IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

MIPA

Laporan
Hasil Penelitian Hibah Bersaing
Tahun Anggaran 2012

PRODUKSI SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA PADA *Dumortiera hirsuta* DENGAN BIOTEKNOLOGI KULTUR JARINGAN: IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA PADA LUMUT HATI (*Dumortiera hirsuta*)

Tim Peneliti :

Junairiah, S.Si., M.Kes.
Prof. Sukarti Moeljopawiro, Ph.D
Dr. Endang Semiarti, MS., M.Sc
Dr. Ni'matuzahroh

Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga, sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2012
Nomor: 2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012

UNIVERSITAS AIRLANGGA
2012

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA MIPA

Laporan
Hasil Penelitian Hibah Bersaing
Tahun Anggaran 2012

PRODUKSI SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA PADA *Dumortiera hirsuta* DENGAN BIOTEKNOLOGI KULTUR JARINGAN: IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA PADA LUMUT HATI (*Dumortiera hirsuta*)

Tim Peneliti :

Junairiah, S.Si., M.Kes.
Prof. Sukarti Moeljopawiro, Ph.D
Dr. Endang Semiarti, MS., M.Sc
Dr. Ni'matuzahroh

Dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga, sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2012 Nomor: 2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012

UNIVERSITAS AIRLANGGA
2012

HALAMAN PENGESAHAN

1.JUDUL : PRODUKSI SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA PADA *Dumortiera hirsuta* DENGAN BIOTEKNOLOGI KULTUR JARINGAN: IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA PADA LUMUT HATI (*Dumortiera hirsuta*)

2. Ketua Peneliti :

a. Nama Lengkap : Junairiah, S.Si., M.Kes
b. Jenis Kelamin : Perempuan
c. NIP : 19710714 200212 2 002
d. Jabatan Fungsional : Lektor
e. Jabatan Struktural : -
f. Bidang Keahlian : Botani
g. Fakultas/Jurusan/Puslit : Sains dan Teknologi/ Biologi
h. Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Tim Peneliti

NO	NAMA PENELITI	BIDANG KEAHLIAN	FAKULTAS/JURUSAN	PERGURUAN TINGGI
1.	Prof. Sukarti Moeljopawiro, Ph. D	Biokimia	Fakultas Biologi	Universitas Gadjah Mada
2.	Dr. Endang Semiarti, MS., M.Sc	Kultur Jaringan Tumbuhan	Fakultas Biologi	Universitas Gadjah Mada
3.	Dr. Ni'matuzahroh	Mikrobiologi	Fakultas Sains dan Teknologi / Biologi	Universitas Airlangga

3. Pendanaan dan jangka waktu penelitian
a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 3 tahun
b. Biaya yang diusulkan : Rp. 50.000.000,-
c. Biaya yang disetujui tahun III : Rp. 35.000.000,-

Surabaya, 31 Oktober 2012
Ketua Peneliti

Mengetahui
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Airlangga

Prof. Win Darmanto, MS., Ph.D
NIP. 19610616198701 1 001

Junairiah, S.Si.,M.Kes
NIP. 19710714 200212 2 002

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat

Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si
NIP. 19590805 198701 1 001

RINGKASAN DAN SUMMARY

PRODUKSI SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA PADA *Dumortiera hirsuta* DENGAN BIOTEKNOLOGI KULTUR JARINGAN: IDENTIFIKASI SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA PADA LUMUT HATI (*Dumortiera hirsuta*)

(Junairiah, Sukarti Moeljopawiro, Endang Semiarti, Ni'matuzahroh)

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab permasalahan 1) bagaimanakah aktivitas antimikroba ekstrak kalus pada lumut hati *D. hirsuta*?, 2) Bagaimanakah mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kalus terhadap mikroba patogen? Tujuan penelitian ini adalah 1) menganalisis aktivitas antimikroba ekstrak kalus, 2) mengungkap mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kalus terhadap mikroba patogen.

Serbuk kalus lumut hati sebanyak satu gram dimaserasi dengan 100 ml kloroform. Maserasi dilakukan sebanyak 3 tahap. Masing-masing tahap selama 24 jam. Untuk mengetahui aktivitas antimikroba tumbuhan lumut digunakan metode cakram kertas. Media yang digunakan dalam uji ini adalah MHA steril. Suspensi mikroba dibuat sesuai dengan standar 0,5 Mc Farland yaitu dengan menentukan kekeruhan suspensi mikroba pada OD 0,1 pada $\lambda_{625\ nm}$ untuk bakteri dan OD 0,1 pada $\lambda_{600\ nm}$ untuk fungi. Sebanyak 1 ml suspensi mikroba uji dimasukkan kedalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan 15 ml media MHA ke dalam cawan tersebut untuk dihomogenkan. Agar dibiarkan dingin dan memadat. Sebanyak 3 buah cakram kertas steril dengan diameter 6 mm dan ketebalan yang sama diletakkan di permukaan agar dengan jarak yang berjauhan dan sama. Pada kertas cakram diinjeksikan 25 µL ekstrak tumbuhan lumut, masing-masing dengan konsentrasi 0 ppm; 100 ppm; 250 ppm; 500 ppm; 750 ppm; 1000 ppm. Penghambatan pertumbuhan ditunjukkan dengan terbentuknya daerah hambatan (*Halo*) jernih di sekitar kertas cakram. Diameter daerah penghambatan diukur dengan jangka sorong (LC = 0,05 mm).

Metode ini diawali dengan membuat suspensi mikroba uji pada air fisiologis sehingga diperoleh OD 0,5 pada $\lambda = 600$. Kisaran konsentrasi zat antimikroba yang akan diujikan harus lebih rapat agar dapat mempertegas nilai MIC. Masing-masing fraksi yang diperoleh diencerkan dengan pelarut yang sesuai, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL dan ditambahkan 1 mL suspensi mikroba uji ke dalamnya. Kultur dihomogenkan dan diinkubasikan selama 24 jam. Aktivitas antibakteri akan terlihat apabila terjadi penurunan kekeruhan dalam kultur tersebut. Aktivitas ini menunjukkan nilai MIC. Sedangkan nilai MBC dapat diketahui setelah kultur yang positif ditumbuhkan pada medium agar dan diinkubasikan selama 24 jam. Apabila tidak ada mikroba yang tumbuh, maka konsentrasi tersebut merupakan nilai MBC.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba ekstrak kalus *D. hirsuta* berbeda-beda tergantung mikroba uji dan konsentrasi ekstrak. Mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kalus terhadap mikroba patogen dengan merusak biomembran mikroba.

ABSTRAK

Lumut hati *Dumortiera hirsuta* memiliki potensi sebagai antimikroba. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak kalus dan mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kalus terhadap mikroba patogen *Staphylocossus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Candida albicans* ATCC 10231. Aktivitas antimikroba diuji dengan metode difusi cakram dan pengenceran dalam tabung. Data diameter zona hambat dan nilai MIC dianalisis secara deskriptif. Ekstrak kalus dianalisis dengan GCMS. Berdasarkan hasil peneltian ekstrak kloroform menunjukkan aktivitas antimikroba yang tinggi terhadap *Candida albicans* dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.* Mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kalus terhadap mikroba patogen adalah dengan merusak biomembran mikroba.

ABSTRACT

The liverwort of *Dumortiera hirsuta* had potency as antimicrobial. The objective of this research were to know inhibitory activity callus extract on *Staphylocossus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Candida albicans* ATCC 10231. The antimicrobial activity of the extracts was assessed by disc diffusion and microdillution methods. Data of diameter inhibition zone, MIC value was analyzed descriptively. Callus extract was analyzed using GCMS. Based on the result of this research, chloroform extract showed that high antimicrobial activity on *Candida albicans* compared with *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli.* Mechanism of antimicrobial activity to damage biomembran.

PRAKATA

Segala puji bagi Allah Subhanahu wa Ta'ala atas segala ijinNya, kami dapat melaksanakan penelitian dan menyusun laporan yang berjudul Produksi Senyawa Bioaktif Antimikroba pada Dumortiera hirsuta dengan Bioteknologi Kultur Jaringan: identifikasi Senyawa Bioaktif Antimikroba pada Lumut Hati (Dumortiera hirsuta). Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih yang tulus kepada:

1. Dr. Djoko Agus Purwanto, M.Si., Apt sebagai ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk melaksanakan penelitian.
2. DIPA/APBN Tahun Anggaran 2012 yang telah memberikan dana kepada kami untuk melaksanakan penelitian dan menyusun laporan penelitian.
3. Prof. Win Darmanto, MSi, Ph.D sebagai Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
4. Dr. Alfiah Hayati sebagai Ketua Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
5. Berbagai pihak yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu, atas kerja samanya kami sampaikan terima kasih

Surabaya, Oktober 2011

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN..... i

A. LAPORAN HASIL PENELITIAN

RINGKASAN DAN SUMMARY..... ii

ABSTRAK..... iii

PRAKATA..... iv

DAFTAR ISI..... v

DAFTAR TABEL..... vi

DAFTAR GAMBAR..... vii

DAFTAR LAMPIRAN..... viii

BAB I. PENDAHULUAN..... 1

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA..... 4

BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN III..... 13

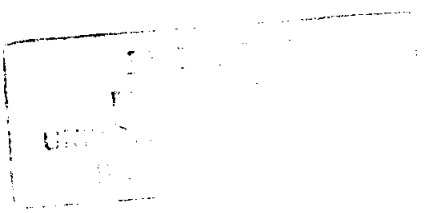
BAB IV. METODE PENELITIAN..... 14

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN..... 19

BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN..... 31

DAFTAR PUSTAKA..... 32

LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1	Hasil Ekstraksi Kalus Lumut *D. hirsuta*.....	19
2	Hasil Analisis GCMS Ekstrak Kalus Lumut Hati *D. hirsuta*	20
3	Diameter Daerah Penghambatan (mm) *S.aureus*, *E. coli* dan *C. albicans* Pada berbagai konsentrasi ekstrak	24
4	Nilai Log TPC (total Plate Count) Kultur Mikroba Uji *E. coli*, *S. aureus*, dan *C. albicans* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak *D .hirsuta*.....	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
1	Histogram Zona Hambat Pertumbuhan *E. coli, S. aureus*, dan *C. albicans* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Kloroform Kalus *D. hirsuta*	25
2	Zona Penghambatan pada *E. coli, S. aureus*, dan *C. albicans*	26
3	Grafik Nilai Log TPC Mikroba Uji *S. aureus*, *E. coli*, dan *C. albicans*	29

DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul
1	Hasil Analisis GCMS

BAB I
PENDAHULAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Akhir-akhir ini terjadi kondisi yang mengkhawatirkan karena meningkatnya penyakit infeksi yang disebabkan oleh mikroorganisme yang resisten terhadap antibiotik. Dengan berkembangnya populasi mikroba yang resisten terhadap antibiotik, menyebabkan zat antimikroba semakin berspektrum sempit sehingga hanya efektif untuk jenis patogen tertentu. (Salvat *et al.*, 2004 dan Bonjar *et al.*, 2004). Selain itu, pada penyembuhan infeksi dengan antibiotik menyebabkan munculnya efek samping pada inang yang meliputi hipersensitivitas, reaksi alergi dan gangguan sistem imun (Schinor *et al.*, 2007).

Saat ini masyarakat ingin kembali menggunakan bahan dari alam *(back to nature)* (Salvat *et al.*, 2004 dan Sukardiman dkk., 2004). Hal tersebut menyebabkan permintaan terhadap bahan-bahan antimikroba alami mengalami kenaikan yang pesat (Basile *et al.*, 1998). Penelitian tentang ekstrak berbagai macam tumbuhan telah banyak dilakukan di negara-negara seperti Cina, India, Jepang dan Eropa untuk menyeleksi aktivitas antimikroba dan menemukan bahan antimikroba baru (Abu Shahab *et al.*, 2004).

Salah satu tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia dan mempunyai aktivitas antimikroba adalah Bryophyta (tumbuhan lumut). Berdasarkan hasil penelusuran pustaka, di Indonesia belum banyak penelitian yang mengungkap tentang potensi tumbuhan lumut sebagai antimikroba. Ekstrak tumbuhan lumut mengandung

bahan aktif isoflavonoid, flavonoid, biflavonoid dan terpenoid yang telah dilaporkan mempunyai aktivitas antimikroba (Saritas *et al.*, 2001 dan Xiao Jian Bo, 2006). Lumut hati merupakan salah satu kelas dari divisi tumbuhan lumut yang memiliki beberapa kandungan bahan aktif yang berpotensi sebagai antimikroba. Flavonoid yang diisolasi dari ekstrak *Marchantia convoluta* mempunyai kemampuan menghambat *Staphylococcus aureus, Bacillus enteridis, Streptococcus hemolitic type B* dan *Diplococcus pneumoniae* (Xiao Jian Bo, 2006). Lumut hati *Pallavicinia lyelli* mengandung senyawa antifungi steroid yang dapat menghambat pertumbuhan fungi *Aspergillus fumigatus* (Subhisa dan Subramoniam, 2005). *Aierella angusta* mengandung senyawa antifungi *dibenzofuran bis (bibenzil)*, senyawa yang sama juga ditemukan pada lumut hati *Lepidozia incuruata* dari Jerman (Scher *et al.*, 2003 dan Qu *et al.*, 2006).

Dumortiera hirsuta adalah salah satu tumbuhan lumut hati yang tumbuh di hutan Cangar Batu. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak kasar *Dumortiera hirsuta* dalam aseton dan metanol air memiliki aktivitas penghambatan sebagai antibakteri dan antifungi (Junairiah dkk, 2007). Namun, sejauh ini belum diketahui kandungan bahan aktif dan dalam fraksi apa ekstrak menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih tinggi sebagai antibakteri dan antifungi. Kajian tentang senyawa aktif antimikroba dalam *Dumortiera hirsuta* juga belum banyak dilakukan. Sehingga, penelitian yang mengungkap potensi *Dumortiera hirsuta* sebagai sumber bahan antimikroba dan upaya perbanyakannya penting untuk dikembangkan.

1.2 Rumusan Permasalahan

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah aktivitas antimikroba ekstrak kalus lumut hati *D. hirsuta*?
2. Bagaimanakah mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kalus terhadap mikroba patogen?

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Tinjauan Umum Lumut Hati

Berdasarkan perbedaan morfologi anatomi gametofitnya, para ahli botani membagi lumut menjadi tiga kelas yaitu Hepaticopsida (lumut hati), Anthocerotopsida (lumut tanduk), dan Bryopsida (lumut daun). Lumut hati merupakan kelas yang mempunyai tingkat perkembangan paling tinggi dibandingkan dua kelas lumut lainnya serta memiliki jumlah jenis terbesar (Stern, 2003).

Hepaticopsida adalah lumut hati, disebut demikian karena gametofit pada beberapa genus bentuk luarnya seperti hati. *Rhizoid* lumut hati berupa sel tunggal (uniseluler). *Rhizoid* berfungsi sebagai alat penghisap zat makanan, sekat melintang *rhizoid* tidak sempurna dan tidak bercabang. Gametofit umumnya berkembang secara langsung dari spora. Sporofit lumut hati umumnya kurang begitu kompleks dibandingkan lumut sejati. Pada kapsul sporogonium ada atau tidak mempunyai benang-benang elatera yang berfungsi mengeluarkan spora dan kapsul mempunyai mekanisme pelepasan spora yang sangat berbeda.

Gametofit lumut hati berwarna hijau memipih dan tubuhnya dorsiventral yaitu tubuh bagian atas atau dorsal berbeda dengan bagian bawah atau ventral. Berdasarkan bentuk talusnya, lumut hati dibagi menjadi dua kelompok yaitu lumut hati bertalus dan lumut hati berdaun. Anggota kelas Hepaticopsida yang sering dijumpai adalah *Riccia, Marchantia*, dan *Dumortiera* yang semuanya bertalus,

sedangkan yang berdaun adalah *Jungermania*, *Leucolejeuna*, dan *Scapania* (Tjitrosoepomo, 2003; Yudianto, 1992 ; dan Tjondronegoro, 1989).

2.2 Karakteristik dan Klasifikasi *Dumortiera hirsuta*

Dumortiera hirsuta merupakan tumbuhan taloid, tebal talus lebih dari satu sel. Sel-sel dengan banyak kloroplast kecil, permukaan talus tanpa porus dan tidak reticulate, tidak mempunyai ruang udara, mempunyai *rhizoid papillose,* lebar talus 1-3 cm, dan biasanya dengan sebuah midrib sempit, sprofit diatas reseptakel bertangkai (Sujadmiko, 1999).

Dumortiera hirsuta merupakan salah satu lumut hati dari famili *Marchantiaceae* , oleh karena itu kekerabatannya sangat dekat dengan lumut hati dari jenis Marchantia. Adapaun klasifikasi *Dumortiera hirsuta* menurut Tjitrosoepomo (2005) adalah sebagai berikut :

Regnum	: Plantae
Divisi	: Bryophyta
Kelas	: Hepaticopsida
Ordo	: Marchantiales
Famili	: Marchantiaceae
Genus	: *Dumortiera*
Spesies	: *Dumortiera hirsuta*

2.3 Kandungan dan Fungsi Bahan Aktif Bryophyta

Bryophyta mengandung bahan aktif flavonoid, isoflavonoid, biflavonoid, flavones apigenin, apigenin-7-O-triglycoside, lucenin-2, luteolin-7-O-neohesperidoside, saponarine, vitexin dan bifianoid bartramiaflavone, 'C-dan O-

Glikosida flavon, O-Glikosida flavanol, O-Glikosida flavanon, O-Glikosida auron, C-Glikosida dihidrokhalkon, O-Glikosida flavonol, Auron, 'C-dan O'-Glikosida flavon, dan 3-Deoksiantosianin (Basile *et al.*, 1999 ; Markham, 1988; Saxena dan Harinder,2004)

Flavonoid terdapat pada tanaman dan mempunyai banyak fungsi, diantaranya menghasilkan warna kuning, merah, dan biru pada bunga, serta untuk proteksi terhadap serangan mikroba dan serangga. Flavonoid mengurangi respons tubuh terhadap alergen, virus, dan karsinogen, sehingga flavonoid menunjukkan aktivitas anti alergi, anti inflamasi, antimikrobial, dan anti kanker. Flavonoid juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, yaitu sebagai proteksi terhadap kerusakan oksidasi dan radikal bebas. Selain bahan-bahan aktif yang disebutkan di atas, Bryophyta juga mengandung terpenoid, fenolik, dan bahan-bahan yang mudah menguap yang mempunyai kemampuan sebagai antimikroba.

2.4 Manfaat Bryophyta

Manfaat Bryophyta sebagai tumbuhan obat di Cina, Eropa, dan Amerika Utara telah tercatat dalam literatur. Di Cina, beberapa spesies dari *Fissidens* dan *Polytrichum* digunakan sebagai diuretik dan obat untuk menstimulasi pertumbuhan rambut. Orang Indian di Amerika Utara menggunakan *Bryum, Mnium, Philonotis,* dan *Polytrichum juniperinum* untuk menyembuhkan luka bakar dan memar (Basile *et al.*, 1998). *Rhodobyum giganteum* dapat meningkatkan transfusi darah aorta sampai 30% pada hewan. *Physcomitrela* digunakan untuk menghasilkan faktor IX pembekuan darah untuk penderita hemofili B (Basile *et al.*, 1998).

Telah dilakukan penelitian yang menunjukkan aktivitas ekstrak Bryophyta sebagai antimikroba, di antaranya adalah penelitian yang dilakukan oleh Ilhan *et al.*, (2006) yang menyatakan bahwa eksrak *Palustriella commutata* dalam fraksi aseton dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif (*Klebsiella pneumoniae, Yersinia enterocolitica, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, dan Enterobacter aerogenes*) dan bakteri Gram positif (*Bacillus mycoides, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, dan Micrococcus luteus*). Subhisha dan Subramoniam (2005) melaporkan bahwa ekstrak *Pallavicinia lyellii* mempunyai aktivitas antifungi terhadap *Aspergillus niger, Aspergillus fumigatus, Fusarium oxysporum,* dan *Candida albicans.*

2.5 Tinjauan Antimikroba

Antimikroba adalah bahan kimia alami atau sintetik yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Agen yang dapat membunuh organisme sering disebut agensidal (*cidal agents*) seperti bakterisidal, fungsidal, dan virusidal. Agen yang dapat menghambat pertumbuhan disebut agen statik (*static agents*) seperti bakteri statik, fungi statik, dan virus statik (Madigan *et al.*, 2003). Agen mikroba dapat berupa desinfektan, antiseptik, maupun antibiotik. Senyawa antimikroba dapat menyebabkan kerusakan fisik sel, misalnya lisis yang disebabkan oleh *surface active agents* sehingga mikroba tidak mungkin lagi dapat berkembang biak. Aktivitas mikroba yang dapat diamati secara langsung adalah penghambatan terhadap perkembangbiakan mikroba (Madigan *et al.*, 2003).

Menurut Pelczar dan Chan (1988) banyak faktor dan keadaan dapat mempengaruhi penghambatan atau pembasmian mikroorganisme oleh bahan

antimikroba. Faktor-faktor tersebut antara lain konsentrasi atau intensitas zat antimikroba, jumlah mikroorganisme, suhu, spesies mikroorganisme, adanya bahan organik, dan pH.

Aktivitas antimikroba dapat diketahui dengan melakukan uji skrining antimikroba, antara lain dengan menggunakan metode kertas cakram. Aktivitas antimikroba suatu senyawa terhadap suatu mikroba uji dibuktikan dengan adanya respons penghambatan pertumbuhan mikroba yang ditandai dengan halo (daerah bening di sekitar kertas cakram). Aktivitas antimikroba dapat digunakan untuk menentukan nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) yaitu konsentrasi terendah suatu agen antimikroba yang diperlukan untuk menghambat perkembangan pertumbuhan mikroba secara nyata setelah diinkubasi selama waktu yang dikehendaki; atau nilai MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*); dan MFC (*Minimal Fungicidal Concentration*) untuk mengetahui efek membunuh bakteri atau fungi (Haba *et al.*, 2002; Wistreich, 2003).

2.6 Mekanisme Kerja Antimikroba

Secara umum, serangan suatu bahan antimikroba dapat diduga dengan mengetahui struktur dan komposisi mikroba. Suatu sel hidup yang normal memiliki dinding sel, membran sitoplasma yang tersusun oleh sejumlah besar protein, asam nukleat, dan senyawa lainnya. Kerusakan pada salah satu penyusun sel dapat mengawali terjadinya perubahan yang menuju kematian sel tersebut (Pelczar dan Chan, 1988).

Mekanisme daya kerja antimikroba terhadap sel antara lain dengan merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas membran sel, merusak molekul protein dan

asam nukleat, menghambat aktivitas enzim, dan menghambat sintesa asam nukleat (Pelczar dan Chan, 1988; Muslimin 1995).

2.7 Tinjauan Mikroba Patogen

Mikroba patogen adalah semua mikroba yang dapat menimbulkan penyakit baik pada hewan, manusia dan tumbuhan. Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri, *yeast,* dan kapang. Bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus epidermidis* dan *Escherichia coli.* Untuk golongan *yeast* yang digunakan adalah *Candida albicans.*

2.8 Teknik Pemisahan dan Pemurnian

2.8.1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Penggunaan ekstraksi yang tepat bergantung pada bahan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang diisolasi.

Berdasarkan proses pelaksanaannya, ada 2 macam ekstraksi, yaitu:

1. Ekstraksi berkesinambungan

   Pada ekstraksi ini, pelarut yang sama dipakai secara berulang-ulang sampai proses selesai. Contohnya: sokhlet.

2. Ekstraksi bertahap

   Pada ekstraksi ini, selalu dipakai pelarut baru pada setiap tahapnya sampai proses selesai. Contohnya: maserasi dan perkolasi.

Sedangkan berdasarkan bentuk campuran yang diekstraksi dapat dibedakan menjadi 2 macam, yaitu:

1. Ekstraksi padat-cair

   Merupakan proses ekstraksi yang paling banyak ditemui dalam usaha mengisolasi senyawa berkhasiat yang terkandung dalam bahan alam yang berbentuk padat.

2. Ekstraksi cair-cair

   Merupakan proses ekstraksi yang berdasarkan pada distribusi solut dalam dua macam pelarut yang tidak saling campur sehingga solut akan terbagi dalam kedua macam pelarut tersebut sampai dicapai suatu keadaan yang setimbang (Harborne, 1987).

2.8.2. Kromatografi

Kromatografi merupakan teknik pemisahan suatu campuran zat-zat kimia berdasarkan perbedaan distribusinya dalam fasa gerak (dapat berupa cair maupun gas) dan fasa diam (dapat berupa padat maupun cair). Dengan kromatografi, hampir setiap campuran kimia, mulai dari senyawa dengan berat molekul rendah sampai tinggi, dapat dipisahkan menjadi komponen-komponennya dengan beberapa metode kromatografi (Gritter, 1991).

Ada beberapa macam metode kromatografi, yaitu kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, kromatografi kolom, kromatografi vakum cair, kromatografi kolom cepat, dan sebagainya. Pemisahan dan pemurnian kandungan senyawa dalam tumbuhan dapat dilakukan dengan menggunakan salah satu dari metode kromatografi atau gabungan dari metode tersebut.

2.8.2.1. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis merupakan suatu metode pemisahan senyawa kimia berdasarkan perbedaan adsorbsi oleh fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam yang digunakan berupa lapisan tipis dengan ketebalan 0,1 – 0,25 mm yang terdiri dari bahan padat biasanya berupa selulosa yang disaputkan pada suatu pelat kaca atau penyangga lain yang digunakan untuk kromatografi. Lapisan yang paling banyak digunakan berupa silika gel, tetapi dapat juga dari sephadex, aluminium oksida, magnesium fosfat, damar penukar ion (untuk senyawa terionisasi), kalium hidroksida dan poliamida (Harborne, 1987).

