



ORIGINAL ARTICLE

DOI: 10.25077/jsfk.7.2.164-171.2020

Kajian Fitokimia Fraksi Etil Asetat dari Lichen *Stereocaulon massartianum* Hue. dan Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode KLT-Bioautografi

(Phytochemical study of ethyl acetate fraction from lichen *Stereocaulon massartianum* Hue. and antibacterial activity assay with TLC-bioautography method)

Friardi Ismed*, Nadhifa Putri & Deddi Prima Putra

Laboratorium Biota Sumatra Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Kampus Universitas Andalas, Jl. Limau Manis, Limau Manis, Kec. Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat

ABSTRACT: This research is a continuation study in the inventory of lichens of the genus *Stereocaulon* which is currently focused on the *Stereocaulon massartianum* Hue collected in the rocks of Diatas Lake, West Sumatera, Indonesia. Reports on phytochemical studies and pharmacological activities of this species are still limited, based on literature studies that have been carried out. This research was conducted to determine their secondary metabolites and potential antibacterial activity. The air-dried thallus of lichen *S. massartianum* was macerated successively using n-hexane, ethyl acetate and methanol solvents. The compounds were separated by chromatography and recrystallization methods, then analyzed by spectroscopy (UV-Vis, FTIR, ^1H and ^{13}C -NMR). Furthermore, the antibacterial activity assay was performed by agar diffusion method on ethyl acetate extract, and TLC-Bioautography for the isolated compound. Three compounds have been isolated from ethyl acetate extract, i.e. atranorin (1), stictic acid (2) and norstictic acid (3). The results of antibacterial assay from the extract showed antagonistic activity against pathogenic bacteria *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, and *P. aeruginosa* at concentrations of 10 and 20%, while TLC-bioautography of compound 3 exhibited growth inhibition area in all test bacteria.

Keywords: antibacterial; lichen; TLC-bioautography; *Stereocaulon massartianum*.

ABSTRAK: Penelitian ini merupakan kegiatan lanjutan dalam inventori lichen/lumut kerak genus *Stereocaulon* dengan fokus pada *Stereocaulon massartianum* Hue yang dikoleksi di daerah bebatuan Danau Diatas, Sumatera Barat, Indonesia. Berdasarkan penelusuran literatur, kajian fitokimia, dan aktivitas farmakologis dari spesies ini masih sedikit. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan potensi aktivitas antibakterinya. Thallus kering lichen *S. massartianum* dimaserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Kemudian pemisahan senyawa dengan metode kromatografi dan rekristalisasi. Senyawa-senyawa hasil isolasi dianalisis secara spektroskopi (UV-Vis, FTIR, ^1H dan ^{13}C -NMR). Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar terhadap ekstrak etil asetat, dan KLT-Bioautografi untuk senyawa hasil isolasi. Tiga senyawa berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat, yaitu atranorin (1), asam stiktat (2) dan asam norstiktat (3). Hasil uji antibakteri dari ekstrak tersebut menunjukkan aktivitas antagonis terhadap bakteri patogen *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa* pada konsentrasi 10 dan 20 %, dan KLT-bioautografi dari senyawa 3 memperlihatkan daerah hambat pertumbuhan pada semua bakteri uji.

Kata kunci: antibakteri; lichen; lumut kerak; KLT-bioautografi; *Stereocaulon massartianum*.

Pendahuluan

Genus *Stereocaulon* (Stereocaulaceae, Lecanorales, Ascomycota) merupakan salah satu genus dari lumut kerak/ lichen yang tersebar di daerah tropis, subtropis, dan kutub dengan jumlah spesies yang terdata kurang lebih 137 spesies [1]. Secara morfologi genus *Stereocaulon* termasuk kelompok *dimorphic thallus* (dua jenis bentuk thallus) yaitu *crustose* (sebagai thallus primer) and *pseudopodetium* (sebagai thallus sekunder) [2,3] seperti pada Gambar 1.

Meskipun genus *Stereocaulon* bisa ditemukan diseluruh dunia tapi studi ilmiahnya masih sangat minim, sehingga membuka peluang yang sangat besar untuk mengkaji lebih dalam dan memperoleh nilai keterbaruan. Dari hasil penelusuran literatur yang dilakukan, beberapa lichenologis telah memulai kajian genus ini seperti Nylander dalam

Editor

Erizal Zaini

Article history

Received: 27 Jul 2020

Accepted: 17 Aug 2020

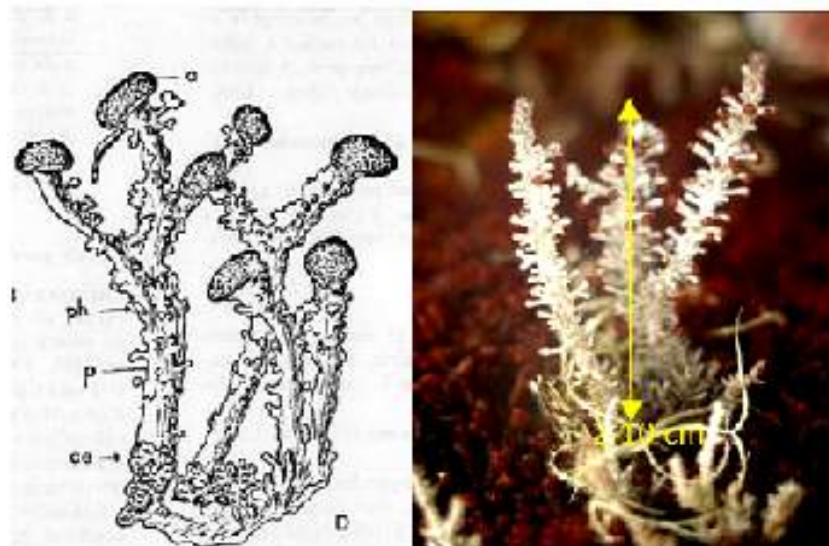
Published: 30 Aug 2020

Access this article



*Corresponding Author: Friardi Ismed

Laboratorium Biota Sumatra Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Kampus UNAND, Jl. Limau Manis, Limau Manis, Kec. Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat, 25163 | Email: friardi@phar.unand.ac.id



