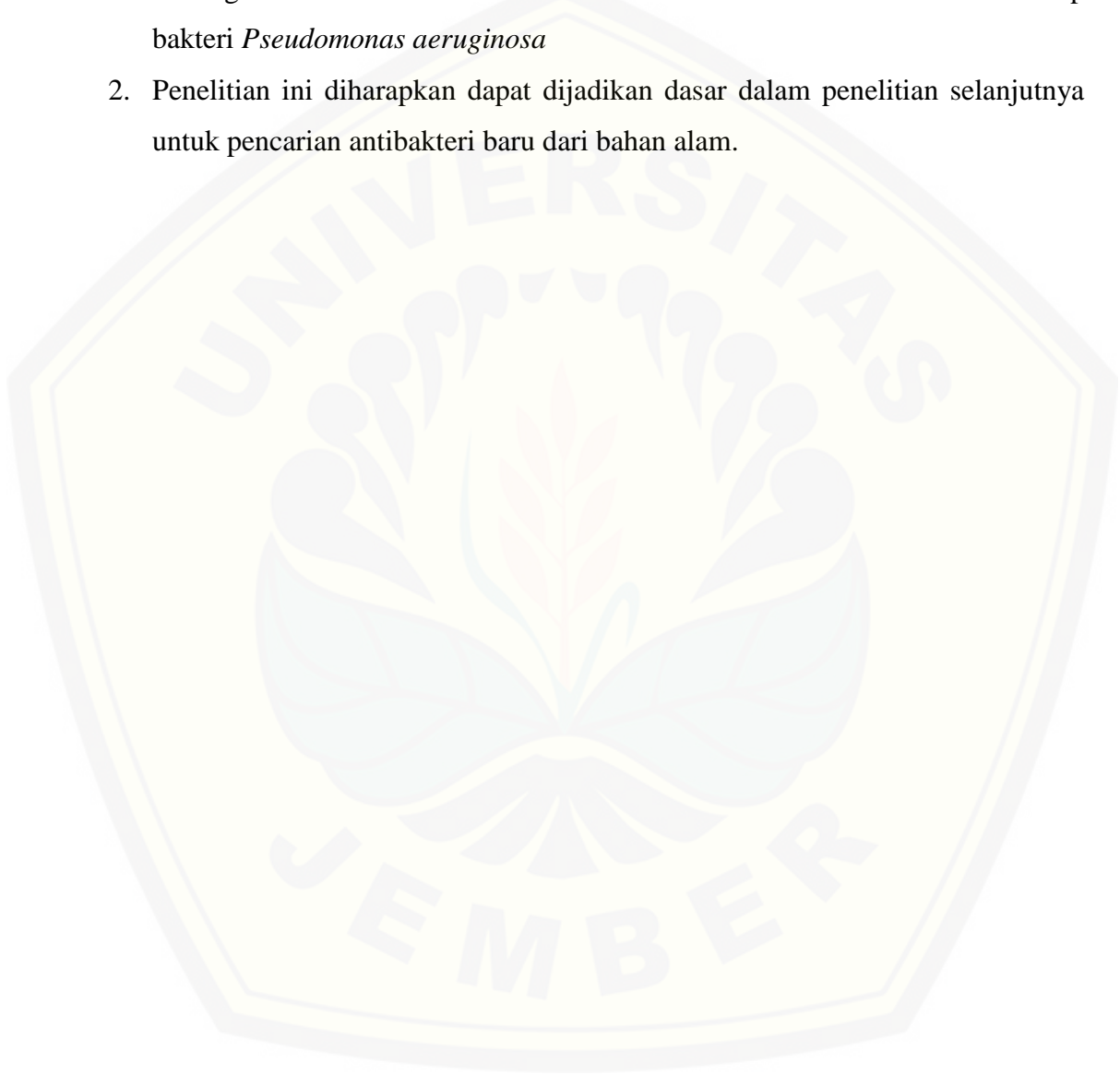
Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini antara lain

1. Untuk mengetahui *Inhibitory Concentration* 50% ( $\text{IC}_{50}$ ) ekstrak metanol dan fraksi (n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan residu) liken *Parmelia dilatata* Vain. terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa metabolit dalam ekstrak metanol dan fraksi (n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan residu) liken *Parmelia dilatata* Vain.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang ingin didapatkan dari penelitian ini antara lain

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi serta sumbangan pengetahuan bagi kemajuan di bidang kesehatan dan pengetahuan alam tentang efek antibakteri ekstrak dan fraksi liken *Parmelia dilatata* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
2. Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar dalam penelitian selanjutnya untuk pencarian antibakteri baru dari bahan alam.





## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Penyakit Infeksi Bakteri

#### 2.1.1 Infeksi Bakteri

Penyakit infeksi adalah salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas manusia (Yanling dkk., 2013). Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia (Radji, 2011). Penyakit infeksi dapat menyebar, secara langsung atau tidak langsung, dari satu orang ke orang lain. Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen, seperti bakteri, virus, parasit atau jamur (WHO, 2016).

Proses masuknya bakteri patogen ke dalam tubuh yang paling sering adalah melalui saluran pernafasan (jalan napas bagian atas bawah), pencernaan (terutama mulut), dan kemih. Kulit dan selaput mukosa normal memberikan pertahanan primer terhadap infeksi. Untuk menimbulkan penyakit, patogen harus menembus pertahanan tersebut (Brooks dkk., 2013).

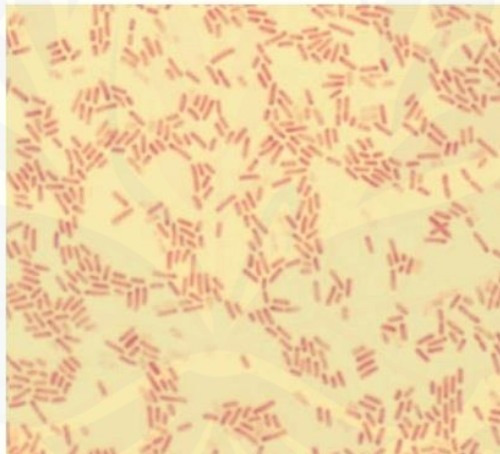
Bakteri gram positif (termasuk bakteri *Staphylococcus*, *Streptococcus* dan *Enterococcus*) adalah salah satu penyebab infeksi klinis yang paling umum. Infeksi yang dapat diakibatkan oleh bakteri gram positif yaitu mulai dari infeksi kulit ringan dan infeksi jaringan lunak hingga sepsis dan meningitis sistemik yang mengancam jiwa (Menichetti, 2005). Bakteri gram negatif juga dapat menyebabkan banyak jenis infeksi dan menyebar ke manusia dengan berbagai cara. Beberapa spesies, termasuk *Escherichia coli*, adalah penyebab umum penyakit yang menular melalui makanan. *Vibrio cholera* adalah bakteri penyebab kolera yang ditularkan melalui air. Bakteri gram negatif juga dapat menyebabkan infeksi saluran pernafasan, seperti pneumonia, dan penyakit menular seksual, termasuk gonore. *Yersinia pestis* merupakan bakteri gram negatif yang dapat menular melalui gigitan serangga yang terinfeksi atau mengani hewan yang terinfeksi (NIH, 2016). Infeksi akibat bakteri gram negatif menjadi perhatian utama dalam penelitian karena banyak senyawa yang aktif terhadap bakteri gram

positif, namun kurang aktif terhadap bakteri gram negatif (Silver, 2011). Hal ini disebabkan karena adanya membran sel bakteri gram negatif yang memiliki permeabilitas rendah terhadap banyak senyawa (Zgurskaya dkk., 2015).

### 2.1.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Filum : Proteobacteria  
Kelas : Gamma Proteobacteria  
Ordo : Pseudomonadales  
Famili : Pseudomonadaceae  
Genus : Pseudomonas  
Species : *Pseudomonas aeruginosa*

(Dao, 2016)



Gambar 2.1 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Brooks dkk., 2013)

*Pseudomonas* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat motil karena memiliki flagel dan bersifat aerobik. *P. aeruginosa* terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda, dan kadang-kadang dalam rantai pendek. *P. aeruginosa* berbentuk batang dan berukuran sekitar  $0,6 \times 2 \mu\text{m}$ . *P. aeruginosa* tumbuh dengan baik pada suhu  $37\text{-}42^\circ\text{C}$  (Wu dkk., 2014).

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan penyebab infeksi terutama pada pasien dengan mekanisme sistem imun yang menurun. Bakteri ini merupakan

patogen nosokomial utama, yaitu kejadian infeksi yang berasal dari rumah sakit dan fasilitas pelayanan kesehatan lainnya. Bakteri ini menyebabkan beberapa penyakit serius, seperti pneumonia, infeksi paru-paru kronis, infeksi keratitis ulseratif, infeksi saluran kemih, dan bakterimia pada pasien dengan luka bakar (Lyczak dkk., 2000).

## 2.2 Liken

### 2.2.1 Deskripsi



Gambar 2.2 Sampel liken *Parmelia dilatata* Vain.

Liken adalah organisme simbiosis obligat yang terdiri dari jamur dan alga eukariotik atau cyanobakteri, dan terkadang terdapat bakteri non-fotosintetik (Selbmann dkk., 2010). Liken dapat tumbuh di daerah tropis hingga daerah kutub (Brodo dkk., 2001). Liken biasanya tumbuh di bebatuan, permukaan tanah, epifit di pepohonan, serta permukaan benda buatan manusia (Roziaty, 2016). Jumlah total liken di dunia dapat mencapai  $\pm 100.000$  spesies dan  $\pm 17.000$  diantaranya ada di Indonesia (Negi, 2003).

Simbiosis yang terjadi antara jamur dan alga bersifat saling menguntungkan. Jamur sebagai mikobion memiliki dua peran utama dalam simbiosis liken, yaitu untuk melindungi fotobion dari paparan sinar matahari yang intens dan untuk menyerap nutrisi mineral dari permukaan yang menjadi tempat tumbuhnya. Fotobion (alga) juga memiliki dua peran, yaitu untuk mensintesis nutrisi organik dari karbon dioksida dan cyanobacteria dapat menghasilkan

amonium (senyawa nitrogen organik) dari gas N<sub>2</sub> dengan fiksasi nitrogen (Ranković dan Kosanić, 2015).

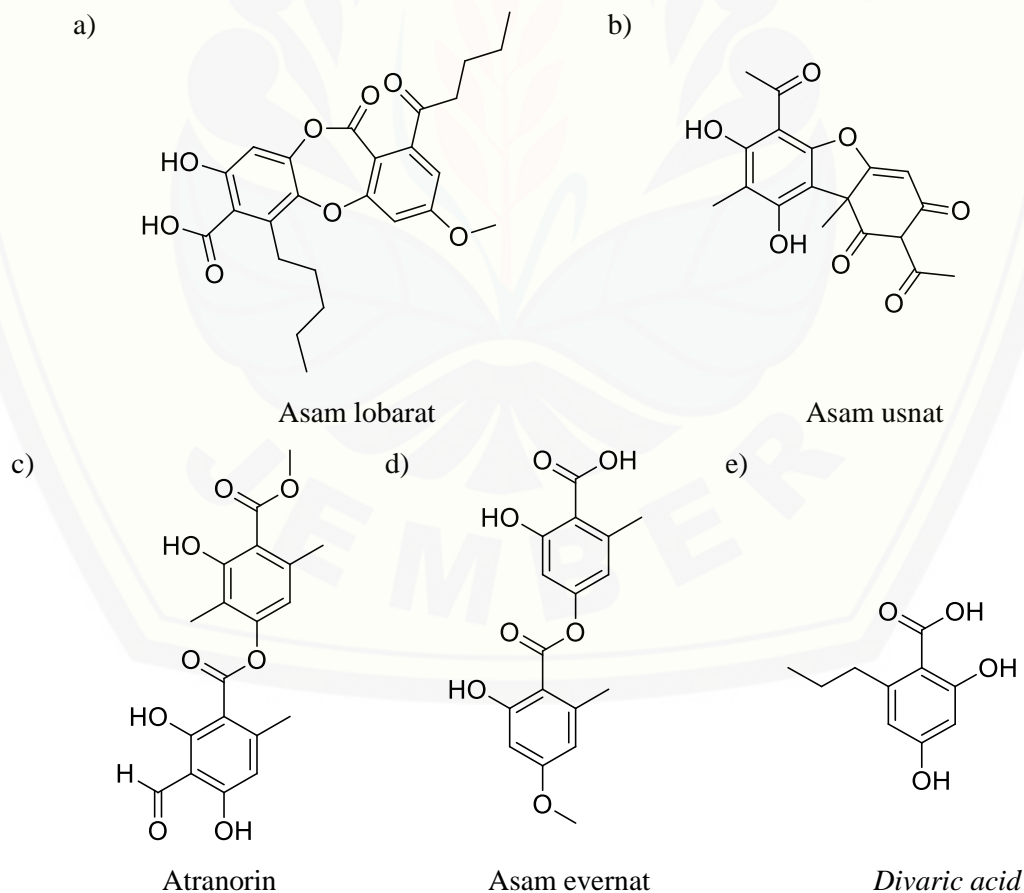
### 2.2.2 Metabolit yang Terkandung dalam Liken

Liken menghasilkan dua jenis metabolit yang berbeda, yaitu metabolit primer dan sekunder. Metabolit primer memiliki fungsi dan peran struktural dalam metabolisme sel. Metabolit primer disintesis secara independen oleh kedua simbion. Senyawa primer terutama terdiri dari kitin (di dinding hifa), likenin, isolikenin, hemiselulosa, pektin, disakarida, polialkohol, asam amino, enzim, pigmen seperti klorofil, beta karoten, xanthofil, dan lain-lain (Podterob, 2008). Sebaliknya, metabolit sekunder diproduksi oleh jamur, disekresi ke luar hifa jamur dan disimpan sebagai kristal di berbagai bagian thallus, korteks bagian atas atau badan buah. Lebih dari 1050 metabolit sekunder liken telah dilaporkan dan diantaranya terdiri dari depsida, depsidon, dibenzofuran, xanthon, dan turunan terpen (Molnár dan Farkas, 2010). Metabolit sekunder liken memberikan berbagai macam aksi biologis yaitu antibakteri, antivirus, anti-inflamasi, analgesik, antipiretik, antiproliferatif dan sitotoksik (Müller, 2001).

### 2.2.3 Penelitian Terkait Liken

Liken telah diteliti kandungan metabolit sekundernya dan memiliki berbagai aktivitas biologis, di antaranya antiviral (Esimone dkk., 2007; Esimone dkk., 2009; Vu dkk., 2015), anti tumor dan antiproliferatif (Koparal, 2015; Shrestha dkk., 2015; Emsen dkk., 2016), anti radang (Tanas dkk., 2010; Huang dkk., 2014; Vanga dkk., 2017), antioksidan (Atalay dkk., 2015; Anar M dkk., 2016; Hagiwara dkk., 2016), dan antimikroba (Cankilic dkk., 2017; Millot dkk., 2017; Sweidan dkk., 2017). Aktivitas antibakteri metabolit liken pertama kali dilakukan oleh Burkholder dkk (1944). Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa 27 dari 42 ekstrak liken dengan spesies yang berbeda aktif terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*, namun tidak ada yang aktif terhadap

*Escherichia coli*. Shrestha (2014) melaporkan bahwa 16 dari 34 ekstrak liken yang diambil dari Amerika Utara menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai konsentrasi hambat minimum  $<16\mu\text{g/ml}$ . Berdasarkan penelitian Borricano dkk (2010) ekstrak liken *Usnea baileyi*, *Ramalina dendriscoides*, *Stereocaulon massartianum* dan *Cladonia gracilis* sangat aktif terhadap *S. aureus* dan *B. subtilis* dan cukup aktif melawan *E. coli* dan *P. aeruginosa*. Beberapa metabolit sekunder liken yang telah diteliti memiliki aktivitas antibakteri yaitu asam lobarat dari liken *Stereocaulon alpinum* terhadap *B. subtilis* dan *S. aureus* (Bhattarai dkk., 2013); asam usnat dan atranorin terhadap *S. aureus* (Pompilio dkk., 2013); asam usnat dan *divaric acid* dari *Evernia divaricata* sangat poten menghambat *S. aureus* dan *P. aeruginosa* (Yuan dkk., 2010); dan asam evernat terhadap *P. aeruginosa* (Gökalsın dan Sesal, 2016). Struktur metabolit sekunder liken tersebut ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 3.3 Beberapa metabolit sekunder liken



### 2.3 Metode Uji Antibakteri

Terdapat beberapa metode uji antibakteri *in vitro* yaitu metode difusi, KLT bioautografi, dilusi, waktu pembunuhan, ATP *bioluminescence*, dan *Flow cytometric*. Pada penelitian ini dilakukan metode pengujian menggunakan metode dilusi.

Metode dilusi atau pengenceran adalah metode yang paling tepat untuk penentuan nilai *Inhibitory Concentration 50* (IC<sub>50</sub>) maupun KHM, karena metode ini dapat memperkirakan konsentrasi zat antimikroba yang diuji pada media cair (makrodilusi atau mikrodilusi). Metode dilusi dapat digunakan secara kuantitatif untuk mengukur aktivitas antimikroba *in vitro* terhadap bakteri dan jamur. Nilai IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi dari agen antimikroba untuk menghambat 50% dari jumlah bakteri uji, sedangkan nilai KHM didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang diuji yang menghambat pertumbuhan mikronorganisme yang terlihat (Balouiri dkk., 2016).

Metode makrodilusi atau mikrodilusi melibatkan pembuatan pengenceran dua kali lipat (*two-fold dilution*) dari zat antimikroba (misalnya 1, 2, 4, 8, 16 dan 32 µg/mL) dalam 2 ml media cair (makrodilusi) atau dengan volume yang lebih kecil. menggunakan pelat 96 sumuran (mikrodilusi). Kemudian, masing-masing tabung atau sumur diinokulasi dengan inokulum mikroba yang dibuat dalam media yang sama menggunakan suspensi mikroba terstandarisasi 0,5 McFarland. Setelah itu, tabung atau pelat 96 sumuran diinkubasi dalam kondisi yang sesuai tergantung pada uji mikroorganisme (Balouiri dkk., 2016).



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Uji aktivitas antibakteri dan skrining fitokimia ekstrak metanol dan fraksi (n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan residu) liken *Parmelia dilatata* Vain. terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ini merupakan penelitian *true experimental laboratories*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi dan Laboratorium Biosains Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember mulai bulan Februari 2018 hingga selesai.

### 3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

#### 3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak metanol dan fraksi (n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan residu) liken.

#### 3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah *Inhibitory Concentration 50%* (IC<sub>50</sub>) ekstrak metanol dan fraksi (n-heksana, diklorometana, etil asetat, dan residu) liken.

#### 3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi maserasi dengan pengadukan, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Cation Adjusted*

*Mueller Hinton Broth* (CAMHB), biakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, waktu inkubasi, dan prosedur pengujian.