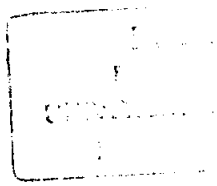
2.8.2.2. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan metode pemisahan dimana ekstrak kasar ditempatkan pada suatu kolom yang berisi fasa diam kemudian dielusi dengan menggunakan eluen yang sesuai. Fasa diam yang digunakan dapat berupa silika gel, sephadex, poliamida (Gritter, 1991). Elusi pada kromatografi ini didasarkan pada peningkatan tingkat kepolaran masing-masing pelarut.

2.9. Kalus

Kalus merupakan massa sel yang tidak terorganisir yang muncul pada permukaan organ atau jaringan yang dilukai. Pembentukan kalus terjadi hampir pada semua jenis tanaman. Dalam kultur kalus diinisiasi dari eksplan yang ditumbuhkan pada media padat di bawah kondisi aseptik. Kalus diinduksi dan dibentuk dari proliferasi sel-sel pada permukaan potongan jaringan eksplan. Tergantung dari spesiesnya, kalus dapat diinisiasi dari berbagai macam jaringan sesuai dengan medium pertumbuhan yang cocok atau sesuai. Atau kecepatan pertumbuhan sel lebih mudah diinduksi dalam beberapa jaringan dari pada yang lain.

Pembentukan dan proliferasi kalus dapat ditingkatkan dengan adanya auksin dan sitokinin yang dapat memacu pembelahan dan elongasi sel (Evans *et al*, 2003). Kalus dapat diinduksi dari spora *Scapania parvitexta* (Tazaki *et al.*, 2002), *Aloina aloides* (Bijelovic *et al.*, 2003), *Pogonatum urnigerum* (Cvetic *et al.*, 2007), dan gametofit *Jungermannia subulata, Lophocolea heterophylla* (Tazaki *et al.*, 2002).



BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN TAHUN KE II

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Menganalisis aktivitas antimikroba ekstrak kalus
2. Mengungkap mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kalus terhadap mikroba patogen.

3.2. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi ilmiah tentang tersedianya sumber antimikroba baru dari lumut hati *Dumortiera hirsuta*
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan derajat kesehatan masyarakat

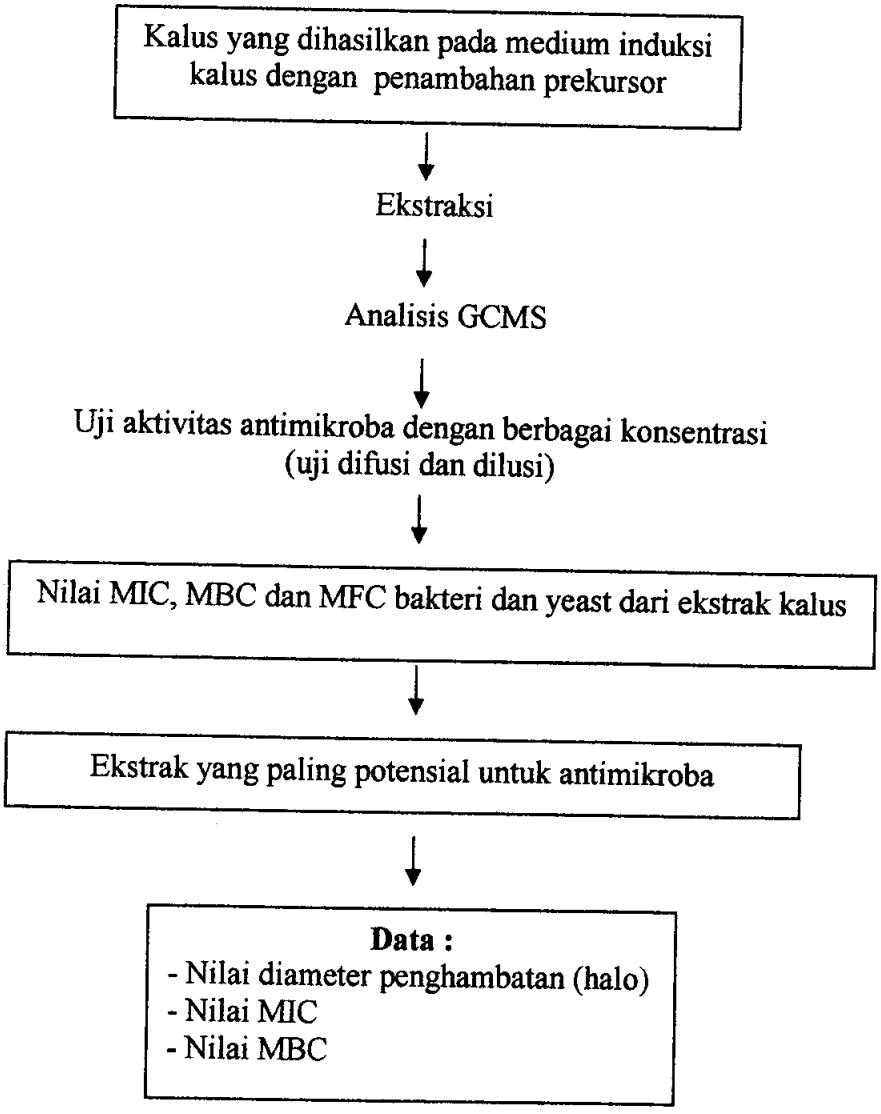
BAB IV

METODE PENELITIAN

Penelitian pada tahun III terdiri atas (1) Ekstraksi dan isolasi senyawa aktif dari kalus *Dumortiera hirsuta* pada medium dengan penambahan prekursor, (2) Uji aktivitas antimikroba dari senyawa aktif hasil isolasi. (3) Mengungkap mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kalus terhadap mikroba patogen.

Bagan Alir Penelitian

Tahun III



Bahan dan Alat Penelitian

A. Bahan

1. Bahan utama yang digunakan adalah Lumut hati *Dumortiera hirsuta* yang diperoleh dari Hutan Cangar Batu Malang.
2. Mikroba uji yang digunakan meliputi *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, dan *Fusarium solanii* yang merupakan koleksi dari laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Unair.
3. Bahan kimia untuk ekstraksi , fraksinasi dan isolasi yaitu kloroform, etil asetat, metanol berderajat pa (pro analisis), akuades, silika gel GF_{254}, silika plate, pereaksi semprot Cerium (IV) sulfat, dan bahan lainnya.
4. Bahan untuk pertumbuhan mikroba uji terdiri atas Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), Saboraud Dextrose Agar (SDA), Potato Dextrose Agar (PDA), Mueller Hinton Agar (MHA), dan Mueller Hinton Broth (MHB).
5. Bahan untuk induksi dan perbanyakan kalus adalah medium Murashige dan Skoog dan zat pengatur tumbuh 2,4 D.

B. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini alat untuk ekstraksi dan uji aktivitas antimikroba, dan induksi kalus. Peralatan untuk ekstraksi terdiri atas alat-alat gelas yang biasa dipakai di laboratorium, tabung soxhet, flakon, eksikator, pipet mikro..

Alat untuk uji aktivitas antimikroba terdiri atas neraca analitik, Erlenmeyer 250 ml, pinset, gelas ukur, gelas beker, gelas pengaduk, spatula, spatula sendok,

spektrofotometer, cawan petri, mikropipet, ose, tabung reaksi, oven, autoklaf, tabung cuvet.

Tahapan Penelitian

A. Pembuatan Ekstrak Kalus Lumut hati *Dumortiera hirsuta*

Serbuk kalus lumut hati sebanyak satu gram dimaserasi dengan 100 ml kloroform. Maserasi dilakukan sebanyak 3 tahap. Masing-masing tahap selama 24 jam.

B. Penentuan Aktivitas Antimikroba

Untuk mengetahui aktivitas antimikroba tumbuhan lumut digunakan metode cakram kertas. Media yang digunakan dalam uji ini adalah MHA steril. Suspensi mikroba dibuat sesuai dengan standar 0,5 Mc Farland yaitu dengan menentukan kekeruhan suspensi mikroba pada OD 0,1 pada $\lambda_{625\ nm}$ untuk bakteri dan OD 0,1 pada $\lambda_{600\ nm}$ untuk fungi. Sebanyak 1 ml suspensi mikroba uji dimasukkan kedalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan 15 ml media MHA ke dalam cawan tersebut untuk dihomogenkan. Agar dibiarkan dingin dan memadat. Sebanyak 3 buah cakram kertas steril dengan diameter 6 mm dan ketebalan yang sama diletakkan di permukaan agar dengan jarak yang berjauhan dan sama. Pada kertas cakram diinjeksikan 25 µL ekstrak tumbuhan lumut, masing-masing dengan konsentrasi 0 ppm; 100 ppm; 250 ppm; 500 ppm; 750 ppm; 1000 ppm. Penghambatan pertumbuhan ditunjukkan dengan terbentuknya daerah hambatan (*Halo*) jernih di sekitar kertas cakram. Diameter daerah penghambatan diukur dengan jangka sorong (LC = 0,05 mm).

C. Metode Pengenceran dalam Tabung *(tube dillution method)*

Metode ini diawali dengan membuat suspensi mikroba uji pada air fisiologis sehingga diperoleh OD 0,5 pada λ = 600. Kisaran konsentrasi zat antimikroba yang akan diujikan harus lebih rapat agar dapat mempertegas nilai MIC (Bailey dan Scott, 1994).

Masing-masing fraksi yang diperoleh diencerkan dengan pelarut yang sesuai, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 1 mL dan ditambahkan 1 mL suspensi mikroba uji ke dalamnya. Kultur dihomogenkan dan diinkubasikan selama 24 jam. Aktivitas antibakteri akan terlihat apabila terjadi penurunan kekeruhan dalam kultur tersebut. Aktivitas ini menunjukkan nilai MIC. Sedangkan nilai MBC dapat diketahui setelah kultur yang positif ditumbuhkan pada medium agar dan diinkubasikan selama 24 jam. Apabila tidak ada mikroba yang tumbuh, maka konsentrasi tersebut merupakan nilai MBC (Bailey dan Scott, 1994).

D. Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris. Untuk penentuan aktivitas antimikroba, masing-masing fraksi diujikan pada 3 mikroba uji. Pengujian dilakukan dengan 6 kali ulangan.

E. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini meliputi :

a. Varibel bebas : ekstrak kloroform kalus dengan konsentrasi masing-masing 0 ppm; 100 ppm; 250 ppm; 500 ppm; 750 ppm; 1000 ppm.

b. Variabel terikat : diameter daerah penghambatan , nilai MIC, nilai MBC/MFC,

F. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa diameter daerah penghambatan, nilai MIC, nilai MBC/MFC dianalisis secara deskriptif.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antimikroba ekstrak kalus dan mengungkap mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kal*us terhadap mikroba patogen Escherichia coli ATCC 25922,* Staphylococcus aureus ATCC 25923, dan *Candida albicans* ATCC 10231 dengan metode difusi dan dilusi. Penelitian terdiri atas tiga tahap yaitu ekstraksi, analisis GCMS, dan uji aktivitas antimikroba. Pengamatan aktivitas antimikroba dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat (halo) untuk uji dilusi dan menghitung jumlah koloni (TPC) untuk mengetahui nilai MIC dan MBC/MFC pada uji dilusi.

5.1. Ekstraksi Kalus

Satu gram serbuk kalus dimaserasi dengan 100 ml kloroform. Kloroform merupakan pelarut non polar yang dapat mengikat senyawa non polar, dengan demikian akan diperoleh senyawa kimia yang bersifat non polar. Dari satu gram serbuk yang dimaserasi dengan 100 ml kloroform diperoleh ekstrak sebanyak 0,01 gram (tabel 5.1).

Tabel 5.1. Hasil ekstraksi kalus lumut hati D. hirsuta

Maserasi	Ekstrak (gram)
I	0,006
II	0.003
III	0,001
Total	0,01

Tabel 5.2. Hasil Analisis GCMS Ekstrak Kalus Lumut Hati D. hirsuta

No	Rt	% Area	Senyawa	Golongan
1	6,99	0,15	Alloaromadendrene	Terpenoid
2	8,55	0,19	1-oxo-4a-carbomrthoxy-1,3,3a,4a-tet	
3	8,74	0,09	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
4	8,85	1,14	Cyclopentane,1-methylene-2-vinyl-$	
5	9,12	0,30	Spiro(cyclopropane 1,6'-(3) oxatricyx	
6	9,32	0,24	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
7	9,50	1,16	Patchoulane$$1H-3a,7-Methanoazule	Terpenoid
8	9,66	3,98	(4z,6E,8E)-4,6,9-undecatrien-2-yne	
9	9,93	0,44	1,4,6-trimethyl-6 ALPHA 7.ALPHA-E	
10	10,09	0,70	(1.alpha.,2.beta, 3.alpha.4.beta.,	
11	10,17	0,53	1S,CIS-Calamenene	Sesquiterpenoid
12	10,26	0,44	2-(4'-nitro-2'thyenyl) pyrimidine $	
13	10,32	0,35	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
14	10,45	0,61	2,3,5,6-Tetramethylidene nor borane$	
15	10,67	7,46	(+) spathulenol	Terpenoid
16	10,74	2,56	(3E,5E,8Z)-3,7,11-trimethyl-1,3,5,8	
17	10,91	0,71	2-Pentadecen-4-yne,(z)-(CAS)	
18	11,01	1,47	1-(1,3-Butadiene-2-yL)cyclopentano	
19	11,19	1,60	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid

20	11,29	1,10	CIS,CIS, TRANS-3,3,6,6,9-Hexamethy	
21	11,42	1,20	1R-(IR@,5s@,6E-10R@)-8-Methylen	
22	11,53	0,73	Valerenol	Sesquiterpenoid
23	11,60	1,35	Patchoulane$$ 1H-3a,7-Methanoazule	Terpenoid
24	11,67	0,76	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
25	11,77	0,97	4-12-Hydroxyethyl)spiro (2.3) Hex-4-	
26	11,87	1,22	4-12-Hydroxyethyl)spiro (2.3) Hex-4-	
27	11,93	1,35	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
28	12,13	1,63	1R-(1R@,2R@,5S@,6E-10R@-8-Methylen	
29	12,22	0,78	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
30	12,33	1,00	4-(3-Methyl-1-(2-methyl-1-propenyl	
31	12,37	1,19	Valerenol	Sesquiterpenoid
32	12,46	2,71	Valerenol	Sesquiterpenoid
33	12,69	2,86	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
34	12,79	2,36	(E)-4-(2-Methyl-4-(2,6,6-trimrthyl)	
35	12,85	3,34	Aromadendrene	Terpenoid
36	13,07	2,10	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
37	13,21	1,89	Propane,1-(2,2-dichloro-1,3,3-trim	
38	13,35	3,06	Neopphytadiene$$2,6,10-Trimethyl	
39	13,47	4,93	Farnesol $$2,6,10-Dodecatrien-1-01	Sesquiterpenoid
40	13,60	2,64	4-(3-Methyl-1-(2-methyl-1-propenyl)	Diterpenoid
41	13,80	3,08	1-Naphthalenepropanol,.alpha-ethe	

42	13,97	1,07	(-)-4-oxo-14-norvitrane$$spiro	
43	14,03	0,57	Bicyclo(8.1.0)undec-3-inez-ol$$B	
44	14,10	14,10	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
45	14,36	7,84	(3R-4S)-3,4-EPOXY-4,7,7,11-TETRAMET	
46	14,53	3,13	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
47	14,96	3,57	Hexadecanoicacid (CAS)$$ Palmitic	
48	15,08	1,91	2H-7-(2'-chloro-1'methylethyl-3,4	
49	15,29	1,26	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
50	15,55	1,92	Costunolide$$ Cyclodeca (b) furan-2	Sesquiterpenoid
51	15,65	1,01	CIS,CIS,TRANS-3,3,6,6,9,9-HEXAMETHY	
52	15,83	2,23	CIS,CIS,TRANS-3,3,6,6,9,9-HEXAMETHY	
53	16,00	0,54	6-(3-tetrahyudropyranyloxy-1-octenyl	
54	16,11	1,03	(E)-3,4-EPOXY-1-(1',2"-epoxy-3',3"-	
55	16,22	0,39	2.2lpha,hydroxy-3-trans,3-methylen	
56	16,37	3,26	Phytol isomer	Diterpenoid
57	16,72	0,45	Z-Citral$$2,6-octadienal 3,7-dim	
58	16,98	0,20	5-Undecyne (CAS)$$5-C11H20	
59	17,24	0,20	Trans-caryophyllene$$ Bicyclo	Sesquiterpenoid
60	17,71	0,29	4-(3-Methyl-1-1-(2-Methyl-1-propenyl)	

Hasil analisis kandungan senyawa (tabel 5.2) menunjukkan bahwa di dalam ekstrak terdapat sejumlah metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang ditemukan

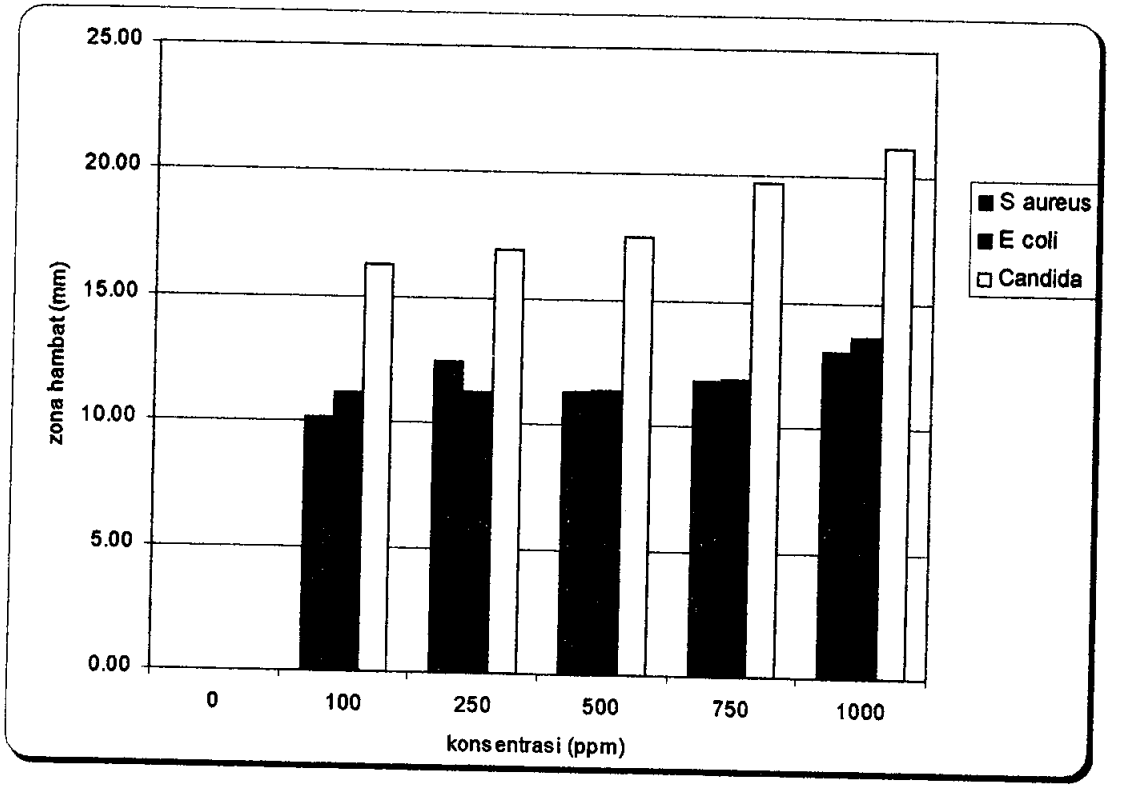
adalah dari golongan terpenoid. Terpenoid merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder tumbuhan yang banyak diteliti untuk pengadaan bahan baku biofarmaka. Adanya metabolit sekunder di dalam ekstrak kalus menunjukkan bahwa kemampuan sel tumbuhan in vitro untuk mensintesis metabolit sekunder disebabkan oleh sifat totipotensi biokimia yang terdapat di dalam sel. Hal ini tergantung pada kondisi kultur, jika sel ditumbuhkan di dalam lingkungan yang sesuai maka mampu untuk mensintesis metabolit sekunder yang disintesis oleh tanaman aslinya (Fowler, 1983 dan Bajaj, 1988).

5.3. Aktivitas Antimikroba dengan Metode Difusi

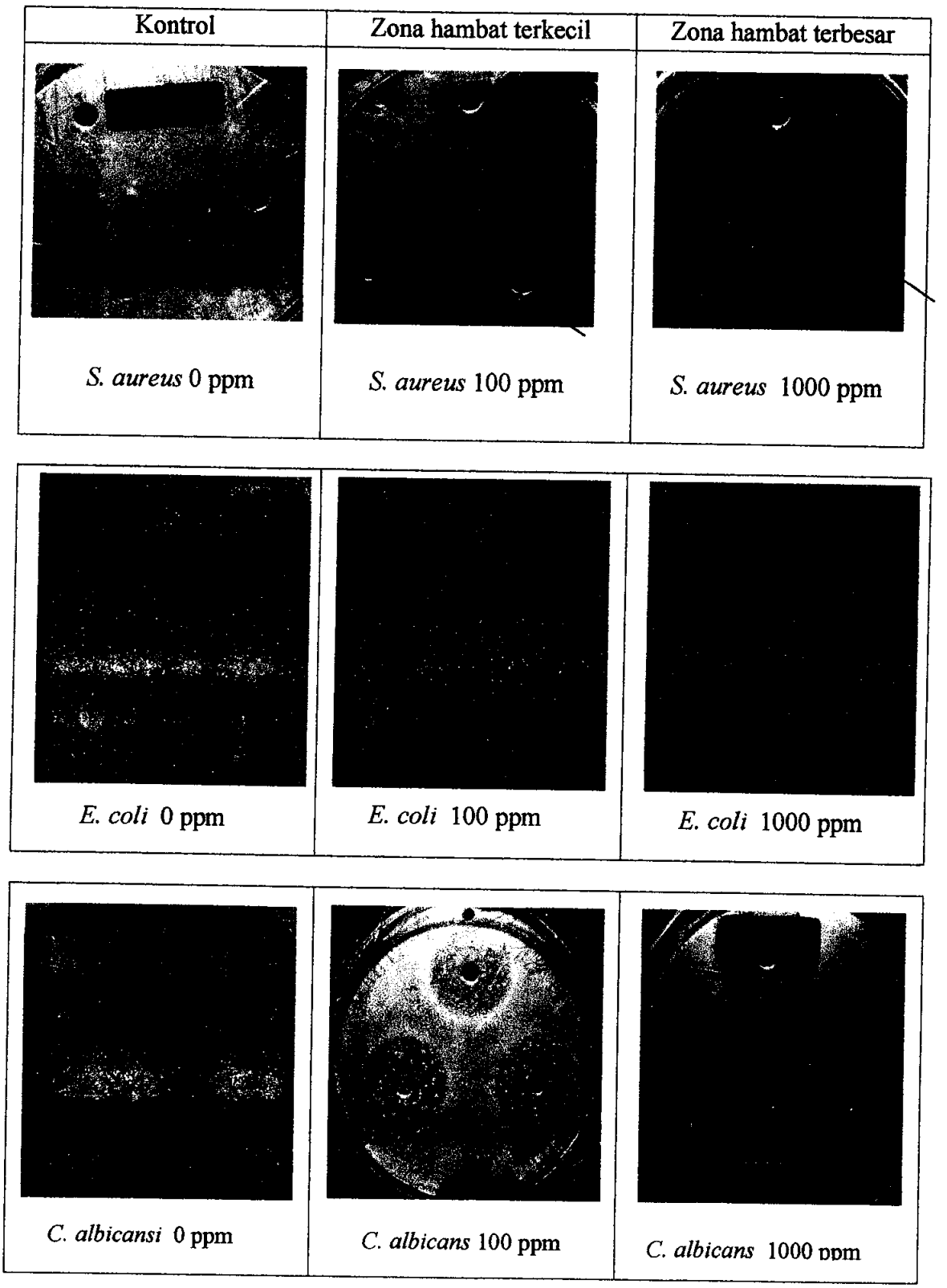
Ekstrak diujikan pada tiga jenis mikroba patogen yaitu *E coli, S. aureus*, dan *C. albicans* dengan menggunakan enam konsentrasi yaitu 0 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Hasil uji difusi ekstrak terdapat pada tabel 5.3 dan gambar 5.1.

Tabel 5.3. Diameter daerah penghambatan (mm) *S. aureus, E. coli,* dan *C. albicans* pada berbagai konsentrasi ekstrak

Mikroba uji	Ulangan	Diameter daerah penghambatan (mm)					
		Konsentrasi (ppm)					
		0	100	250	500	750	1000
S. aureus	1	0	10,2	13,1	11,4	11,0	13,1
	2	0	9,4	11,8	11,7	11,4	13,3
	3	0	9,5	13,5	11,3	12,1	12,4
	4	0	10,2	11,5	11,1	11,8	13,5
	5	0	10,7	12,0	11,5	12,3	13,2
	6	0	10,8	12,8	10,9	12,1	12,9
	Rerata	0	10,13	12,45	11,32	11,78	13,07
	Sd	0	0,59	0,80	0,29	0,50	0,38
E. coli	1	0	11,5	11,5	11,4	10,2	13,8
	2	0	11,1	11,6	11,6	12,8	14,3
	3	0	11,1	10,1	11,8	12,0	14,8
	4	0	10,0	11,6	11,0	12,1	12,2
	5	0	11,5	11,9	10,9	11,9	12,4
	6	0	11,8	10,8	11,4	12,4	14,0
	Rerata	0	11,17	11,25	11,35	11,90	13,58
	Sd	0	0,63	0,67	0,34	0,89	1,05
C. albicans	1	0	15,8	17,1	17,5	19,8	20,9
	2	0	16,6	16,9	17,4	20	21,6
	3	0	16,8	16,5	17,1	19,6	22,2
	4	0	15,9	17	17,8	19,3	22,3
	5	0	16,2	17,2	17,3	19,9	20,1
	6	0	16,5	16,9	18	19,7	20
	Rerata	0	16,30	16,93	17,52	19,72	21,18
	Sd	0	0,40	0,24	0,33	0,25	1,01



Gambar 5.1 Histogram zona hambat pertumbuhan *E. coli, S. aureus* dan *C. albicans* dengan perbagai konsentrasi ekstrak kloroform kalus *D. hirsuta*



Gambar 5.2. Zona penghambatan pada *S. aureus, E. coli,* dan *C. albicans*

Berbagai konsentrasi ekstrak koroform berpengaruh terhadap diameter penghambatan mikroba uji. Secara umum, semakin tinggi konsentrasi, semakin besar pula diameter yang terbentuk. Di antara ketiga mikroba uji penghambatan terbesar terjadi pada *C. albicans.* (tabel 5.3, gambar 5.1, dan 5.2). Ekstrak kloroform *D. hirsuta* mulai menghambat *S. aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi 100 ppm dengan diameter hambat masing- masing sebesar 10,13 mm dan 11,17 mm. Elibol *et al* (2011) melaporkan bahwa ekstrak kloroform *Grimmia anaodon* dan *Bryum capillare* pada konsentrasi 100mg/10 ml menghambat *S. aureus* dengan diameter hambat sebesar 8 mm.