Gambar 1. Morfologi umum dari *Stereocaulon* (J. Asta) [3]. Keterangan: a: *apothecia*; ph: *phyllocladia*; p: *pseudopodetium*; ce: *cephalodia*.

Synopsis Lichenum [4], Riddle [5], Magnusson [6], Dodge [7], Johnson [8], Duvigneaud [9], Lamb [2,10,11], Boekhout [12], dan McCarthy [13]. Kemudian beberapa kajian profil metabolit dan eksplorasi fitokimia sudah dilaporkan [14–16]. Sampai sekarang terdapat 40 spesies yang diketahui metabolit sekunder dari kelompok depsid, depsidone, dibenzofurans, kelompok eter difenil dan monoaromatik [3].

Dalam melanjutkan eksplorasi lichen Sumatera, kami sudah melaporkan kajian fitokimia dari beberapa genus seperti *Cetralia*, *Usnea* [17,18] dan khusus untuk genus *Stereocaulon* antara lain; spesies *S. halei*, *S. montagneanum*, dan *S. graminosum* [19–21]. Dalam artikel ini, dilakukan kajian

metabolit sekunder dari *Stereocaulon massartianum* Hue yang di koleksi dari daerah Danau Diatas, Solok, Sumatera Barat (Gambar 2). Tiga senyawa berhasil diisolasi yaitu dari kelompok depsid (Atranorin, 1) dan depsidone (asam stiktat, 2 dan asam norstiktat, 3) yang telah dielusidasi dengan pendekatan spektrometri. Kemudian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas anti bakteri dengan metode difusi agar dan kromatografi lapis tipis bioautografi (KLT-Bioautografi) terhadap empat bakteri pathogen (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853).



Gambar 2. Lumut kerak/ lichen *S. massartianum* Hue (habitat).

Metode Penelitian

Instrumentasi

Beberapa peralatan dan instrumen yang digunakan dalam karakterisasi senyawa hasil isolasi seperti Fisher Melting Point apparatus, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu 1700, spektrofotometer FT-IR Perkin Elmer, ^1H - dan ^{13}C -NMR spektra dengan frekuensi 500 and 125 MHz (Jeol 500 MHz NMR spectrometer) menggunakan pelarut DMSO- d_6 . Pompa *Flash Chromatography* Büchi Pump B-688, kolom Chromabond *Flash* RS 40 C18 (Macherey Nagel).

Koleksi lichen *S. massartianum*

S. massartianum Hue dikoleksi pada bulan Oktober 2017 di daerah Danau Diatas Solok, Sumatera Barat. Selanjutnya diidentifikasi oleh Dr. Harrie Sipman (Herbarium BGBM, Berlin, Jerman) dan *voucher specimen* disimpan di Laboratorium Biota Sumatera Universitas Andalas dengan nomor koleksi SDA_Fis-015.

Pelarut dan regensia

Beberapa pelarut yang digunakan seperti *n*-heksan (Bratachem, Indonesia), etil asetat (Bratachem, Indonesia) metanol (Bratachem, Indonesia), media Nutrient Agar (NA) (Merck, Jerman), Mueller-Hinton Agar (MHA) (Oxoid), dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck, Jerman), air suling, natrium klorida, kloramfenikol (Merck, Jerman).

Ekstraksi dan isolasi lichen *S. massartianum*

S. massartianum yang dikoleksi dibersihkan dan dikering anginkan selama seminggu, kemudian dihaluskan menggunakan grinder. Serbuk lichen (3 kg) diekstraksi dengan cara maserasi bertingkat selama 3 hari menggunakan 4 L pelarut yang dimulai dengan pelarut nonpolar (*n*-heksan), dilanjutkan dengan semi polar (etil asetat), dan terakhir dengan pelarut polar (metanol).

Masing-masing ekstrak lalu diuapkan pelarutnya dengan secara *in vacuo* sehingga didapatkan ekstrak kental. Profil metabolit dari masing-masing ekstrak dimonitor dengan menggunakan KLT dengan eluen standard lichen seperti toluen-etil asetat-asam format (70:25:5, eluen G) dan dicek di bawah lampu UV 254 dan 365 nm serta diberi penampakanoda anisaldehyd-asam sulfat (ANS) [22].

Proses isolasi masing-masing senyawa dilakukan dengan metode kromatografi dan rekristalisasi. Pada proses penguapan maserat etil asetat terbentuk endapan yang kemudian disaring dan dipisahkan. Hasil endapan ini direkristalisasi dengan etil asetat : aseton sehingga mendapatkan senyawa 2 dengan berat 13,79 g.