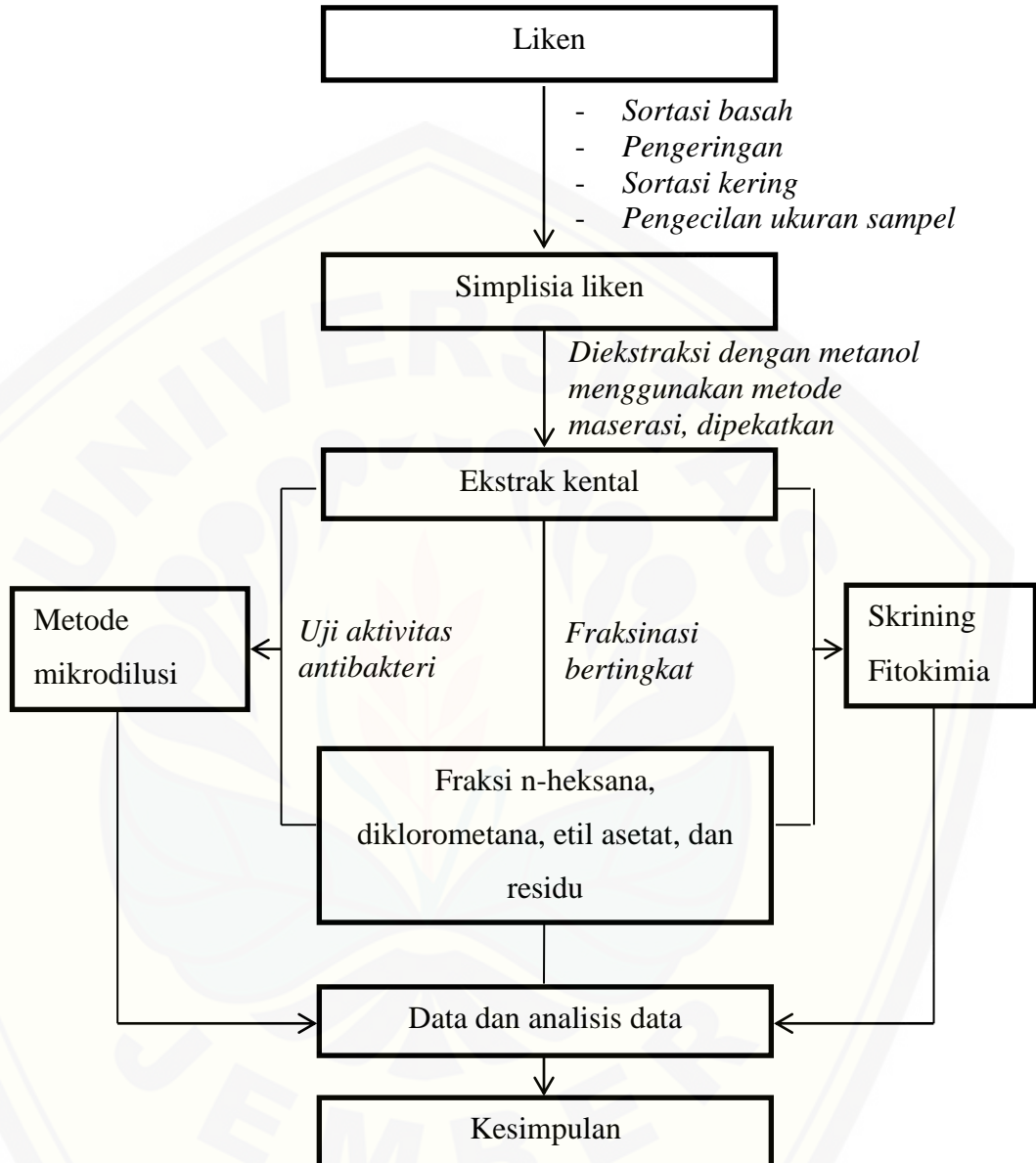
### 3.4 Definisi Operasional

Definisi Operasional dalam penelitian ini adalah

1. Liken yang digunakan pada penelitian ini diambil di Kloncing, Bondowoso. Pengambilan liken dilakukan secara acak. Sampel liken dilakukan identifikasi di Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada (UGM) sebagai *Parmelia dilatata* Vain.
2. Pengecilan ukuran partikel liken dilakukan dengan cara menggerus liken yang sudah ditambahkan nitrogen cair dengan mortir dan stamper.
3. Ekstraksi merupakan proses pengambilan senyawa aktif dalam liken menggunakan metanol dengan maserasi dengan pengadukan.
4. Bakteri yang digunakan yaitu bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
5. Media yang digunakan untuk uji antibakteri metode mikrodilusi yaitu *Cation Adjusted Mueller Hinton* (CAMHB).
6. Waktu inkubasi uji aktivitas antibakteri metode mikrodilusi berdasarkan CLSI M07-A10 adalah 16-20 jam pada suhu  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , namun pada penelitian ini menggunakan waktu inkubasi 18 jam.

### 3.5 Prosedur Penelitian

Skema prosedur dalam penelitian ini adalah:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat

Erlenmeyer, mortir, stamper, vial, spatula logam, tabung reaksi (IWAKI), rak tabung reaksi, *beaker glass*, pipet tetes, jarum ose, tip kuning, tip biru, appendorf, mikropipet 20  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$ , dan 1000  $\mu\text{L}$  (EPPENDORF), mikropipet 12 *channel* (SOCOREX), *microplate flat bottom 96 well* (IWAKI), cawan petri 100 mm (DURAN), *Laminar Air Flow* (LABGARD) Kelas II (*Biological Safety Cabinet*), *rotary evaporator* (STRIKE 300 STEROGLOSS), *orbital shaker* (STUART S1600), inkubator, *microplate reader* (CORONA SH-1000), *vortex* (GENE-2), *hot plate* (UC-152), dan autoklaf (TOMY ES-315).

#### 3.6.2 Bahan

Liken dari Bondowoso, akuades, akua demineralata, n-heksana *pa*, metanol *pa*, diklorometana *pa*, etil asetat *pa*, kertas saring Whattman, nitrogen cair,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  *pa*, asam asetat glasial,  $\text{FeCl}_3$ , anisaldehyd asam sulfat,  $\text{NH}_4\text{OH}$ , KOH, toluena, butanol, kloroform, dragendorf, *Mueller Hinton Broth* (Merck),  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{CaCl}_2$ , bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Mueller Hinton Agar* (Merck), Gentamisin sulfat injeksi 40 mg/ml, DMSO, dan plat KLT F<sub>254</sub>.

### 3.7 Prosedur Kerja

#### 3.7.1 Pembuatan Serbuk Simplisia Liken *Parmelia dilatata* Vain.

Liken yang diambil dari Bondowoso dideterminasi oleh Ludmilla Fitri Untari, S.Si., M.Si di Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada (UGM), Yogyakarta. Sampel liken dibersihkan dan disortasi lalu dikeringkan dengan diangin-anginkan dan terhindar dari sinar matahari langsung. Liken yang telah kering kemudian ditambahkan nitrogen cair di dalam mortir, lalu digerus menggunakan stamper hingga menjadi serbuk simplisia.

### 3.7.2 Pembuatan Ekstrak Liken *Parmelia dilatata* Vain.

Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan pengadukan. Simplisia serbuk direndam dalam metanol *pa* dengan perbandingan 1:10 selama 24 jam pada suhu ruangan dengan pengadukan menggunakan alat *orbital shaker*. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring. Residu simplisia kemudian diremaserasi sebanyak tiga kali. Filtrat yang didapat kemudian digabung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C lalu ekstrak dioven pada suhu 40°C sehingga didapatkan ekstrak kering. Ekstrak disimpan dalam vial kaca hingga akan digunakan selanjutnya.

### 3.7.3 Fraksinasi Ekstrak Liken *Parmelia dilatata*

Sebagian ekstrak metanol liken dicampur dengan akuades dan metanol 10%, lalu difraksinasi menggunakan corong pisah dengan n-heksana *pa* (1:1), maka akan didapatkan fraksi n-heksana dan residu. Fraksi n-heksana yang didapat dipekatkan dan ditimbang (FH). Residu hasil fraksinasi dengan n-heksana difraksinasi dengan diklorometana *pa* (1:1) dalam corong pisah, sehingga akan didapatkan fraksi diklorometana dan residu. Fraksi diklorometana yang didapat dipekatkan dan ditimbang (FD). Residu hasil fraksinasi tersebut dilakukan fraksinasi lagi menggunakan etil asetat (1:1) dalam corong pisah, hingga didapatkan fraksi etil asetat dan residu. Fraksi etil asetat dievaporasi untuk mendapatkan fraksi etil asetat yang pekat (FE) kemudian ditimbang. Residu dipekatkan dan ditimbang sebagai residu (R).

### 3.7.4 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas ini dilakukan dengan mengacu pada protokol standar CLSI M07-A10 untuk metode mikrodilusi. Berikut adalah tahapan uji aktivitas antibakteri.



a. Penyiapan Media

1) Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk Peremajaan Bakteri

Timbang 3,8 gram Muller Hinton Agar, kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquadest. Panaskan hingga larutan media jernih. Media disterilkan selama 15 menit menggunakan autoklaf dengan tekanan udara 1 atm suhu 121°C. Media yang sudah steril dituang ke dalam cawan petri steril dalam kondisi aseptik, kemudian didinginkan pada suhu ruang di dalam LAF hingga media menjadi padat.

2) Media *Cation Adjusted Mueller Hinton Broth* (CAMHB) untuk Uji Mikrodilusi

Pembuatan media MHB dilakukan menggunakan erlenmeyer dengan cara melarutkan 1,05 gram MHB dalam 50 ml akua demineralata, kemudian dikocok hingga larut. Media disterilkan dalam autoklaf 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang sudah steril ditambahkan dengan larutan  $MgCl_2$  dan  $CaCl_2$  steril hingga konsentrasi  $Mg^{2+}$  dalam media yaitu 10-12,5 mg/L dan  $Ca^{2+}$  dalam media yaitu 20-25 mg/L (CLSI, 2015). Larutan induk  $MgCl_2$  dibuat dengan cara melarutkan  $MgCl_2$  sebanyak 0,3915 g dalam 10 ml akua demineralata hingga didapat konsentrasi  $Mg^{2+}$  dalam larutan induk yaitu 10 mg/ml. Larutan induk  $CaCl_2$  dibuat dengan cara melarutkan  $CaCl_2$  sebanyak 0,2775 g dalam 10 ml akua demineralata hingga didapat konsentrasi  $Ca^{2+}$  dalam larutan induk yaitu 10 mg/ml. Larutan 56,25  $\mu$ l larutan induk  $MgCl_2$  dan 112,5  $\mu$ l larutan induk  $CaCl_2$  ditambahkan pada 50 ml media MHB steril sehingga didapatkan konsentrasi 11,25 mg  $Mg^{2+}$ /L dan 22,5 mg  $Ca^{2+}$ /L.

b. Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dilakukan sterilisasi terlebih dahulu. Alat dibungkus dengan kertas, lalu dimasukkan ke dalam autoklaf 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.



c. Peremajaan Biakan Bakteri

Biakan murni bakteri diremajakan pada cawan petri yang berisi media MHA dengan cara menggores media MHA menggunakan jarum ose yang mengandung bakteri *P. aeruginosa* ATCC 27853 secara aseptis. Cawan petri tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

d. Pembuatan Standar Mc Farland 0,5

BaCl<sub>2</sub> 1% sebanyak 0,05 ml dicampur dengan 9,95 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. sehingga setara dengan  $1 \times 10^8$  CFU/ml, kemudian divortex hingga homogen. Periksa densitas standar Mc Farland dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 625 nm pada rentang 0,08-0,13 (CLSI, 2015).

e. Pembuatan Biakan Aktif

Bakteri hasil peremajaan dibiakkan secara aseptis pada 10 ml media CAMHB untuk metode mikrodilusi hingga didapatkan suspensi bakteri yang dihomogenkan dengan vortex. Kekeruhannya dibandingkan dengan standar Mc Farland 0,5 menggunakan spektrofotometer UV Vis hingga didapat absorbansi 0,08-0,13. Kekeruhan pada absorbansi tersebut menunjukkan konsentrasi sel bakteri dalam media yaitu  $1 \times 10^8$  CFU/ml (CLSI, 2015).

f. Pembuatan Larutan Kontrol

1) Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 1% dalam media CAMHB.

2) Kontrol Positif

Kontrol positif menggunakan 4 konsentrasi gentamisin yaitu 4; 2; 1; dan 0,5 µg/ml yang didapatkan dari pengenceran larutan gentamisin sulfat injeksi 40 mg/ml menggunakan media CAMHB.

g. Pembuatan Larutan Uji

Preparasi ekstrak dilakukan dengan menimbang 40,96 mg untuk ekstrak dan 20,48 mg untuk fraksi dalam *appendorf*, kemudian dilarutkan dengan DMSO 100 µL (409.600 µg/ml untuk ekstrak dan 204.800 µg/ml untuk fraksi). Larutan ekstrak/fraksi diencerkan dengan DMSO hingga konsentrasi ekstrak menjadi

204.800; 102.400; 51.200; dan 25.600  $\mu\text{g/ml}$  dan konsentrasi fraksi menjadi 102.400; 51.200; 25.600; 12.800; dan 6.400  $\mu\text{g/ml}$ . Larutan ekstrak/fraksi dengan seri konsentrasi tersebut diencerkan 100 kalinya menggunakan media CAMHB sehingga didapatkan konsentrasi larutan uji ekstrak 256; 512; 1024; 2048 dan 4096  $\mu\text{g/ml}$ , serta fraksi 64; 128; 256; 512; 1024 dan 2048  $\mu\text{g/ml}$ .

Preparasi gentamisin sebagai kontrol positif mikrodilusi dilakukan dengan mengencerkan gentamisin sulfat injeksi 40 mg/ml dengan media CAMHB hingga konsentrasi gentamisin menjadi 200  $\mu\text{g/ml}$ . Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan media CAMHB hingga mencapai konsentrasi 0,5; 1; 2; dan 4  $\mu\text{g/ml}$ . Preparasi DMSO 1% dalam media CAMHB untuk metode mikrodilusi sebagai kontrol negatif ekstrak/fraksi dilakukan dengan memipet 10  $\mu\text{L}$  DMSO 100% lalu ditambahkan media CAMHB sebanyak 990  $\mu\text{L}$ .

#### h. Uji Antibakteri Ekstrak dan Fraksi dengan Metode Mikrodilusi

Penentuan  $\text{IC}_{50}$  aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi liken dilakukan menggunakan metode mikrodilusi. Desain *microplate* ditunjukkan oleh gambar 3.3.

Suspensi bakteri dalam CAMHB ( $1 \times 10^8$  CFU/ml) diencerkan 100 kalinya menggunakan CAMHB hingga konsentrasi bakteri menjadi  $1 \times 10^6$  CFU/ml. Setiap sumuran berisi 50  $\mu\text{L}$  suspensi bakteri dalam CAMHB, lalu ditambahkan larutan uji, kontrol positif, atau kontrol negatif sebanyak 50  $\mu\text{L}$ . Konsentrasi akhir bakteri tiap sumuran yaitu  $5 \times 10^4$  CFU.

Uji antibakteri ekstrak dan fraksi terdiri dari campuran 50  $\mu\text{L}$  larutan ekstrak konsentrasi 256; 512; 1024; 2048; dan 4096  $\mu\text{g/ml}$  dan fraksi konsentrasi 64; 128; 256; 512; 1024; dan 2048  $\mu\text{g/ml}$  dalam DMSO 1% dan 50  $\mu\text{L}$  bakteri ( $5 \times 10^5$  CFU/ml) dalam media CAMHB. Kontrol ekstrak merupakan campuran 50  $\mu\text{L}$  larutan ekstrak konsentrasi 256; 512; 1024; 2048; dan 4096  $\mu\text{g/ml}$  dan fraksi konsentrasi 64; 128; 256; 512; 1024 dan 2048  $\mu\text{g/ml}$  dalam DMSO 1% dan 50  $\mu\text{L}$  media CAMHB. Kontrol negatif ekstrak / fraksi merupakan campuran 50  $\mu\text{L}$  DMSO 1% dalam media CAMHB dan 50  $\mu\text{L}$  bakteri dalam media CAMHB. Kontrol DMSO 1% yaitu campuran 50  $\mu\text{L}$  DMSO 1% dalam media CAMHB dan 50  $\mu\text{L}$  media CAMHB. Kontrol positif merupakan campuran 50  $\mu\text{L}$  gentamisin

konsentrasi 0,5; 1; 2; dan 4  $\mu\text{g/ml}$  dan 50  $\mu\text{L}$  bakteri dalam media CAMHB. Kontrol gentamisin adalah campuran 50  $\mu\text{L}$  gentamisin konsentrasi 0,5; 1; 2; dan 4  $\mu\text{g/ml}$  dan 50  $\mu\text{L}$  media CAMHB. Campuran media CAMHB 50  $\mu\text{L}$  dan bakteri dalam CAMHB 50  $\mu\text{L}$  merupakan kontrol negatif gentamisin, sedangkan media CAMHB sebanyak 100  $\mu\text{L}$  sebagai kontrol media. Semua perlakuan direplikasi sebanyak 3 kali dengan menggunakan *microplate* yang berbeda. Semua prosedur uji antibakteri dilakukan di dalam LAF.

*Microplate 1*









	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

*Microplate 2*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Gambar 3.2 Desain *microplate* uji antibakteri liken metode mikrodilusi

Keterangan :

	Ekstrak / fraksi liken dalam DMSO 1% 50 $\mu$ L + bakteri dalam CAMHB 50 $\mu$ L
	Ekstrak / fraksi liken dalam DMSO 1% 50 $\mu$ L + media CAMHB 50 $\mu$ L
	Gentamisin 50 $\mu$ L + bakteri dalam CAMHB 50 $\mu$ L
	Gentamisin 50 $\mu$ L + media CAMHB 50 $\mu$ L
	DMSO 1% dalam media CAMHB 50 $\mu$ L + bakteri dalam CAMHB 50 $\mu$ L
	DMSO 1% dalam media CAMHB 50 $\mu$ L + media CAMHB 50 $\mu$ L
	Media CAMHB 50 $\mu$ L + bakteri dalam CAMHB 50 $\mu$ L
	Media CAMHB 100 $\mu$ L

Pengamatan dilakukan setelah inkubasi selama 18 jam pada suhu  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Pengukuran densitas sel dilakukan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 625 nm dengan mengukur absorbansi tiap sumuran pada *microplate*.

### 3.7.5 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan alkaloid, saponin, sapogenin steroid atau triterpenoid, steroid atau terpenoid bebas, flavonoid, polifenol dan antrakinon. Larutan ekstrak atau fraksi hasil preparasi ditotolkan pada plat KLT F<sub>254</sub> kemudian dieluasi dengan eluen yang sesuai untuk mendeteksi adanya golongan tertentu (Harborne, 1984).

#### a. Alkaloid

Sampel sebanyak 0,1 gram ditambah 1,7 ml HCl 2N, lalu dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit sambil diaduk, kemudian didinginkan. Campuran ekstrak tersebut ditambah 0,1 gram NaCl, diaduk rata lalu disaring. Filtrat ditambah 1,7 ml HCl 2N. Larutan yang didapatkan dibasakan dengan NH<sub>4</sub>OH dan didiamkan selama 30 menit. Larutan tersebut diekstraksi dengan 1,7 ml kloroform, lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam metanol. Eluen yang digunakan yaitu etil asetat : metanol : air (9:2:2). Setelah dieluasi, plat KLT dikeringkan lalu disemprot dengan pereaksi

dragendorff. Adanya alkaloid ,dalam ekstrak akan menunjukkan warna kuning-jingga pada noda.

b. Saponin

Sampel sebanyak 0,3 gram ditambahkan akuades 10 ml dalam tabung reaksi, kemudian dikocok kuat-kuat selama 30 detik. Tes buih saponin positif apabila terjadi buih yang stabil selama lebih dari 30 menit.

c. Sapogenin steroid atau triterpenoid

Sampel sebanyak 0,1 gram ditambah HCl 2N sebanyak 1,7 ml, dididihkan dan ditutup dengan corong berisi kapas basah selama 2 jam, lalu didinginkan. Campuran dinetralkan dengan amonia, kemudian diekstraksi dengan n-heksana 1 ml sebanyak 3 kali, lalu diuapkan hingga larutan tersisa 0,5 ml. Eluen yang digunakan yaitu n-heksana : etil asetat (4:1). Setelah dieluasi, plat KLT dikeringkan lalu disemprot dengan pereaksi anisaldehyd asam sulfat, lalu plat KLT dipanaskan. Adanya sapogenin steroid atau triterpenoid dalam sampel akan menunjukkan warna merah-ungu atau ungu pada noda.

d. Terpenoid atau steroid bebas

Sedikit sampel dilarutkan dalam metanol, lalu ditotolkan pada plat KLT. Eluen yang digunakan yaitu n-heksana : etil asetat (4:1). Setelah dieluasi, plat KLT dikeringkan lalu disemprot dengan pereaksi anisaldehyd asam sulfat. Adanya terpenoid atau steroid dalam ekstrak akan menunjukkan warna ungu atau merah ungu pada noda.

e. Flavonoid

Sedikit sampel dilarutkan dalam metanol, lalu ditotolkan pada plat KLT. Eluen yang digunakan yaitu lapisan atas dari campuran butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5). Setelah dieluasi, plat KLT dikeringkan. Uap amonia digunakan sebagai penampak noda. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna kuning intensif pada noda.

f. Polifenol

Sedikit sampel dilarutkan dalam metanol, lalu ditotolkan pada plat KLT. Eluen yang digunakan yaitu kloroform : etil asetat (1:9). Setelah dieluasi, plat



KLT dikeringkan.  $\text{FeCl}_3$  digunakan sebagai penampak noda. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada noda.

g. Antrakinin

Sampel sebanyak 0,1 gram diekstraksi dengan akuades, disaring, kemudian filtrat diekstraksi dengan 1 ml toluena sebanyak dua kali. Fase toluena ditotolkan pada plat KLT. Eluen yang digunakan yaitu toluena : etil asetat : asam asetat (75:24:1). Setelah dieluasi, plat KLT dikeringkan. 10% KOH dalam metanol digunakan sebagai penampak noda. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna kuning pada noda.