Colak *et al* (2011) melaporkan bahwa ekstrak kloroform *Anomodon viticulosus* pada konsentrasi 100 mg/100 ml menghambat *S. aureus* sebesar 6,5 dan 7,2 mm. Sedangkan ekstrak kloroform *Anomodon viticulosus* dan *Homalothecium sericeum* pada konsentrasi 100mg/100ml menghambat *E. coli* berturut-turut dengan dianeter hambat 7,8 mm, 7,1mm, 7,4 mm, dan 8,2 mm.

Savaroglu *et al* (2011) melaporkan bahwa ekstrak kloroform *Polytrichum juniperum* pada konsentrasi 200mg/ml menghambat *S.aureus* dan *E. coli* dengan daya hambat masing-masing sebesar 10 mm dan 9 mm.

Aktivitas penghambatan terhadap mikroba uji disebabkan oleh adanya kandungan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak. Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan GCMS ekstrak kloroform kalus *D. hirsuta* mengandung senyawa alloaromadendrene, caryophyllene, calamenene, farnesol, dan sebagainya dimana semua senyawa tersebut termasuk dalam golongan senyawa terpenoid. Menurut Jasmine et al (2011) melaporkan bahwa mekanisme bahan aktif terpenoid

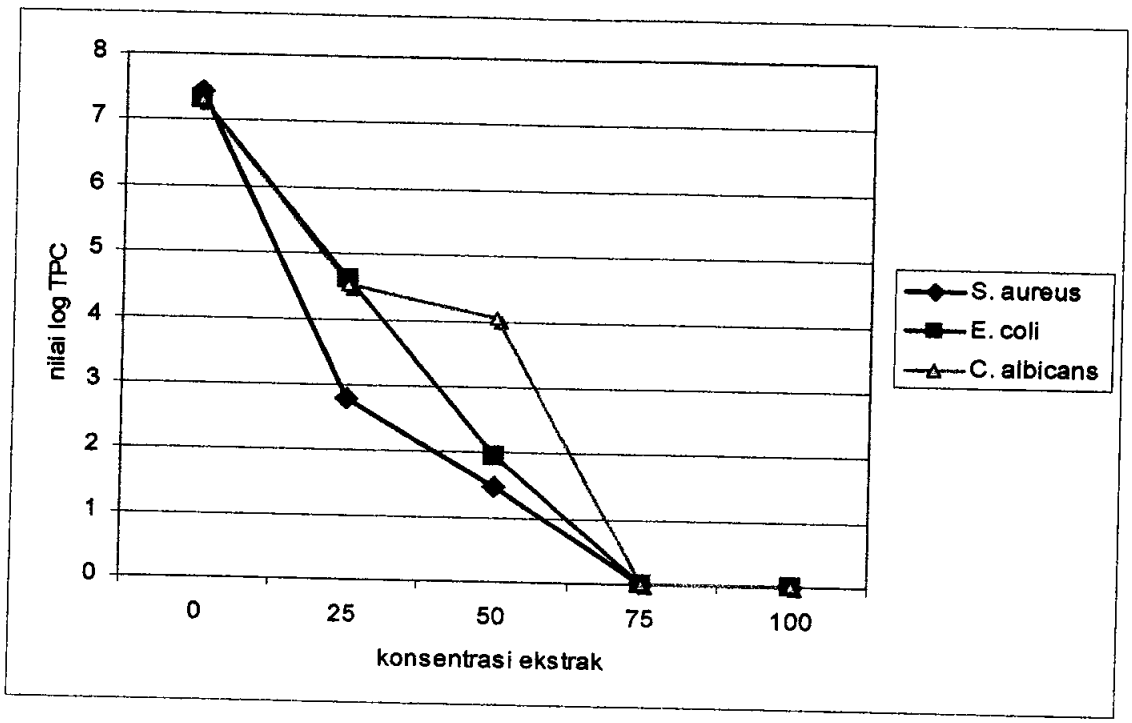
yang terdapat di dalam ekstrak *Elephantopus scraber* terhadap *S. aureus* dengan merusak membran. Tagashi *et al* (2011) melaporkan bahwa mekanisme farnesol (sesquiterpenoid) terhadap *S. aureus* dengan merusak membran sel. Urzua et al (2008) melaporkan bahwa lisisnya bakteri *Bacillus cereus* dan *S. aureus* disebabkan oleh diterpenoid yang masuk dan merusak membran sel lipofilik. Trambetta *et al* (2005) melaporkan bahwa mekanisme kerja monoterpen dengan merusak biomembran.

5.3. Aktivitas Antimikroba dengan Metode Dilusi

Suatu zat antibakteri dan antifungi dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi bila nilai MIC terjadi pada kadar antibiotik yang rendah tetapi mempunyai daya bunuh atau daya hambat yang besar (Wattimena *et al.*, 1991).

Tabel 5.4. Nilai log TPC (Total Plate Count) kultur mikroba uji *E. coli, S. aureus* dan *C. albicans* pada berbagai konsentrasi ekstrak *D. hirsuta*

Konsentrasi	*S. aureus*		*E. coli*		*C. albicans*	
	Nilai TPC	Log TPC	Nilai TPC	Log TPC	Nilai TPC	Log TPC
0	269×10^5	7.429	201×10^5	7.303	198×10^5	7.297
25	6×10^2	2.778	42×10^3	4.623	33×10^3	4.519
50	3×10^1	1.447	9×10^1	1.954	11×10^3	4.041
75	0	-	0	-	0	-
100	0	-	0	-	0	-



Gambar 5.3. Grafik nilai log TPC mikroba uji *S. aureus, E. coli*, dan *C. albicans*

Metode pengenceran dalam tabung dilakukan untuk mengetahui nilai MIC. Pada penelitian ini konsentrasi ekstrak yang diujikan adalah 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, dan 100 ppm. Penentuan nilai MIC diawali dengan pengamatan secara visual, yaitu pada tabung kultur yang terlihat jernih dari deretan tabung uji dilusi dengan konsentrasi yang terendah. Kemudian dilakukan pencawanan untuk mengetahui pertumbuhan mikroba. Namun pada penelitian ini tidak dilakukan pengamatan secara visual karena ekstrak berwarna sehingga sulit membedakan kekeruhan kultur uji yang disebabkan warna ekstrak atau hasil pertumbuhan mikroba uji. Setelah dilakukan pencawanan dilanjutkan dengan penghitungan jumlah koloni sehingga dapat diketahui penurunan jumlah koloni bakteri terhadap kontrol. Hasil uji dilusi dapat dilihat pada tabel 5.4 dan gambar 5.3.

Nilai MIC ketiga mikroba uji adalah 50 ppm sedangkan nilai MBC/MFC adalah 75 ppm. Oconcu *et al* (2010) melaporkan bahwa nilai MIC ekstrak heksan

Tortula muralis, Homalothecium lutescens, Hypnum cupressiforme dan *Pohlia nutans* terhadap *S. aureus* dan *E.coli* berturut-turut adalah < 3250, <1800, <1350, < 2650 µg/ml sedangkan terhadap *C. albicans* berturut-turut adalah 812, 1800, 675, dan 662 µg/ml. Sabovljevic *et al* (2010) melaporkan bahwa nilai MIC dan MBC kultur *in vitro Marchantia polymorpha, Atrichum undulatum,* dan *Physcomitrella patens* terhadap S. aureus adalah 3 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml sedangkan nilai MBC adalah 3 mg/ml.

Sabovljevic *et al* (2010) melaporkan bahwa nilai MIC dan MBC kultur *in vitro Marchantia polymorpha, Atrichum undulatum,* dan *Physcomitrella patens* terhadap *E. coli* adalah 2 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml. Mewari dan Kumar (2008) melaporkan bahwa nilai MIC dan MBC metanol ekstrak *Marchantia polymorpha* terhadap *S. aureus* adalah 0,281 dan 1,125 mg/ml. Guo *et al* (2008) melaporkan bahwa nilai MIC ekstrak eter *Scapania verrucosa* terhadap *C. albicans* adalah 32 µg/ml.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Aktivitas antimikroba ekstrak kalus D. hirsuta berbeda-beda tergantung mikroba uji dan konsentrasi ekstrak
2. Mekanisme penghambatan senyawa antimikroba ekstrak kalus terhadap mikroba patogen dengan merusak biomembran mikroba.

6.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian terhadap mikroba patogen yang lain untuk mengetahui spektrum aktivitas antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

Abu Shahab B, Adwan G, Abu Safiya D *et al.*, 2004. Antibacterial Activities of Some Plant Extracts Utilized in Populer Medicine in Palestine. *Turk J. Biol 28: 99-1.*

Bailey W.R. dan Scott, E.G. 1994. *Diagnostic Microbiology, 4 edition.* The CV Mosby Company, Saint Louis.p: 168-187.

Basile A, Vuotto, M.L, dan Lelpo, M.T. 1998. Antibacterial Activity in *Rhynchostegium riparioides. Phytoter. Res. 12: 146-148.*

Basile A, Giordono, S, Lopez. 1999. Antibacterial Activity of Pure Flavonoids Isolated from Mosses. *Phytochemistry. 52: 1479-1482.*

Bijelovic A and Sabovljevic M. 2003. Callus Induction and Plant Regeneration in The Moss *Aloina aloides* (Schultz) Kindb. (Pottiaceae, Bryopsida). *Arch Biol Sci. Belgrade. 55(3-4):77-80*

Bonjar, G.H.S., Fooladi, M.H., Mahdavi, M.J., dan Shahgahsi, A. 2004. Broad-Spectrum, A Novel Antibacterial from *Streptomyces sp. Biotechnol. Vol 3.Issue.p: 126-130.*

Colak E, Kara R, Ezer T, Celik GY, and Elibol B. 2011. Inverstigation of Antimicrobial Activity of Some TurkishPleurocarpic Mosses. *African Journal of Biotechnology. Vol 10 (60).pp: 12905-12908*

Cvetic T, Sabovljevic A, Sabovljevic M, and Grubisic D. 2007. Development of The Moss *Pogonatum urnigerum* (Hedw.)Beavl Under In Vitro Conditions. Arch *Biol Sci, Belgrade, 59(1).57-61*

Elibol B, Ezer T, Kara R, Celik GY, and Colak E. 2011. Antifungal and Antibacterial Effects of Some Acrocarpic Mosses. *African Journal of Biotechnology. Vol 10 (6). Pp: 086-989*

Evans DE, Coleman JOD and Kearns A. 2003. *Plant Cell Culture.* Bios Scientific Publishers. New York

Guo L, Wu J, Han T, Cao T, Rahman K, and Qin L. 2008. Chemical Composition Antifungal and Antitumor Properties of Ether Extracts of *Scapania verrucosa* Heeg and its Endophytic Fumgus *Chaetomium fusiforme. Molecules 13:2114-2125*

Gritter, R.J., Bobbit, J.M., Schwarting, A.F., 1991, *Pengantar Kromatografi*, Terbitan ke-2, ITB, Bandung

Haba E., Pinazo, A., Jauregui, O. dan Espuny, M.I. 2002. Physicochemical Characterization and Antimicrobial Properties of Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas aeruginosa* . Willey Periodicals Inc, Spain. http;//www google.com/ toxicity assay of *Pseudomonas.*

Harborne, J.B., (diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan Iwoeng Soediro), 1987, *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan kedua, ITB, Bandung

Ilhan S, Savarosgku, Colar F. 2006. Antimicrobial Activity of *Palustriella commutata* (Hedw) Ochyra Extracts (Bryophyta). *Turk J Biol 30: 1-3.*

Jasmine R, Selvakumar BN, and Daisy P. 2011. Investigating the Mechanism of Action of Terpenoids and The Effect of Interfering Substances on an Indian Medicinal Plant Extract Demonstrating Antibacterial Activity. International *Journal of Pharmaceutical Studies and Research. Vol II, Issue II, 19-24.*

Junairiah, Fatimah, dan Ni'matuzahroh. 2007. *Eksplorasi dan Uji Aktivitas Ekstrak Bryophyta (Tumbuhan Lumut) Sebagai Bahan Antimikroba.* Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat Universitas Airlangga. Surabaya

Madigan M, Matinko J.M. dan Parker J. 2003. *Brock Biology of Microorganism.* 9 edition. Southern.

Markham K.M. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid.* Penerbit ITB. Bandung.

Mewari N and Kumar P. 2008. Antimicrobial Activity of Extracts of *Marchantia polymorpha. Pharmaceutical Biology. Vol 46. No. 10-11.pp: 819-822*

Ocuncu O, Cansu TB, Ozdemir T, Alplay Karaoglu, Yatli N. 2010. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the essential oil of Mosses (*Tortula muralis* Hedw., *Homalothecium lutescens* Hedw, *Hypnum cuprressiforme Hedw., and Pohlia nutans* Hedw Lindb from Turkey. *Turkey Chem 34 (2010).pp:825-834*

Pelczar M.J. dan Chan E.C.S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi.* Universitas Indonesia Press. Jakarta

Qu, J., Xie, C., Guo, H., Yu, W., dan Lou, H. 2006. Antifungal Dibenzofuran Bis (Bibenzyl)s from The Liverwort Asterella angusta. *Phytochemistry. Volume 68. Issue 13. p: 1767-1774.*

Sabovljevic A, Sokovic M, Glamodija J, Ciric A, Vujivic M, Pejin B, and Sabovljevic M. 2010. Comparisison of Extract Bioactivities of in situ and in vitro Grown Selected BryophyteSpecies. *African Journal of Microbiology. Vol 4 (9).pp: 808-812*

Savaroglu F, Ilhan S, Iscen CF. 2011. An Evaluation of the Antimicrobial Activity of Some Turkish Mosses. *Journal of Medicinal Plants Research. Vol 5 (14).pp: 3286-3292*

Saxena D.K. and Harinder. 2004. *Uses of Bryophyta.* Department of Botany Bareilly Collage. India

Salvat A, Antonacci L, Fortunato R.H. 2004. Antimicrobial Activity in methanolic extracts of several Plant species from northern Argentina. *Phytomedicine 11: 230-234.*

Saritas Y, Sonwa M.M., Iznaguen H. 2001. Volatile Constituen Mosses (Musci). *Phytochmistry 57: 443.*

Scher, J.M, Zapp, J., Schmidt, A., dan Becker, H. 2003. Bazzanius L-R, Chlorinated Macrocyclic Bisbibenzyls from The Liverwort Lepidozia incurvata. *Phytochemistry. Volume 64. Issue 3. p: 791-796.*

Schinor, E.C., Salvador, M.J., Ito, I.Y., and Dias, D.A. 2007. Evaluation of The Antimicrobial of Crude Extracts and Isolated Constituens from Chresta scapigera. *Brazilian Journal of Microbiology. Vo. 38. p: 145-149*

Stern. 2003. *Introductory Plant Biology.* Mc Graw Hill Companies.

Subhisha, S. and Subramoniam A. 2005. Antifungal Activities of A Steroid from Pallavicinia lyellii, A Liverwort. *Indian Journal of Pharmacology. Vol. 37. Num. 5. p: 304-308*

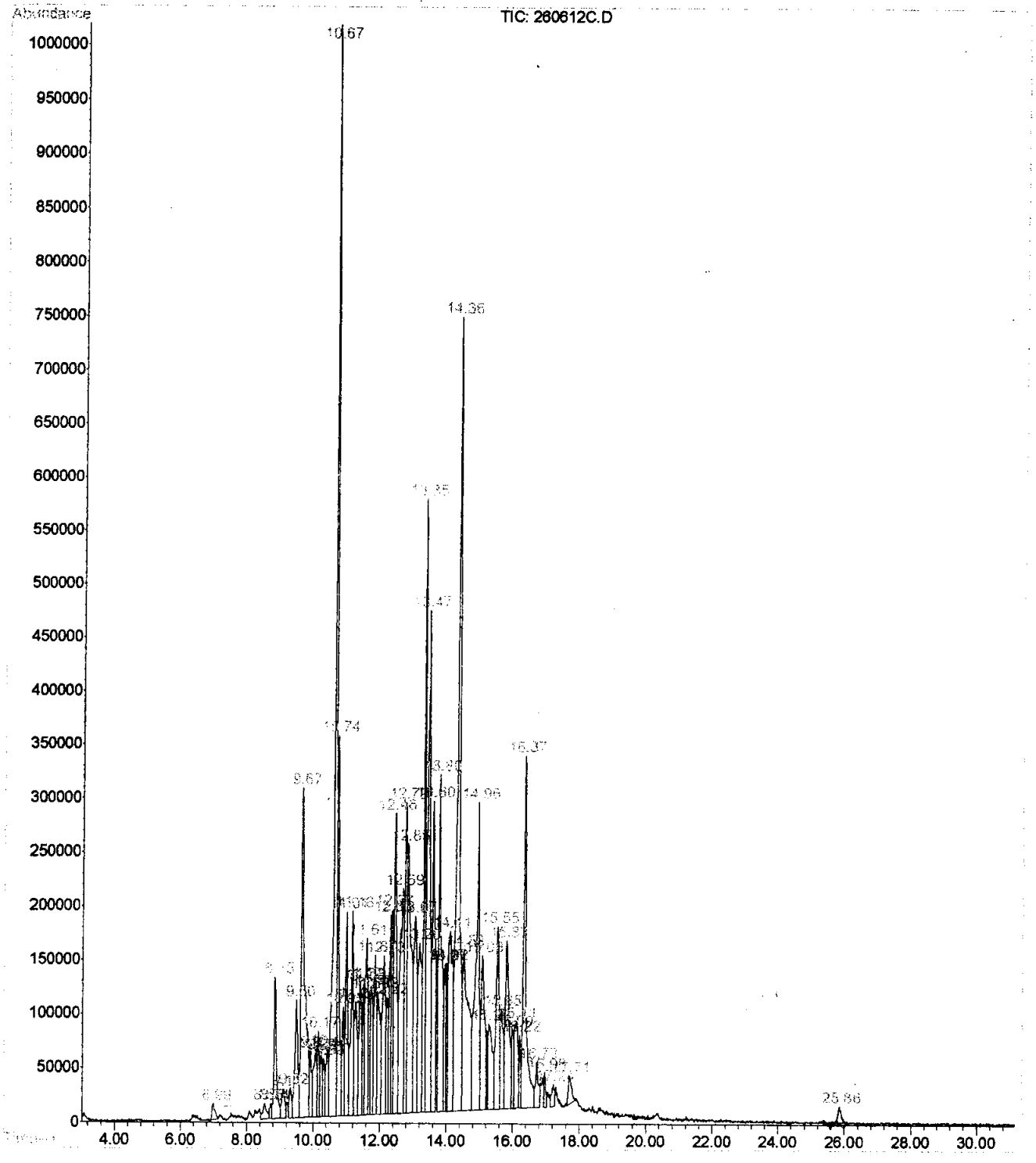
Sujadmiko, H. 1999. *Bryologi.* UGM. Yogyakarta.

Tagashi N, Inoue Y, Hamashima H, and Takano A. 2008. Effects of Two Terpene alcohol on the Antibacterial Activity and the Mode of Farnesol against Staphylococcus aureus. *Molecules 13: 3069-3076*

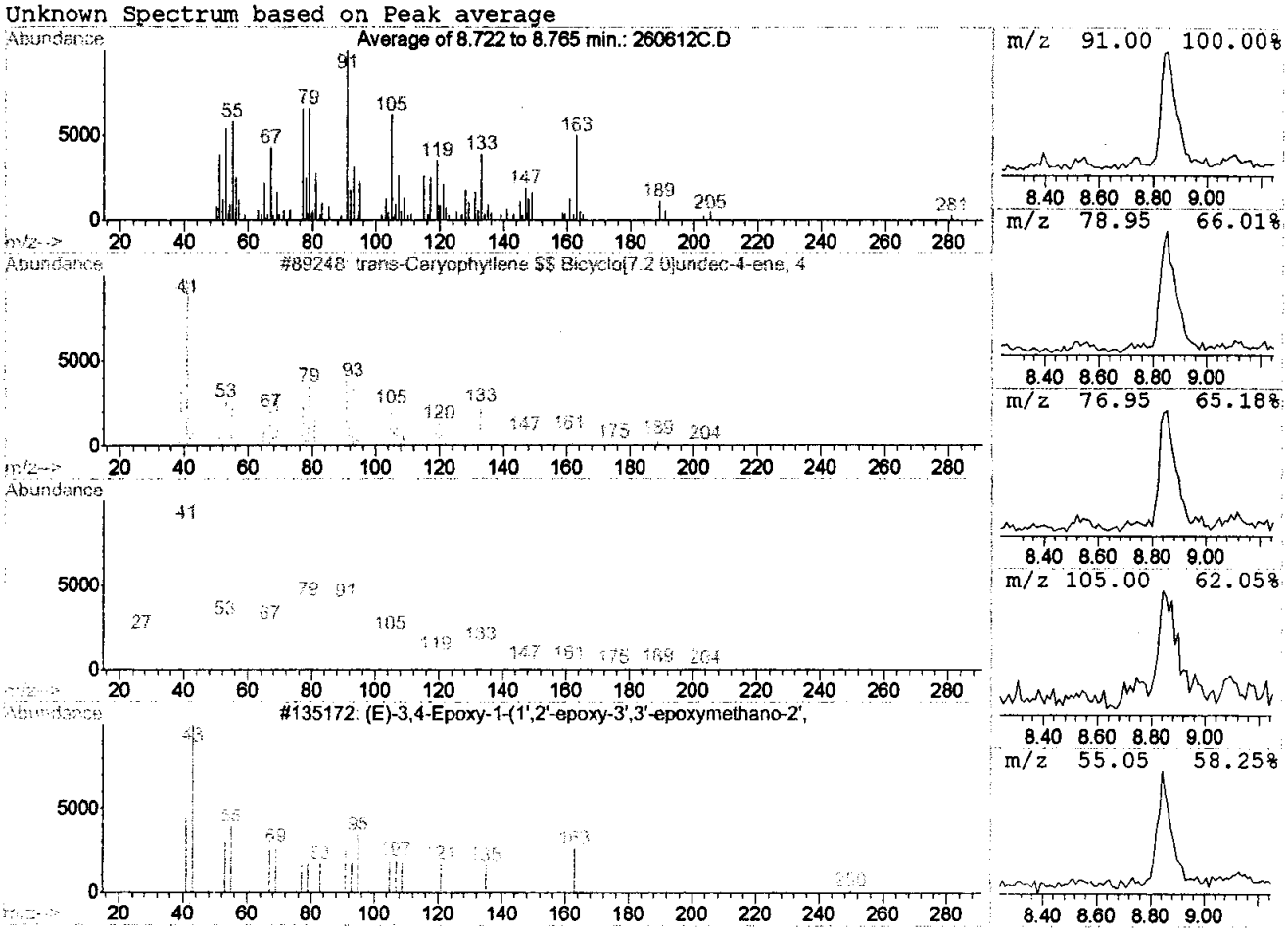
Data File : C:\HPCHEM\1\DATA\260612C.D
Acq On : 26 Jun 2012 14:41
Sample : Liverwda
Misc :

Vial: 1
Operator: Erfan
Inst : GC/MS Ins
Multiplr: 1.00
Sample Amount: 0.00

MS Integration Params: autoint1.e
Method : D:\HPCHEM~1\HPCHEM\1\METHODS\FRAG1.M (Chemstation Integrat)
Title :