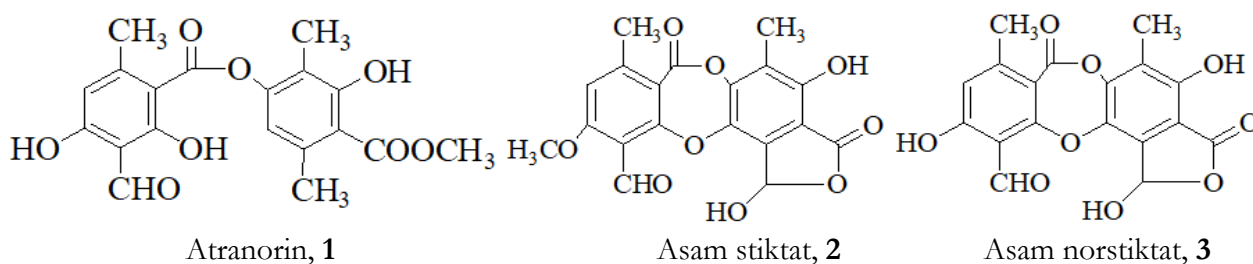
Ekstrak kering etil asetat sebanyak 10 gram dipisahkan dengan kromatografi kolom *flash* dengan fasa diam adalah silica gel sebanyak 200 gram. Ekstrak etil asetat yang telah dipre-absorpsi dielusi secara *step gradient polarity* yang dimulai dari *n*-heksan, etil asetat dan methanol dengan rasio yang terukur. Hasilnya diperoleh 7 sub-fraksi dan senyawa 1 didapat dari fraksi awal dalam bentuk kristal jarum sebanyak 114 mg. Kemudian fraksi keempat sebanyak 51,4 mg dipisahkan dengan kromatografi kolom dengan fasa diam adalah C18. Pelarut yang digunakan dimulai dari air : methanol (9:1) sampai metanol 100%. Dari proses ini didapat senyawa 3 sebanyak 8 mg.

Karakterisasi senyawa hasil isolasi

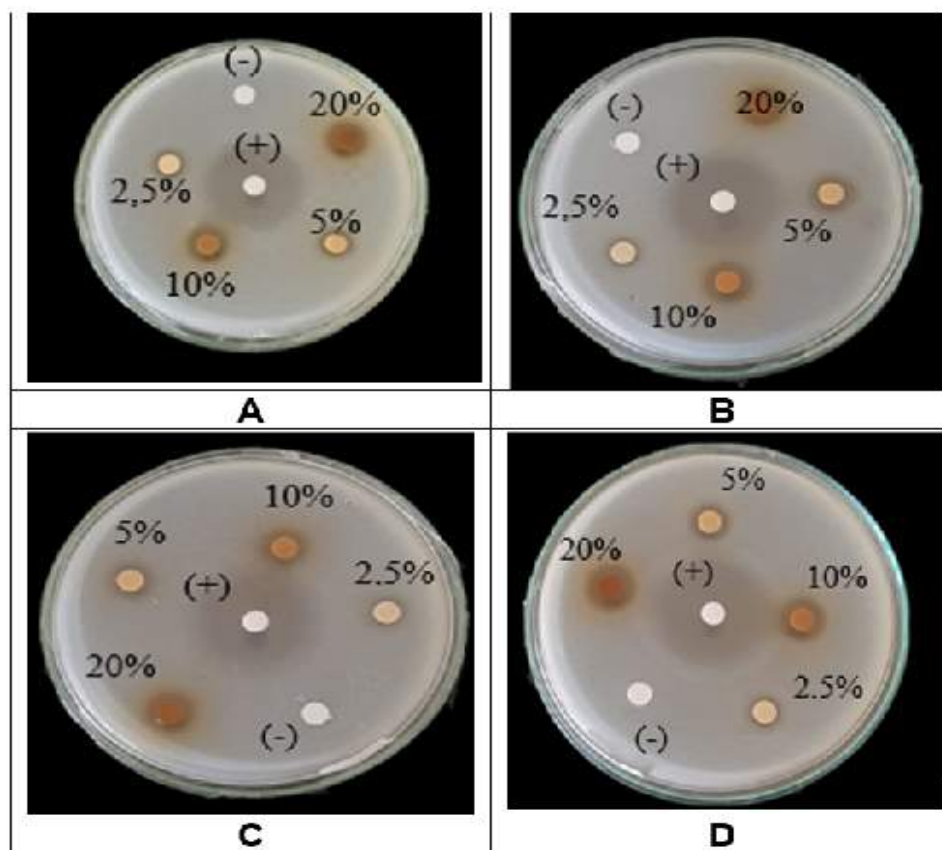
Semua senyawa hasil isolasi dilakukan pemeriksaan seperti pemeriksaan fisikokimia, titik leleh, pola kromatografi, spektrofotometri UV-Vis, spektrofotometri FTIR dan spektrometri ^1H dan ^{13}C -NMR.

Uji antibakteri dengan metoda difusi agar dari ekstrak lichen *S. massartianum*

Pengujian antibakteri dengan metode difusi agar dilakukan pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 20%, 10%, 5% dan 2,5% dalam DMSO. Sampel dipipet sebanyak



Gambar 3. Senyawa-senyawa hasil isolasi dari lichen *S. massartianum*.



Gambar 4. Diameter hambat ekstrak terhadap bakteri (a) *E. coli* ATCC 25922; (b) *E. faecalis* ATCC 12228; (c) *P. aeruginosa* ATCC 27853; dan (d) *S. aureus* ATCC 25923. Keterangan: (+) Kontrol positif kloramfenikol; (-) Kontrol negatif DMSO.