### 3.7.6 Analisis Data

Persen penghambatan pertumbuhan bakteri dihitung berdasarkan rumus persamaan berikut.

$$\text{Persentase penghambatan pertumbuhan bakteri} = \left(1 - \frac{(\text{Abs } R - \text{Abs } S)}{(\text{Abs } P - \text{Abs } Q)}\right) \times 100\%$$

(Quave dkk., 2008)

Keterangan :

Abs : absorbansi

P : kontrol negatif ekstrak/fraksi/gentamisin

Q : kontrol DMSO 1% atau media CAMHB

R : larutan uji ekstrak/fraksi/gentamisin

S : kontrol ekstrak/fraksi/gentamisin

*Inhibitory Concentration 50%* ( $\text{IC}_{50}$ ) ditetapkan sebagai konsentrasi uji yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 50% (Soothill dkk., 1992).  $\text{IC}_{50}$  didapatkan dengan menggunakan analisis probit menggunakan program SPSS 16.0. Hasil dari  $\text{IC}_{50}$  dilakukan analisis menggunakan *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna dari masing-masing kelompok uji, kemudian dilanjutkan menggunakan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan bermakna dengan  $p < 0,05$  dan tingkat kepercayaan 95%.



Aktivitas antibakteri kontrol positif gentamisin ditentukan sebagai KHM. KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) ditetapkan sebagai konsentrasi terkecil dari larutan uji yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebanyak  $\geq 80\%$  (CLSI, 2015).



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian, kesimpulan yang dapat diambil yaitu

1. Nilai rata-rata IC<sub>50</sub> yaitu ekstrak sebesar  $2003,033 \pm 21,616 \mu\text{g/ml}$ , fraksi heksana sebesar  $1942,809 \pm 21,379 \mu\text{g/ml}$ , fraksi diklorometana sebesar  $907,296 \pm 30,822 \mu\text{g/ml}$ , fraksi etil asetat sebesar  $2004,190 \pm 48,635 \mu\text{g/ml}$ , dan residu sebesar  $1645,383 \pm 83,446 \mu\text{g/ml}$ .
2. Ekstrak metanol liken *Parmelia dilatata* Vain. mengandung golongan senyawa saponin, steroid atau terpenoid bebas, flavonoid, polifenol, dan antrakinon. Fraksi heksana mengandung terpenoid atau steroid bebas, flavonoid, dan antrakinon; fraksi diklorometana mengandung flavonoid, polifenol, dan antrakinon; fraksi etil asetat mengandung polifenol; dan residu dimungkinkan tidak mengandung golongan senyawa metabolit sekunder yang dilakukan pengujian.

### 5.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi liken *Parmelia dilatata* terhadap bakteri lain.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk isolasi senyawa yang berperan sebagai antibakteri.
3. Perlu dilakukan penelitian aktivitas biologis lain dari *Parmelia dilatata*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anar M, Aslan A, Agar G, dan Ozgencli I. 2016. Antigenotoxic and antioxidant activity of lichens *Anaptychia ciliaris*, *Bryoria fuscescens*, *Parmotrema chinensa* and *Xanthoria candelaria*: an in vitro study. *Medicinal and Aromatic Plants*. 5(2):1–6.
- Arabski, M., A. Węgierek-Ciuk, G. Czerwonka, A. Lankoff, dan W. Kaca. 2012. Effects of saponins against clinical *E. coli* strains and eukaryotic cell line. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*. 2012:1–6.
- Atalay, F., F. Odabasoglu, M. Halici, A. Cakir, E. Cadirci, A. Aslan, O. Aydin Berktaş, dan C. Kazaz. 2015. Gastroprotective and antioxidant effects of *Lobaria pulmonaria* and its metabolite rhizonyl alcohol on indomethacin-induced gastric ulcer. *Chemistry & Biodiversity*. 12(11):1756–1767.
- Baban Ghate, N., D. Chaudhuri, R. Sarkar, A. L. Sajem, S. Panja, J. Rout, dan N. Mandal. 2013. An antioxidant extract of tropical lichen, *Parmotrema reticulatum*, induces cell cycle arrest and apoptosis in breast carcinoma cell line mcf-7. *PLoS ONE*. 8(12):1–14.
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. K. Ibnsouda. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79.
- Behera, B. C., N. Mahadik, dan M. Morey. 2012. Antioxidative and cardiovascular-protective activities of metabolite usnic acid and psoromic acid produced by lichen species *Usnea complanata* under submerged fermentation. *Pharmaceutical Biology*. 50(8):968–979.
- Bézivin, C., S. Tomasi, F. Lohézic-Le Dévéhat, dan J. Boustie. 2003. Cytotoxic activity of some lichen extracts on murine and human cancer cell lines. *Phytomedicine*. 10(6–7):499–503.
- Bhattacharai, H. D., T. Kim, H. Oh, dan J. H. Yim. 2013. A new pseudodepsidone from the antarctic lichen *Stereocaulon alpinum* and its antioxidant, antibacterial activity. *The Journal of Antibiotics*. 66(9):559–561.
- Borricano, J. N., J. Canal, D. M. Marcelo, M. C. Perez, K. A. Santiago, dan T. E. dela Cruz. 2010. Antibacterial activities of fruticose lichens from selected sites in Luzon Island and identification of their bioactive lichen acids. *Philippine Science Letters*. 3(2):18–29.
- Brodo, I. M., S. D. Sharnoff, dan S. Sharnoff. 2001. *Lichens of North America*. New Haven: Yale University Press.

- Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. Butel, S. A. Morse, dan T. Mietzner. 2013. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. Edisi 26. New York: Mc Graw Hill.
- Burkholder, P. R., A. W. Evans, I. McVeigh, dan H. K. Thornton. 1944. Antibiotic activity of lichens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 30(9):250–255.
- Cankilic, M. Y., N. Y. Sariozlu, M. Candan, dan F. Tay. 2017. Screening of antibacterial, antituberculosis and antifungal effects of lichen *Usnea florida* and its thamnolic acid constituent. *Biomedical Research*. 28(7):3108–3113.
- Chandra Sharma, B. dan S. Kalikotay. 2012. Screening of antioxidant activity of lichens *Parmotrema reticulatum* and *Usnea* sp. from Darjeeling Hills, India. *IOSR Journal of Pharmacy*. 2(6):54–60.
- CLSI. 2015. *M07-A10 Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard*. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI. 2018. *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Edisi 28th. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Dao, C. 2016. *Pseudomonas Aeruginosa*. [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Pseudomonas\\_aeruginosa](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Pseudomonas_aeruginosa) [Diakses pada February 8, 2018].
- Dou, Y., J. Huan, F. Guo, Z. Zhou, dan Y. Shi. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* prevalence, antibiotic resistance and antimicrobial use in chinese burn wards from 2007 to 2014. *Journal of International Medical Research*. 45(3):1124–1137.
- Emsen, B., A. Aslan, B. Togar, dan H. Turkez. 2016. In vitro antitumor activities of the lichen compounds olivetoric, physodic and psoromic acid in rat neuron and glioblastoma cells. *Pharmaceutical Biology*. 54(9):1748–1762.
- Esimone, C., C. O. Esimone, K. C. Ofokansi, M. U. Adikwu, E. C. Ibezim, D. O. Abonyi, G. N. Odaibo, dan D. O. Olaleye. 2007. In vitro evaluation of the antiviral activity of extracts from the lichen *Parmelia perlata* (l.) ach. against three RNA viruses. *The Journal of Infection in Developing Countries*. 1(03):315–320.
- Esimone, C. O., T. Grunwald, C. S. Nworu, S. Kuate, P. Proksch, dan K. Uberla. 2009. Broad spectrum antiviral fractions from the lichen *Ramalina farinacea* (l.) ach. *Chemotherapy*. 55(2):119–126.
- Farha, M. A., E. D. Brown, dan M. G. Degroote. 2016. Strategies for target identification of antimicrobial natural products. *Natural Product Reports*.

33(5):668–680.

- Gibbons, S. 2003. An overview of plant extracts as potential therapeutics. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 13(4):489–497.
- Gökalsın, B. dan N. C. Sesal. 2016. Lichen secondary metabolite evernic acid as potential quorum sensing inhibitor against *Pseudomonas aeruginosa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 32(9):150.
- Hagiwara, K., P. R. Wright, N. K. Tabandera, D. Kelman, R. Backofen, S. Ómarsdóttir, dan A. D. Wright. 2016. Comparative analysis of the antioxidant properties of Icelandic and Hawaiian lichens. *Environmental Microbiology*. 18(8):2319–2325.
- Hale, M. 1957. Corticolous lichen flora of the ozark mountains. *Transactions of the Kansas Academy of Science*. 60(2):155–160.
- Harborne, J. B. 1984. *Phytochemical Methods : A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. New York: Chapman & Hall.
- Harris, D. C. 2015. *Quantitative Chemical Analysis*. New York: Springer.
- Hashemi, S., A. Nasrollah, dan M. Rajabi. 2013. Irrational antibiotic prescribing: a local issue or global concern? *EXCLI Journal*. 12:384–395.
- Huang, Z., J. Tao, J. Ruan, C. Li, dan G. Zheng. 2014. Anti-inflammatory effects and mechanisms of usnic acid, a compound firstly isolated from lichen *Parmelia saxatilis*. 8(4):197–207.
- Huaqiang, T., T. Manman, Z. Li, Z. Yanxia, dan L. Huanxiu. 2013. The effects of three different grinding methods in dna extraction of cowpea (*Vigna unguiculata* l. walp). *African Journal of Biotechnology*. 12(16):1946–1951.
- Jain, A. P., S. Bhandarkar, G. Rai, A. K. Yadav, dan S. Lodhi. 2016. Evaluation of *Parmotrema reticulatum* taylor for antibacterial and antiinflammatory activities. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 78(1):94–102.
- Jayalal, U., P. K. Divakar, S. Joshi, S.-O. Oh, Y. J. Koh, dan J.-S. Hur. 2013. Mycobiology the lichen genus *Parmotrema* in south korea. *Mycobiology*. 41(1):25–36.
- Karou, D., M. H. Dicko, J. Simpore, dan A. S. Traore. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of *Burkina faso*. *African Journal of Biotechnology*. 4(8):823–828.
- Keller, P. A. dan A. S. Nugraha. 2011. Revealing indigenous indonesian traditional medicine: anti-infective agents. *Natural Product Communications*. 6(12):1953–1966.



- Koparal, A. T. 2015. Anti-angiogenic and antiproliferative properties of the lichen substances (-)-usnic acid and vulpinic acid. *Zeitschrift Für Naturforschung C*. 70(5–6):159–164.
- Krivoshchekova, O. E., L. S. Stepanenko, N. P. Mishchenko, V. A. Denisenko, dan O. B. Maksimov. 1983. A study of aromatic metabolites of lichens of the family Parmeliaceae.. *Chemistry of Natural Compounds*. 19(3):270–274.
- Kumar, J., P. Dhar, A. B. Tayade, D. Gupta, dan O. P. Chaurasia. 2014. Antioxidant capacities, phenolic profile and cytotoxic effects of saxicolous lichens from trans-himalayan cold desert of Ladakh. *PLoS ONE*. 9(6):1–19.
- Kumar, S. S. 2016. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of usnic acid and its acetyl derivative usnic acid diacetate. *International Journal of Scientific & Engineering Research*. 7(8):39–44.
- Lestari, N. D. 2018. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Tumbuhan Epifit Liken *Parmelia Cetrata* Ach. Terhadap *Pseudomonas Aeruginosa*. Universitas Jember.
- Lyczak, J. B., C. L. Cannon, dan G. B. Pier. 2000. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes and Infection*. 2(9):1051–1060.
- Malmir, M., R. Serrano, O. Maria, dan D. Silva. 2017. Anthraquinones as potential antimicrobial agents-a review anthraquinones as potential antimicrobial agents - a review. *Antimicrobial Research: Novel Bioknowledge and Educational Programs*. 55–61.
- Menichetti, F. 2005. Current and emerging serious gram-positive infections. *Clinical Microbiology and Infection*. 11(3):22–28.
- Millot, M., M. Girardot, L. Dutreix, L. Mambu, dan C. Imbert. 2017. Antifungal and anti-biofilm activities of acetone lichen extracts against *Candida albicans*. *Molecules*. 22(4):651.
- Molnár, K. dan E. Farkas. 2010. Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review. *Zeitschrift Fur Naturforschung. C, Journal of Biosciences*. 65(3–4):157–173.
- Mujeeb, F., P. Bajpai, dan N. Pathak. 2014. Phytochemical evaluation, antimicrobial activity, and determination of bioactive components from leaves of *Aegle marmelos*. *BioMed Research International*. 2014:1–11.
- Müller, K. 2001. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 56(1–2):9–16.
- Negi, H. R. 2003. Lichens: a valuable bioresource for environmental monitoring



- and sustainable development. *Resonance*. 8(1):51–58.
- NIH. 2016. Gram-Negative Bacteria. <https://www.niaid.nih.gov/research/gram-negative-bacteria> [Diakses pada February 7, 2018].
- Nisha, S. 2018. Evaluation of wound healing property of *parmelia* sp. against diabetic foot ulcer-causing pathogens. *Panicker Journal of Pharmacy Research*. 12(3):277–282.
- Nishanth, K. S., R. S. Sreerag, I. Deepa, C. Mohandas, dan B. Nambisan. 2015. Protocetraric acid: an excellent broad spectrum compound from the lichen *Usnea albopunctata* against medically important microbes. *Natural Product Research*. 29(6):574–577.
- Podterob, A. P. 2008. Chemical composition of lichens and their medical applications. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 42(10):582–588.
- Pompilio, A., S. Pomponio, V. Di Vincenzo, V. Crocetta, M. Nicoletti, M. Piovano, J. A. Garbarino, dan G. Di Bonaventura. 2013. Antimicrobial and antibiofilm activity of secondary metabolites of lichens against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from cystic fibrosis patients. *Future Microbiology*. 8(2):281–292.
- Prima, D. 2017. Development and validation of analysis method for anthraquinone by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi*. 19(1):80–85.
- Quave, C. L., L. R. W. Plano, T. Pantuso, dan B. C. Bannett. 2008. Effects of extracts from italian medicinal plants on planktonic growth, biofilm formation and adherence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*. 118(3):418–428.
- Radji, M. 2011. *Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Ramya, K. dan T. Thirunalasundari. 2014. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens of kodaikanal, india. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 3(11):779–788.
- Rankovic, B. 2015. *Lichen Secondary Metabolites*. London: Springer. *Lichen Secondary Metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*.
- Ranković, B. dan M. Kosanić. 2015. *Lichens as a Potential Source of Bioactive Secondary Metabolites*. Dalam *Lichen Secondary Metabolites*. Switzerland: Springer International Publishing.
- Roziaty, E. 2016. Kajian lichen: morfologi, habitat dan bioindikator kualitas udara ambien akibat polusi kendaraan bermotor. *Bioeksperimen: Jurnal*

*Penelitian Biologi*. 2(1):54–66.

Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder : Teori, Konsep, Dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.

Selbmann, L., L. Zucconi, S. Ruisi, M. Grube, M. Cardinale, dan S. Onofri. 2010. Culturable bacteria associated with antarctic lichens: affiliation and psychrotolerance. *Polar Biology*. 33(1):71–83.

Shrestha, G., A. M. El-Naggar, L. L. St. Clair, dan K. L. O'Neill. 2015. Anticancer activities of selected species of North American lichen extracts. *Phytotherapy Research*. 29(1):100–107.

Shrestha, G., J. Raphael, S. D. Leavitt, dan L. L. St. Clair. 2014. In vitro evaluation of the antibacterial activity of extracts from 34 species of north american lichens. *Pharmaceutical Biology*. 52(10):1262–1266.

Silver, L. L. 2011. Challenges of antibacterial discovery. *Clinical Microbiology Reviews*. 24(1):71–109.

Singh, R. dan Geetanjali. 2005. Isolation and synthesis of anthraquinones and related compounds of *Rubia cordifolia*. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 70(7):937–942.

Soothill, J. S., R. Ward, dan A. J. Girling. 1992. The  $ic_{50}$ : an exactly defined measure of antibiotic sensitivity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 29(2):137–139.

Spielmann, A. A. dan M. P. Marcelli. 2009. *Parmotrema* s.l. (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota) from serra geral slopes in central rio grande do sul state, brazil. *Hoehnea*. 36(4):551–595.

Sweidan, A., M. Chollet-Krugler, A. Sauvager, P. van de Weghe, A. Chokr, M. Bonnaure-Mallet, S. Tomasi, dan L. Bousarghin. 2017. Antibacterial activities of natural lichen compounds against *Streptococcus gordonii* and *Porphyromonas gingivalis*. *Fitoterapia*. 121:164–169.

Tanaka, J. C. A., C. C. da Silva, A. J. B. de Oliveira, C. V. Nakamura, dan B. P. Dias Filho. 2006. Antibacterial activity of indole alkaloids from *Aspidosperma ramiflorum*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 39(3):387–391.

Tanas, S., F. Odabasoglu, Z. Halici, A. Cakir, H. Aygun, A. Aslan, dan H. Suleyman. 2010. Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities of *Peltigera rufescens* lichen species in acute and chronic inflammation models. *Journal of Natural Medicines*. 64(1):42–49.

Taslim, E. dan T. T. Maskoen. 2016. Pola kuman terbanyak sebagai agen

penyebab infeksi di intensive care unit pada beberapa rumah sakit di indonesia. *Anesthesia & Critical Care*. 34(1):56–62.

Thadhani, V. M., M. I. Choudhary, S. Khan, dan V. Karunaratne. 2012. Antimicrobial and toxicological activities of some depsides and depsidones. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*. 40(1):43–48.

The Commission of The European Communities. 2002. Commission directive 2002/70/ec of 26 July 2002 : establishing requirements determination of the levels of dioxins and dioxin-like pebs in feedingstuffs. *Official Journal of the European Communities*. 15–21.

Vanga, N. R., A. Kota, R. Sistla, dan M. Uppuluri. 2017. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel triazole hybrids of (+)-usnic acid, the major dibenzofuran metabolite of the lichen *Usnea longissima*. *Molecular Diversity*. 21(2):273–282.

Vu, T. H., A.-C. Le Lamer, C. Lalli, J. Boustie, M. Samson, F. Lohézic-Le Dévéhat, dan J. Le Seyec. 2015. Depsides: lichen metabolites active against hepatitis c virus. *PLOS ONE*. 10(3):1–14.

Westfall, D. A., G. Krishnamoorthy, D. Wolloscheck, R. Sarkar, H. I. Zgurskaya, dan V. V Rybenkov. 2017. Bifurcation kinetics of drug uptake by gram negative bacteria. *PLUS ONE*. 12(9):1–18.

WHO. 2016. WHO | Infectious Diseases. [http://www.who.int/topics/infectious\\_diseases/en/](http://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/) [Diakses pada January 15, 2018].

WHO. 2018. The Top 10 Causes of Death. <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> [Diakses pada July 8, 2018].

Widyawati, P. S., T. Dwi, W. Budianta, F. A. Kusuma, dan E. L. Wijaya. 2014. Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indicia* less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 6(4):850–855.

Wu, W., Y. Jin, F. Bai, dan S. Jin. 2014. *Pseudomonas Aeruginosa*. Edisi 2nd. New York: Elsevier Ltd. *Molecular Medical Microbiology: Second Edition*.

Yanling, J., L. Xin, dan L. Zhiyu. 2013. *The Antibacterial Drug Discovery*. Dalam Drug Discovery. London: InTech.

Yuan, C., Y. Da Du, X. J. Zhang, dan Z. T. Zhao. 2010. Antibacterial compounds and other constituents of *Evernia divaricata* (l.) Ach. *Journal- Chemical Society of Pakistan*. 32:189–193.

Zgurskaya, H. I., C. A. López, dan S. Gnanakaran. 2015. Permeability barrier of gram-negative cell envelopes and approaches to bypass it. *ACS Infectious Disease*. 1(11):512–522.

Zhao, L., H. Zhang, T. Hao, dan S. Li. 2015. In vitro antibacterial activities and mechanism of sugar fatty acid esters against five food-related bacteria. *Food Chemistry*. 187:370–377.