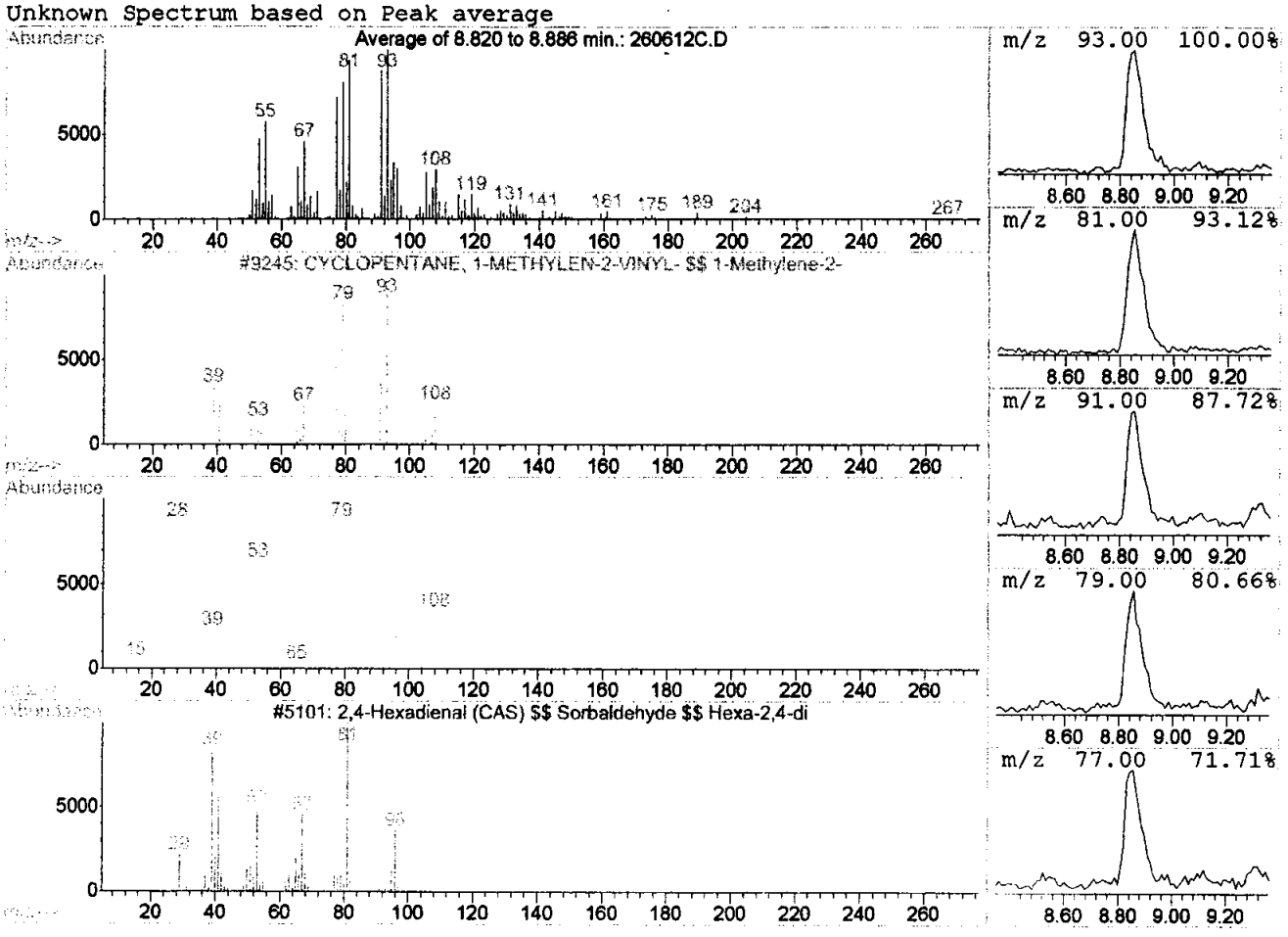
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 3 at 8.74 min Area: 516236 Area % 0.09

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89248	000087-44-5	53
2 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89241	000087-44-5	43
3 (E)-3,4-Epoxy-1-(1',2'-epoxy-3',3'-	135172	091186-32-2	38

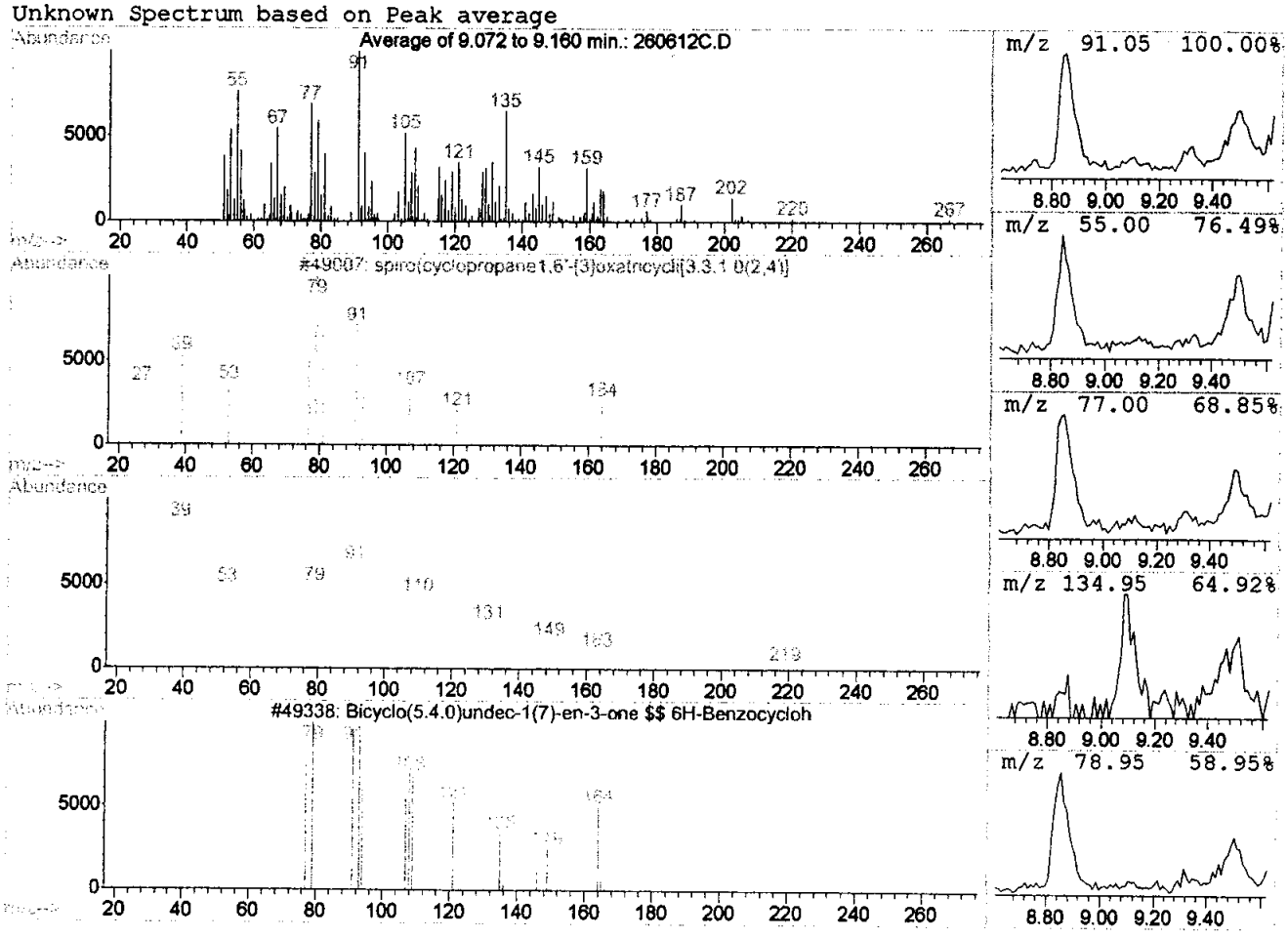
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 4 at 8.85 min Area: 6745373 Area % 1.14

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 CYCLOPENTANE, 1-METHYLEN-2-VINYL- $	9245	006196-78-7	46
2 2-Diazo-1-methyl-N-cyanoimine $$ Cy	8957	015328-26-4	43
3 2,4-Hexadienal (CAS) $$ Sorbaldehyd	5101	000142-83-6	43

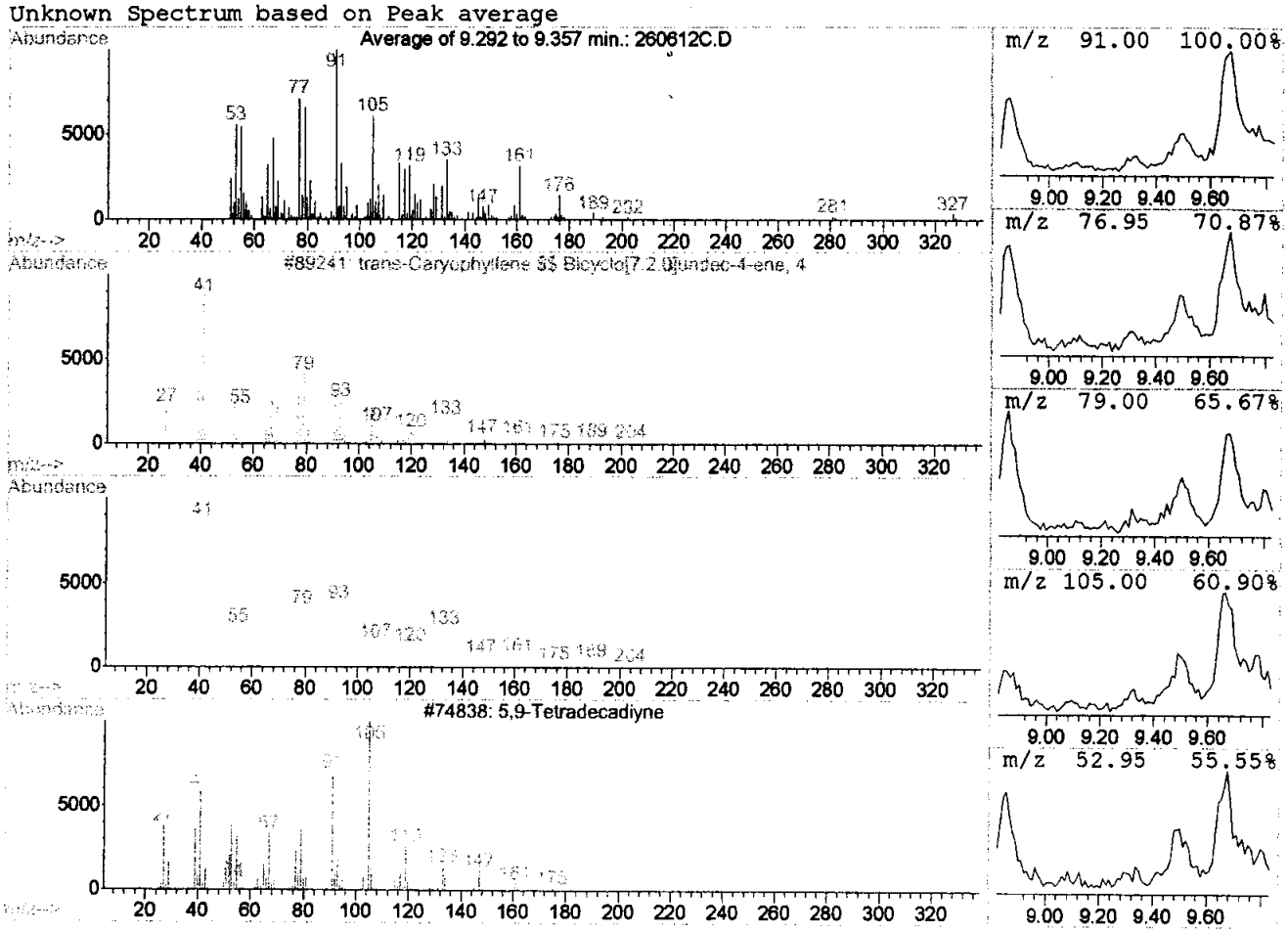
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 5 at 9.12 min Area: 1799737 Area % 0.30

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 spiro(cyclopropane1,6'-[3]oxatricyc	49007	109637-57-2	43
2 1-thia-3,13-cyclopentadecadiyne	105648	115227-79-7	38
3 Bicyclo(5.4.0)undec-1(7)-en-3-one $	49338	035653-41-9	35

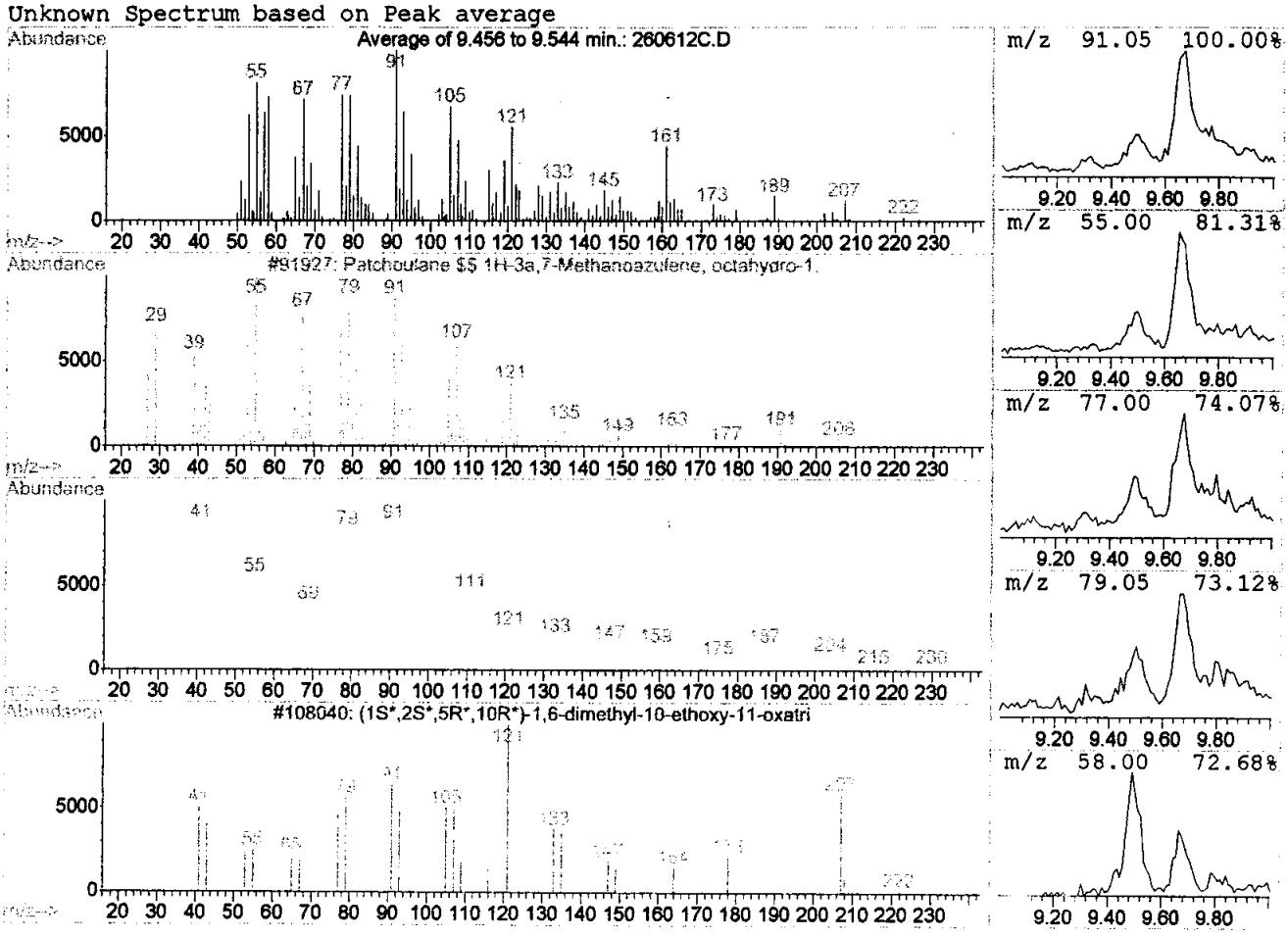
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 6 at 9.32 min Area: 1443556 Area % 0.24

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89241	000087-44-5	47
2 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89248	000087-44-5	42
3 5,9-Tetradecadiyne	74838	051255-61-9	38

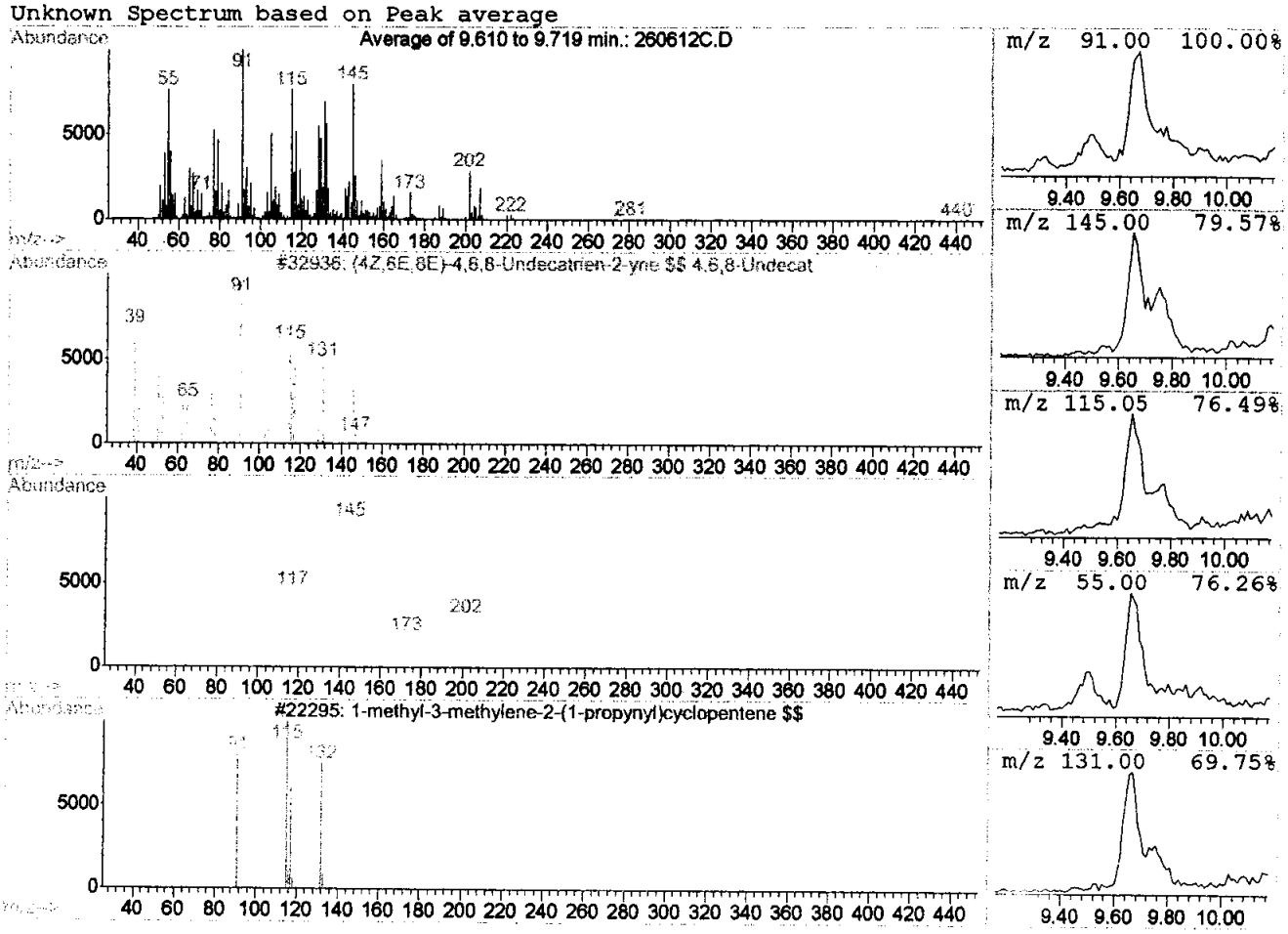
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 7 at 9.50 min Area: 6853866 Area % 1.16

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 Patchoulane $$ 1H-3a,7-Methanoazule	91927	025491-20-7	72
2 1R-(1R@,2R@,5S@,6E-10R@)-8-Methylen	121876	000000-00-0	64
3 (1S*,2S*,5R*,10R*)-1,6-dimethyl-10-	108040	124780-75-2	58

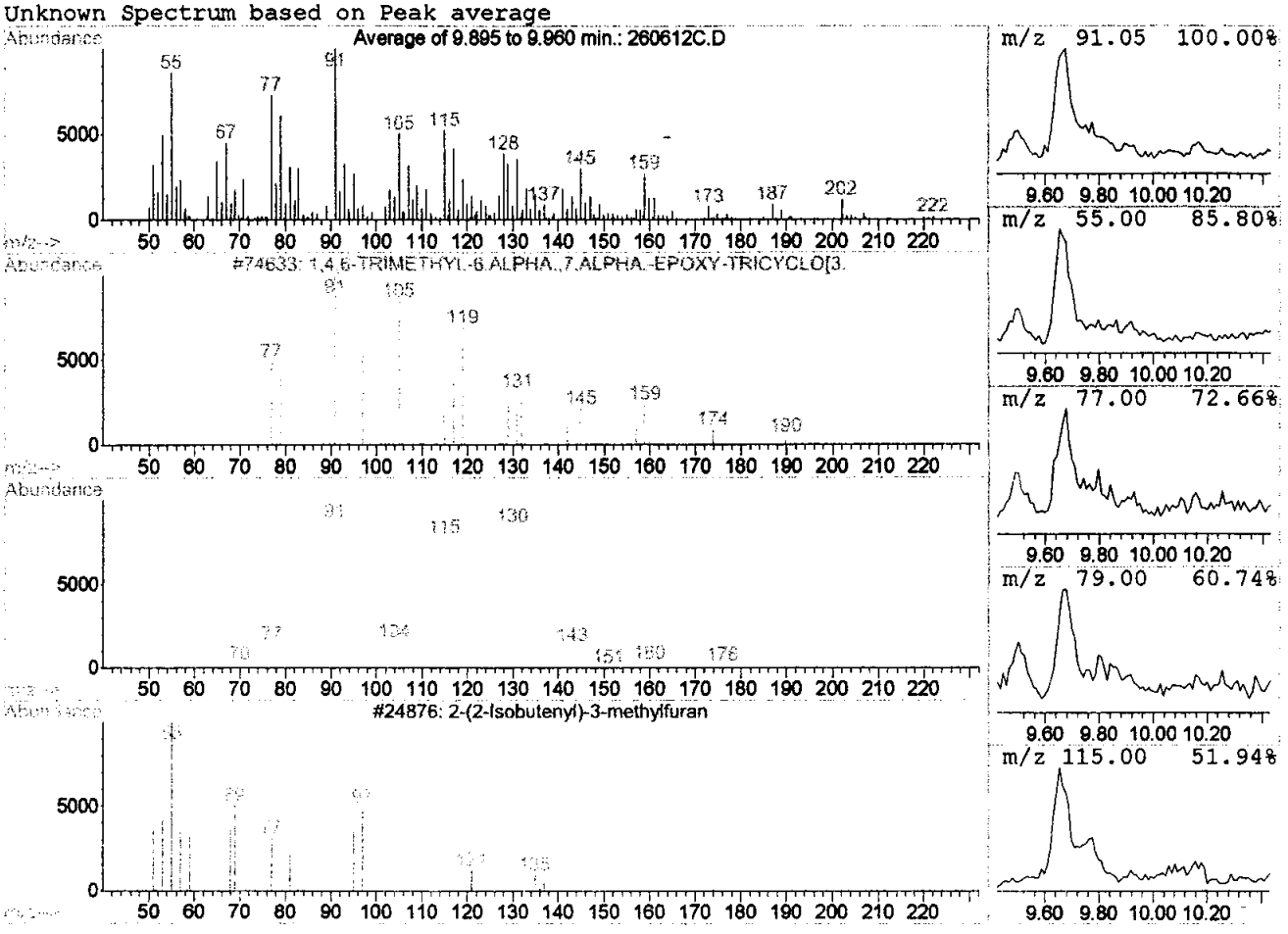
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 8 at 9.66 min Area: 23507567 Area % 3.98

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 (4Z,6E,8E)-4,6,8-Undecatrien-2-yne	32936	113822-82-5	43
2 6.beta.-formyl-6,7-dihydro-5.beta.,	86797	112218-22-1	38
3 1-methyl-3-methylene-2-(1-propynyl)	22295	126133-18-4	30

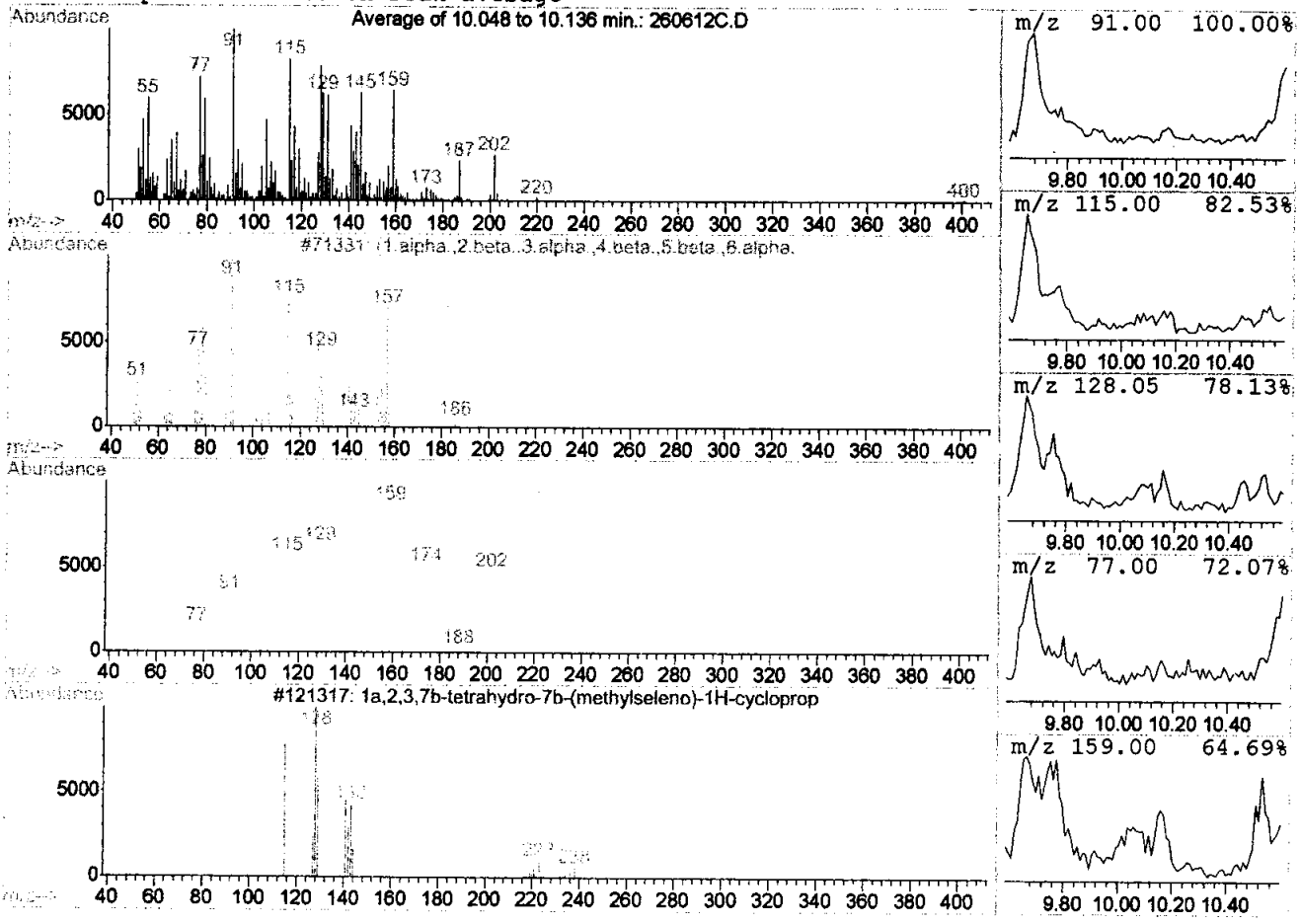
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 9 at 9.93 min Area: 2611987 Area % 0.44