10 µl ke kertas cakram (dia. 6 mm, Macherey Nagel). Lalu cakram diletakkan di permukaan agar yang telah memadat. Inkubasi dilakukan selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pengujian antibakteri dilakukan terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 12228, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, dengan kontrol positif kloramfenikol (30 µg/disk) dan kontrol negatif DMSO. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan.

Uji antibakteri dengan metode KLT-bioautografi dari ekstrak dan senyawa hasil isolasi

Uji aktivitas KLT-bioautografi dilakukan pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 2,5% dan senyawa hasil isolasi dengan konsentrasi 0,2%. Setelah ditotolkan sebanyak 10 µL pada plat KLT lalu dielusi dengan eluen G (toluene-etil asetat-asam format 70 : 25 : 5). Dibuat masing-masingnya sebanyak 4 plat untuk diujikan pada 4 spesies bakteri (*E. coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 12228, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853).

Setelah media memadat, plat KLT yang telah dielusi diletakkan dipermukaan media dan dibiarkan 60 menit

dias media. Setelah itu plat KLT diangkat dan dikeluarkan. Selanjutnya media di inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian agar disemprotkan dengan pewarna INT (iodonitrotetrazolium) hingga merata dan dibiarkan selama 30 menit. Aktivitas antibakteri dinyatakan positif jika terdapat daerah hambatan berupa zona bening pada agar yang berwarna merah [23].

Hasil dan Diskusi

Kelompok lichen *Stereocaulon* umumnya ditemukan pada dataran tinggi, di atas bebatuan yang mengandung silika, terutama pada batuan vulkanik, kaya logam, dan tanah asam [10] seperti halnya *S. massartianum* yang dikoleksi di daerah bebatuan Danau Diatas, Solok Sumatera Barat. Tallus *S. massartianum* disortir, kemudian dikering anginkan. Tiga kilogram tallus *S. massartianum* diekstraksi-maserasi secara bertingkat yang dimulai dari pelarut *n*-heksan, etil asetat, dan metanol. Pemilihan metode ini didasari upaya menghindari proses dekomposisi atau degradasi kelompok senyawa depside (difenil ester) yang selalu terdapat pada

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak etil asetat *S. massartianum*

Bakteri Uji	Diameter hambat (mm ± SD)					Kontrol (-) (DMSO)
	Ekstrak 20%	Ekstrak 10%	Ekstrak 5%	Ekstrak 2,5%	Kontrol (+) (Kloramfenikol)	
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10,3 ± 0,2	9,3 ± 0,173	7,57 ± 0,208	7 ± 0,1	22,3 ± 0,2	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 12228	11,33 ± 0,115	10,27 ± 0,058	8,87 ± 0,058	7,23 ± 0,153	22,73 ± 0,058	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	11,33 ± 0,115	10,33 ± 0,153	8,93 ± 0,153	8,07 ± 0,208	22,73 ± 0,058	-
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	11,07 ± 0,208	9,57 ± 0,153	8,23 ± 0,351	7,17 ± 0,153	21,6 ± 0,173	-

genus *Stereocaulon* [24,25] terutama reaksi dengan pelarut alkohol [26,27]. Hasil ekstrak yang didapat yaitu ekstrak *n*-heksan sebanyak 5 g dengan rendemen 0,16%, ekstrak etil asetat sebanyak 31 g dengan rendemen 1,03%, ekstrak metanol 29 g dengan rendemen 0,96%. Selanjutnya dilakukan proses isolasi dengan metode kromatografi dan kristalisasi sehingga didapatkan tiga senyawa yaitu senyawa 1, 2, dan 3. Selanjutnya data fisikokimia dan struktur kimia (Gambar 3) dari senyawa-senyawa hasil isolasi ekstrak etil asetat.

Atranorin (1); Kristal jarum tidak berwarna (EtOAc); titik leleh (TL) 196-197°C; IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 2933, 2360, 1654; UV (Acetonitrile) $\lambda_{\max}$ (log ϵ): 215 nm (4.2), 251 nm (4.4); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ H(ppm) 2.04 (s, 3H Me-8'), 2.32 (s, 3H, CH₃-9'), 2.29 (s, 3H, CH₃-9), 3.89 (s, 3H, COOMe), 6.51 (s, ¹H, H-5'), 6.68 (s, ¹H, H-5), 10.33 (s, ¹H, -CHO) and 10.52 (s, ¹H, OH); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆): δ C(ppm) 106.95 (C-1), 163.63 (C-2), 109.08 (C-3), 161.71 (C-4), 115.50 (C-5), 151.55 (C-6), 165.66 (C-7), 194.03 (C-8), 21.17 (C-9), 116.33 (C-1'), 157.13 (C-2'), 110.90 (C-3'), 149.23 (C-4'), 115.93 (C-5'), 136.83 (C-6'), 169.73 (C-7'), 21.26 (C-8'), 9.43 (C-9'). Rf 0.86 dengan toluene-EtOAc-formic acid (70:25:5) (eluent G).