## LAMPIRAN

## Lampiran A. Hasil Determinasi Sampel Lichen



UNIVERSITAS GADJAH MADA  
FAKULTAS BIOLOGI  
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN

Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281. Telpon (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274) 60839

## SURAT KETERANGAN

Nomor : 01361/S.Tb./VI/2018

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Yuvita Dian Damayanti  
Asal instansi : Fakultas Farmasi Universitas Jember

telah melakukan identifikasi lichen dengan hasil sebagai berikut,

Divisi : Ascomycota  
Class : Lecanoromycetes  
Ordo : Lecanorales  
Familia : Parmeliaceae  
Genus : Parmelia  
Species : *Parmelia dilatata* Vain.

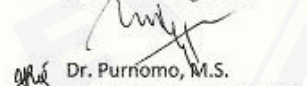
identifikasi tersebut dibantu oleh Ludmilla Fitri Untari, S.Si., M.Si.

Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Biologi  
Universitas Gadjah Mada

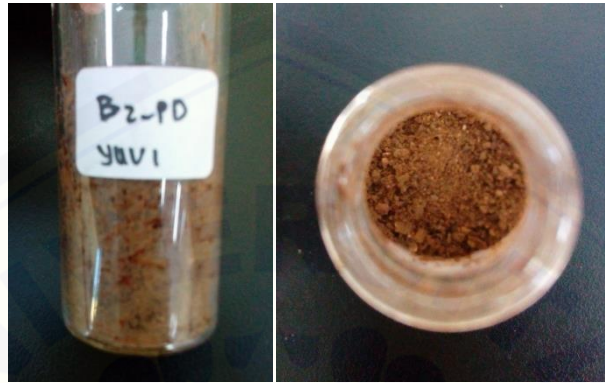
  
Dr. Burif Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.  
NIP. 197003261995121001

Yogyakarta, 4 Juni 2018  
Kepala Laboratorium  
Sistematika Tumbuhan  
Fakultas Biologi UGM

  
Dr. Purnomo, M.S.  
NIP. 195504211982031005

**Lampiran B. Data Rendemen Ekstrak dan Fraksi Liken *Parmelia dilatata* Vain.**

1. Rendemen Ekstrak Metanol



Berat wadah + ekstrak metanol liken	=	20,10 g
Berat wadah	=	10,55 g
Berat ekstrak metanol liken	=	9,55 g
Rendemen ekstrak metanol liken	=	$\frac{\text{berat ekstrak kering}}{\text{berat serbuk awal}} \times 100\%$
	=	$\frac{9,55 \text{ g}}{55,74 \text{ g}} \times 100\%$
	=	17,13%

2. Rendemen Fraksi n-Heksana

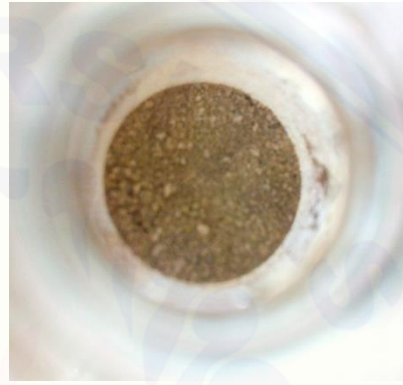


Berat wadah + fraksi heksana liken	=	11,16 g
Berat wadah	=	10,58 g



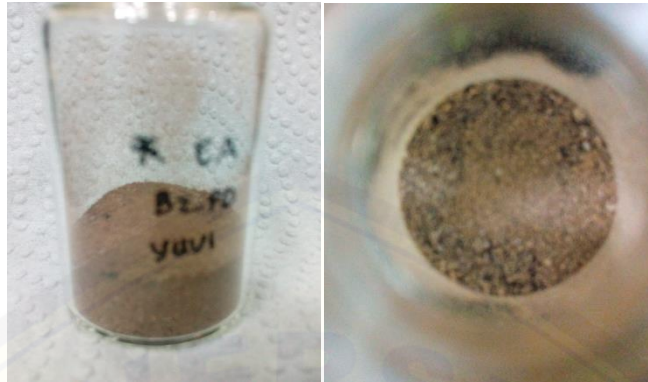
$$\begin{aligned}
 \text{Berat fraksi heksana liken} &= 0,58 \text{ g} \\
 \text{Rendemen fraksi heksana liken} &= \frac{\text{berat fraksi kering}}{\text{berat serbuk awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,58 \text{ g}}{4,00 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 14,50\%
 \end{aligned}$$

### 3. Rendemen Fraksi Diklorometana



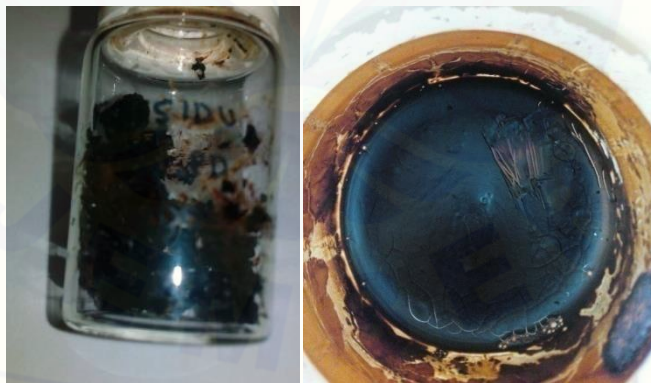
$$\begin{aligned}
 \text{Berat wadah + fraksi diklorometana} &= 11,30 \text{ g} \\
 \text{liken} & \\
 \text{Berat wadah} &= 10,59 \text{ g} \\
 \text{Berat fraksi diklorometana liken} &= 0,71 \text{ g} \\
 \text{Rendemen fraksi diklorometana} &= \frac{\text{berat ekstrak kering}}{\text{berat serbuk awal}} \times 100\% \\
 \text{liken} & \\
 &= \frac{0,71 \text{ g}}{4,00 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 17,75\%
 \end{aligned}$$

## 4. Rendemen Fraksi Etil Asetat



$$\begin{aligned}
 \text{Berat wadah + fraksi etil asetat liken} &= 11,31 \text{ g} \\
 \text{Berat wadah} &= 10,33 \text{ g} \\
 \text{Berat fraksi etil asetat liken} &= 0,98 \text{ g} \\
 \text{Rendemen fraksi etil asetat liken} &= \frac{\text{berat ekstrak kering}}{\text{berat serbuk awal}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,98 \text{ g}}{4,00 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 24,50\%
 \end{aligned}$$

## 5. Rendemen Residu



$$\begin{aligned}
 \text{Berat wadah + residu liken} &= 12,06 \text{ g} \\
 \text{Berat wadah} &= 10,45 \text{ g} \\
 \text{Berat residu liken} &= 1,61 \text{ g} \\
 \text{Rendemen residu liken} &= \frac{\text{berat ekstrak kering}}{\text{berat serbuk awal}} \times 100\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{1,61 \text{ g}}{4,00 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 40,25\% \end{aligned}$$



**Lampiran C. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi Liken *Parmelia dilatata* Vain. untuk Uji Antibakteri**

Penimbangan sampel = 10,24 mg

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi sampel dalam DMSO} &= \frac{10,24 \text{ mg}}{100 \mu\text{l}} \times 10^6 \\ &= 10,24 \times 10^4 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Pengenceran sampel dengan DMSO :

- a. Konsentrasi 51200  $\mu\text{g/ml}$   
 $102400 \mu\text{g/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 51200 \mu\text{g/ml} \times 0,1 \text{ ml}$   
 Volume yang dibutuhkan = 0,05 ml ad 0,1 ml
- b. Konsentrasi 25600  $\mu\text{g/ml}$   
 $51200 \mu\text{g/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 25600 \mu\text{g/ml} \times 0,1 \text{ ml}$   
 Volume yang dibutuhkan = 0,05 ml ad 0,1 ml
- c. Konsentrasi 12800  $\mu\text{g/ml}$   
 $25600 \mu\text{g/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 12800 \mu\text{g/ml} \times 0,1 \text{ ml}$   
 Volume yang dibutuhkan = 0,05 ml ad 0,1 ml
- d. Konsentrasi 6400  $\mu\text{g/ml}$   
 $12800 \mu\text{g/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 6400 \mu\text{g/ml} \times 0,1 \text{ ml}$   
 Volume yang dibutuhkan = 0,05 ml ad 0,1 ml
- e. Konsentrasi 3200  $\mu\text{g/ml}$   
 $6400 \mu\text{g/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 3200 \mu\text{g/ml} \times 0,1 \text{ ml}$   
 Volume yang dibutuhkan = 0,05 ml ad 0,1 ml

Pengenceran sampel dengan MHB :

- a. Konsentrasi 1024  $\mu\text{g/ml}$   
 $102400 \mu\text{g/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 1024 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}$   
 Volume yang dibutuhkan = 0,01 ml ad 1 ml
- b. Konsentrasi 512  $\mu\text{g/ml}$   
 $51200 \mu\text{g/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 512 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}$   
 Volume yang dibutuhkan = 0,01 ml ad 1 ml
- c. Konsentrasi 256  $\mu\text{g/ml}$   
 $25600 \mu\text{g/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 256 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}$   
 Volume yang dibutuhkan = 0,01 ml ad 1 ml
- d. Konsentrasi 128  $\mu\text{g/ml}$   
 $12800 \mu\text{g/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} = 128 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}$

- Volume yang dibutuhkan = 0,01 ml ad 1 ml
- e. Konsentrasi 64  $\mu\text{g/ml}$   
6400  $\mu\text{g/ml} \times$  volume yang dibutuhkan = 64  $\mu\text{g/ml} \times 1$  ml  
Volume yang dibutuhkan = 0,01 ml ad 1 ml
- f. Konsentrasi 32  $\mu\text{g/ml}$   
3200  $\mu\text{g/ml} \times$  volume yang dibutuhkan = 32  $\mu\text{g/ml} \times 1$  ml  
Volume yang dibutuhkan = 0,01 ml ad 1 ml





**Lampiran D. Perhitungan Konsentrasi Gentamisin untuk Uji Antibakteri**

Konsentrasi larutan injeksi gentamisin sulfat = 40 mg/ml

Berat molekul gentamisin = 477,596 g/mol

Berat molekul gentamisin sulfat = 575,675 g/mol

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi gentamisin} &= \frac{477,596 \text{ g/mol}}{575,675 \text{ g/mol}} \times 40 \text{ mg/ml} \\ &= 33,185 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

Pembuatan larutan induk gentamisin 200 µg/ml :

$$\begin{aligned} 33,185 \text{ mg/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} &= 200 \text{ µg/ml} \times 1 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 6,03 \text{ µl ad 1 ml} \end{aligned}$$

Pengenceran gentamisin dengan MHB :

a. Konsentrasi 8 µg/ml

$$\begin{aligned} 200 \text{ µg/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} &= 8 \text{ µg/ml} \times 2 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 0,08 \text{ ml ad 2 ml} \end{aligned}$$

b. Konsentrasi 4 µg/ml

$$\begin{aligned} 8 \text{ µg/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} &= 4 \text{ µg/ml} \times 2 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 1 \text{ ml ad 2 ml} \end{aligned}$$

c. Konsentrasi 2 µg/ml

$$\begin{aligned} 4 \text{ µg/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} &= 2 \text{ µg/ml} \times 2 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 1 \text{ ml ad 2 ml} \end{aligned}$$

d. Konsentrasi 1 µg/ml

$$\begin{aligned} 2 \text{ µg/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} &= 1 \text{ µg/mL} \times 2 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 1 \text{ ml ad 2 ml} \end{aligned}$$

e. Konsentrasi 0,5 µg/ml

$$\begin{aligned} 1 \text{ µg/ml} \times \text{volume yang dibutuhkan} &= 0,5 \text{ µg/mL} \times 2 \text{ ml} \\ \text{Volume yang dibutuhkan} &= 1 \text{ ml ad 2 ml} \end{aligned}$$

**Lampiran E. Hasil Uji Antibakteri Metode Mikrodilusi**

## Absorbansi kelompok ekstrak

Konsentrasi ekstrak ( $\mu\text{g/ml}$ )	Pengujian kelompok ekstrak			Kontrol ekstrak		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
4096	0,661	0,671	0,668	0,372	0,372	0,370
2048	0,814	0,816	0,810	0,350	0,349	0,348
1024	0,785	0,781	0,792	0,192	0,190	0,189
512	0,998	0,976	0,998	0,116	0,119	0,114
256	1,060	1,050	1,056	0,105	0,106	0,105

## Absorbansi kelompok fraksi heksana

Konsentrasi fraksi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Pengujian kelompok fraksi			Kontrol fraksi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	0,721	0,715	0,709	0,245	0,240	0,237
1024	0,747	0,724	0,725	0,182	0,185	0,185
512	0,929	0,933	0,904	0,166	0,165	0,164
256	0,965	0,950	0,947	0,115	0,116	0,112
128	0,992	0,967	0,957	0,112	0,109	0,093
64	1,034	1,019	0,966	0,122	0,122	0,086

## Absorbansi kelompok fraksi diklorometana

Konsentrasi fraksi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Pengujian kelompok fraksi			Kontrol fraksi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	0,551	0,585	0,599	0,439	0,435	0,438
1024	0,807	0,785	0,771	0,285	0,281	0,259
512	0,866	0,879	0,862	0,159	0,161	0,159
256	0,912	0,909	0,904	0,101	0,102	0,100
128	0,954	0,951	0,937	0,097	0,102	0,095
64	0,978	0,986	0,958	0,107	0,107	0,092

## Absorbansi kelompok fraksi etil asetat

Konsentrasi fraksi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Pengujian kelompok fraksi			Kontrol fraksi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	0,884	0,881	0,862	0,407	0,408	0,410
1024	0,788	0,791	0,802	0,178	0,176	0,174
512	0,861	0,832	0,876	0,117	0,114	0,151
256	0,928	0,929	0,891	0,121	0,124	0,100
128	0,983	0,969	0,966	0,115	0,122	0,105
64	1,021	1,003	1,037	0,072	0,076	0,117

## Absorbansi kelompok residu

Konsentrasi fraksi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Pengujian kelompok fraksi			Kontrol fraksi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	0,617	0,618	0,602	0,203	0,209	0,210
1024	0,704	0,698	0,710	0,138	0,141	0,140
512	0,918	0,876	0,829	0,124	0,125	0,131
256	0,972	0,924	0,931	0,117	0,091	0,111
128	1,007	0,951	0,971	0,119	0,092	0,117
64	1,053	1,007	1,039	0,142	0,098	0,136

## Absorbansi gentamisin

Konsentrasi gentamisin ( $\mu\text{g/ml}$ )	Pengujian gentamisin			Kontrol gentamisin		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
4	0,181	0,181	0,180	0,154	0,154	0,156
2	0,163	0,167	0,166	0,130	0,132	0,132
1	0,209	0,203	0,210	0,114	0,116	0,111
0,5	0,287	0,276	0,257	0,103	0,107	0,111

## Absorbansi kelompok kontrol

	Kelompok											
	Kontrol media CAMHB			Kontrol negatif gentamisin			Kontrol DMSO 1%			Kontrol negatif ekstrak dan fraksi		
	Replikasi			Replikasi			Replikasi			Replikasi		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Absorbansi	0,115	0,117	0,109	1,070	1,066	1,020	0,103	0,100	0,107	1,048	1,058	1,028
	0,113	0,114	0,119	1,086	1,060	1,098	0,102	0,101	0,108	1,041	1,061	1,031
	0,113	0,120	0,121	1,000	1,009	1,020	0,104	0,104	0,100	1,028	1,034	1,062
Rata-rata absorbansi	0,114	0,117	0,116	1,052	1,045	1,046	0,103	0,102	0,105	1,039	1,051	1,040



### Lampiran F. Perhitungan Uji Antibakteri

Berikut adalah contoh perhitungan % penghambatan dari ekstrak liken dengan rumus :

$$\text{Persentase penghambatan pertumbuhan bakteri} = \left(1 - \frac{(\text{Abs } R - \text{Abs } S)}{(\text{Abs } P - \text{Abs } Q)}\right) \times 100\%$$

a. Selisih absoransi kelompok ekstrak dengan kontrol ekstrak

Konsentrasi ekstrak (µg/ml)	Selisih absoransi kelompok ekstrak (R) dengan kontrol ekstrak (S)			Hasil R-S		
	Replikasi			Replikasi		
	1	2	3	1	2	3
4096	0,661-0,371	0,671-0,372	0,668-0,370	0,290	0,299	0,298
2048	0,814-0,346	0,816-0,349	0,810-0,348	0,468	0,467	0,462
1024	0,785-0,179	0,781-0,190	0,792-0,189	0,606	0,591	0,603
512	0,998-0,112	0,976-0,119	0,998-0,114	0,886	0,857	0,884
256	1,060-0,104	1,050-0,106	1,056-0,105	0,956	0,944	0,951

b. Selisih absoransi kontrol negatif ekstrak dengan kontrol DMSO 1%

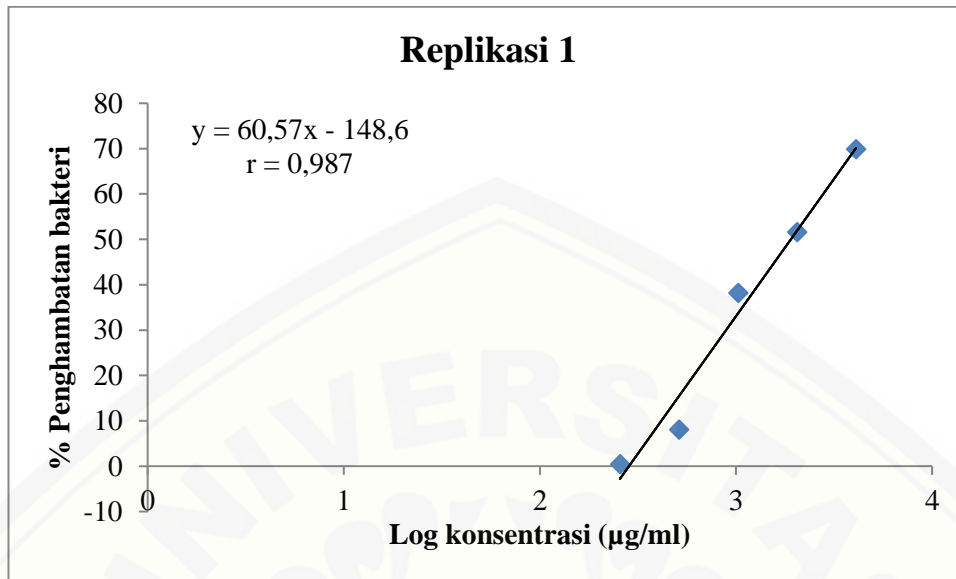
	Selisih absoransi kelompok ekstrak (P) dengan kontrol ekstrak (Q)			Hasil P-Q		
	Replikasi			Replikasi		
	1	2	3	1	2	3
Absorbansi	1,039-0,103	1,051-0,102	1,040-0,105	0,936	0,949	0,935

c. Persen penghambatan ekstrak liken

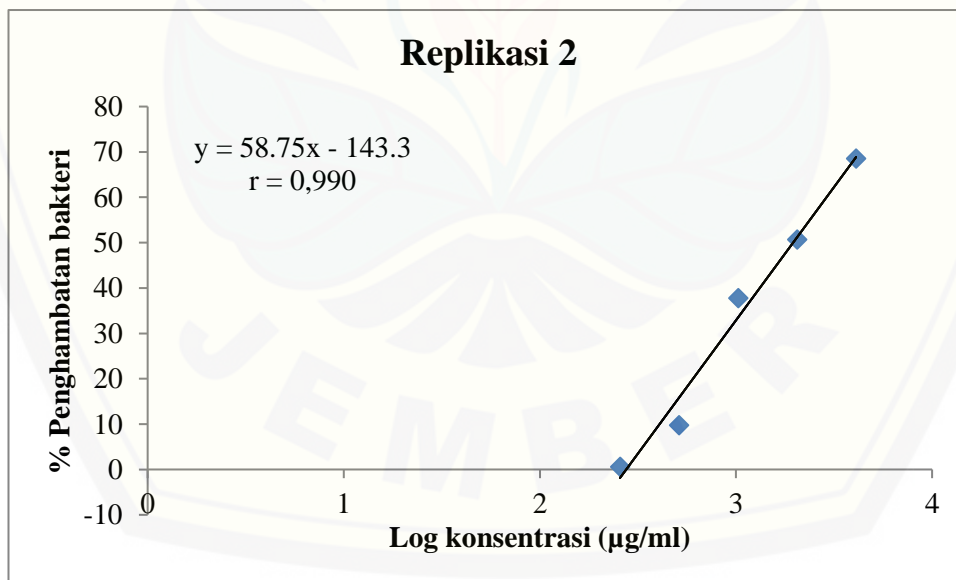
Penghambatan Ekstrak Liken

Konsentrasi ekstrak (µg/ml)	% Penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
4096	69,885	68,539	68,913
2048	51,650	50,737	51,893
1024	38,242	37,781	37,131
512	8,093	9,761	7,919
256	0,486	0,597	0,834

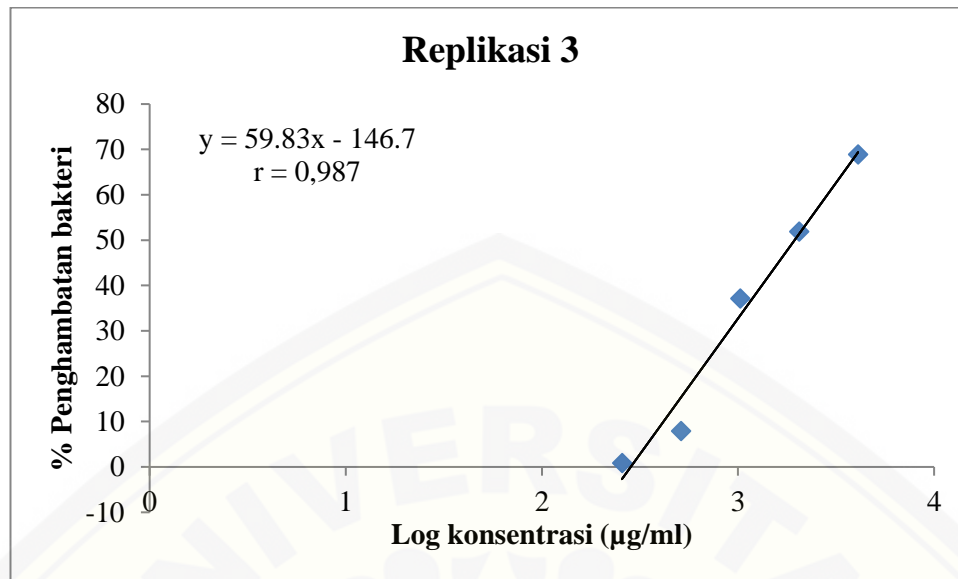
## Kurva Penghambatan Bakteri oleh Ekstrak Liken



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 5$ , adalah 0,878
2.  $r = 0,987 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi ekstrak liken.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 5$ , adalah 0,878
2.  $r = 0,990 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi ekstrak liken.