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 1,4,6-TRIMETHYL-6.ALPHA.,7.ALPHA.-E	74633	063896-19-5	37
2 5-(aminooxy)pent-1-enylbenzene	61546	000000-00-0	37
3 2-(2-Isobutenyl)-3-methylfuran	24876	000000-00-0	30

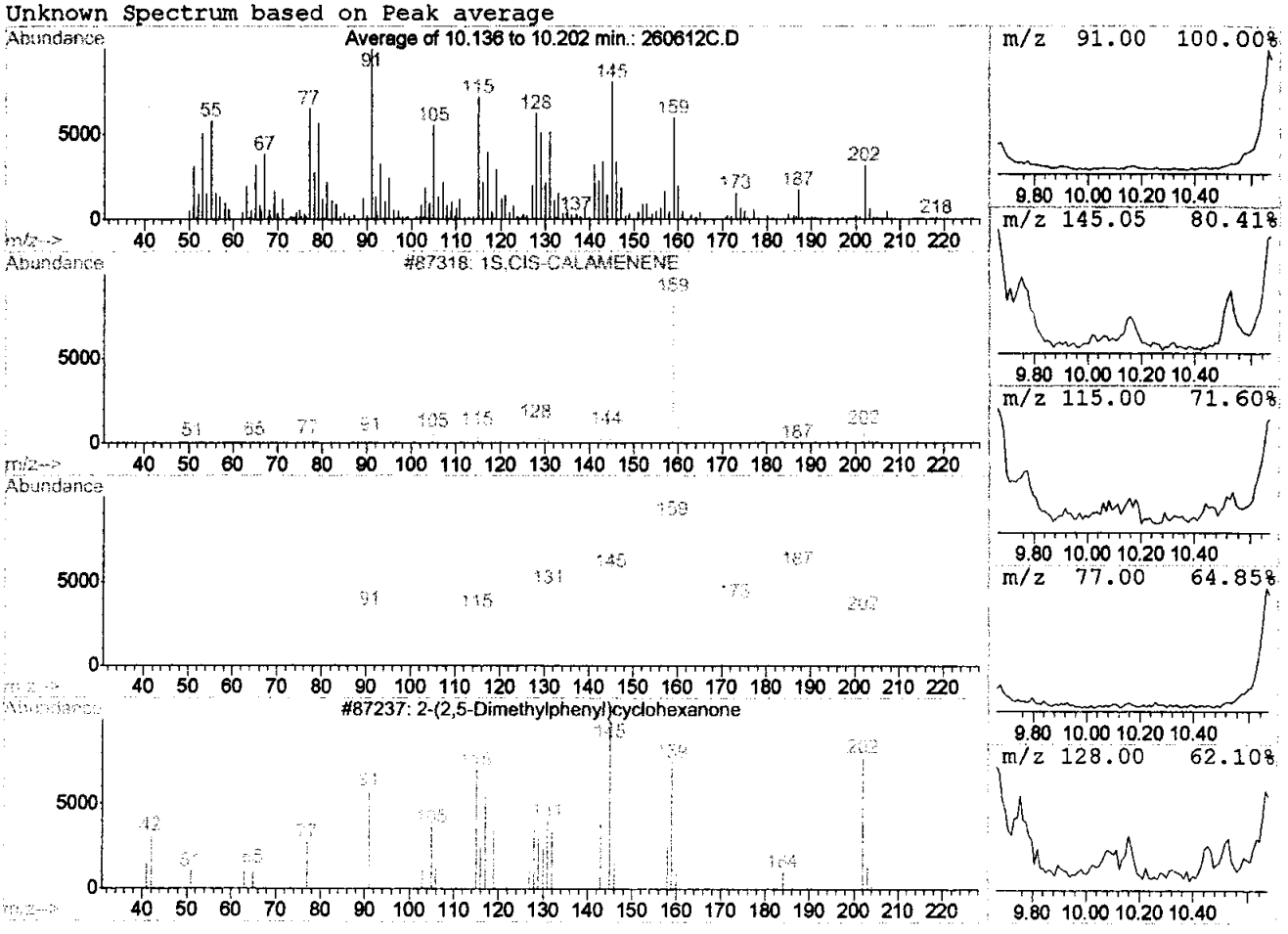
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 10 at 10.09 min Area: 4156635 Area % 0.70

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 (1.alpha.,2.beta.,3.alpha.,4.beta.,	71331	092929-11-8	55
2 3',4'-Dihydro-3',3'-dimethylspiro[c	87228	128083-63-6	50
3 1a,2,3,7b-tetrahydro-7b-(methylsele	121317	126745-44-6	47

Unknown Spectrum based on Peak average

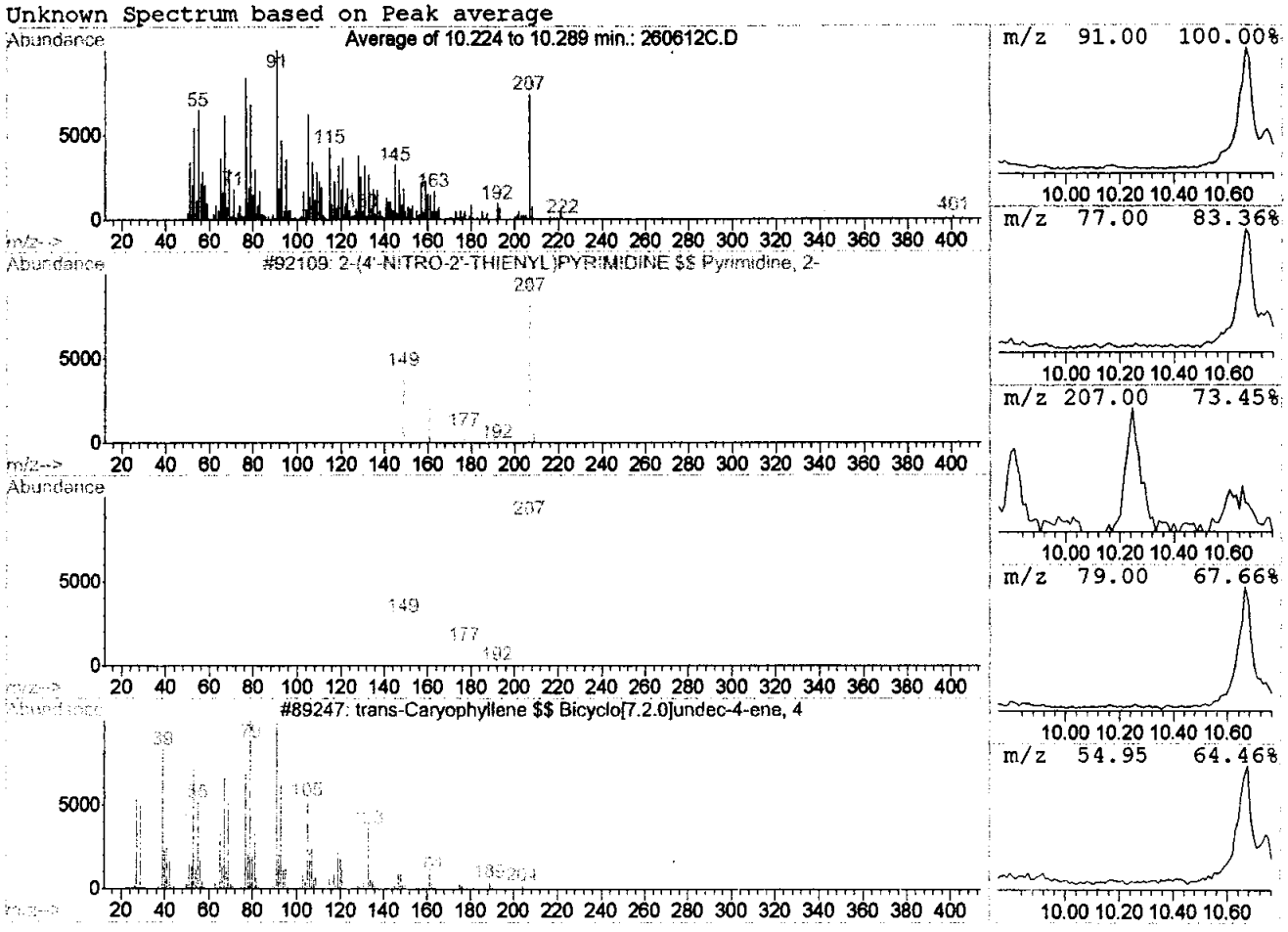


Peak Number: 11 at 10.17 min Area: 3143865 Area % 0.53

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 1S,CIS-CALAMENENE	87318	000483-77-2	87
2 6-ethyl-1,3-dimethylindan-5-carbald	87218	000000-00-0	46
3 2-(2,5-Dimethylphenyl)cyclohexanone	87237	000000-00-0	45

IR-PERPUSTAKAAN-UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

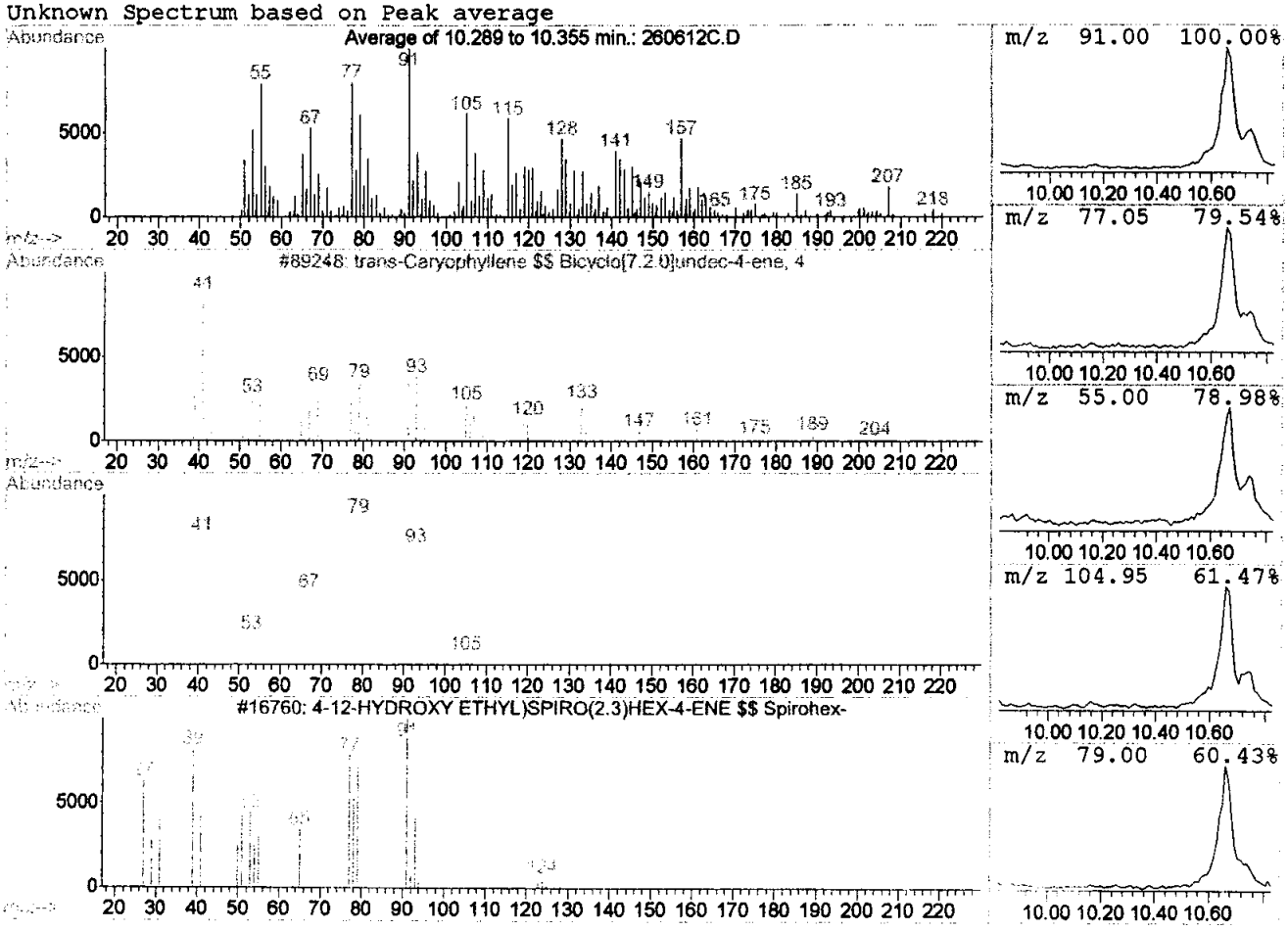


Peak Number: 12 at 10.26 min Area: 2603796 Area % 0.44

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 2-(4'-NITRO-2'-THIENYL)PYRIMIDINE $	92109	057059-15-1	47
2 2-(5'-NITRO-3'-THIENYL)PYRIMIDINE $	92107	057059-17-3	47
3 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	42

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

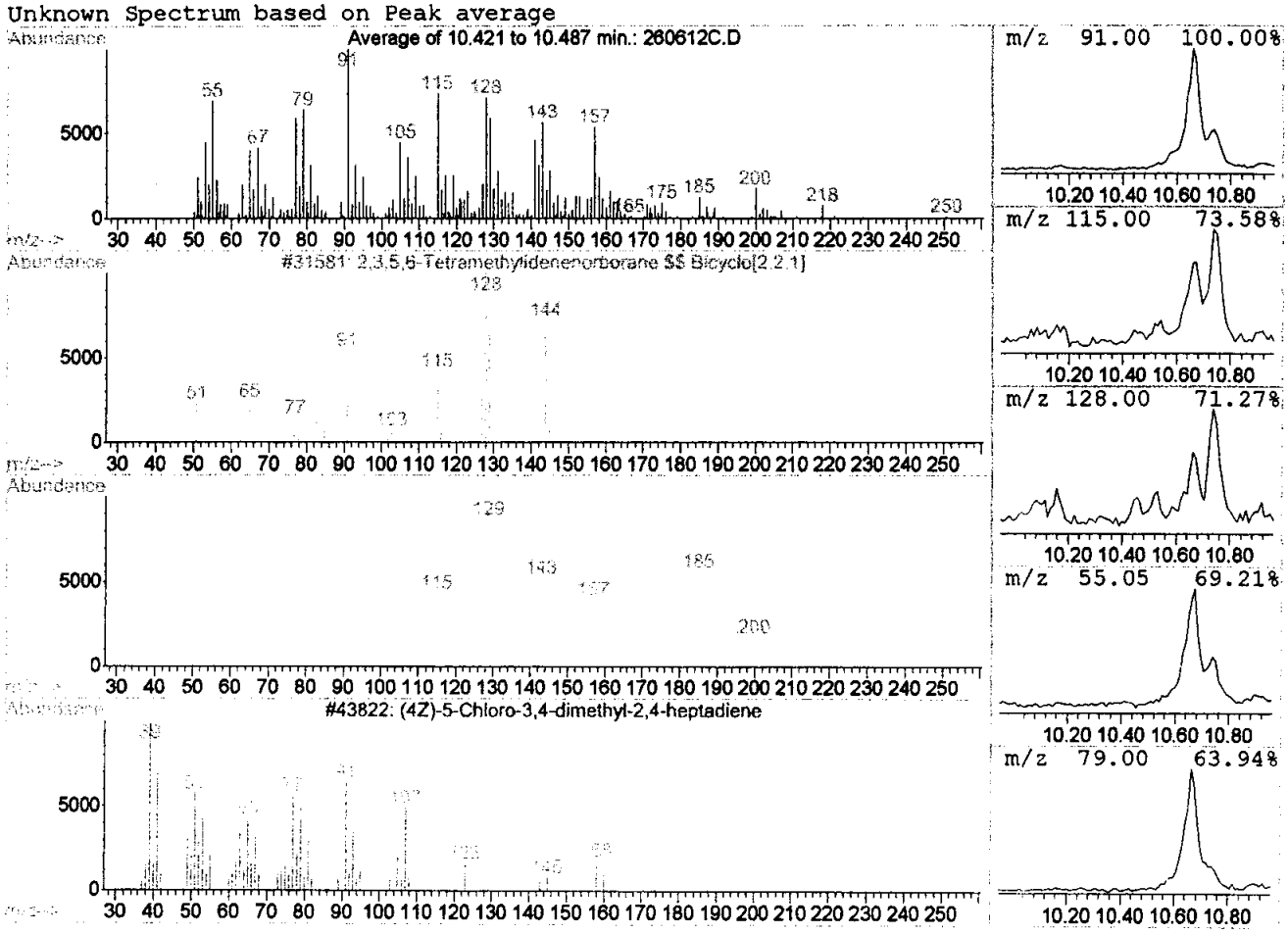
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 13 at 10.32 min Area: 2050990 Area % 0.35

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89248	000087-44-5	46
2 3-Methylene-1,6-hexadiene $$ 3-Meth	9225	016626-48-5	43
3 4-12-HYDROXY ETHYL)SPIRO(2.3)HEX-4-	16760	070302-69-1	43

Unknown Spectrum based on Peak average

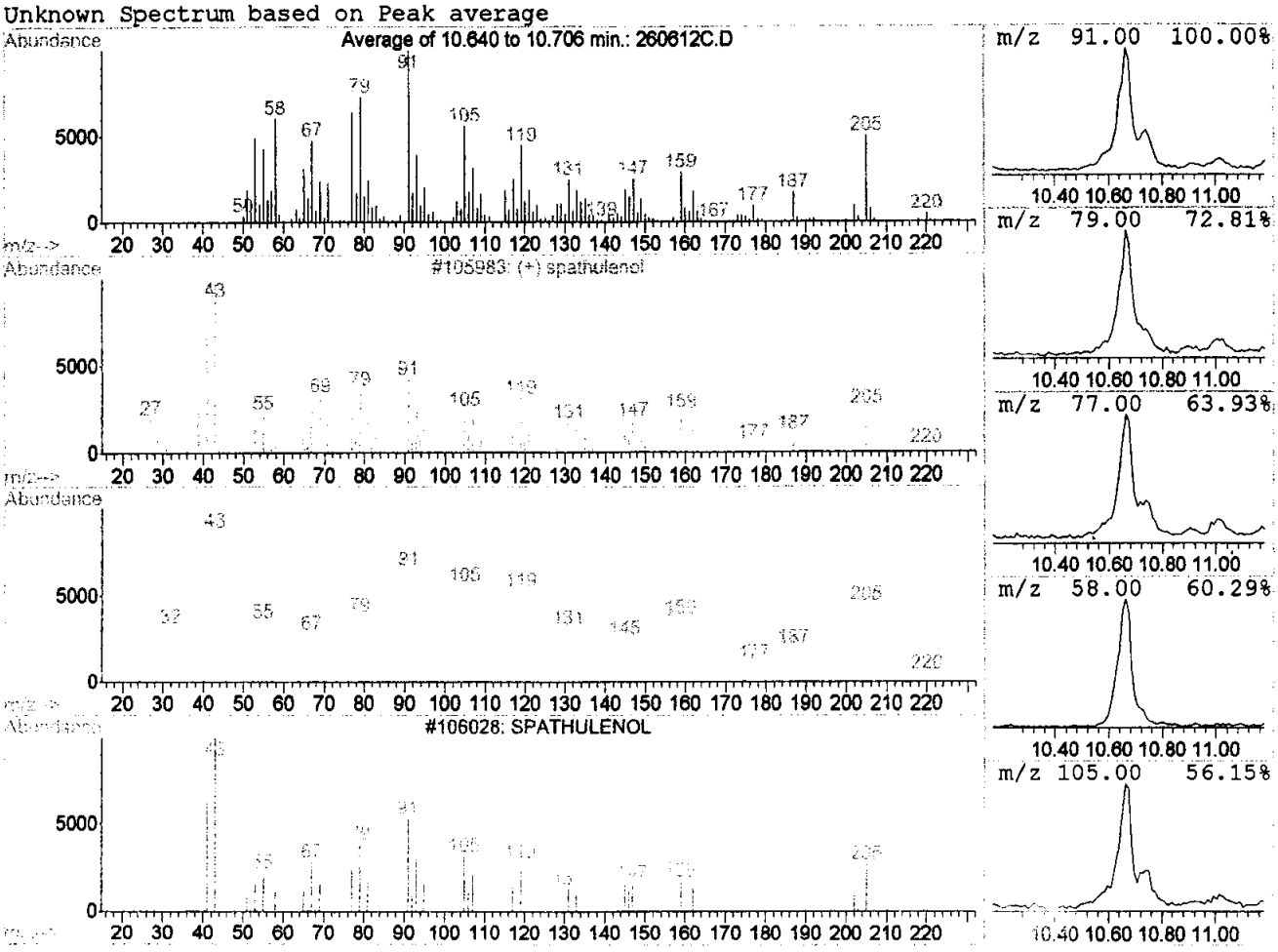


Peak Number: 14 at 10.45 min Area: 3572214 Area % 0.61

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 2,3,5,6-Tetramethylidenenorborane $	31581	056677-16-8	46
2 8,8-Dimethy-3,3a,8,8a-tetrahydrocyc	85503	000000-00-0	46
3 (4Z)-5-Chloro-3,4-dimethyl-2,4-hept	43822	000000-00-0	45

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

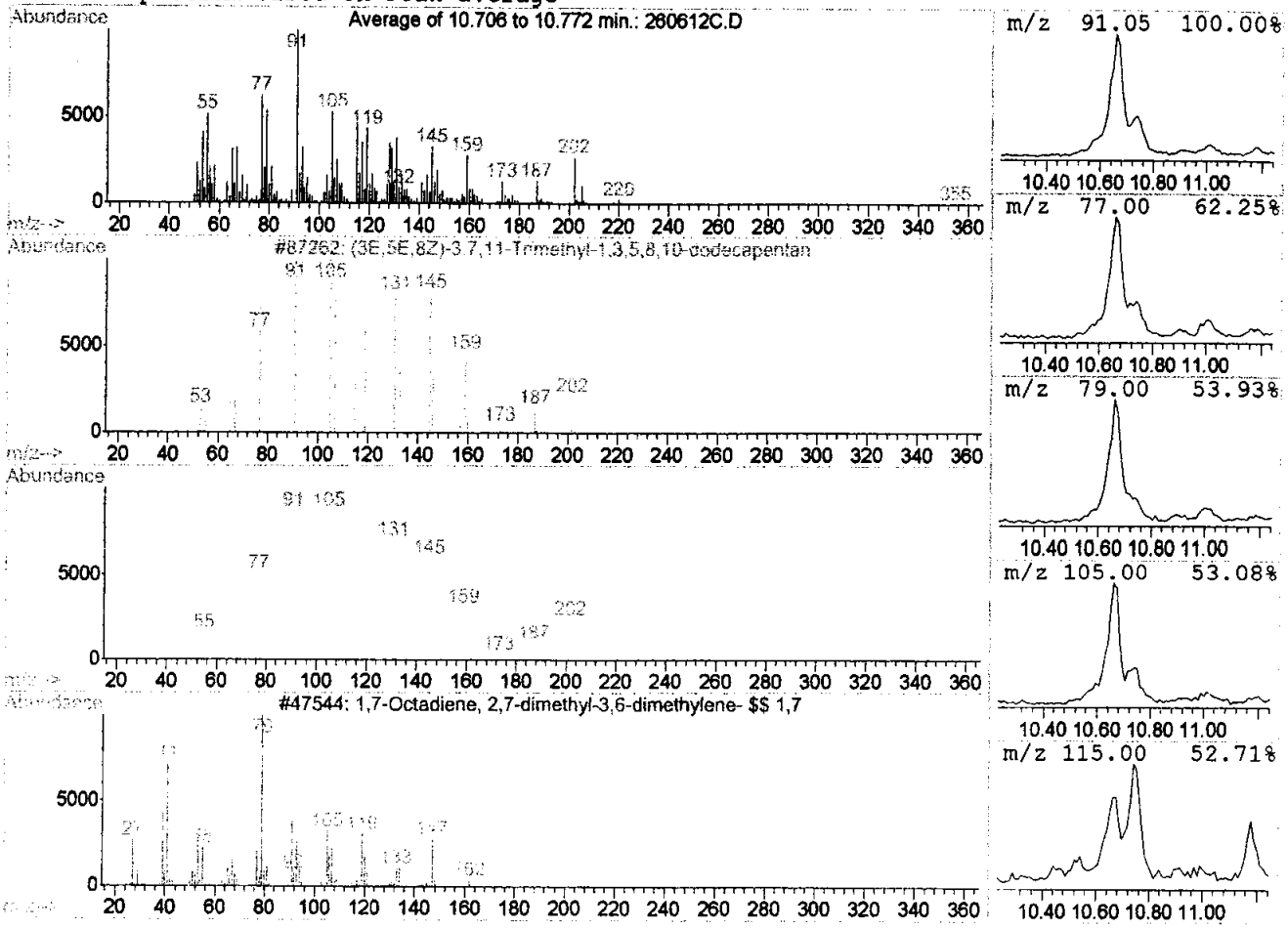
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 15 at 10.67 min Area: 44067352 Area % 7.46

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 (+) spathulenol	105983	077171-55-2	95
2 Spathulenol $$ 1H-Cycloprop[e]azule	105942	006750-60-3	86
3 SPATHULENOL	106028	006750-60-3	55