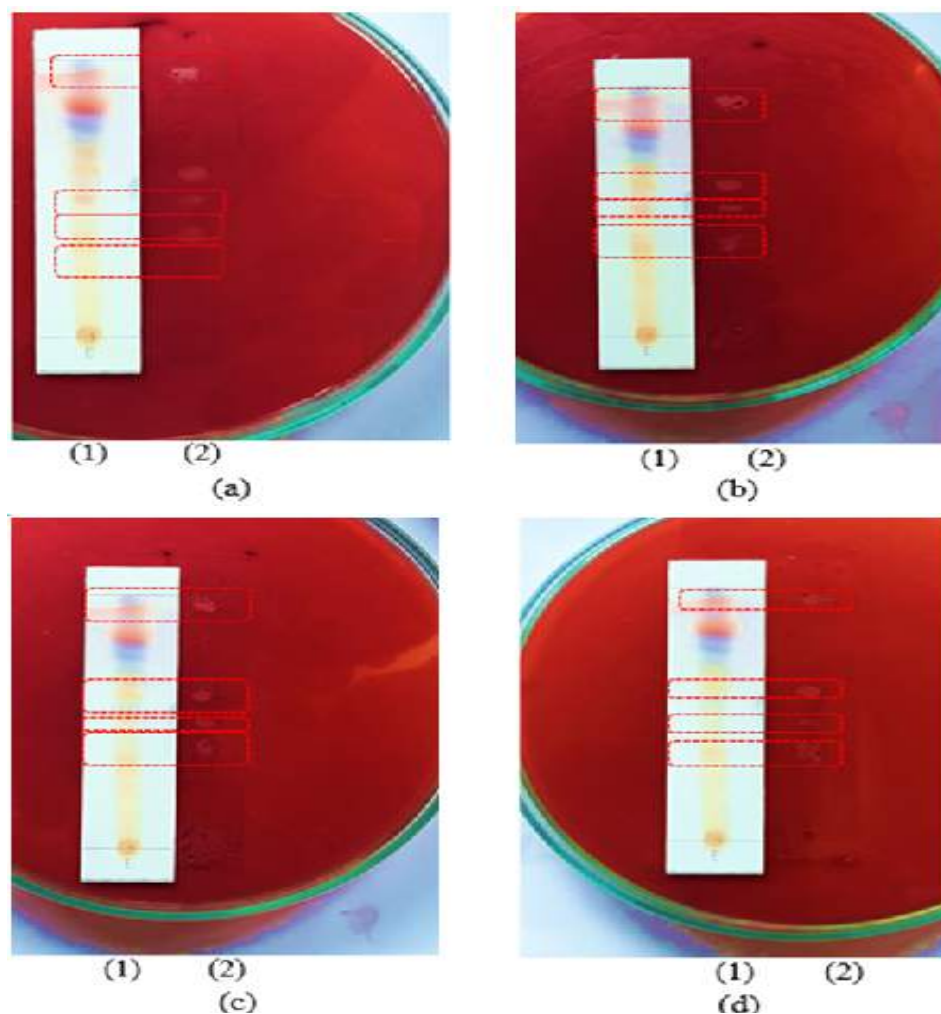
Asam stiktat (2); amorf berwarna putih; IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3421.47, 2906.22, 1918, 1692.95; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ): 242.8 nm (3.85) dan 309.4 nm (3.27); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ H (ppm) 2.22 (s, 3H, CH₃-8'), 2.58 (s, ¹H, CH₃-9) 3.89 (s, 3H, -OCH₃-4), 6.72 (s, ¹H, H-9'), 7.10 (s, ¹H, H-5), 8.27 (s, ¹H, OH), 10.14 (s, ¹H, CHO-8); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ C(ppm) 113.25 (C-1), 163.34 (C-2), 114.53 (C-3), 162.65 (C-4), 112.97 (C-5), 151.18 (C-6), 161.00 (C-7), 186.93 (C-8), 21.72 (C-9), 109.30 (C-1'), 152.00 (-), 129.43 (C-3'), 148.10 (C-4'), 137.66 (C-5'), 135.91 (C-6'), 166.52 (C-7'), 9.83 (C-8'), 95.41 (C-9'), 56.95 (OCH₃-4). Rf 0.30 dengan toluene-EtOAc-formic acid (70:25:5) (eluent G).

Asam norstiktat (3); amorf berwarna putih; IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): 3475.57, 3383.69, 1735.48, 1633.67; UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ): 203.60 nm (4.63), 233.60 nm (4.36) dan 315.80 nm (3.69); ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ H (ppm) 2.20 (s, 3H, CH₃-8'), 2.48 (s, ¹H, CH₃-9) 12.10 (s, OH-4), 6.79 (s, ¹H, H-9'), 6.88 (s, ¹H, H-5), 10.50 (s, ¹H, OH); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ C(ppm) 111.6 (C-1), 160.3 (C-2), 110.6 (C-3), 163.9 (C-4), 117.3 (C-5), 152.2 (C-6), 163.5 (C-7), 193.6 (C-8), 21.2 (C-9), 109.1 (C-1'), 151.90 (C-2'), 120.9 (C-3'), 147.8 (C-4'), 137.3 (C-5'), 135.8 (C-6'), 166.6 (C-7'), 9.8 (C-8'), 94.6 (C-9'). Rf 0.40 dengan toluene-EtOAc-formic acid (70:25:5) (eluent G).

Kelompok β -orcinol depside atranorin merupakan senyawa yang selalu ditemukan dari genus *Stereocaulon* [10,11]. Sedangkan asam stiktat dan asam norstiktat merupakan senyawa kelompok furano depsidone [3]. *Lichenologist* Man-Rong dalam laporannya memaparkan 3 *chemotypes* *S. massartianum* yaitu tipe pertama mengandung asam stiktat dan norstiktat, yang kedua hanya mengandung asam lobarat dan ketiga mengandung asam lobarat, stiktat, dan norstiktat [28].