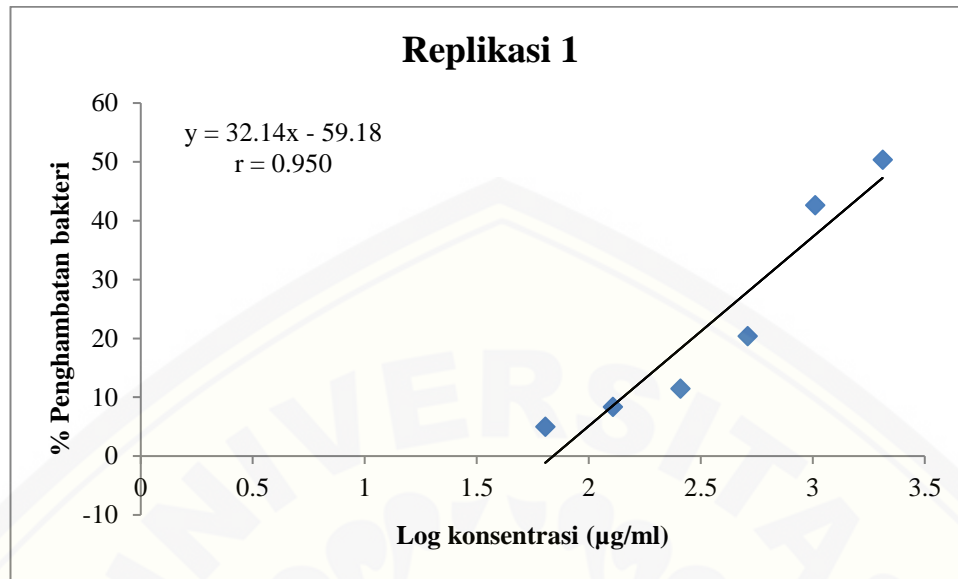


1. Nilai  $r$  tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 5$ , adalah 0,878
2.  $r = 0,987 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi ekstrak liken.

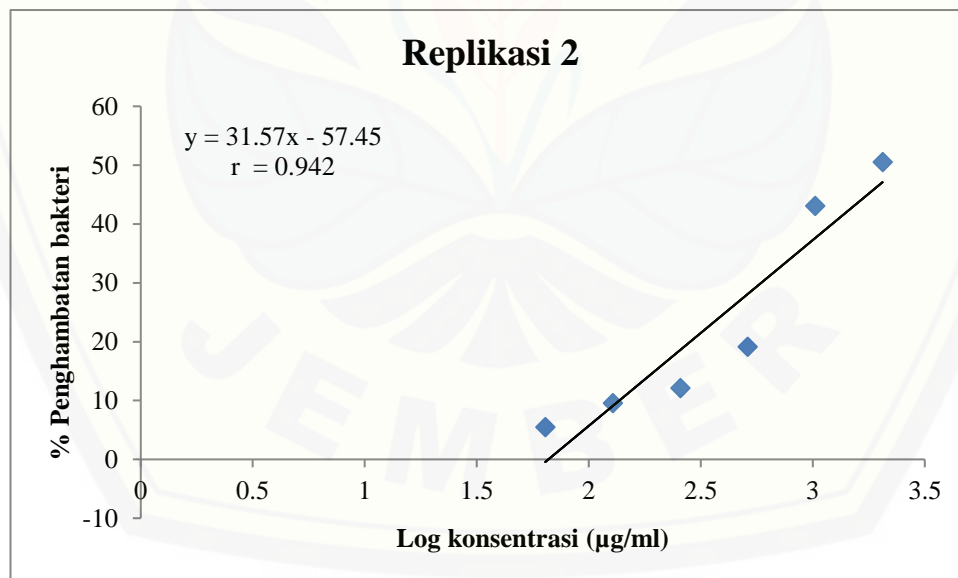
#### Penghambatan Fraksi Heksana Liken

Konsentrasi fraksi (µg/ml)	% Penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	50,399	50,538	50,816
1024	41,125	43,188	42,302
512	20,424	19,154	20,848
256	11,497	12,149	10,798
128	8,371	9,568	7,662
64	5,036	5,513	5,916

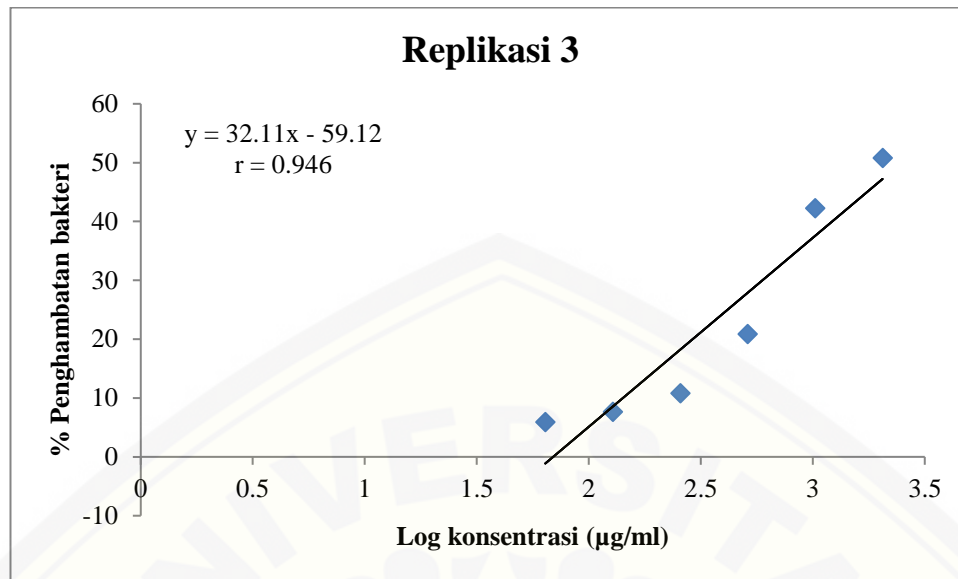
## Kurva Penghambatan Bakteri oleh Fraksi Heksana Liken



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,950 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi heksana liken.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,942 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi heksana liken.



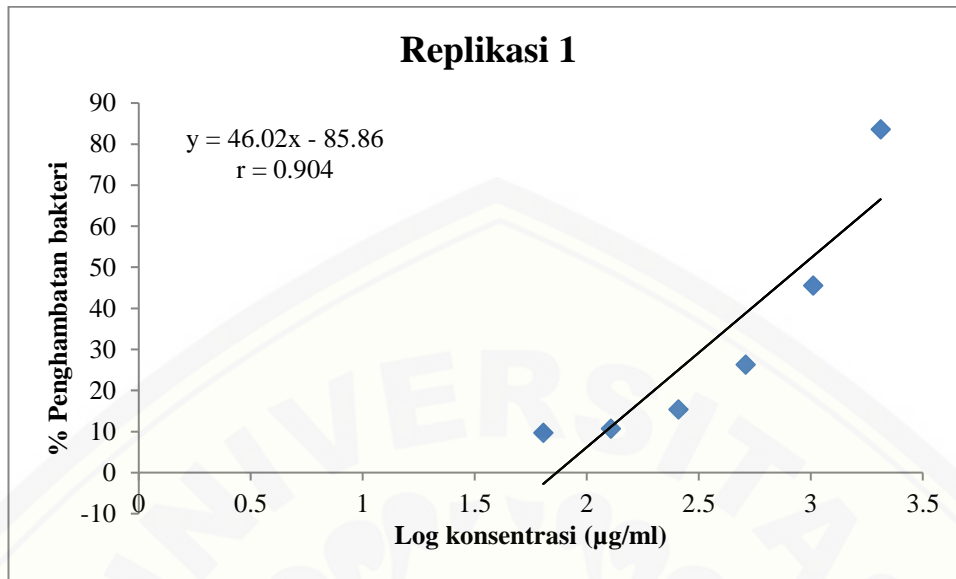
1. Nilai  $r$  tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,946 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi heksana liken.

#### Penghambatan Fraksi Diklorometana Liken

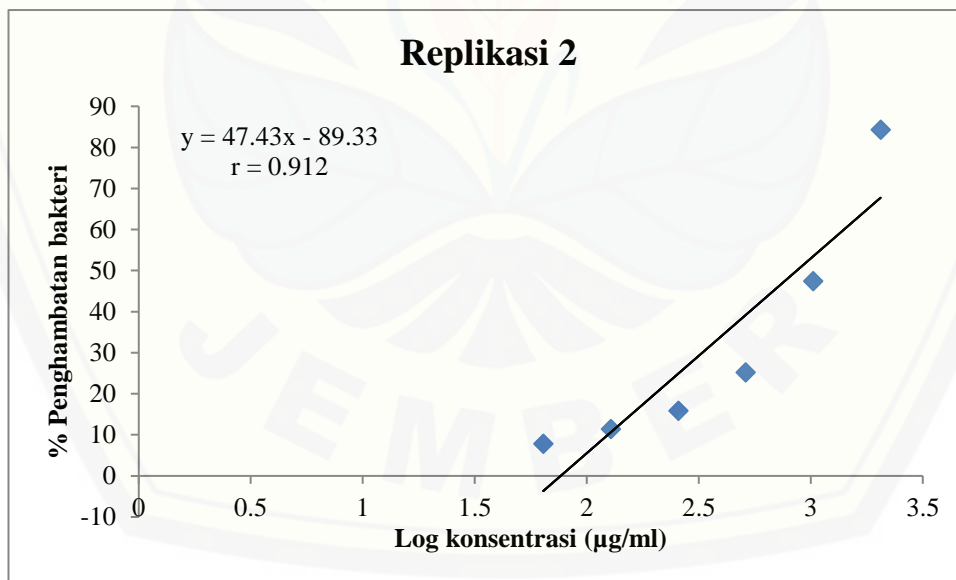
Konsentrasi fraksi (µg/ml)	% Penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	83,605	84,300	82,787
1024	45,606	47,482	45,260
512	26,294	25,217	24,768
256	15,422	15,908	14,041
128	10,733	11,428	9,943
64	9,724	7,850	7,698



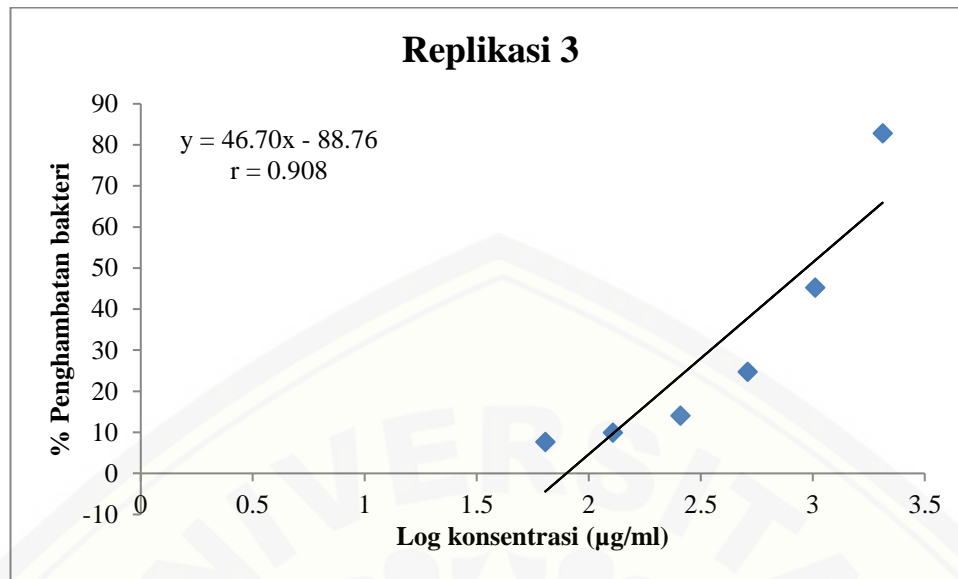
## Kurva Penghambatan Bakteri oleh Fraksi Diklorometana Liken



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,904 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi diklorometana liken.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,912 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi diklorometana liken.

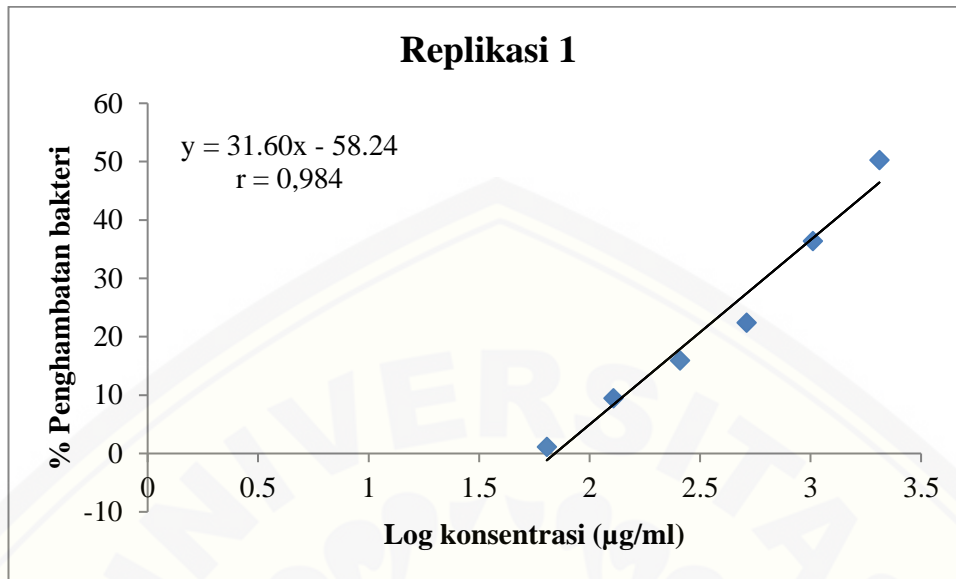


1. Nilai  $r$  tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,908 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi diklorometana liken.

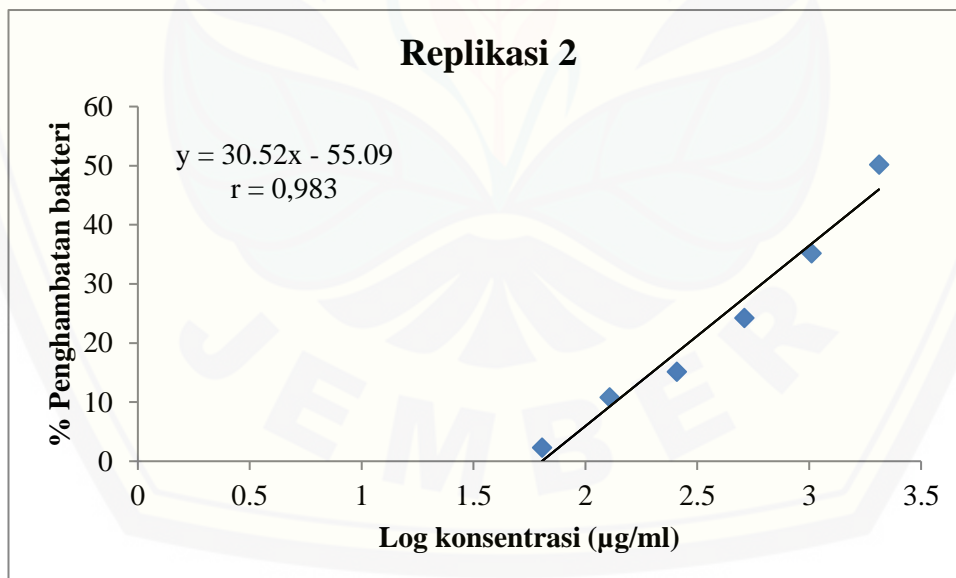
#### Penghambatan Fraksi Etil Asetat Liken

Konsentrasi fraksi ( $\mu\text{g/ml}$ )	% Penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	50,295	50,211	51,675
1024	36,436	35,183	32,858
512	22,438	24,298	22,452
256	15,943	15,169	15,467
128	9,517	10,744	7,947
64	1,146	2,388	1,639

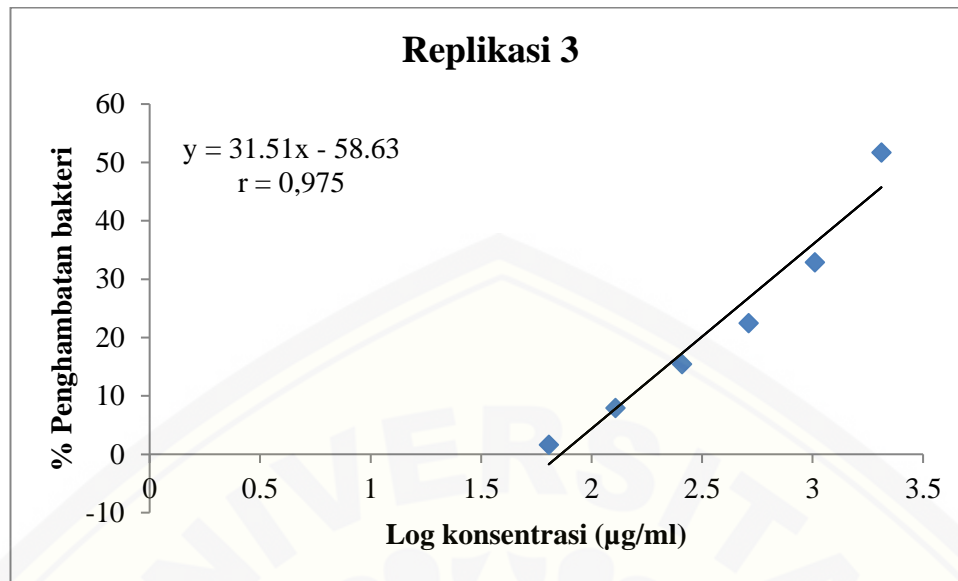
## Kurva Penghambatan Fraksi Etil Asetat Liken



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,984 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi etil asetat liken.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,983 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi etil asetat liken.