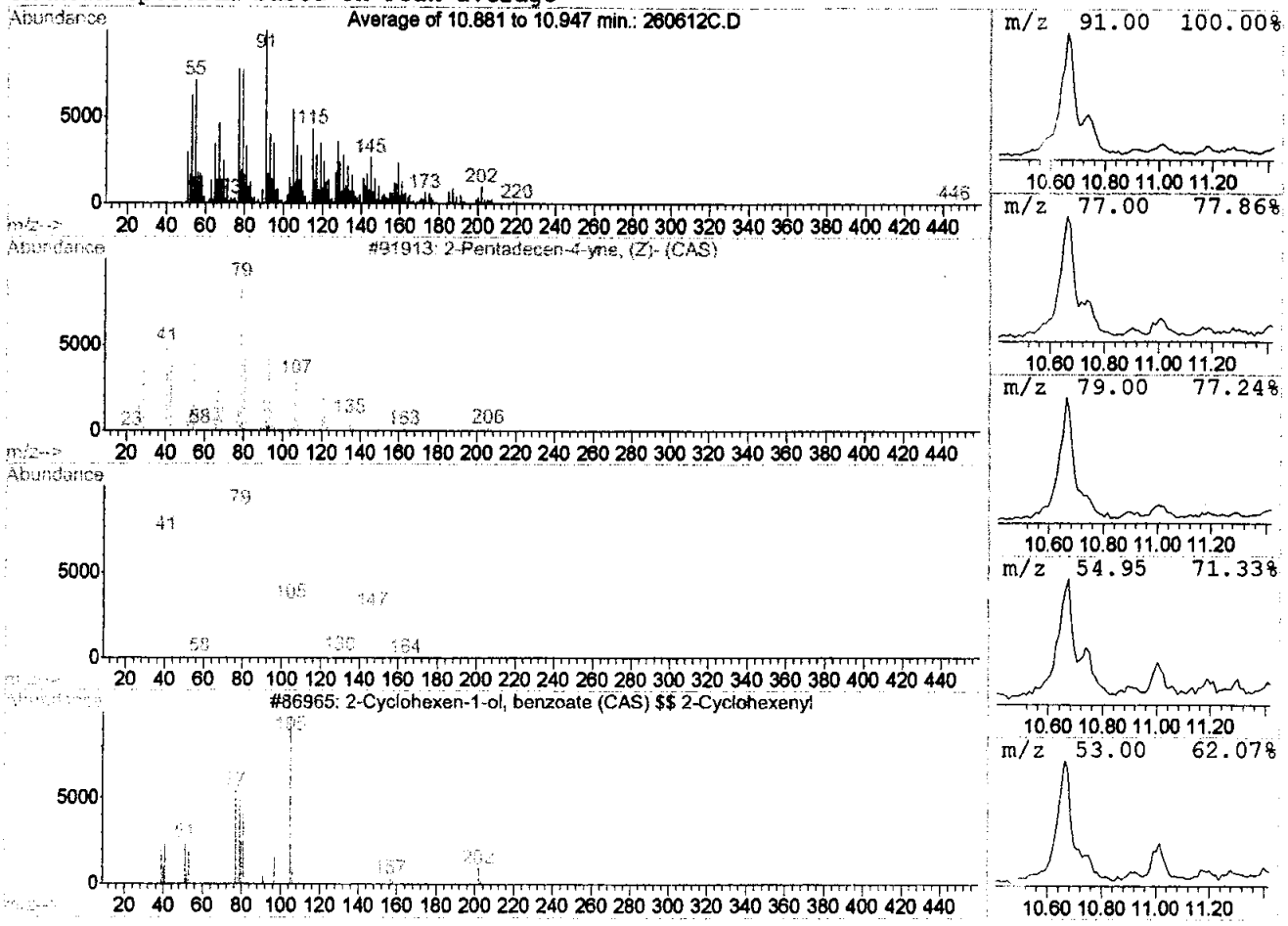
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 16 at 10.74 min Area: 15134787 Area % 2.56

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 (3E,5E,8Z)-3,7,11-Trimethyl-1,3,5,8	87262	073368-16-8	55
2 (3E,5E,8E)-3,7,11-Trimethyl-1,3,5,8	87263	073368-17-9	44
3 1,7-Octadiene, 2,7-dimethyl-3,6-dim	47544	016714-60-6	43

Unknown Spectrum based on Peak average

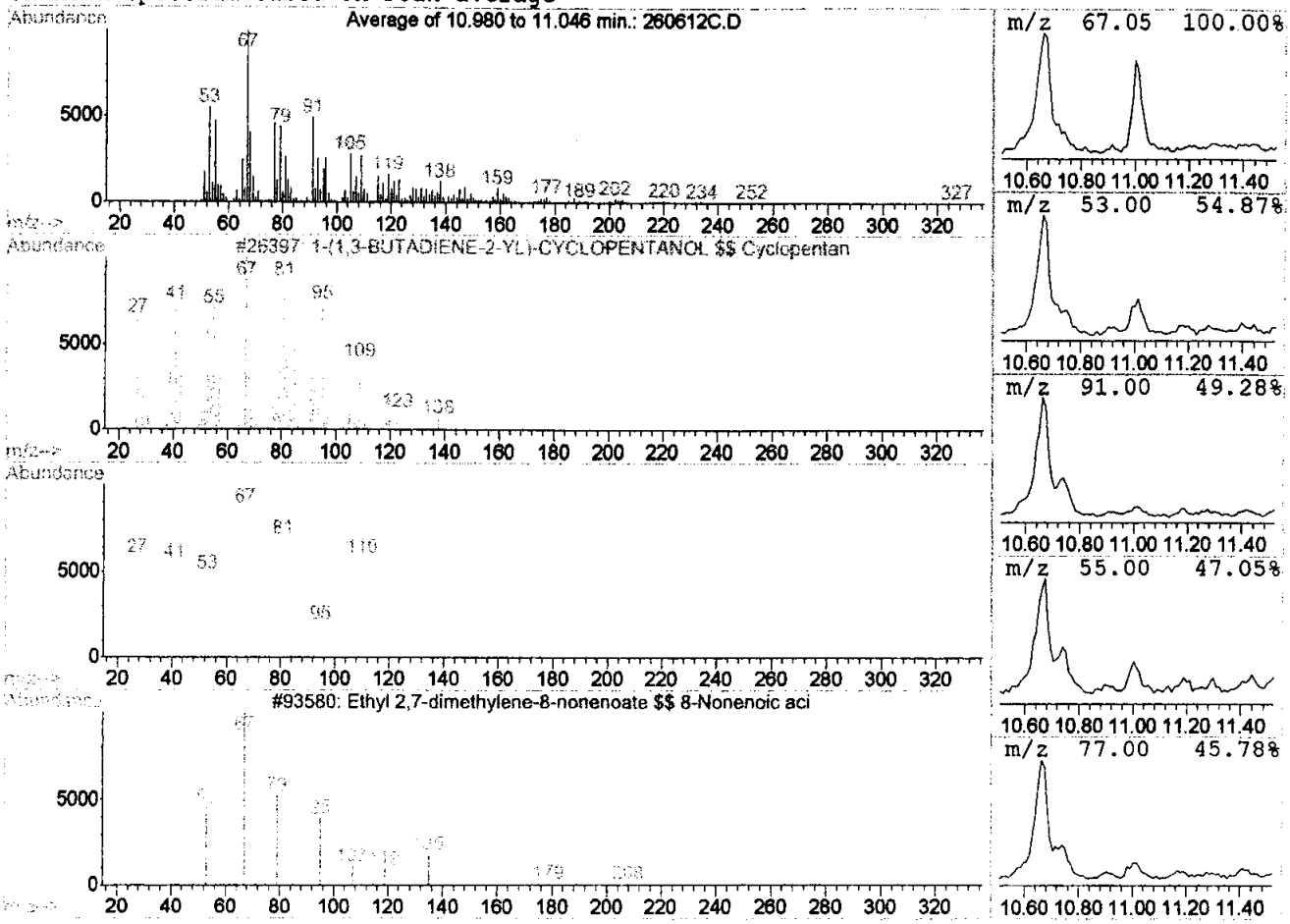


Peak Number: 17 at 10.91 min Area: 4195354 Area % 0.71

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 2-Pentadecen-4-yne, (Z)- (CAS)	91913	074646-33-6	56
2 1,7-Octadiene, 2,7-dimethyl-3,6-dim	47544	016714-60-6	30
3 2-Cyclohexen-1-ol, benzoate (CAS) $	86965	003352-93-0	30

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

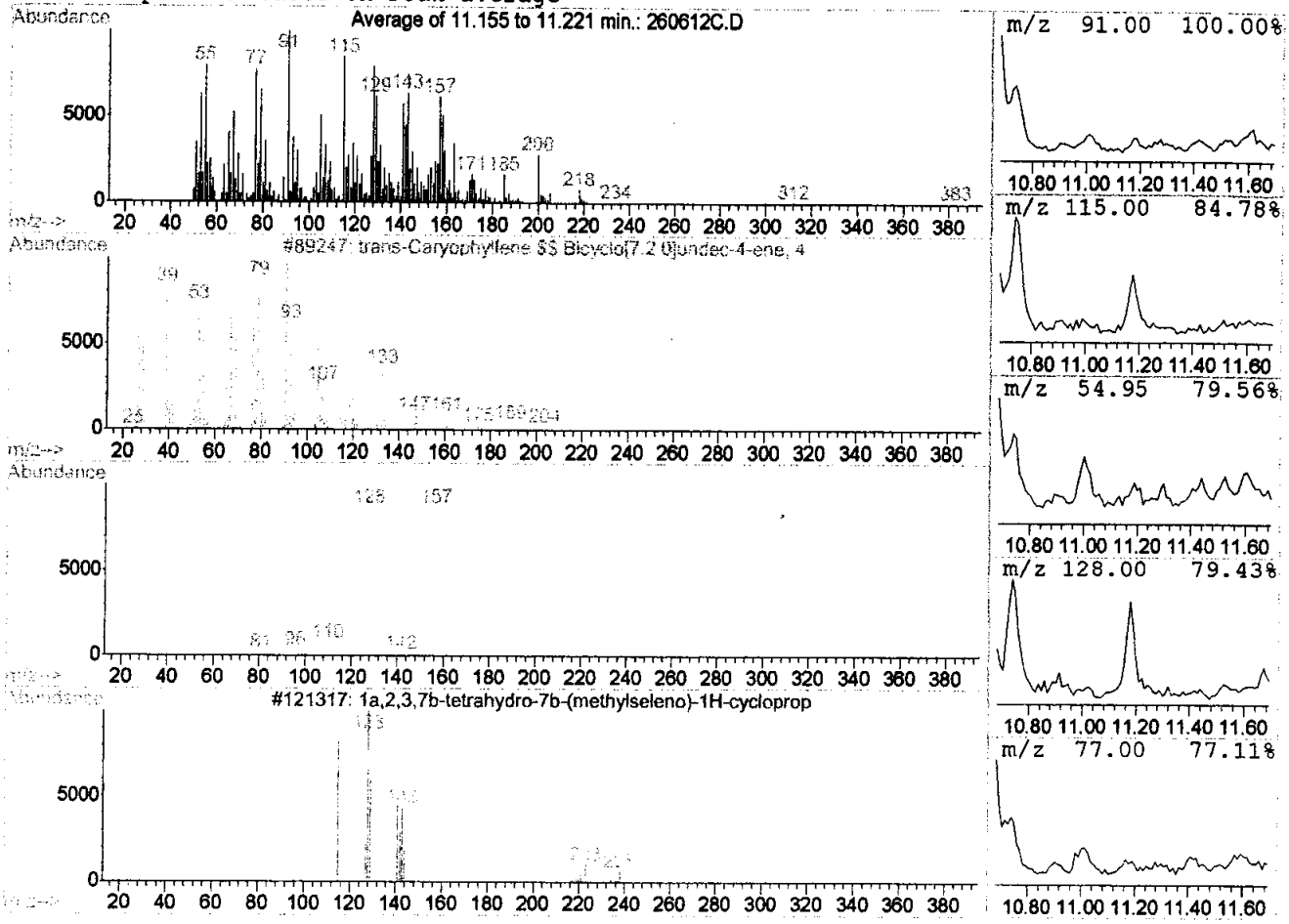
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 18 at 11.01 min Area: 8679730 Area % 1.47

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 1-(1,3-BUTADIENE-2-YL)-CYCLOPENTANO	26397	078158-11-9	64
2 4-Octyne (CAS) $$ Dipropylacetylene	9923	001942-45-6	53
3 Ethyl 2,7-dimethylene-8-nonenoate $	93580	082865-54-1	50

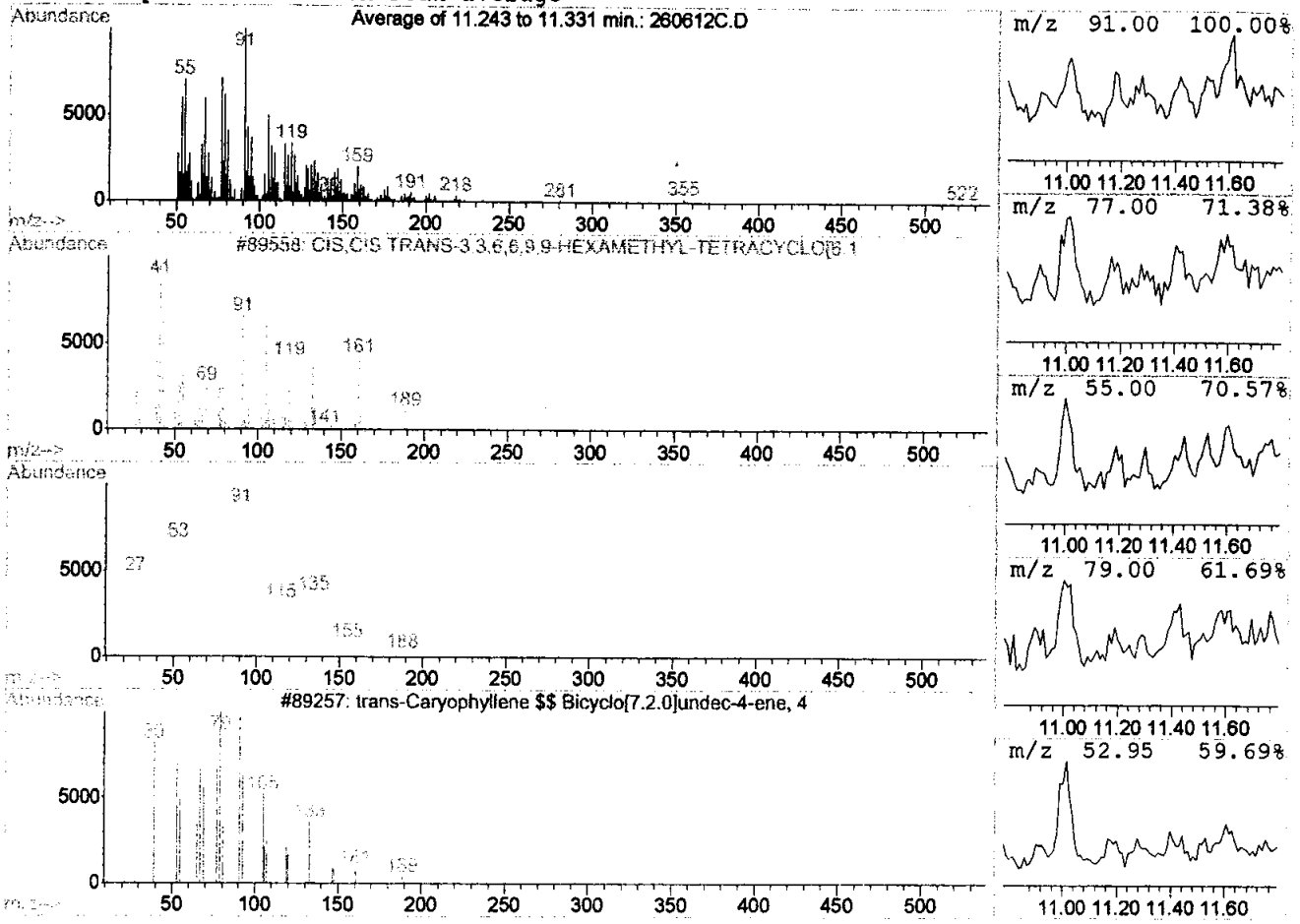
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 19 at 11.19 min Area: 9471697 Area % 1.60

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	53
2 (3H,6H)Thieno[3,4-c]isoxazole, 6-et	43029	000000-00-0	46
3 1a,2,3,7b-tetrahydro-7b-(methylsele	121317	126745-44-6	46

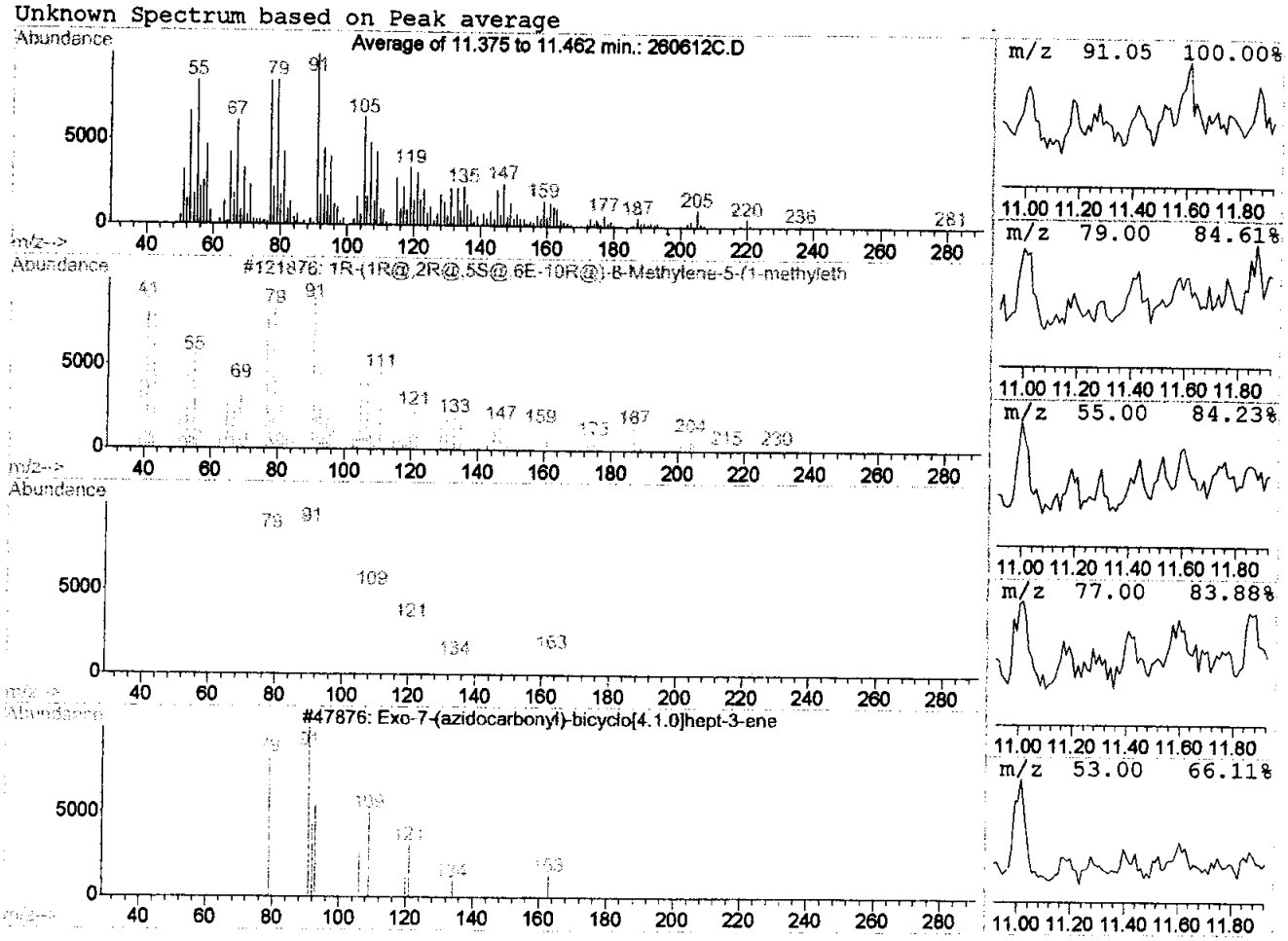
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 20 at 11.29 min Area: 6511136 Area % 1.10

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 CIS,CIS,TRANS-3,3,6,6,9,9-HEXAMETHY	89558	056390-01-3	70
2 TRIS(METHYLENCYCLOPROPYL)-METHANOL	72940	000000-00-0	49
3 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89257	000087-44-5	47

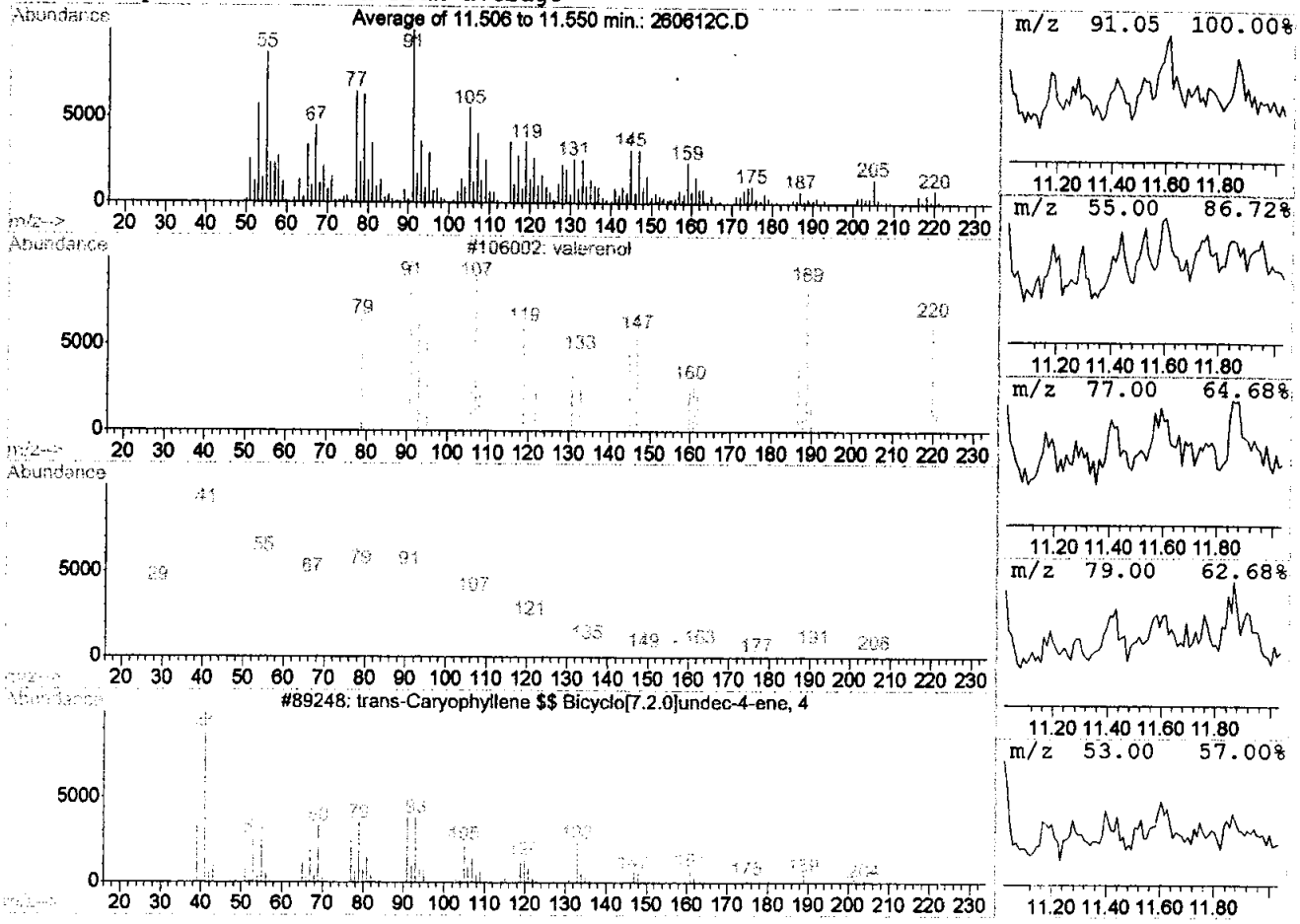
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 21 at 11.42 min Area: 7072282 Area % 1.20

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 1R-(1R@,2R@,5S@,6E-10R@)-8-Methylen	121876	000000-00-0	49
2 Bicyclo[4.1.0]hept-3-en-endo-7-carb	47870	087160-65-4	38
3 Exo-7-(azidocarbonyl)-bicyclo[4.1.0	47876	000000-00-0	38