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan skrining aktivitas antibakteri dan antimycobacterium dari genus *Stereocaulon* yang dikoleksi di Sumatera Barat [29]. Ekstrak etil asetat *S. massartianum* termasuk salah satu di antara ekstrak yang memiliki potensi sebagai antibakteri maka pada penelitian ini dilakukan pengujian lanjutan dari ekstrak tersebut. Metode difusi agar dipilih karena pengerjaannya sederhana dan pengamatannya yang mudah. Pengujian terhadap 4 bakteri patogen menunjukkan hasil yang signifikan dengan diperoleh diameter zona hambat (Gambar 4) dengan data pengukuran pada Tabel 1, hal ini menandakan bahwa ekstrak etil asetat *S. massartianum* memiliki aktivitas antibakteri.

Penelitian yang dilakukan terhadap ekstrak aseton dari 4 spesies lichen yang dikoleksi di Filipina dilaporkan



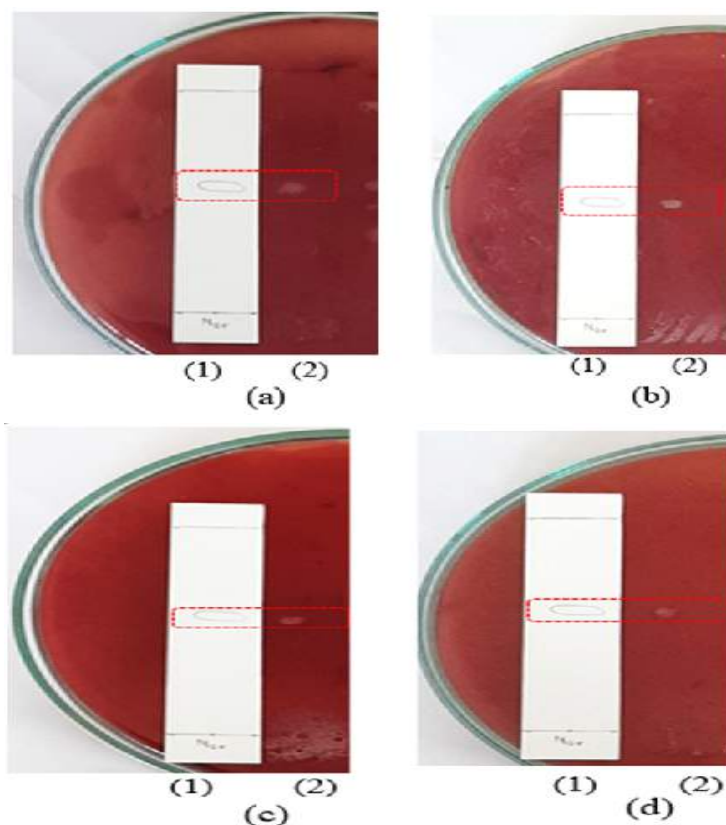
Gambar 5. Uji aktivitas antibakteri ekstrak terhadap bakteri (a) *E. coli* (b) *E. faecalis* (c) *P. aeruginosa* (d) *S. aureus*. Keterangan: (1) Plat KLT ekstrak etil asetat yang dielusi dengan eluen G (toluen : etil asetat : asam format = 70 : 25 : 5) dan diberi penampak noda ANS; (2) Media yang telah kontak dengan KLT ekstrak dan diinkubasi serta telah direaksikan dengan INT.

memiliki aktivitas terhadap *S. aureus* dan *B. subtilis*. Salah satunya adalah lichen *S. massartianum* yang poten menghambat bakteri *B. subtilis* [30].

Uji antibakteri KLT-Bioautografi pada ekstrak dan senyawa hasil isolasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui komponen senyawa apa saja didalam ekstrak yang bertanggung jawab dalam aktivitas antibakteri. Pemilihan metode KLT-Bioautografi karena pengerjaan metode ini sederhana dan pengamatannya yang mudah dan membutuhkan sampel relatif sedikit, aktivitas antibakteri dinyatakan positif jika terdapat daerah hambatan berupa zona bening pada agar [31–33]. Pada pengujian ini menggunakan masing-masing 4 plat KLT untuk diujikan pada 4 spesies bakteri patogen (*E. coli* ATCC 25922, *E. faecalis* ATCC 12228, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853) yang masing-masingnya merupakan perwakilan dari bakteri Gram negatif dan Gram positif.

Hasil uji antibakteri dari ekstrak etil asetat memperlihatkan beberapa spot noda yang memberikan daerah bening dengan arti kata spot tersebut aktif menghambat pertumbuhan dari bakteri uji seperti yang terlihat pada [Gambar 5](#).

Selanjutnya untuk senyawa hasil isolasi hanya dilakukan terhadap senyawa 3 (Asam Norstiktat) karena belum pernah dilakukan uji sebelumnya, sedangkan untuk senyawa 1 (Atranorin) dan senyawa 2 (Asam stiktat) telah dilakukan sebelumnya oleh Arifa pada tahun 2018 yang melaporkan bahwa senyawa atranorin memiliki aktivitas sedang pada konsentrasi hambat minimum (KHM) 0,6% dan 0,3% dan asam stiktat tidak memiliki aktivitas terhadap 5 bakteri patogen (MRSA, *S. aureus*, *S. thyposa*, *E. coli* dan *P. aeruginosa*) [34]. Hasil uji antibakteri senyawa 3 (asam norstiktat) dinyatakan aktif pada semua bakteri uji dengan daerah hambatan zona bening pada agar seperti yang