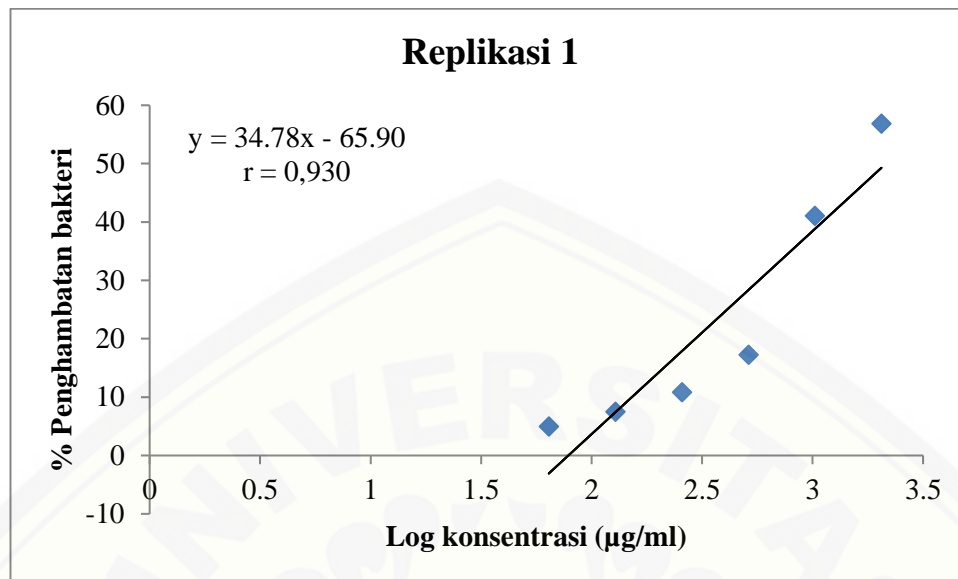


1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,975 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi fraksi etil asetat liken.

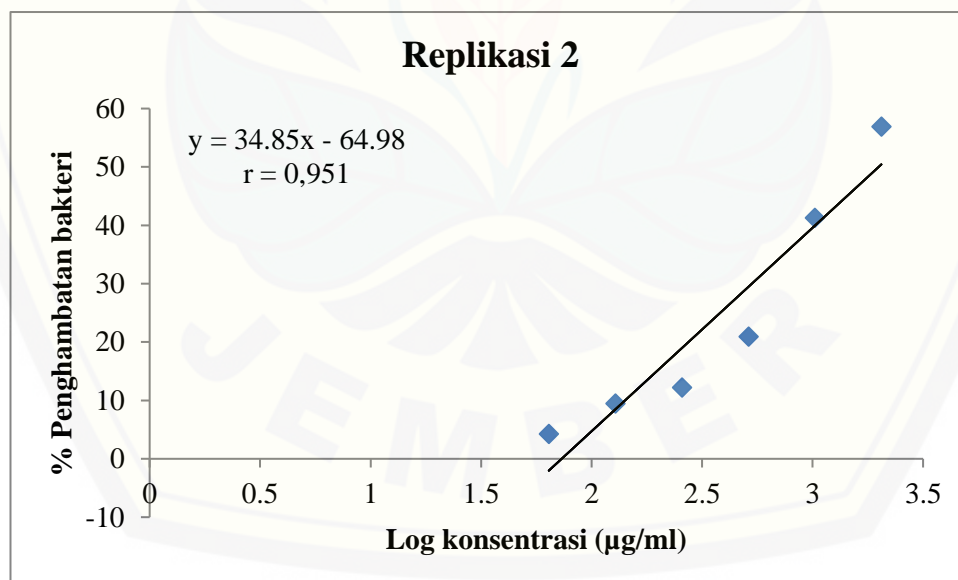
#### Penghambatan Residu Liken

Konsentrasi fraksi ( $\mu\text{g/ml}$ )	% Penghambatan bakteri		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2048	56,895	56,917	58,090
1024	41,056	41,292	39,059
512	17,298	20,927	25,339
256	10,941	12,219	12,259
128	7,503	9,515	8,731
64	5,002	4,284	3,457

## Kurva Penghambatan Residu Liken

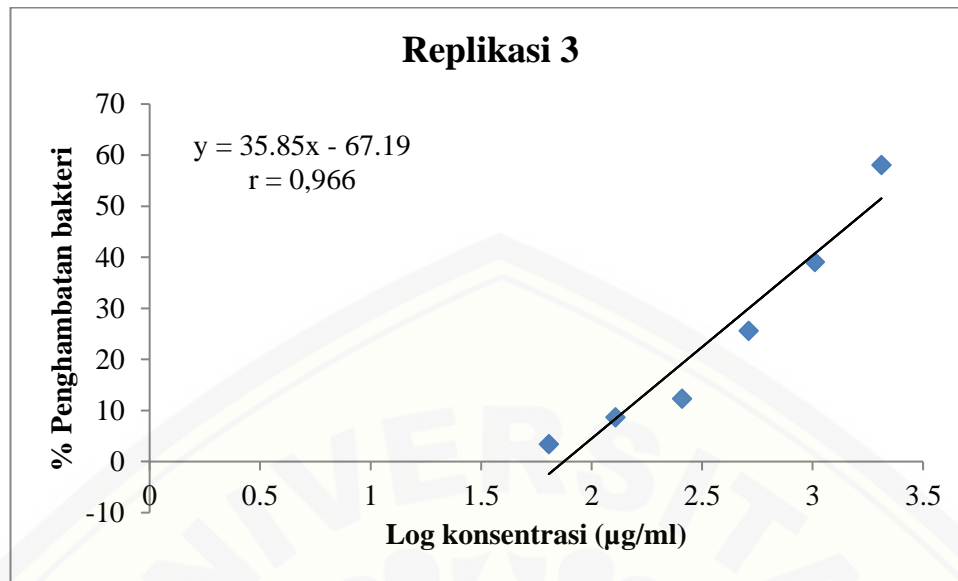


1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,930 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi residu liken.



1. Nilai r tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,951 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi residu liken.





1. Nilai  $r$  tabel untuk taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ),  $n = 6$ , adalah 0,811
2.  $r = 0,966 > r$  tabel, artinya terdapat hubungan yang linier antara persen penghambatan bakteri dengan konsentrasi residu liken.

#### Penghambatan Gentamisin

Konsentrasi fraksi (µg/ml)	% Penghambatan bakteri			Rata-rata	CV
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
4	97,158	97,052	96,776	$96,995 \pm 0,197$	0,203
2	96,554	96,270	95,599	$96,141 \pm 0,490$	0,510
1	89,840	90,728	88,279	$89,616 \pm 1,240$	1,383
0,5	80,426	81,918	80,915	$81,086 \pm 0,761$	0,938

**Lampiran G. Hasil Analisis Probit (IC<sub>50</sub>) Antibakteri Liken *P. dilatata* Vain.**

a. Ekstrak Liken

Replikasi 1

**Confidence Limits**

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup> 0.01	159.105	13.806	365.038	2.202	1.140	2.562
0.02	213.770	25.173	448.510	2.330	1.401	2.652
0.03	257.826	36.783	512.036	2.411	1.566	2.709
0.04	296.856	48.869	566.387	2.473	1.689	2.753
0.05	332.922	61.513	615.426	2.522	1.789	2.789
0.06	367.052	74.758	661.050	2.565	1.874	2.820
0.07	399.844	88.634	704.353	2.602	1.948	2.848
0.08	431.684	103.158	746.041	2.635	2.014	2.873
0.09	462.837	118.346	786.606	2.665	2.073	2.896
0.1	493.497	134.213	826.408	2.693	2.128	2.917
0.15	643.603	224.074	1022.301	2.809	2.350	3.010
0.2	794.844	332.055	1227.715	2.900	2.521	3.089
0.25	952.623	458.123	1459.128	2.979	2.661	3.164
0.3	1120.835	600.935	1734.266	3.050	2.779	3.239
0.35	1303.113	757.841	2075.321	3.115	2.880	3.317
0.4	1503.414	925.629	2510.814	3.177	2.966	3.400
0.45	1726.465	1101.851	3077.566	3.237	3.042	3.488
<b>0.5</b>	<b>1978.264</b>	<b>1285.962</b>	<b>3824.541</b>	<b>3.296</b>	<b>3.109</b>	<b>3.583</b>
0.55	2266.788	1479.724	4820.634	3.355	3.170	3.683
0.6	2603.095	1687.124	6169.023	3.415	3.227	3.790
0.65	3003.216	1914.444	8033.578	3.478	3.282	3.905
0.7	3491.620	2170.986	10690.920	3.543	3.337	4.029
0.75	4108.161	2471.066	14643.854	3.614	3.393	4.166
0.8	4923.645	2838.707	20901.922	3.692	3.453	4.320
0.85	6080.655	3319.759	31808.088	3.784	3.521	4.503
0.9	7930.201	4020.874	54238.191	3.899	3.604	4.734
0.91	8455.529	4208.531	61740.862	3.927	3.624	4.791

0.92	9065.739	4421.280	71089.111	3.957	3.646	4.852
0.93	9787.649	4666.437	83031.244	3.991	3.669	4.919
0.94	10662.069	4954.918	98783.541	4.028	3.695	4.995
0.95	11755.098	5304.016	120467.753	4.070	3.725	5.081
0.96	13183.262	5743.449	152159.683	4.120	3.759	5.182
0.97	15178.942	6330.689	202867.283	4.181	3.801	5.307
0.98	18307.161	7200.112	297560.022	4.263	3.857	5.474
0.99	24597.170	8807.433	544953.326	4.391	3.945	5.736

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak metanol liken replikasi 1 adalah 1978,264 µg/ml.

Replikasi 2

#### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>b</sup>			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT	0.01	144.487	13.802	333.265	2.160	1.140	2.523
<sup>a</sup>	0.02	196.793	25.273	414.083	2.294	1.403	2.617
	0.03	239.411	37.031	476.083	2.379	1.569	2.678
	0.04	277.452	49.299	529.412	2.443	1.693	2.724
	0.05	312.811	62.161	577.722	2.495	1.794	2.762
	0.06	346.436	75.656	622.813	2.540	1.879	2.794
	0.07	378.879	89.814	665.728	2.579	1.953	2.823
	0.08	410.498	104.652	707.140	2.613	2.020	2.850
	0.09	441.540	120.188	747.518	2.645	2.080	2.874
	0.1	472.185	136.435	787.212	2.674	2.135	2.896
	0.15	623.401	228.701	983.457	2.795	2.359	2.993
	0.2	777.429	339.954	1190.505	2.891	2.531	3.076
	0.25	939.568	470.133	1424.973	2.973	2.672	3.154
	0.3	1113.801	617.778	1705.109	3.047	2.791	3.232
	0.35	1303.969	780.084	2053.919	3.115	2.892	3.313
	0.4	1514.360	953.794	2500.936	3.180	2.979	3.398
	0.45	1750.170	1136.672	3084.183	3.243	3.056	3.489
	<b>0.5</b>	<b>2018.065</b>	<b>1328.622</b>	<b>3854.255</b>	<b>3.305</b>	<b>3.123</b>	<b>3.586</b>
	0.55	2326.965	1531.994	4882.601	3.367	3.185	3.689

0.6	2689.311	1751.457	6276.633	3.430	3.243	3.798
0.65	3123.222	1994.129	8207.406	3.495	3.300	3.914
0.7	3656.476	2270.495	10964.237	3.563	3.356	4.040
0.75	4334.527	2596.751	15073.919	3.637	3.414	4.178
0.8	5238.530	3000.251	21596.082	3.719	3.477	4.334
0.85	6532.848	3533.541	32995.088	3.815	3.548	4.518
0.9	8624.978	4319.689	56521.634	3.936	3.635	4.752
0.91	9223.589	4531.651	64408.589	3.965	3.656	4.809
0.92	9921.074	4772.669	74245.166	3.997	3.679	4.871
0.93	10749.028	5051.289	86824.395	4.031	3.703	4.939
0.94	11755.662	5380.298	103436.435	4.070	3.731	5.015
0.95	13019.297	5780.003	126334.233	4.115	3.762	5.102
0.96	14678.505	6285.402	159850.752	4.167	3.798	5.204
0.97	17010.816	6964.421	213575.810	4.231	3.843	5.330
0.98	20694.722	7976.597	314139.417	4.316	3.902	5.497
0.99	28186.555	9866.557	577791.570	4.450	3.994	5.762

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak metanol liken replikasi 2 adalah 2018,085 µg/ml.

Replikasi 3

#### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	156.191	16.936	350.043	2.194	1.229	2.544
<sup>a</sup> 0.02	210.736	30.179	432.562	2.324	1.480	2.636
0.03	254.844	43.465	495.593	2.406	1.638	2.695
0.04	294.009	57.122	549.643	2.468	1.757	2.740
0.05	330.267	71.272	598.490	2.519	1.853	2.777
0.06	364.629	85.978	643.988	2.562	1.934	2.809
0.07	397.687	101.275	687.210	2.600	2.006	2.837
0.08	429.822	117.190	728.849	2.633	2.069	2.863
0.09	461.297	133.742	769.386	2.664	2.126	2.886
0.1	492.303	150.947	809.176	2.692	2.179	2.908
0.15	644.470	247.135	1005.059	2.809	2.393	3.002

0.2	798.302	360.793	1210.216	2.902	2.557	3.083
0.25	959.230	491.772	1440.592	2.982	2.692	3.159
0.3	1131.215	638.676	1713.074	3.054	2.805	3.234
0.35	1317.997	798.988	2048.438	3.120	2.903	3.311
0.4	1523.674	969.879	2472.947	3.183	2.987	3.393
0.45	1753.169	1149.457	3020.067	3.244	3.060	3.480
<b>0.5</b>	<b>2012.749</b>	<b>1337.751</b>	<b>3733.923</b>	<b>3.304</b>	<b>3.126</b>	<b>3.572</b>
0.55	2310.762	1537.011	4676.218	3.364	3.187	3.670
0.6	2658.808	1751.660	5938.807	3.425	3.243	3.774
0.65	3073.723	1988.457	7666.585	3.488	3.299	3.885
0.7	3581.242	2257.383	10102.282	3.554	3.354	4.004
0.75	4223.343	2573.853	13683.357	3.626	3.411	4.136
0.8	5074.715	2963.870	19279.738	3.705	3.472	4.285
0.85	6286.025	3477.278	28887.899	3.798	3.541	4.461
0.9	8228.991	4230.499	48286.250	3.915	3.626	4.684
0.91	8782.103	4432.941	54698.720	3.944	3.647	4.738
0.92	9425.196	4662.834	62647.453	3.974	3.669	4.797
0.93	10186.800	4928.218	72744.471	4.008	3.693	4.862
0.94	11110.364	5241.108	85979.504	4.046	3.719	4.934
0.95	12266.327	5620.565	104069.252	4.089	3.750	5.017
0.96	13779.004	6099.392	130289.762	4.139	3.785	5.115
0.97	15896.636	6741.157	171824.536	4.201	3.829	5.235
0.98	19223.815	7694.840	248386.493	4.284	3.886	5.395
0.99	25937.251	9467.493	444541.232	4.414	3.976	5.648

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak metanol liken replikasi 3 adalah 2012,749 µg/ml.



## b. Fraksi Heksana Liken

## Replikasi 1

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	22.952	9.390	41.590	1.361	.973	1.619
0.02	38.567	18.016	64.264	1.586	1.256	1.808
0.03	53.608	27.203	84.816	1.729	1.435	1.928
0.04	68.677	37.050	104.610	1.837	1.569	2.020
0.05	84.008	47.594	124.179	1.924	1.678	2.094
0.06	99.725	58.856	143.804	1.999	1.770	2.158
0.07	115.908	70.852	163.667	2.064	1.850	2.214
0.08	132.614	83.596	183.897	2.123	1.922	2.265
0.09	149.889	97.098	204.599	2.176	1.987	2.311
0.1	167.773	111.371	225.864	2.225	2.047	2.354
0.15	267.548	194.574	343.502	2.427	2.289	2.536
0.2	387.691	297.844	487.891	2.588	2.474	2.688
0.25	532.943	421.054	671.960	2.727	2.624	2.827
0.3	709.225	564.479	911.794	2.851	2.752	2.960
0.35	924.239	730.312	1226.982	2.966	2.864	3.089
0.4	1188.251	923.233	1642.606	3.075	2.965	3.216
0.45	1515.260	1150.403	2193.153	3.180	3.061	3.341
<b>0.5</b>	<b>1924.829</b>	<b>1421.839</b>	<b>2928.450</b>	<b>3.284</b>	<b>3.153</b>	<b>3.467</b>
0.55	2445.102	1751.549	3923.152	3.388	3.243	3.594
0.6	3117.998	2159.745	5293.332	3.494	3.334	3.724
0.65	4008.667	2676.883	7227.698	3.603	3.428	3.859
0.7	5223.966	3351.384	10050.960	3.718	3.525	4.002
0.75	6951.904	4265.696	14364.988	3.842	3.630	4.157
0.8	9556.501	5573.807	21404.918	3.980	3.746	4.331
0.85	13847.844	7604.432	34111.056	4.141	3.881	4.533
0.9	22083.185	11227.656	61385.921	4.344	4.050	4.788
0.91	24718.093	12333.691	70756.978	4.393	4.091	4.850
0.92	27938.046	13658.278	82570.254	4.446	4.135	4.917
0.93	31964.760	15278.534	97854.564	4.505	4.184	4.991



0.94	37151.756	17315.096	118300.811	4.570	4.238	5.073
0.95	44102.513	19969.516	146895.685	4.644	4.300	5.167
0.96	53947.638	23610.127	189459.260	4.732	4.373	5.278
0.97	69112.047	29003.780	259075.811	4.840	4.462	5.413
0.98	96064.821	38120.182	392807.825	4.983	4.581	5.594
0.99	161423.520	58625.216	757227.940	5.208	4.768	5.879

a. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> fraksi heksana liken replikasi 1 adalah 1924,829 µg/ml.

Replikasi 2

#### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	19.917	7.722	37.189	1.299	.888	1.570
0.02	34.113	15.233	58.294	1.533	1.183	1.766
0.03	47.996	23.408	77.640	1.681	1.369	1.890
0.04	62.052	32.306	96.420	1.793	1.509	1.984
0.05	76.469	41.948	115.100	1.883	1.623	2.061
0.06	91.352	52.350	133.930	1.961	1.719	2.127
0.07	106.765	63.526	153.072	2.028	1.803	2.185
0.08	122.761	75.488	172.645	2.089	1.878	2.237
0.09	139.381	88.250	192.748	2.144	1.946	2.285
0.1	156.661	101.824	213.466	2.195	2.008	2.329
0.15	254.161	182.243	329.132	2.405	2.261	2.517
0.2	373.361	284.081	473.090	2.572	2.453	2.675
0.25	519.298	407.308	659.241	2.715	2.610	2.819
0.3	698.384	552.170	905.371	2.844	2.742	2.957
0.35	919.036	720.949	1233.468	2.963	2.858	3.091
0.4	1192.555	918.665	1671.960	3.076	2.963	3.223
0.45	1534.434	1153.073	2260.302	3.186	3.062	3.354
<b>0.5</b>	<b>1966.448</b>	<b>1435.058</b>	<b>3055.997</b>	<b>3.294</b>	<b>3.157</b>	<b>3.485</b>
0.55	2520.094	1779.908	4145.947	3.401	3.250	3.618
0.6	3242.549	2209.778	5666.473	3.511	3.344	3.753
0.65	4207.580	2758.193	7841.297	3.624	3.441	3.894
0.7	5536.955	3478.712	11059.270	3.743	3.541	4.044

0.75	7446.432	4462.995	16049.101	3.872	3.650	4.205
0.8	10357.057	5883.200	24324.600	4.015	3.770	4.386
0.85	15214.449	8109.254	39540.648	4.182	3.909	4.597
0.9	24683.421	12128.288	72956.629	4.392	4.084	4.863
0.91	27743.595	13364.555	84603.024	4.443	4.126	4.927
0.92	31499.506	14849.945	99377.347	4.498	4.172	4.997
0.93	36218.814	16673.389	118624.863	4.559	4.222	5.074
0.94	42330.070	18974.429	144570.368	4.627	4.278	5.160
0.95	50568.261	21986.991	181171.194	4.704	4.342	5.258
0.96	62317.812	26140.262	236201.303	4.795	4.417	5.373
0.97	80567.211	32332.014	327306.766	4.906	4.510	5.515
0.98	113354.686	42882.104	505089.008	5.054	4.632	5.703
0.99	194155.156	66898.938	1001124.173	5.288	4.825	6.000

a. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> fraksi heksana liken replikasi 2 adalah 1966,448 µg/ml.