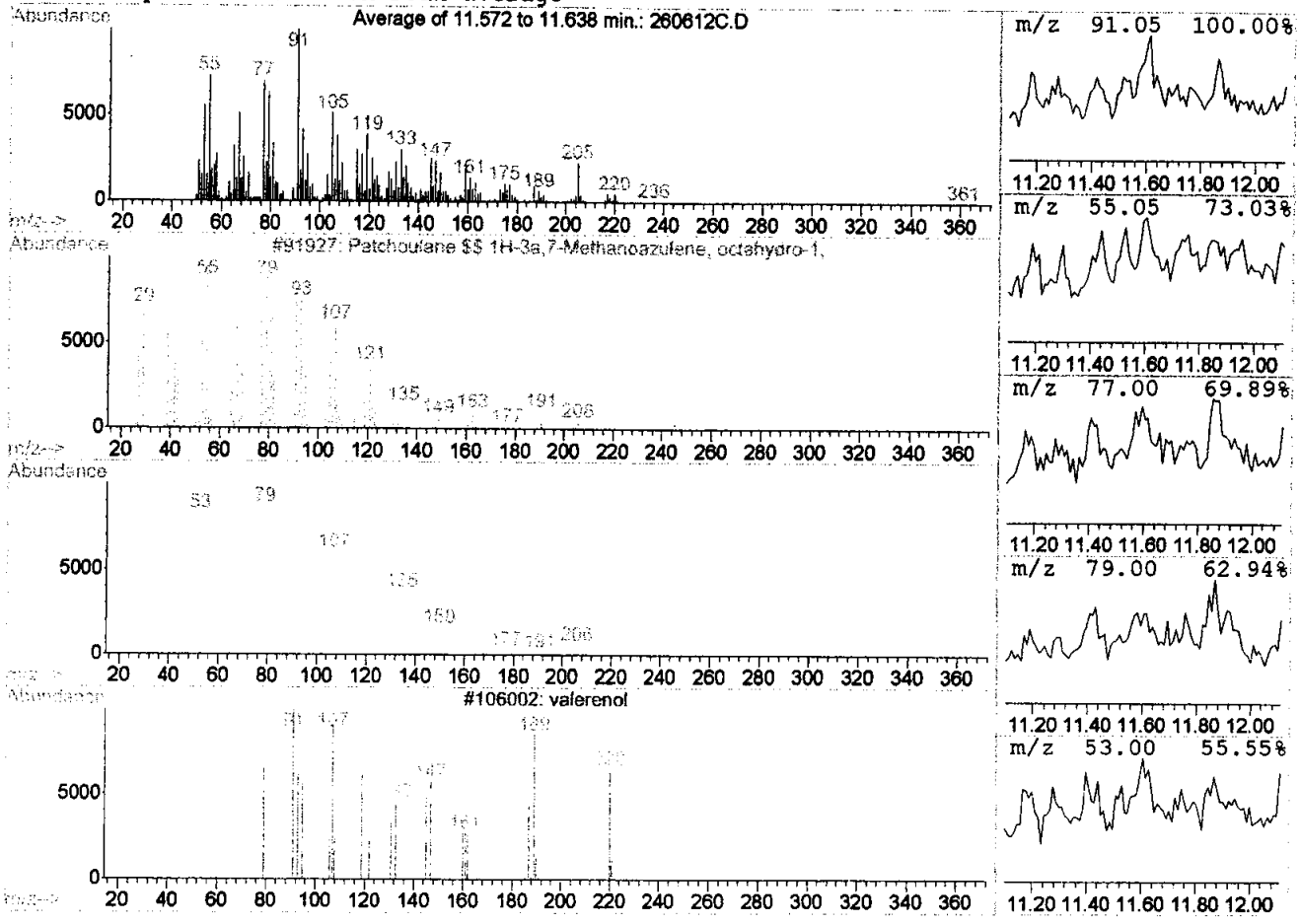
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 22 at 11.53 min Area: 4335132 Area % 0.73

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 valerenol	106002	084249-42-3	50
2 Patchulane $$ 1H-3a,7-Methanoazulen	91928	019078-35-4	46
3 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89248	000087-44-5	46

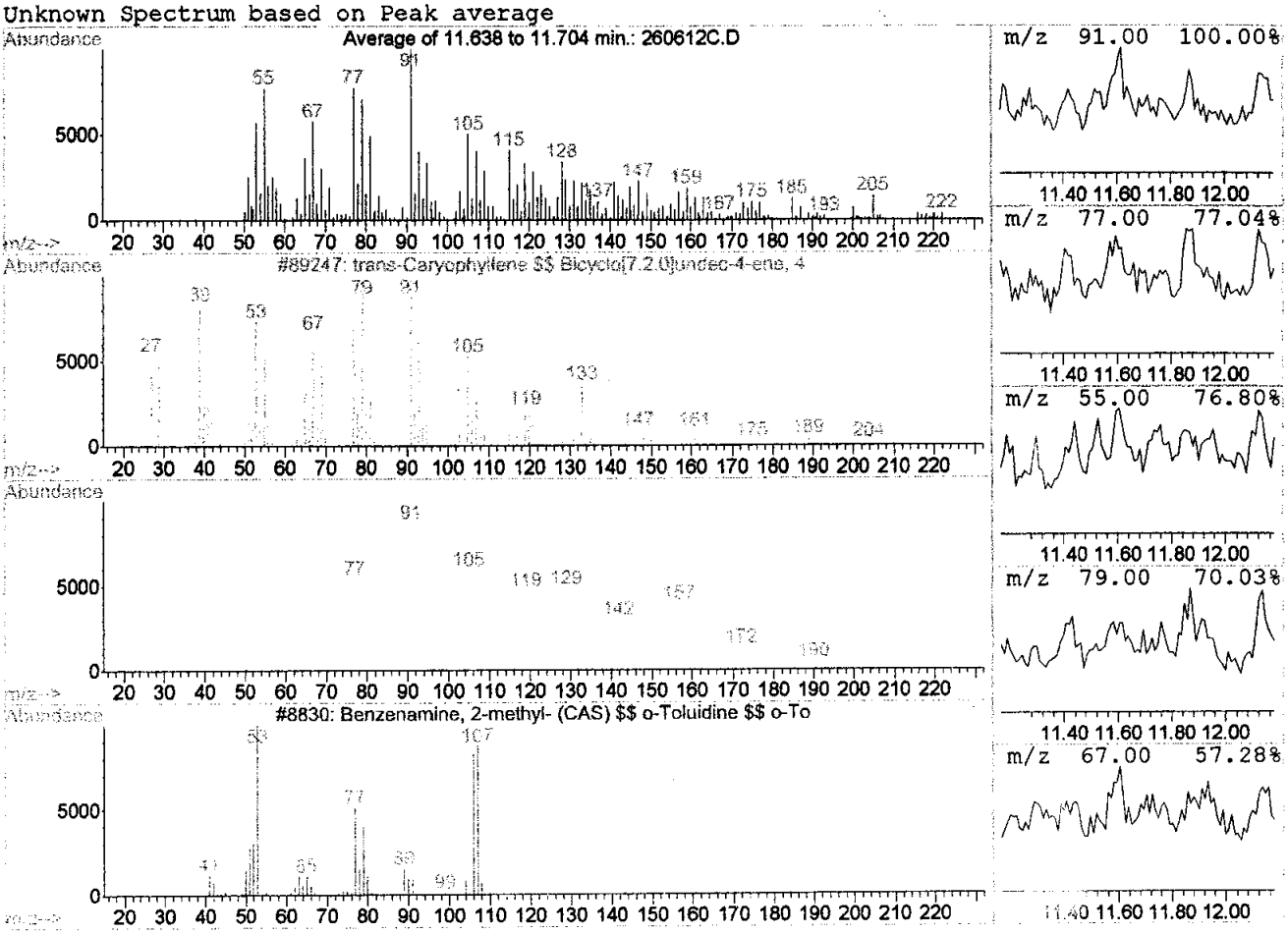
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 23 at 11.60 min Area: 7967212 Area % 1.35

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 Patchoulane $$ 1H-3a,7-Methanoazule	91927	025491-20-7	70
2 (-)-4-oxo-14-norvitrane $$ Spiro[bi	91669	077284-02-7	55
3 valerenol	106002	084249-42-3	49

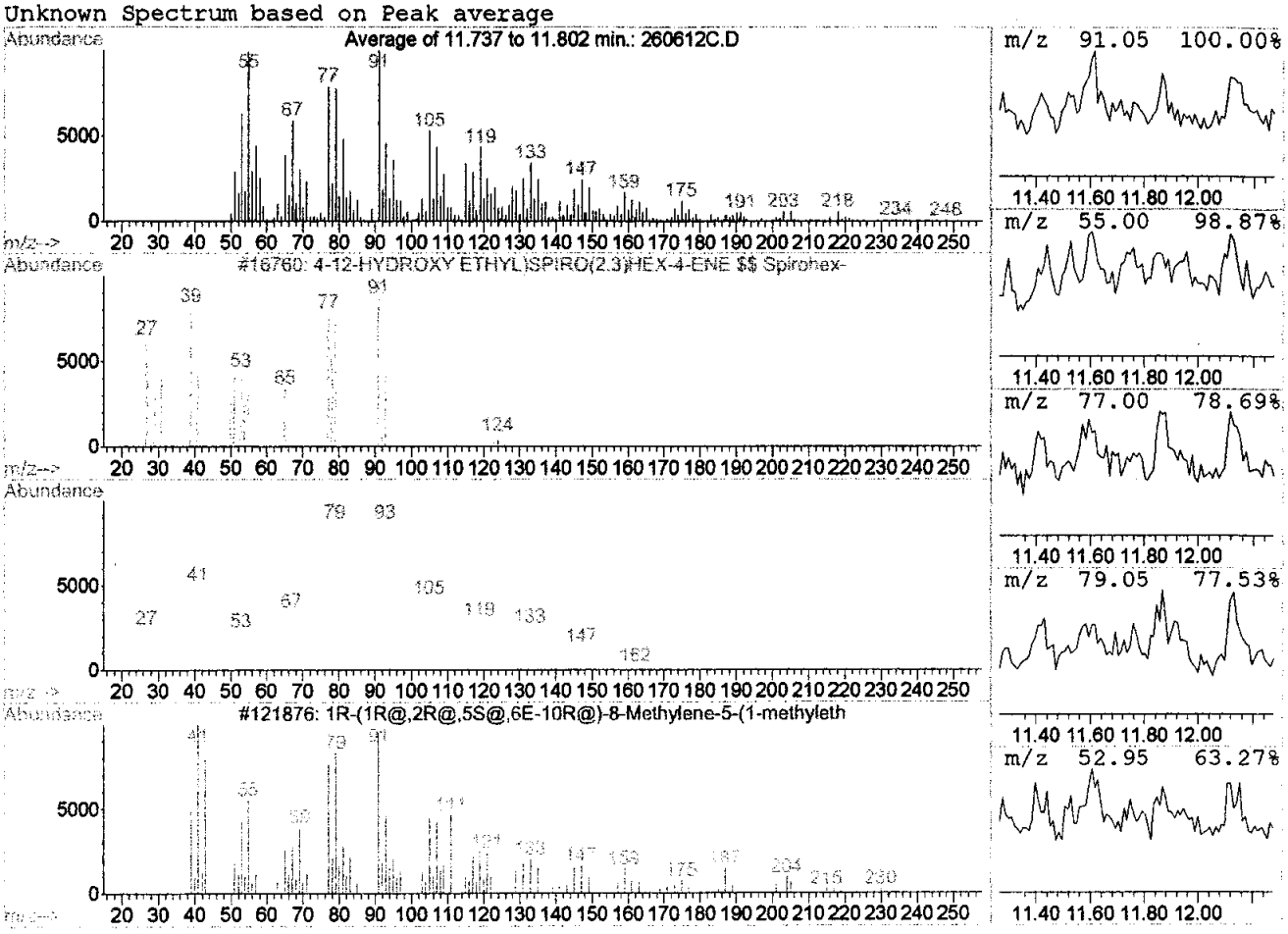
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 24 at 11.67 min Area: 4489144 Area % 0.76

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	91
2 2,7-DIMETHYL-5-METHYLIDEN-TRICYCLO[	74636	064738-91-6	64
3 Benzenamine, 2-methyl- (CAS) $$ o-T	8830	000095-53-4	58

Unknown Spectrum based on Peak average

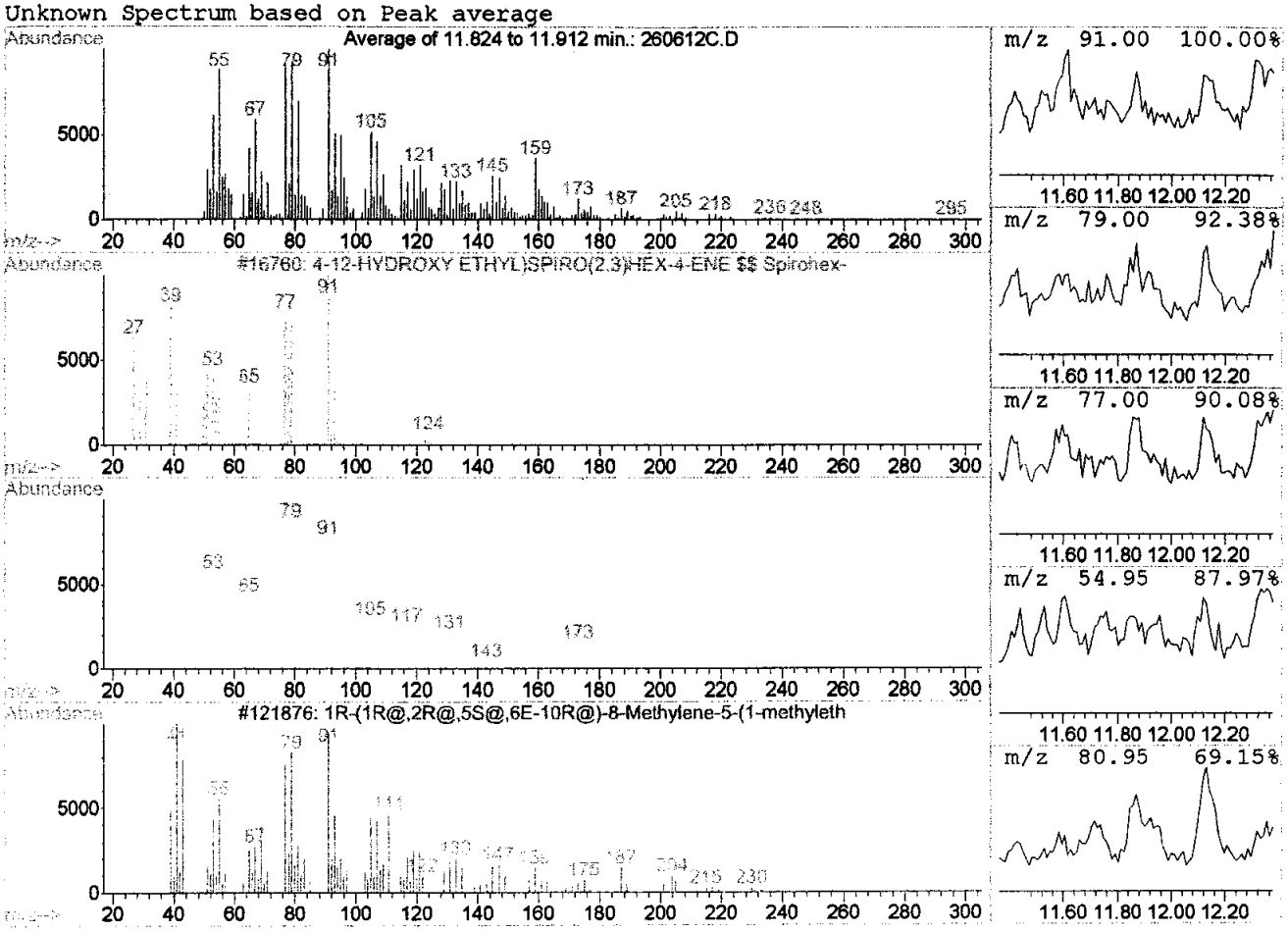


Peak Number: 25 at 11.77 min Area: 5735141 Area % 0.97

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 4-12-HYDROXY ETHYL)SPIRO(2.3)HEX-4-	16760	070302-69-1	64
2 Cyclohexane, 1,5-diethenyl-3-methyl	47634	074742-35-1	53
3 1R-(1R@,2R@,5S@,6E-10R@)-8-Methylen	121876	000000-00-0	52

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

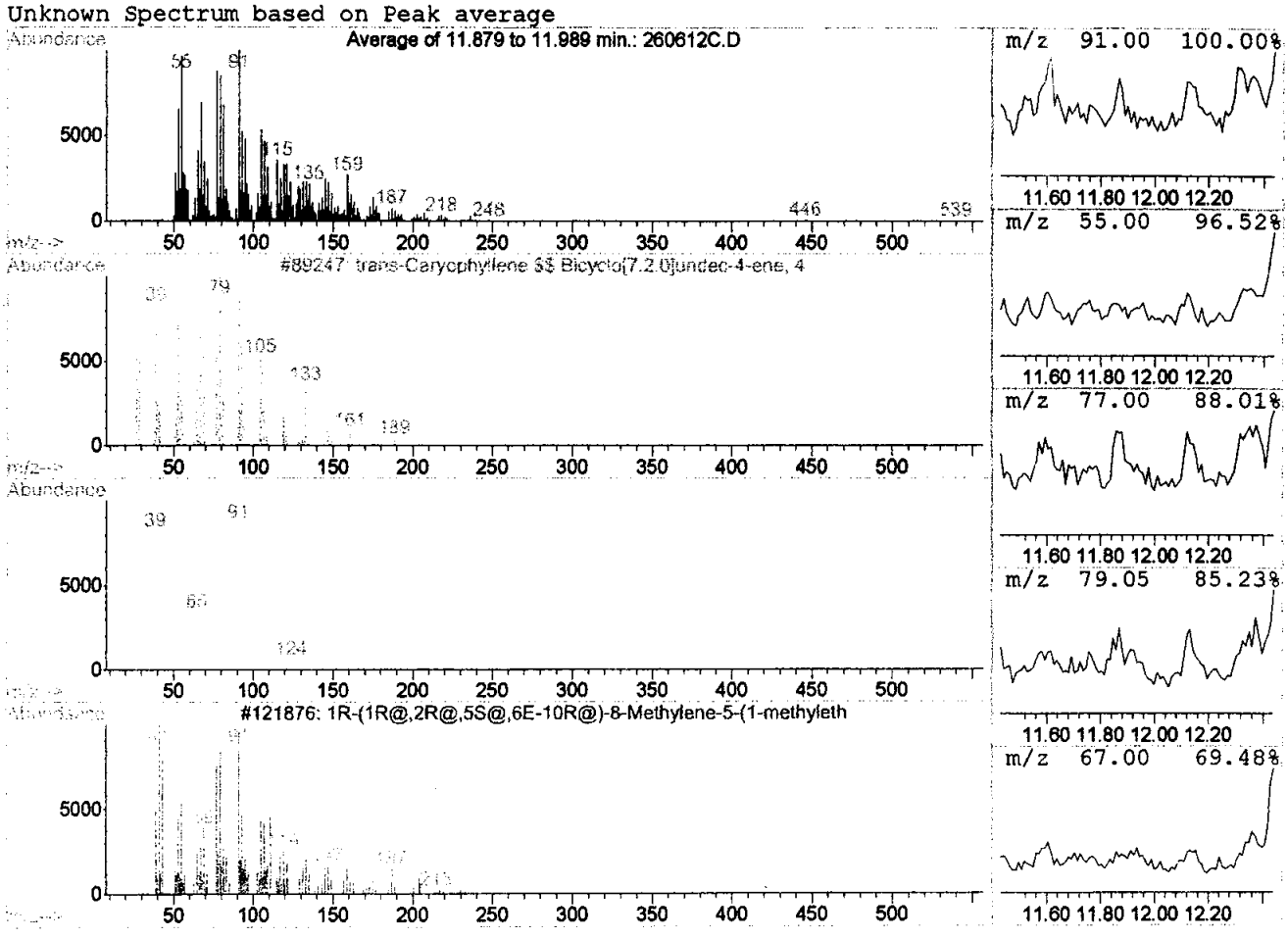
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 26 at 11.87 min Area: 7205032 Area % 1.22

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 4-12-HYDROXY ETHYL)SPIRO(2.3)HEX-4-	16760	070302-69-1	64
2 1-(3-iodobicyclo[1.1.1]pent-1-yl)-4	244200	124381-07-3	59
3 1R-(1R@,2R@,5S@,6E-10R@)-8-Methylen	121876	000000-00-0	52

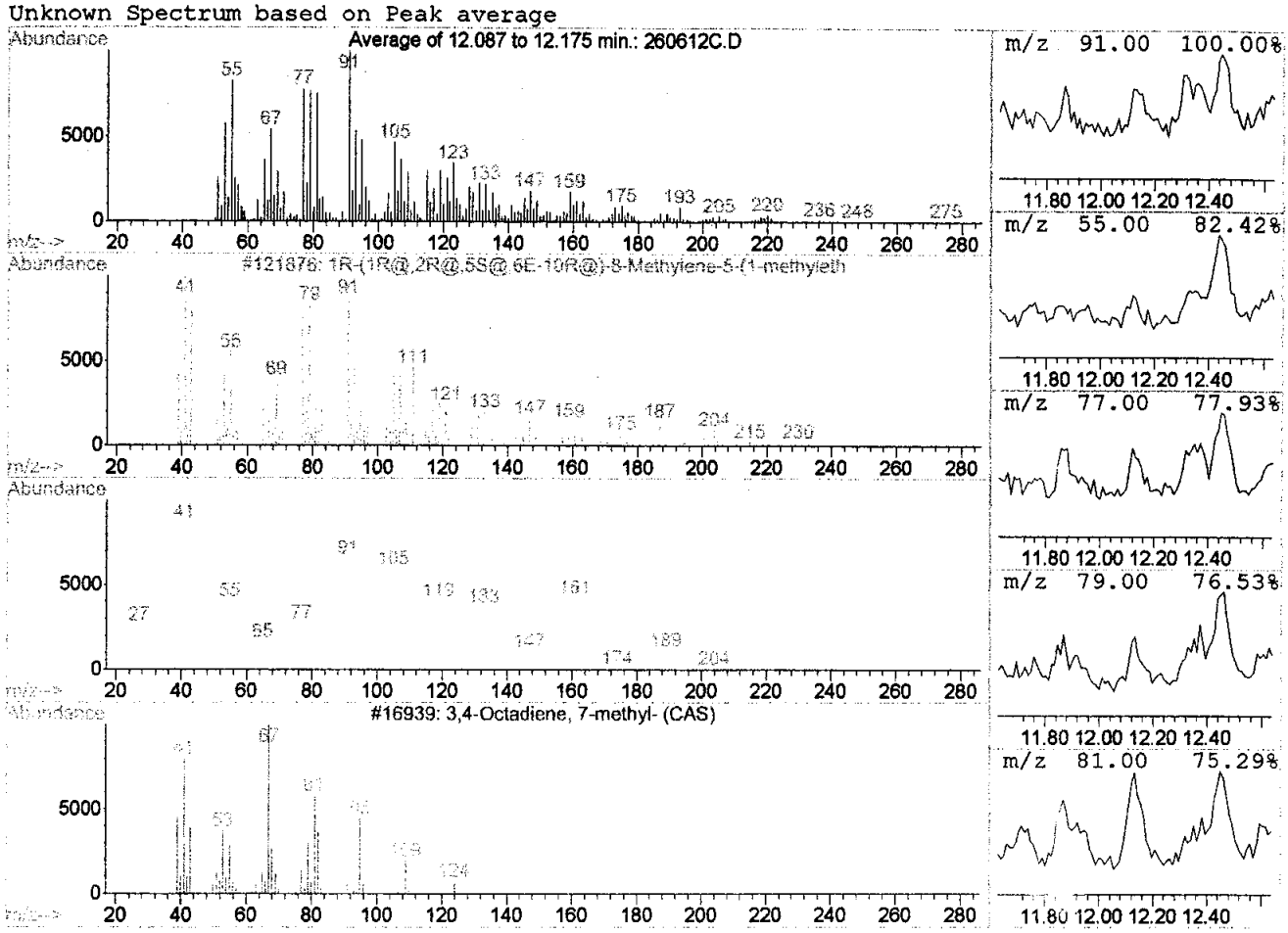
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 27 at 11.93 min Area: 7998824 Area % 1.35

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	83
2 4-12-HYDROXY ETHYL)SPIRO(2.3)HEX-4-	16760	070302-69-1	64
3 1R-(1R@,2R@,5S@,6E-10R@)-8-Methylen	121876	000000-00-0	58

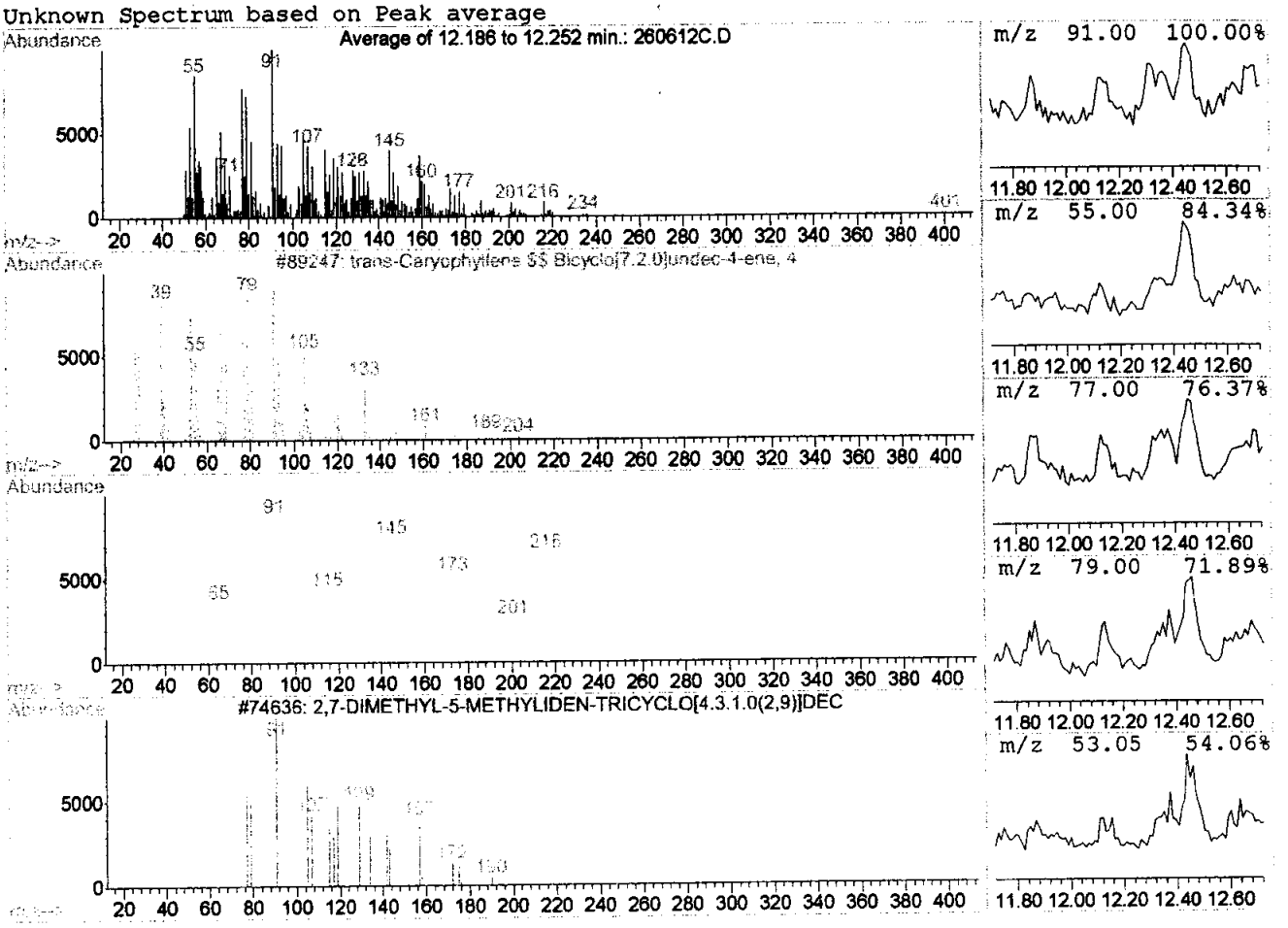
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 28 at 12.13 min Area: 9595162 Area % 1.63