Gambar 6. Uji aktivitas antibakteri senyawa 3 (asam norstiktat) terhadap bakteri (a) *E. coli* (b) *E. faecalis* (c) *P. aeruginosa* (d) *S. aureus*. Keterangan: (1) Plat KLT senyawa 3 (asam norstiktat) yang dielusi dengan eluen G (toluen : etil asetat : asam format = 70 : 25 : 5) dan dilihat dibawah UV 254 dan ditandai. (2) Media yang telah kontak dengan KLT senyawa 3 (asam norstiktat) dan diinkubasi serta telah direaksikan dengan INT.

terlihat pada [Gambar 6](#). Pengujian antibakteri dari senyawa 3 dengan metode KLT-bioautografi bersifat kualitatif dan sangat membantu dalam mengetahui aktivitas senyawa hasil isolasi dengan jumlah yang relatif sedikit.

Asam Norstiktat yang diisolasi dari ekstrak aseton *Ramalina farinacea* dilaporkan memiliki potensi aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*, *B. subtilis*, *L. monocytogenes*, *P. vulgaris*, *S. aureus*, dan *S. faecalis* [35]. Asam norstiktat merupakan derivat dari asam stiktat dengan substitusi gugus hidroksi dari metoksi. Penambahan hidroksi ini diperkirakan akan meningkatkan aktivitas anti bakteri dari asam norstiktat dibandingkan dengan asam stiktat.

Kesimpulan

Pada penelitian ini, dari ekstrak etil asetat lichen *S. massartianum* didapatkan tiga senyawa hasil isolasi yakni atranorin (1), asam stiktat (2), dan asam norstiktat (3). Pada

pengujian aktivitas antibakteri, ekstrak etil asetat dan asam norstiktat ini memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli* dan *P. aeruginosa* dengan metode KLT-Bioautografi.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini terlaksana atas dukungan dana penelitian yang diberikan oleh DRPM Kemenristek/ BRIN dalam proyek penelitian dasar (PD-Kesehatan) tahun 2020, DRPM Kemenristek/ BRIN dalam proyek penelitian dasar (PD-Kesehatan) tahun 2020, No. 163/SP2H/AMD/LT/DRPM/2020. Ucapan terima kasih kepada Dr. Harrie J.M. Sipman, BGBM Berlin yang telah mengidentifikasi Lichen, dan tim Pusat Penelitian Kimia LIPI, Serpong yang telah membantu pengukuran ^1H dan ^{13}C NMR.