Replikasi 3

#### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	22.594	9.203	41.051	1.354	.964	1.613
0.02	38.064	17.718	63.566	1.581	1.248	1.803
0.03	52.995	26.810	84.008	1.724	1.428	1.924
0.04	67.976	36.573	103.719	1.832	1.563	2.016
0.05	83.234	47.043	123.225	1.920	1.672	2.091
0.06	98.891	58.239	142.803	1.995	1.765	2.155
0.07	115.025	70.176	162.631	2.061	1.846	2.211
0.08	131.692	82.868	182.839	2.120	1.918	2.262
0.09	148.938	96.327	203.531	2.173	1.984	2.309
0.1	166.803	110.564	224.797	2.222	2.044	2.352
0.15	266.622	193.704	342.623	2.426	2.287	2.535
0.2	387.064	297.111	487.577	2.588	2.473	2.688
0.25	532.927	420.666	672.763	2.727	2.624	2.828
0.3	710.216	564.665	914.516	2.851	2.752	2.961

0.35	926.755	731.350	1232.768	2.967	2.864	3.091
0.4	1192.982	925.479	1653.092	3.077	2.966	3.218
0.45	1523.140	1154.324	2210.711	3.183	3.062	3.345
<b>0.5</b>	<b>1937.151</b>	<b>1428.049</b>	<b>2956.579</b>	<b>3.287</b>	<b>3.155</b>	<b>3.471</b>
0.55	2463.696	1760.884	3967.118	3.392	3.246	3.598
0.6	3145.524	2173.371	5361.273	3.498	3.337	3.729
0.65	4049.131	2696.487	7332.647	3.607	3.431	3.865
0.7	5283.678	3379.514	10214.779	3.723	3.529	4.009
0.75	7041.405	4306.433	14626.739	3.848	3.634	4.165
0.8	9694.922	5634.222	21840.867	3.987	3.751	4.339
0.85	14074.459	7698.297	34891.295	4.148	3.886	4.543
0.9	22496.920	11387.524	62984.223	4.352	4.056	4.799
0.91	25195.367	12514.959	72653.449	4.401	4.097	4.861
0.92	28494.906	13865.814	84852.089	4.455	4.142	4.929
0.93	32623.802	15519.058	100648.436	4.514	4.191	5.003
0.94	37946.216	17598.279	121799.622	4.579	4.245	5.086
0.95	45084.193	20310.058	151412.005	4.654	4.308	5.180
0.96	55203.962	24032.136	195544.871	4.742	4.381	5.291
0.97	70809.026	29551.491	267836.481	4.850	4.471	5.428
0.98	98585.526	38891.282	406977.072	4.994	4.590	5.610
0.99	166088.979	59935.462	787243.664	5.220	4.778	5.896

a. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> fraksi heksana liken replikasi 3 adalah 1937,151 µg/ml.

c. Fraksi Diklorometana Liken

Replikasi 1

#### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	25.984	.448	84.717	1.415	-.348	1.928
<sup>a</sup> 0.02	39.387	1.167	112.266	1.595	.067	2.050
0.03	51.282	2.136	134.624	1.710	.330	2.129
0.04	62.544	3.359	154.654	1.796	.526	2.189
0.05	73.504	4.846	173.417	1.866	.685	2.239

0.06	84.335	6.609	191.450	1.926	.820	2.282
0.07	95.136	8.665	209.076	1.978	.938	2.320
0.08	105.976	11.029	226.515	2.025	1.043	2.355
0.09	116.904	13.719	243.927	2.068	1.137	2.387
0.1	127.956	16.751	261.441	2.107	1.224	2.417
0.15	185.991	37.675	354.077	2.269	1.576	2.549
0.2	250.373	69.720	463.717	2.399	1.843	2.666
0.25	323.102	114.304	604.477	2.509	2.058	2.781
0.3	406.254	171.383	797.389	2.609	2.234	2.902
0.35	502.298	239.262	1074.576	2.701	2.379	3.031
0.4	614.349	315.558	1484.154	2.788	2.499	3.171
0.45	746.497	398.697	2098.457	2.873	2.601	3.322
<b>0.5</b>	<b>904.273</b>	<b>488.711</b>	<b>3030.271</b>	<b>2.956</b>	<b>2.689</b>	<b>3.481</b>
0.55	1095.395	587.201	4464.133	3.040	2.769	3.650
0.6	1331.017	697.154	6717.092	3.124	2.843	3.827
0.65	1627.937	823.090	10363.570	3.212	2.915	4.016
0.7	2012.801	971.804	16513.916	3.304	2.988	4.218
0.75	2530.811	1154.092	27503.434	3.403	3.062	4.439
0.8	3265.967	1388.733	48847.178	3.514	3.143	4.689
0.85	4396.497	1712.882	95981.832	3.643	3.234	4.982
0.9	6390.544	2216.440	225941.962	3.806	3.346	5.354
0.91	6994.712	2356.964	278058.971	3.845	3.372	5.444
0.92	7715.962	2519.035	348484.219	3.887	3.401	5.542
0.93	8595.148	2709.310	446809.362	3.934	3.433	5.650
0.94	9695.992	2937.860	589957.231	3.987	3.468	5.771
0.95	11124.617	3220.894	810301.333	4.046	3.508	5.909
0.96	13074.240	3586.776	1177001.951	4.116	3.555	6.071
0.97	15945.350	4091.571	1863615.258	4.203	3.612	6.270
0.98	20760.860	4870.061	3435865.439	4.317	3.688	6.536
0.99	31469.287	6398.324	9025545.880	4.498	3.806	6.955

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Nilai  $IC_{50}$  fraksi diklorometana liken replikasi 1 adalah 904,273  $\mu\text{g/ml}$ .

## Replikasi 2

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	29.672	1.236	86.448	1.472	.092	1.937
a 0.02	44.131	2.788	113.976	1.645	.445	2.057
0.03	56.770	4.660	136.186	1.754	.668	2.134
0.04	68.612	6.845	155.988	1.836	.835	2.193
0.05	80.044	9.345	174.457	1.903	.971	2.242
0.06	91.263	12.165	192.134	1.960	1.085	2.284
0.07	102.387	15.313	209.341	2.010	1.185	2.321
0.08	113.493	18.795	226.295	2.055	1.274	2.355
0.09	124.635	22.623	243.151	2.096	1.355	2.386
0.1	135.857	26.805	260.033	2.133	1.428	2.415
0.15	194.132	53.378	348.005	2.288	1.727	2.542
0.2	257.808	90.160	449.021	2.411	1.955	2.652
0.25	328.845	137.691	573.633	2.517	2.139	2.759
0.3	409.175	195.554	736.098	2.612	2.291	2.867
0.35	501.030	262.424	956.625	2.700	2.419	2.981
0.4	607.190	336.758	1263.654	2.783	2.527	3.102
0.45	731.263	417.709	1697.567	2.864	2.621	3.230
<b>0.5</b>	<b>878.097</b>	<b>505.641</b>	<b>2317.911</b>	<b>2.944</b>	<b>2.704</b>	<b>3.365</b>
0.55	1054.415	602.185	3216.979	3.023	2.780	3.507
0.6	1269.874	710.211	4545.117	3.104	2.851	3.658
0.65	1538.939	834.068	6560.417	3.187	2.921	3.817
0.7	1884.414	980.326	9734.316	3.275	2.991	3.988
0.75	2344.734	1159.461	14999.711	3.370	3.064	4.176
0.8	2990.808	1389.713	24415.991	3.476	3.143	4.388
0.85	3971.813	1707.151	43317.338	3.599	3.232	4.637
0.9	5675.483	2198.911	89624.646	3.754	3.342	4.952
0.91	6186.478	2335.878	106906.703	3.791	3.368	5.029
0.92	6793.875	2493.715	129511.388	3.832	3.397	5.112
0.93	7530.797	2678.851	159965.432	3.877	3.428	5.204
0.94	8448.701	2901.003	202580.233	3.927	3.463	5.307



0.95	9632.900	3175.798	265299.352	3.984	3.502	5.424
0.96	11237.924	3530.554	364374.053	4.051	3.548	5.562
0.97	13582.097	4019.210	538530.122	4.133	3.604	5.731
0.98	17472.084	4771.242	905928.940	4.242	3.679	5.957
0.99	25985.901	6243.016	2059487.205	4.415	3.795	6.314

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> fraksi diklorometana liken replikasi 2 adalah 878,097 µg/ml.

### Replikasi 3

#### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01 <sup>a</sup>	32.288	1.275	93.600	1.509	.105	1.971
0.02	47.926	2.907	123.144	1.681	.463	2.090
0.03	61.575	4.891	146.967	1.789	.689	2.167
0.04	74.349	7.220	168.207	1.871	.859	2.226
0.05	86.670	9.895	188.025	1.938	.995	2.274
0.06	98.754	12.922	207.004	1.995	1.111	2.316
0.07	110.727	16.309	225.493	2.044	1.212	2.353
0.08	122.675	20.065	243.727	2.089	1.302	2.387
0.09	134.656	24.201	261.876	2.129	1.384	2.418
0.1	146.717	28.727	280.075	2.166	1.458	2.447
0.15	209.277	57.566	375.367	2.321	1.760	2.574
0.2	277.530	97.514	485.914	2.443	1.989	2.687
0.25	353.572	148.938	623.985	2.548	2.173	2.795
0.3	439.463	211.061	806.297	2.643	2.324	2.906
0.35	537.576	282.164	1056.456	2.730	2.451	3.024
0.4	650.856	360.494	1407.557	2.813	2.557	3.148
0.45	783.127	445.235	1906.692	2.894	2.649	3.280
<b>0.5</b>	<b>939.518</b>	<b>536.914</b>	<b>2623.776</b>	<b>2.973</b>	<b>2.730</b>	<b>3.419</b>
0.55	1127.142	637.348	3667.899	3.052	2.804	3.564
0.6	1356.206	749.578	5217.744	3.132	2.875	3.717



0.65	1641.991	878.126	7581.470	3.215	2.944	3.880
0.7	2008.575	1029.772	11324.527	3.303	3.013	4.054
0.75	2496.506	1215.292	17571.217	3.397	3.085	4.245
0.8	3180.543	1453.425	28816.610	3.503	3.162	4.460
0.85	4217.821	1781.172	51562.713	3.625	3.251	4.712
0.9	6016.313	2287.802	107816.901	3.779	3.359	5.033
0.91	6555.180	2428.701	128932.744	3.817	3.385	5.110
0.92	7195.422	2590.967	156623.598	3.857	3.413	5.195
0.93	7971.811	2781.167	194035.819	3.902	3.444	5.288
0.94	8938.349	3009.221	246552.172	3.951	3.478	5.392
0.95	10184.525	3291.071	324119.423	4.008	3.517	5.511
0.96	11872.347	3654.567	447156.203	4.075	3.563	5.650
0.97	14335.328	4154.649	664516.410	4.156	3.619	5.823
0.98	18417.936	4923.054	1126036.812	4.265	3.692	6.052
0.99	27338.566	6423.356	2589358.554	4.437	3.808	6.413

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> fraksi diklorometana liken replikasi 3 adalah 939,518 µg/ml.

d. Fraksi Etil Asetat Liken

Replikasi 1

**Confidence Limits**

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	25.159	10.369	45.248	1.401	1.016	1.656
0.02	41.900	19.708	69.344	1.622	1.295	1.841
0.03	57.911	29.579	91.044	1.763	1.471	1.959
0.04	73.873	40.105	111.852	1.868	1.603	2.049
0.05	90.050	51.330	132.353	1.954	1.710	2.122
0.06	106.582	63.278	152.855	2.028	1.801	2.184
0.07	123.557	75.966	173.556	2.092	1.881	2.239
0.08	141.038	89.409	194.595	2.149	1.951	2.289
0.09	159.074	103.618	216.086	2.202	2.015	2.335
0.1	177.709	118.603	238.124	2.250	2.074	2.377

0.15	281.121	205.419	359.550	2.449	2.313	2.556
0.2	404.762	312.217	507.877	2.607	2.494	2.706
0.25	553.366	438.616	696.303	2.743	2.642	2.843
0.3	732.785	584.718	940.975	2.865	2.767	2.974
0.35	950.592	752.653	1261.302	2.978	2.877	3.101
0.4	1216.849	947.056	1681.988	3.085	2.976	3.226
0.45	1545.238	1174.972	2236.933	3.189	3.070	3.350
<b>0.5</b>	<b>1954.830</b>	<b>1446.187</b>	<b>2975.022</b>	<b>3.291</b>	<b>3.160</b>	<b>3.473</b>
0.55	2472.991	1774.322	3969.319	3.393	3.249	3.599
0.6	3140.372	2178.967	5333.103	3.497	3.338	3.727
0.65	4019.980	2689.547	7249.973	3.604	3.430	3.860
0.7	5214.848	3352.717	10034.786	3.717	3.525	4.002
0.75	6905.666	4247.686	14269.002	3.839	3.628	4.154
0.8	9441.003	5521.910	21140.974	3.975	3.742	4.325
0.85	13593.281	7488.992	33466.223	4.133	3.874	4.525
0.9	21503.521	10975.188	59719.759	4.333	4.040	4.776
0.91	24022.536	12034.737	68696.134	4.381	4.080	4.837
0.92	27094.620	13301.280	79987.704	4.433	4.124	4.903
0.93	30927.894	14847.372	94562.885	4.490	4.172	4.976
0.94	35853.562	16786.316	114009.951	4.555	4.225	5.057
0.95	42435.778	19307.039	141127.675	4.628	4.286	5.150
0.96	51728.822	22754.032	181355.049	4.714	4.357	5.259
0.97	65987.119	27842.582	246879.749	4.819	4.445	5.392
0.98	91201.974	36403.664	372081.177	4.960	4.561	5.571
0.99	151887.022	55527.560	710527.840	5.182	4.745	5.852

a. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> fraksi etil asetat liken replikasi 1 adalah 1954,830 µg/ml.

## Replikasi 2

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	19.650	7.344	37.296	1.293	.866	1.572
0.02	33.879	14.684	58.657	1.530	1.167	1.768
0.03	47.866	22.757	78.291	1.680	1.357	1.894
0.04	62.077	31.608	97.388	1.793	1.500	1.989
0.05	76.696	41.255	116.412	1.885	1.615	2.066
0.06	91.822	51.710	135.616	1.963	1.714	2.132
0.07	107.520	62.988	155.162	2.031	1.799	2.191
0.08	123.839	75.103	175.172	2.093	1.876	2.243
0.09	140.823	88.068	195.747	2.149	1.945	2.292
0.1	158.508	101.897	216.976	2.200	2.008	2.336
0.15	258.682	184.377	335.936	2.413	2.266	2.526
0.2	381.791	289.547	485.085	2.582	2.462	2.686
0.25	533.168	417.136	679.686	2.727	2.620	2.832
0.3	719.635	567.157	939.349	2.857	2.754	2.973
0.35	950.183	741.945	1288.275	2.978	2.870	3.110
0.4	1236.900	946.836	1757.861	3.092	2.976	3.245
0.45	1596.399	1190.035	2391.953	3.203	3.076	3.379
<b>0.5</b>	<b>2052.066</b>	<b>1483.015</b>	<b>3254.805</b>	<b>3.312</b>	<b>3.171</b>	<b>3.513</b>
0.55	2637.797	1841.859	4443.982	3.421	3.265	3.648
0.6	3404.458	2289.876	6113.218	3.532	3.360	3.786
0.65	4431.754	2862.367	8515.994	3.647	3.457	3.930
0.7	5851.543	3615.782	12095.072	3.767	3.558	4.083
0.75	7898.035	4646.841	17684.672	3.898	3.667	4.248
0.8	11029.532	6137.444	27028.197	4.043	3.788	4.432
0.85	16278.586	8479.038	44364.011	4.212	3.928	4.647
0.9	26566.370	12718.148	82860.064	4.424	4.104	4.918
0.91	29902.635	14024.400	96370.373	4.476	4.147	4.984
0.92	34003.519	15595.054	113561.730	4.532	4.193	5.055
0.93	39164.699	17524.751	136033.162	4.593	4.244	5.134
0.94	45860.260	19962.088	166437.170	4.661	4.300	5.221

0.95	54904.595	23156.373	209507.980	4.740	4.365	5.321
0.96	67834.549	27565.434	274582.306	4.831	4.440	5.439
0.97	87975.009	34147.985	382953.167	4.944	4.533	5.583
0.98	124294.335	45384.813	596045.833	5.094	4.657	5.775
0.99	214296.425	71036.016	1197461.408	5.331	4.851	6.078

a. Logarithm base = 10.

Nilai  $IC_{50}$  fraksi etil asetat liken replikasi 2 adalah 2052,066  $\mu\text{g/ml}$ .

Replikasi 3

#### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	27.719	11.707	49.111	1.443	1.068	1.691
0.02	45.779	22.001	74.776	1.661	1.342	1.874
0.03	62.938	32.784	97.775	1.799	1.516	1.990
0.04	79.966	44.208	119.757	1.903	1.646	2.078
0.05	97.163	56.330	141.360	1.988	1.751	2.150
0.06	114.684	69.177	162.921	2.060	1.840	2.212
0.07	132.628	82.769	184.655	2.123	1.918	2.266
0.08	151.065	97.120	206.715	2.179	1.987	2.315
0.09	170.048	112.240	229.222	2.231	2.050	2.360
0.1	189.624	128.140	252.279	2.278	2.108	2.402
0.15	297.729	219.507	379.026	2.474	2.341	2.579
0.2	426.126	330.621	533.435	2.630	2.519	2.727
0.25	579.601	460.918	728.986	2.763	2.664	2.863
0.3	764.008	610.541	981.781	2.883	2.786	2.992
0.35	986.887	781.779	1310.971	2.994	2.893	3.118
0.4	1258.218	979.359	1740.923	3.100	2.991	3.241
0.45	1591.539	1210.321	2305.069	3.202	3.083	3.363
<b>0.5</b>	<b>2052.675</b>	<b>1484.361</b>	<b>3051.526</b>	<b>3.302</b>	<b>3.172</b>	<b>3.485</b>
0.55	2527.573	1814.935	4051.983	3.403	3.259	3.608
0.6	3197.166	2221.346	5417.206	3.505	3.347	3.734
0.65	4076.184	2732.536	7326.052	3.610	3.437	3.865
0.7	5265.296	3394.292	10084.025	3.721	3.531	4.004

0.75	6940.515	4284.177	14252.879	3.841	3.632	4.154
0.8	9440.234	5546.206	20975.154	3.975	3.744	4.322
0.85	13511.373	7485.745	32942.764	4.131	3.874	4.518
0.9	21214.199	10904.357	58203.257	4.327	4.038	4.765
0.91	23656.418	11939.674	66790.655	4.374	4.077	4.825
0.92	26629.210	13175.373	77565.750	4.425	4.120	4.890
0.93	30330.919	14681.313	91435.988	4.482	4.167	4.961
0.94	35076.616	16566.431	109885.969	4.545	4.219	5.041
0.95	41401.894	19012.090	135524.496	4.617	4.279	5.132
0.96	50305.318	22348.384	173405.135	4.702	4.349	5.239
0.97	63916.220	27259.214	234808.543	4.806	4.436	5.371
0.98	87873.358	35490.364	351400.451	4.944	4.550	5.546
0.99	145127.680	53774.744	663612.698	5.162	4.731	5.822

a. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> fraksi etil asetat liken replikasi 3 adalah 2005,675 µg/ml.

e. Residu Liken

Replikasi 1

#### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	30.946	14.473	52.091	1.491	1.161	1.717
0.02	49.577	25.881	77.703	1.695	1.413	1.890
0.03	66.855	37.374	100.275	1.825	1.573	2.001
0.04	83.719	49.227	121.597	1.923	1.692	2.085
0.05	100.528	61.544	142.354	2.002	1.789	2.153
0.06	117.469	74.375	162.904	2.070	1.871	2.212
0.07	134.656	87.751	183.468	2.129	1.943	2.264
0.08	152.168	101.695	204.200	2.182	2.007	2.310
0.09	170.065	116.222	225.216	2.231	2.065	2.353
0.1	188.394	131.343	246.615	2.275	2.118	2.392
0.15	287.813	216.149	362.089	2.459	2.335	2.559
0.2	403.071	316.596	498.391	2.605	2.501	2.698
0.25	538.108	432.780	665.349	2.731	2.636	2.823



0.3	697.527	565.203	874.410	2.844	2.752	2.942
0.35	887.129	715.735	1139.099	2.948	2.855	3.057
0.4	1114.492	888.031	1476.289	3.047	2.948	3.169
0.45	1389.785	1087.610	1908.579	3.143	3.036	3.281
<b>0.5</b>	<b>1727.024</b>	<b>1322.163</b>	<b>2467.846</b>	<b>3.237</b>	<b>3.121</b>	<b>3.392</b>
0.55	2146.095	1602.371	3200.807	3.332	3.205	3.505
0.6	2676.207	1943.501	4178.512	3.428	3.289	3.621
0.65	3362.092	2368.313	5513.826	3.527	3.374	3.741
0.7	4275.978	2912.584	7396.186	3.631	3.464	3.869
0.75	5542.777	3636.492	10167.310	3.744	3.561	4.007
0.8	7399.719	4650.905	14507.488	3.869	3.668	4.162
0.85	10363.026	6188.778	21980.269	4.015	3.792	4.342
0.9	15831.767	8854.790	37119.366	4.200	3.947	4.570
0.91	17538.050	9653.513	42134.085	4.244	3.985	4.625
0.92	19600.731	10602.458	48355.368	4.292	4.025	4.684
0.93	22149.849	11753.140	56264.957	4.345	4.070	4.750
0.94	25390.630	13185.555	66642.314	4.405	4.120	4.824
0.95	29669.384	15032.252	80840.184	4.472	4.177	4.908
0.96	35626.324	17533.162	101441.662	4.552	4.244	5.006
0.97	44612.857	21182.125	134114.708	4.649	4.326	5.127
0.98	60161.766	27229.252	194425.989	4.779	4.435	5.289
0.99	96382.203	40437.045	349225.827	4.984	4.607	5.543

a. Logarithm base = 10.