Referensi

- [1] Kirk P, Cannon P, Minter D, Stalpers J, editors. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi. Wallingford: CABI; 2008. 771 p. <https://doi.org/10.1079/9780851998268.0000>
- [2] Lamb I. On the morphology, phylogeny, and taxonomy of the lichen genus *Stereocaulon*. Can J Bot. 1951;29(27):522–84. <https://doi.org/10.1139/b51-045>
- [3] Ismed F, Lohézic-Le Dévéhat F, Guiller A, Corlay N, Bakhtiar A, Boustie J. Phytochemical review of the lichen genus *Stereocaulon* (Fam. *Stereocaulaceae*) and related pharmacological activities highlighted by a focus on nine species. Phytochem Rev. 2018;17(5):1165–78. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9576-y>
- [4] Nylander J. Synopsis methodica lichenum. Paris; 1860.
- [5] Riddle LW. The North American species of *Stereocaulon*. Bot Gaz. 1910;50(4):285–304. <https://doi.org/10.1086/330363>
- [6] Magnusson A. Studies on boreal *Stereocaula*. K Vet O Vitterh Samh Handl. 1926;30(7):1–89.
- [7] Dodge C. A synopsis of *Stereocaulon* with notes on some exotic species. Ann Cryptog Exot. 1929;2(2):93–153.
- [8] Johnson GT. The Taxonomic Importance and Phylogenetic Significance of the *Cephalodia* of *Stereocaulon*. Ann Missouri Bot Gard. 1938;25(3):729–68. <https://doi.org/10.2307/2394275>
- [9] Duvigneaud P. Les *Stereocaulons* des hautes montagnes du Kivu. Rev Bot. 1955;14:1–141.
- [10] Lamb M. A conspectus of the lichen genus *Stereocaulon* (SCHREB.) HOFFM. J Hattori Bot Lab. 1977;43:191–355.
- [11] Lamb M. Keys to the species of the lichen genus *Stereocaulon* (SCHREB.) HOFFM. J Hattori Bot Lab. 1978;44:209–50.
- [12] Boekhout T. Studies on Colombia cryptogams XVIII. the genus *Stereocaulon* (SCHREBER)HOFFMAN (Lichenes). J Hattori Bot Lab. 1982;53:483–511.
- [13] McCarthy P. Checklist of the lichens of Australia and its island territories [Internet]. Aust Biol Resour Study. 2012. Available from: <http://www.anbg.gov.au/abrs/lichenlist/introduction.html>
- [14] Duvigneaud P. Contribution à l'étude systématique et chimique du genre *Stereocaulon*. Biol Jaarb "Dodona". 1942;25:80–98.
- [15] Ismed F. Phytochimie de lichens du genre *Stereocaulon* : étude particulière de *S. Halei* Lamb et *S. montagneanum* Lamb, deux lichens recoltés en Indonésie [Internet]. Université de Rennes 1; 2012. Available from: <http://www.theses.fr/2012REN1S053>
- [16] Vu TH. Etude des acides gras du genre *Stereocaulon* etude phytochimique du lichen *S. evolutum* Graewe. Université de Rennes1; 2014.
- [17] Ismed F, Farhan A, Bakhtiar A, Zaini E, Nugraha YP, Dwichandra Putra O, et al. Crystal structure of olivetolic acid: a natural product from *Cetrelia sanguinea* (Schaer.). Acta Crystallogr Sect E Crystallogr Commun. 2016;72(11):1587–9. <https://doi.org/10.1107/S2056989016016273>
- [18] Zaini E, Khairun Nisak R, Dwi Utami R, Fitriani L, Ismed F. Effect of Milling on Physicochemical Properties of Usnic Acid Isolated from *Usnea* sp. Orient J Chem. 2017;33(6):3031–6. <https://doi.org/10.13005/ojc/330641>
- [19] Ismed F, Lohézic-Le Dévéhat F, Delalande O, Sinbandhit S, Bakhtiar A, Boustie J. Lobarin from the Sumatran lichen, *Stereocaulon halei*. Fitoterapia. 2012;83(8). <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.09.025>
- [20] Ismed F, Dévéhat FL-L, Rouaud I, Ferron S, Bakhtiar A, Boustie J. NMR reassignment of stictic acid isolated from a Sumatran lichen *Stereocaulon montagneanum* (*Stereocaulaceae*) with superoxide anion scavenging activities. Z Naturforsch C Bio Sci. 2017;72(1–2). <https://doi.org/10.1515/znc-2016-0148>
- [21] Ismed F, Arifa N, Zaini E, Bakhtiar A, Umeda D, Putra OD, et al. Ethyl Haematommate from *Stereocaulon graminosum* Schaer.: Isolation and Crystal Structure. Nat Prod Sci. 2018;24(2):115. <https://doi.org/10.20307/nps.2018.24.2.115>
- [22] Huneck S, Yoshimura I. Identification of lichen substances [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 1996. 493 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-85243-5>
- [23] Dewanjee S, Gangopadhyay M, Bhattacharya N, Khanra R, Dua TK. Bioautography and its scope in the field of natural product chemistry. J Pharm Anal. 2015;5(2):75–84. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2014.06.002>
- [24] Hylands PJ, Ingolfssdottir K. The isolation of methyl β -orsellinate from *Stereocaulon alpinum* and comments on the isolation of 4,6-dihydroxy-2-methoxy-3-methylacetophenone from *Stereocaulon* species. Phytochemistry. 1985;24(1):127–9. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80821-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80821-3)
- [25] Huneck S, Schmidt J, Tabacchi R. Thermal decomposition of lichen depsides. Z Naturforsch C Bio Sci. 1989;44(10):1283. <https://doi.org/10.1515/znc-1989-1023>
- [26] Bolognese A, Chioccare F, Scherillo G. Isolation and characterization of atranorin and 4,6 dihydroxy-2-methoxy-3-methylacetophenone from *Stereocaulon vesuvianum*. Phytochemistry. 1974;13(9):1989–90. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9422\(74\)85131-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0031-9422(74)85131-9)
- [27] Bachelor F, Cheriyan U, Wong J. Cleavage of depsides by tert-butyl alcohol. Phytochemistry. 1979;18:487–8. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81895-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81895-6)
- [28] Man-Rong H. Noteworthy species of *Stereocaulon* from China. Mycosystema. 2008;27(1):85–90.
- [29] Putra HE. Analisis Profil Metabolit Sekunder Dan Penetapan Kadar Atranorin Pada Lichen Sumatera Genus *Stereocaulon* Dengan Metode Klt-Densitometri. Universitas Andalas; 2016.
- [30] Santiago K, Borricano J, Canal J, Marcelo D, Perez M, Cruz T. Antibacterial activities of fructose lichens collected from selected sites in Luzon Island, Philippines. Philipp Sci Lett. 2010;3:18–29.
- [31] Jesionek W, Majer-Dziedzic B, Horváth G, Móríc ÁM, Choma IM. Screening of antibacterial compounds in *Salvia officinalis* L. tincture using thin-layer chromatography—direct bioautography and liquid chromatography—tandem mass spectrometry techniques. JPC - J Planar Chromatogr - Mod TLC. 2017;30(5):357–62. <https://doi.org/10.1556/1006.2017.30.5.4>
- [32] Jóźwiak GW, Majer-Dziedzic B, Jesionek W, Zieliński W, Waksmundzka-Hajnos M. Thin-layer chromatography: Direct bioautography as a method of examination of antimicrobial activity of selected *Potentilla* species. J Liq Chromatogr Relat Technol. 2016;39(5–6):281–5. <https://doi.org/10.1080/10826076.2016.1163466>
- [33] Botz L. BIOASSAYS | Bioautography. In: Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. Elsevier; 2013. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.00035-4>
- [34] Arifa N. Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Metabolit Sekunder dari Lichen Sumatera *Stereocaulon graminosum* serta Pengujian Aktivitas Antibakteri. Universitas Andalas; 2018.
- [35] Tay T, Türk AO, Yılmaz M, Türk H, Kivanç M. Evaluation of the Antimicrobial Activity of the Acetone Extract of the Lichen *Ramalina farinacea* and its (+)-Usnic Acid, Norstictic Acid, and Protocetraric Acid Constituents. Zeitschrift für Naturforsch C. 2004;59(5–6):384–8. <https://doi.org/10.1515/znc-2004-5-617>



Copyright © 2020 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)