Nilai IC<sub>50</sub> residu liken replikasi 1 adalah 1727,024 µg/ml.

Replikasi 2

#### Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	26.290	11.827	45.335	1.420	1.073	1.656
0.02	42.699	21.543	68.351	1.630	1.333	1.835
0.03	58.082	31.477	88.801	1.764	1.498	1.948
0.04	73.209	41.831	108.223	1.865	1.621	2.034
0.05	88.376	52.678	127.210	1.946	1.722	2.105



0.06	103.737	64.057	146.069	2.016	1.807	2.165
0.07	119.387	75.994	164.994	2.077	1.881	2.217
0.08	135.393	88.506	184.118	2.132	1.947	2.265
0.09	151.806	101.607	203.545	2.181	2.007	2.309
0.1	168.668	115.309	223.360	2.227	2.062	2.349
0.15	260.865	193.142	330.750	2.416	2.286	2.520
0.2	368.920	286.989	458.200	2.567	2.458	2.661
0.25	496.664	397.112	615.176	2.696	2.599	2.789
0.3	648.672	523.974	813.139	2.812	2.719	2.910
0.35	830.771	669.265	1065.911	2.919	2.826	3.028
0.4	1050.624	836.494	1390.792	3.021	2.922	3.143
0.45	1318.562	1031.155	1810.952	3.120	3.013	3.258
<b>0.5</b>	<b>1648.881</b>	<b>1261.015</b>	<b>2359.161</b>	<b>3.217</b>	<b>3.101</b>	<b>3.373</b>
0.55	2061.951	1536.943	3083.667	3.314	3.187	3.489
0.6	2587.805	1874.532	4058.241	3.413	3.273	3.608
0.65	3272.634	2297.109	5400.766	3.515	3.361	3.732
0.7	4191.351	2841.467	7310.354	3.622	3.454	3.864
0.75	5474.149	3569.724	10148.675	3.738	3.553	4.006
0.8	7369.643	4596.802	14641.315	3.867	3.662	4.166
0.85	10422.287	6165.354	22470.917	4.018	3.790	4.352
0.9	16119.341	8909.048	38570.571	4.207	3.950	4.586
0.91	17909.742	9735.864	43954.024	4.253	3.988	4.643
0.92	20080.838	10720.632	50660.305	4.303	4.030	4.705
0.93	22773.061	11918.005	59224.990	4.357	4.076	4.773
0.94	26208.687	13413.043	70518.121	4.418	4.128	4.848
0.95	30764.034	15347.052	86056.471	4.488	4.186	4.935
0.96	37137.443	17976.571	108751.439	4.570	4.255	5.036
0.97	46809.741	21831.506	145031.186	4.670	4.339	5.161
0.98	63674.524	28259.354	212690.443	4.804	4.451	5.328
0.99	103414.702	42427.788	389043.060	5.015	4.628	5.590

a. Logarithm base = 10.

Nilai  $IC_{50}$  residu liken replikasi 2 adalah 1648,881  $\mu\text{g/ml}$ .

## Replikasi 3

## Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log (konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	28.813	13.481	48.592	1.460	1.130	1.687
0.02	45.997	23.966	72.300	1.663	1.380	1.859
0.03	61.889	34.483	93.142	1.792	1.538	1.969
0.04	77.370	45.302	112.789	1.889	1.656	2.052
0.05	92.777	56.520	131.882	1.967	1.752	2.120
0.06	108.285	68.190	150.752	2.035	1.834	2.178
0.07	124.001	80.342	169.604	2.093	1.905	2.229
0.08	139.999	93.000	188.577	2.146	1.968	2.275
0.09	156.335	106.179	207.779	2.194	2.026	2.318
0.1	173.051	119.894	227.296	2.238	2.079	2.357
0.15	263.534	196.822	332.024	2.421	2.294	2.521
0.2	368.139	288.205	454.398	2.566	2.460	2.657
0.25	490.410	394.399	602.841	2.691	2.596	2.780
0.3	634.463	515.902	787.338	2.802	2.713	2.896
0.35	805.470	654.229	1019.832	2.906	2.816	3.009
0.4	1010.175	812.477	1315.113	3.004	2.910	3.119
0.45	1257.618	995.525	1692.753	3.100	2.998	3.229
<b>0.5</b>	<b>1560.243</b>	<b>1210.299</b>	<b>2180.158</b>	<b>3.193</b>	<b>3.083</b>	<b>3.338</b>
0.55	1935.689	1466.476	2817.346	3.287	3.166	3.450
0.6	2409.837	1777.902	3665.043	3.382	3.250	3.564
0.65	3022.281	2165.205	4819.522	3.480	3.335	3.683
0.7	3836.878	2660.785	6442.028	3.584	3.425	3.809
0.75	4963.925	3319.088	8822.742	3.696	3.521	3.946
0.8	6612.602	4240.335	12537.821	3.820	3.627	4.098
0.85	9237.348	5634.908	18907.383	3.966	3.751	4.277
0.9	14067.294	8048.250	31744.679	4.148	3.906	4.502
0.91	15571.458	8770.455	35982.934	4.192	3.943	4.556
0.92	17388.345	9628.079	41233.381	4.240	3.984	4.615
0.93	19631.738	10667.481	47898.187	4.293	4.028	4.680
0.94	22481.068	11960.622	56627.151	4.352	4.078	4.753

0.95	26238.863	13626.676	68546.229	4.419	4.134	4.836
0.96	31463.850	15881.241	85801.570	4.498	4.201	4.933
0.97	39334.046	19167.776	113092.209	4.595	4.283	5.053
0.98	52924.376	24607.890	163288.279	4.724	4.391	5.213
0.99	84488.541	36469.139	291436.811	4.927	4.562	5.465

a. Logarithm base = 10.

Nilai  $IC_{50}$  residu liken replikasi 3 adalah 1560,243  $\mu\text{g/ml}$ .

Tabel  $IC_{50}$  Ekstrak dan Fraksi

Kelompok	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )			Rata-rata $IC_{50} \pm SD$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	CV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
Ekstrak	1978,264	2018,085	2012,749	2003,033 $\pm$ 21,616	1,079
Fraksi heksana	1924,829	1966,448	1937,151	1942,809 $\pm$ 21,379	1,100
Fraksi diklorometana	904,273	878,097	939,518	907,296 $\pm$ 30,822	3,397
Fraksi etil asetat	1954,830	2052,066	2005,675	2004,190 $\pm$ 48,635	2,427
residu	1727,024	1648,881	1560,243	1645,383 $\pm$ 83,446	5,071

**Lampiran H. Hasil Analisis Statistika**

## a. Hasil Uji Normalitas

**Tests of Normality**

kelompok_uji	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 ekstrak	.340	3	.	.848	3	.236
f heksana	.271	3	.	.947	3	.558
f DCM	.206	3	.	.993	3	.838
f etil asetat	.179	3	.	.999	3	.950
residu	.260	2	.			

a. Lilliefors Significance Correction

## b. Hasil Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variances**

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.344	4	10	.320

## c. Hasil Uji One Way ANOVA

**ANOVA**

IC50	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2624034.429	4	656008.607	292.788	.000
Within Groups	22405.575	10	2240.557		
Total	2646440.004	14			

## d. Hasil Uji LSD

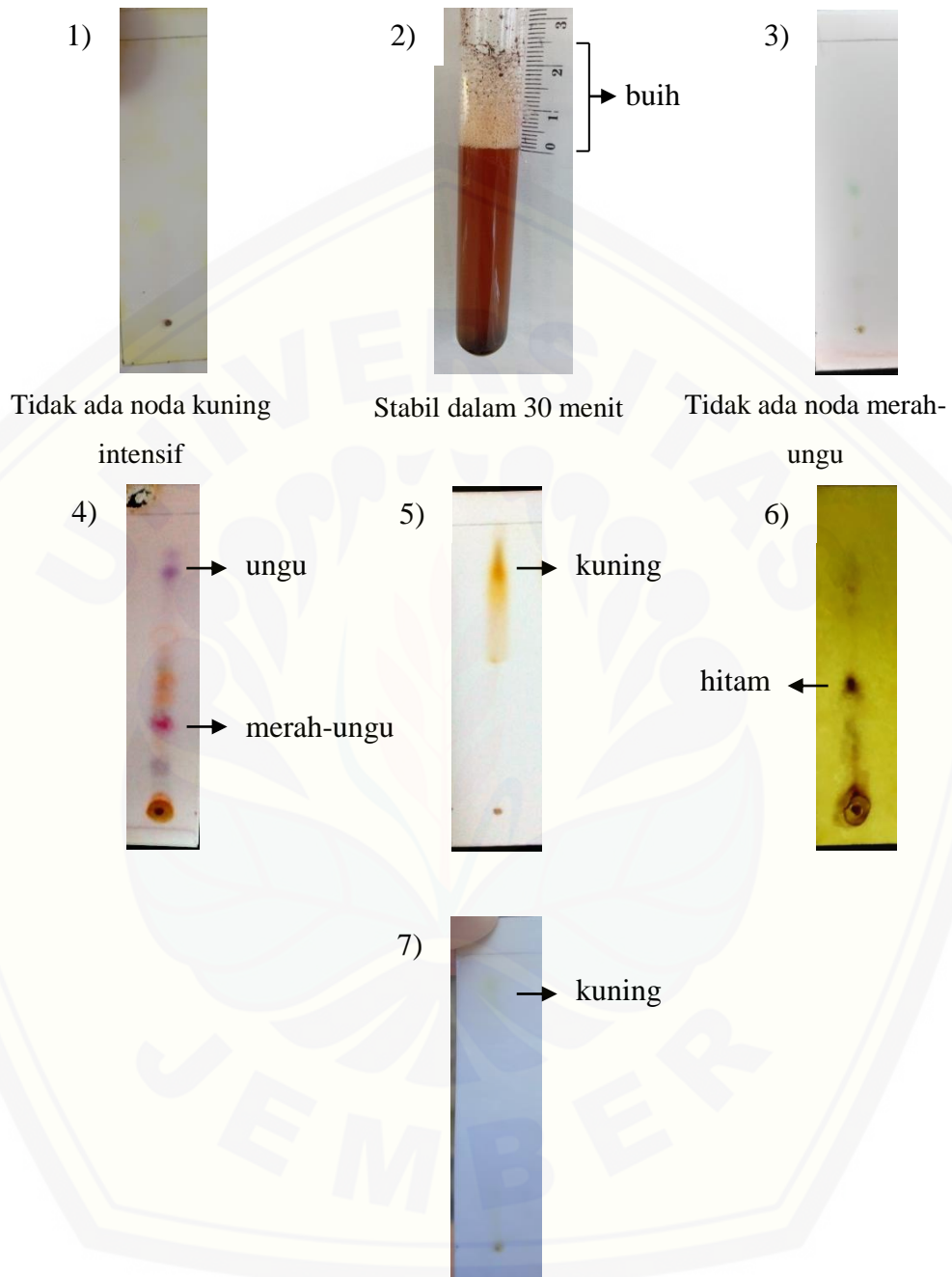
## Multiple Comparisons

IC50  
LSD

(I) kelompok_uji	(J) kelompok_uji	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak	f heksana	60.223333	38.648479	.150	-25.89085	146.33751
	f DCM	1095.736667*	38.648479	.000	1009.62249	1181.85085
	f etil asetat	-1.157667	38.648479	.977	-87.27185	84.95651
	residu	357.650000*	38.648479	.000	271.53582	443.76418
f heksana	ekstrak	-60.223333	38.648479	.150	-146.33751	25.89085
	f DCM	1035.513333*	38.648479	.000	949.39915	1121.62751
	f etil asetat	-61.381000	38.648479	.143	-147.49518	24.73318
	residu	297.426667*	38.648479	.000	211.31249	383.54085
f DCM	ekstrak	-1.095737E3*	38.648479	.000	-1181.85085	-1009.62249
	f heksana	-1.035513E3*	38.648479	.000	-1121.62751	-949.39915
	f etil asetat	-1.096894E3*	38.648479	.000	-1183.00851	-1010.78015
	residu	-738.086667*	38.648479	.000	-824.20085	-651.97249
f etil asetat	ekstrak	1.157667	38.648479	.977	-84.95651	87.27185
	f heksana	61.381000	38.648479	.143	-24.73318	147.49518
	f DCM	1096.894333*	38.648479	.000	1010.78015	1183.00851
	residu	358.807667*	38.648479	.000	272.69349	444.92185
residu	ekstrak	-357.650000*	38.648479	.000	-443.76418	-271.53582
	f heksana	-297.426667*	38.648479	.000	-383.54085	-211.31249
	f DCM	738.086667*	38.648479	.000	651.97249	824.20085
	f etil asetat	-358.807667*	38.648479	.000	-444.92185	-272.69349

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**Lampiran I. Skrining Fitokimia Ekstrak Liken *P. dilatata* Vain.**

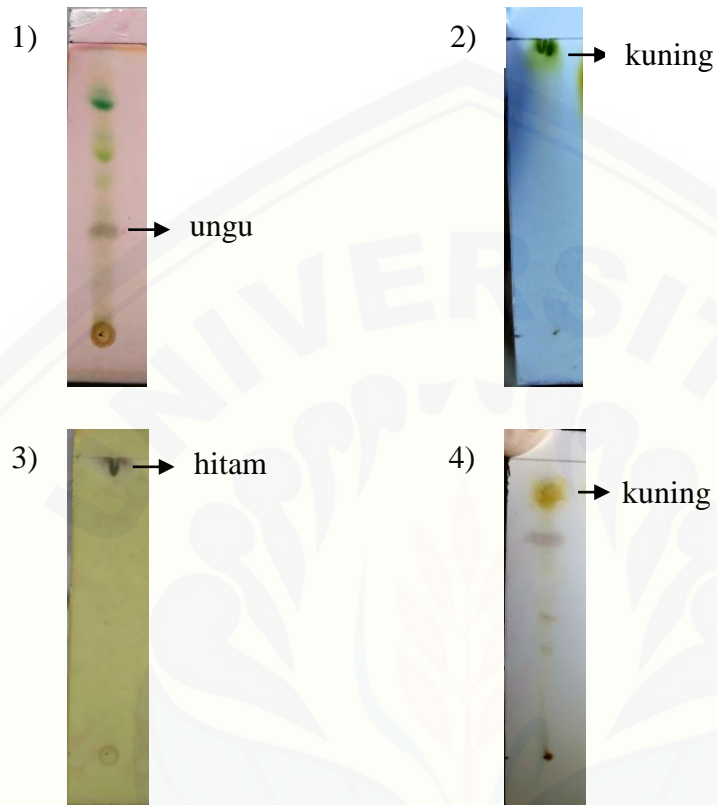


Skrining fitokimia (1) KLT-alkaloid (negatif); (2) uji buih-saponin (positif); (3) KLT-sapogenin steroid atau triterpenoid (negatif); (4) KLT-terpenoid atau steroid bebas (positif); (5) KLT-flavonoid (positif); (6) KLT-polifenol (positif); dan (7) KLT-antrakinon (positif).



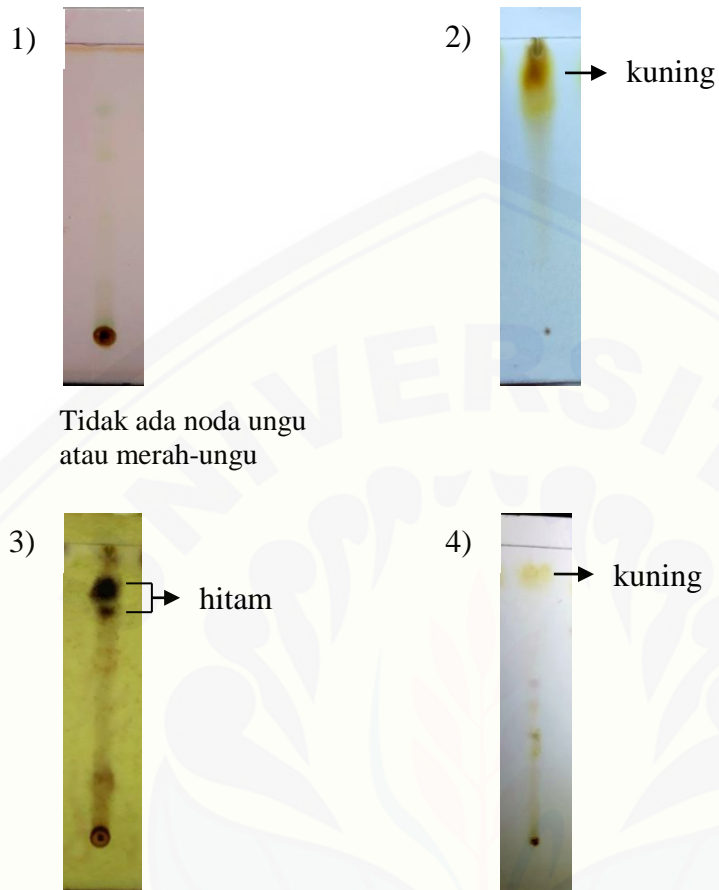
**Lampiran J. Skrining Fitokimia Fraksi Liken *P. dilatata* Vain.**

## a. Fraksi Heksana



Skrining fitokimia (1) KLT-terpenoid atau steroid bebas (positif); (2) KLT-flavonoid (positif); (3) KLT-polifenol (positif); dan (4) KLT-antrakinon (positif).

## b. Fraksi Diklorometana



Skrining fitokimia (1) KLT-terpenoid atau steroid bebas (negatif); (2) KLT-flavonoid (positif); (3) KLT-polifenol (positif); dan (4) KLT-antrakinon (positif).

## c. Fraksi Etil Asetat

1)



Tidak ada noda ungu  
atau merah-ungu

2)



Tidak ada noda kuning

3)



→ hitam

4)



Tidak ada noda kuning

Skrining fitokimia (1) KLT-terpenoid atau steroid bebas (negatif); (2) KLT-flavonoid (negatif); (3) KLT-polifenol (positif); dan (4) KLT-antrakinon (negatif).

## d. Residu

1)



Tidak ada noda ungu  
atau merah-ungu

2)



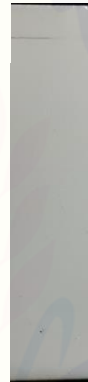
Tidak ada noda kuning

3)



Tidak ada noda hitam

4)



Tidak ada noda kuning

Skrining fitokimia (1) KLT-terpenoid atau steroid bebas (negatif); (2) KLT-flavonoid (negatif); (3) KLT-polifenol (negatif); dan (4) KLT-antrakinon (negatif).