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 1R-(1R@,2R@,5S@,6E-10R@)-8-Methylen	121876	000000-00-0	62
2 CIS,CIS,TRANS-3,3,6,6,9,9-HEXAMETHY	89558	056390-01-3	49
3 3,4-Octadiene, 7-methyl- (CAS)	16939	037050-05-8	46

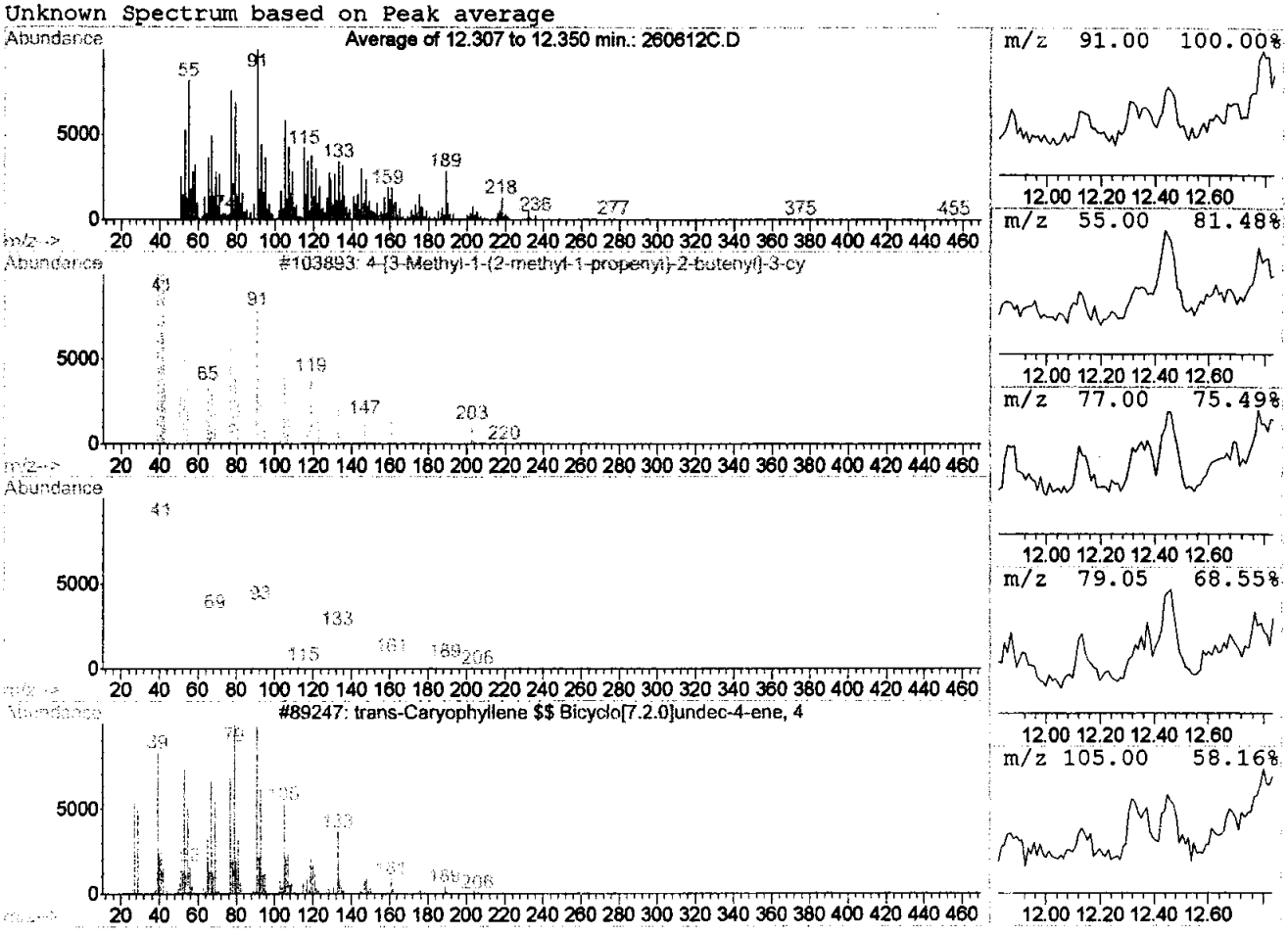
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 29 at 12.22 min Area: 4607937 Area % 0.78

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	90
2 1a.alpha.,6a.alpha.-Dimethyl-1.alph	101632	073037-02-2	83
3 2,7-DIMETHYL-5-METHYLIDEN-TRICYCLO[	74636	064738-91-6	55

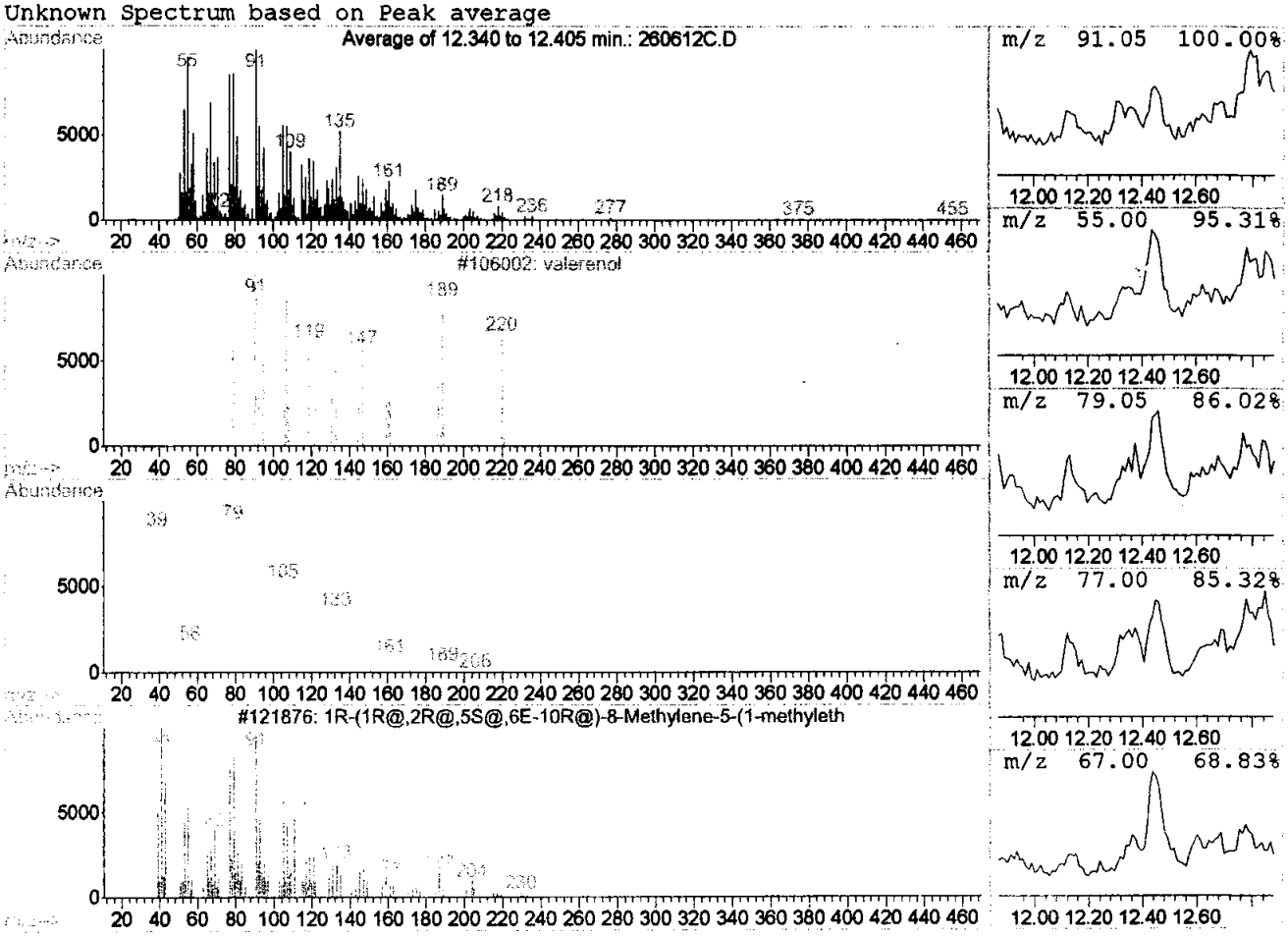
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 30 at 12.33 min Area: 5891258 Area % 1.00

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 4-[3-Methyl-1-(2-methyl-1-propenyl)	103893	129194-17-8	58
2 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89248	000087-44-5	49
3 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	46

Unknown Spectrum based on Peak average

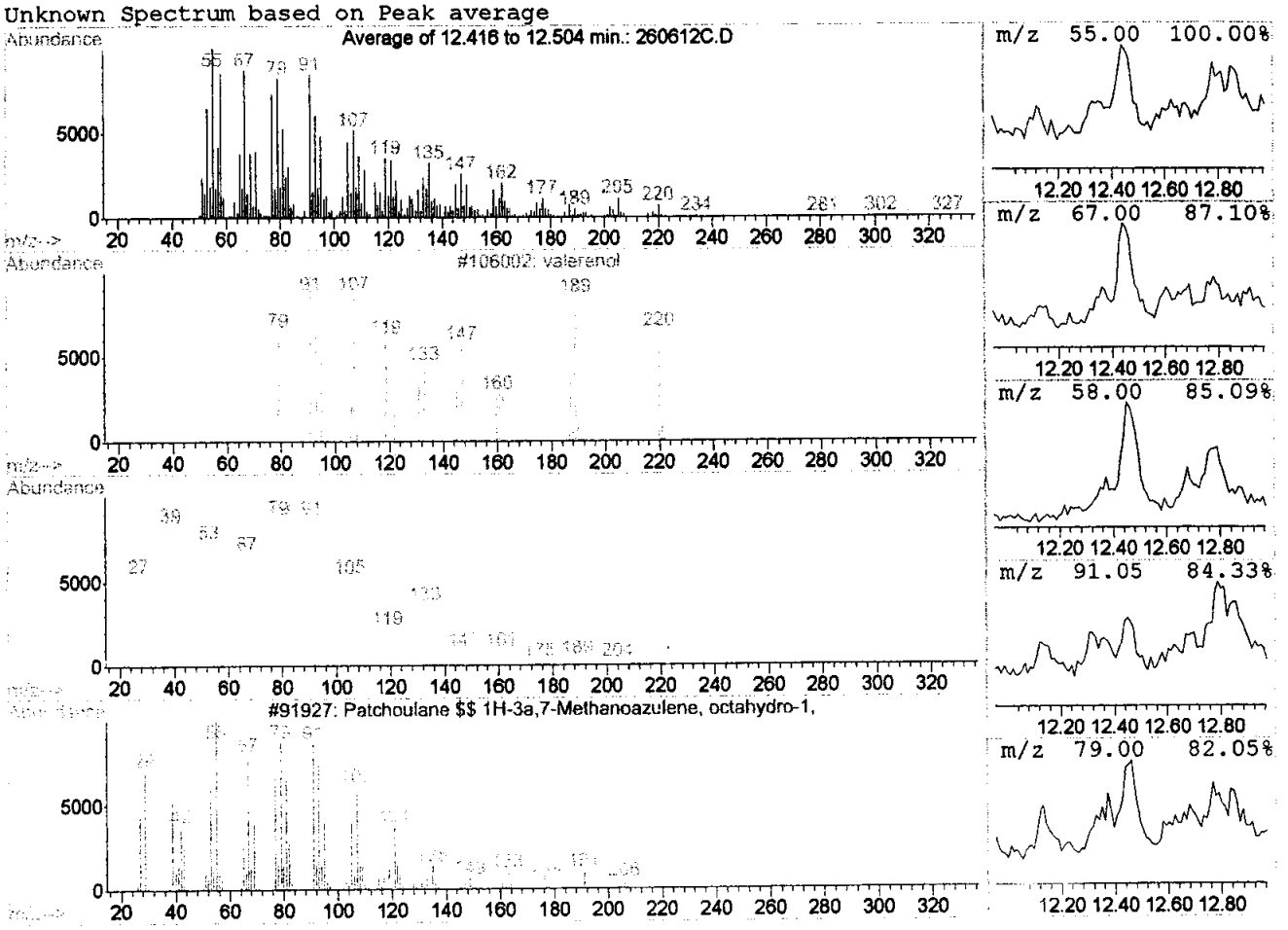


Peak Number: 31 at 12.37 min Area: 6997319 Area % 1.19

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 valerenol	106002	084249-42-3	95
2 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	64
3 1R-(1R@,2R@,5S@,6E-10R@)-8-Methylen	121876	000000-00-0	53

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

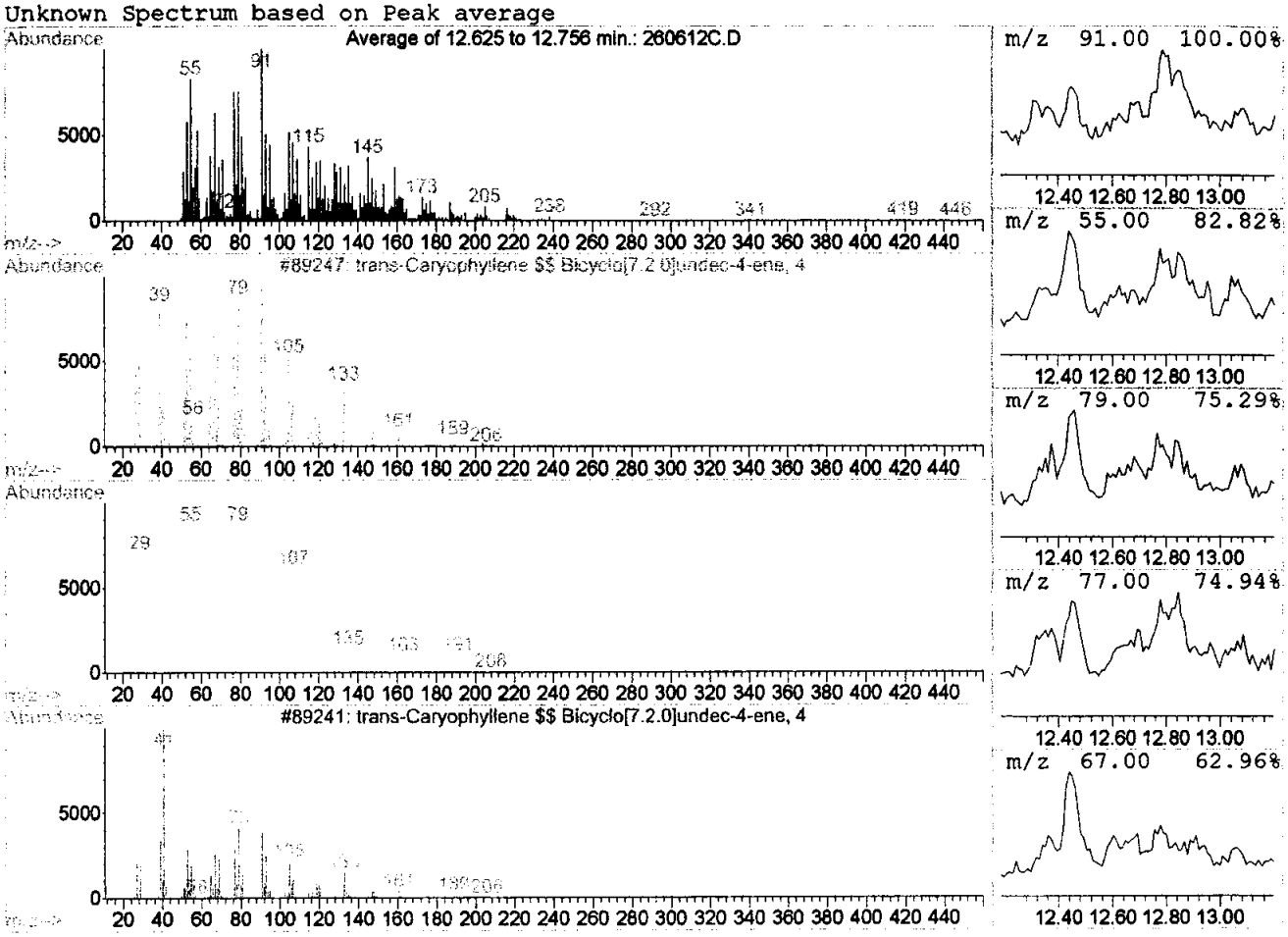
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 32 at 12.46 min Area: 15974137 Area % 2.71

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 valerenol	106002	084249-42-3	92
2 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	50
3 Patchoulane $$ 1H-3a,7-Methanoazule	91927	025491-20-7	49

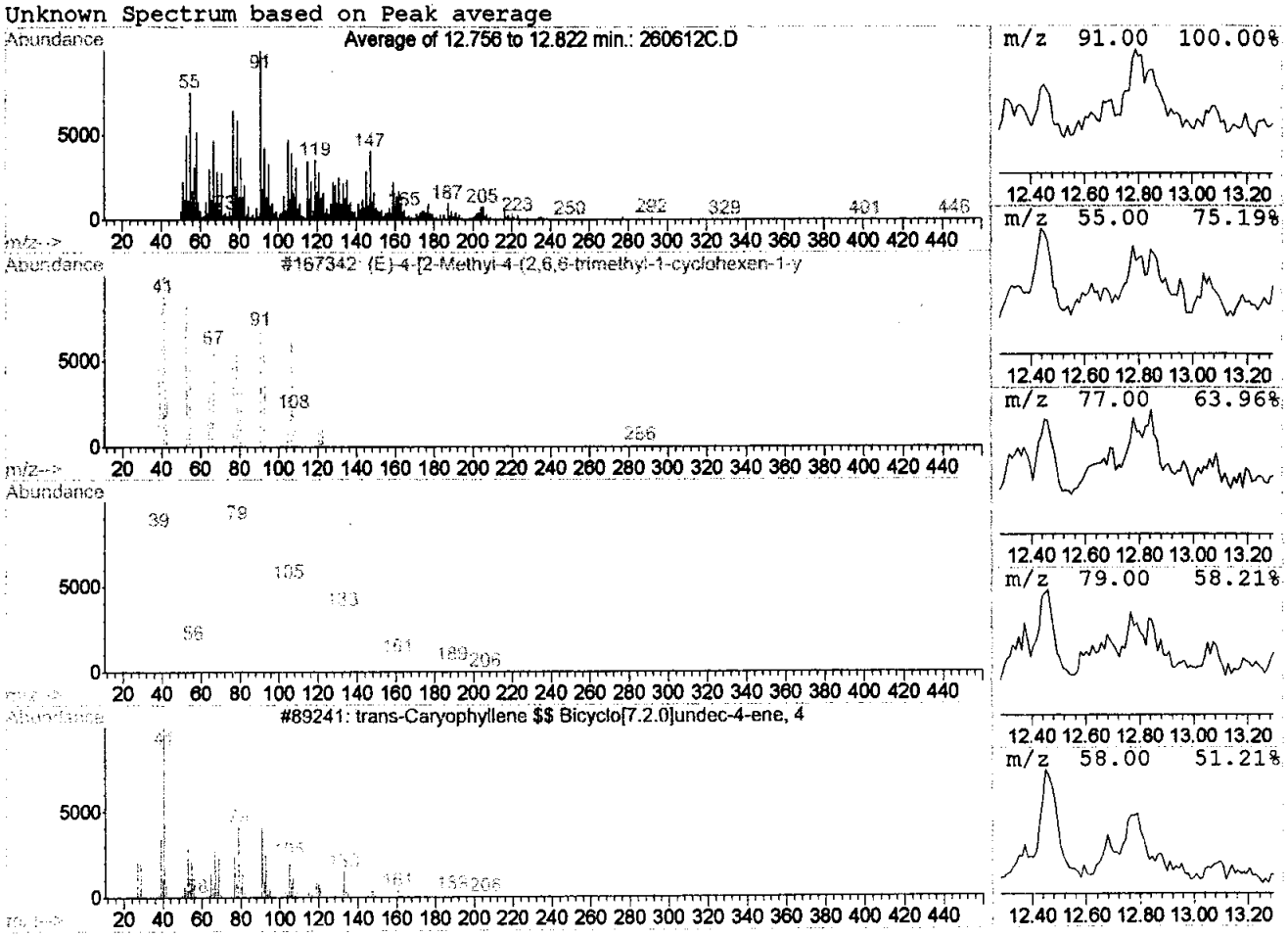
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 33 at 12.69 min Area: 16892008 Area % 2.86

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	90
2 Patchoulane $$ 1H-3a,7-Methanoazule	91927	025491-20-7	70
3 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89241	000087-44-5	58

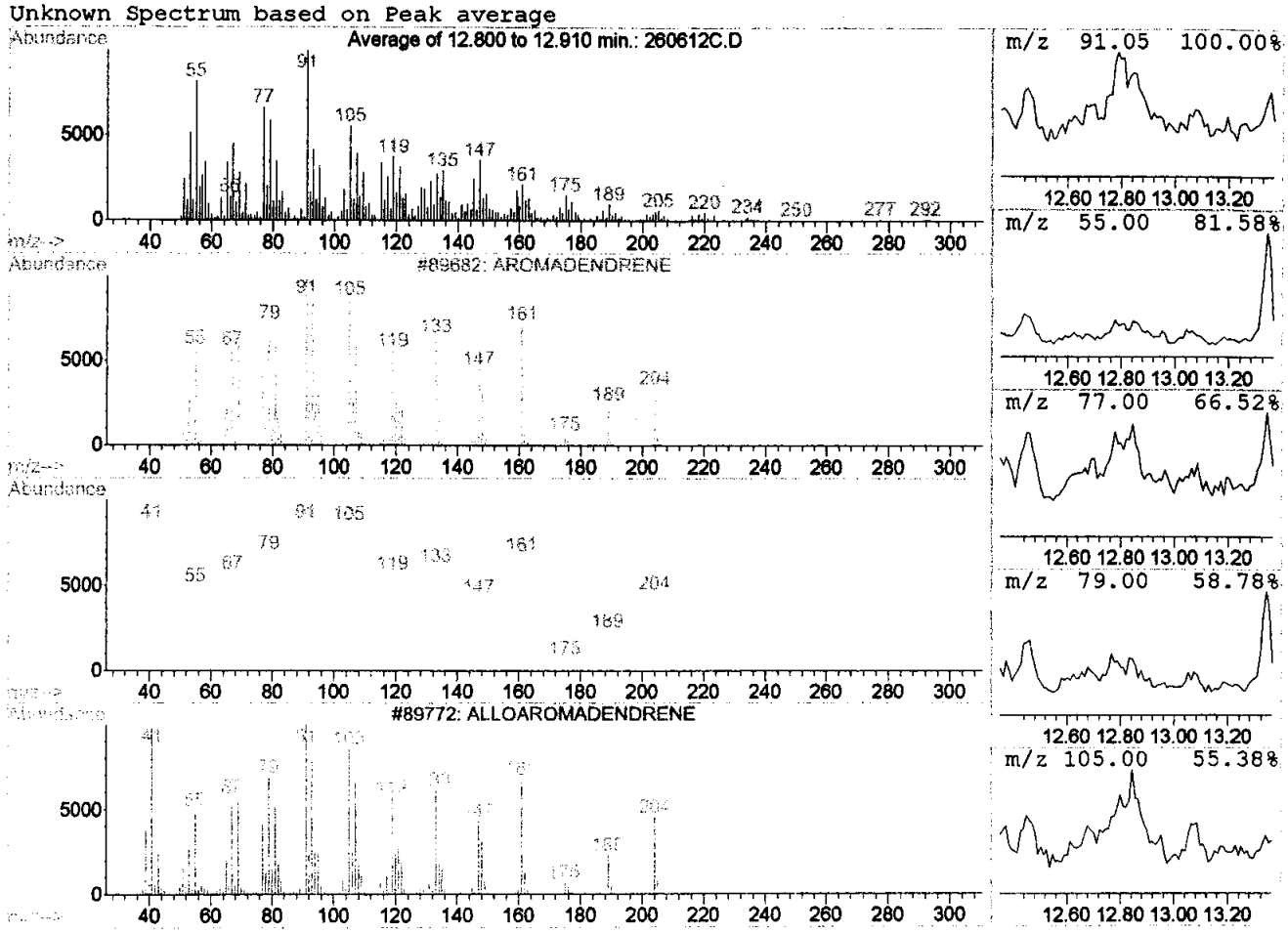
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 34 at 12.79 min Area: 13947596 Area % 2.36

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 (E)-4-[2-Methyl-4-(2,6,6-trimethyl-	167342	129194-20-3	38
2 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	38
3 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89241	000087-44-5	38

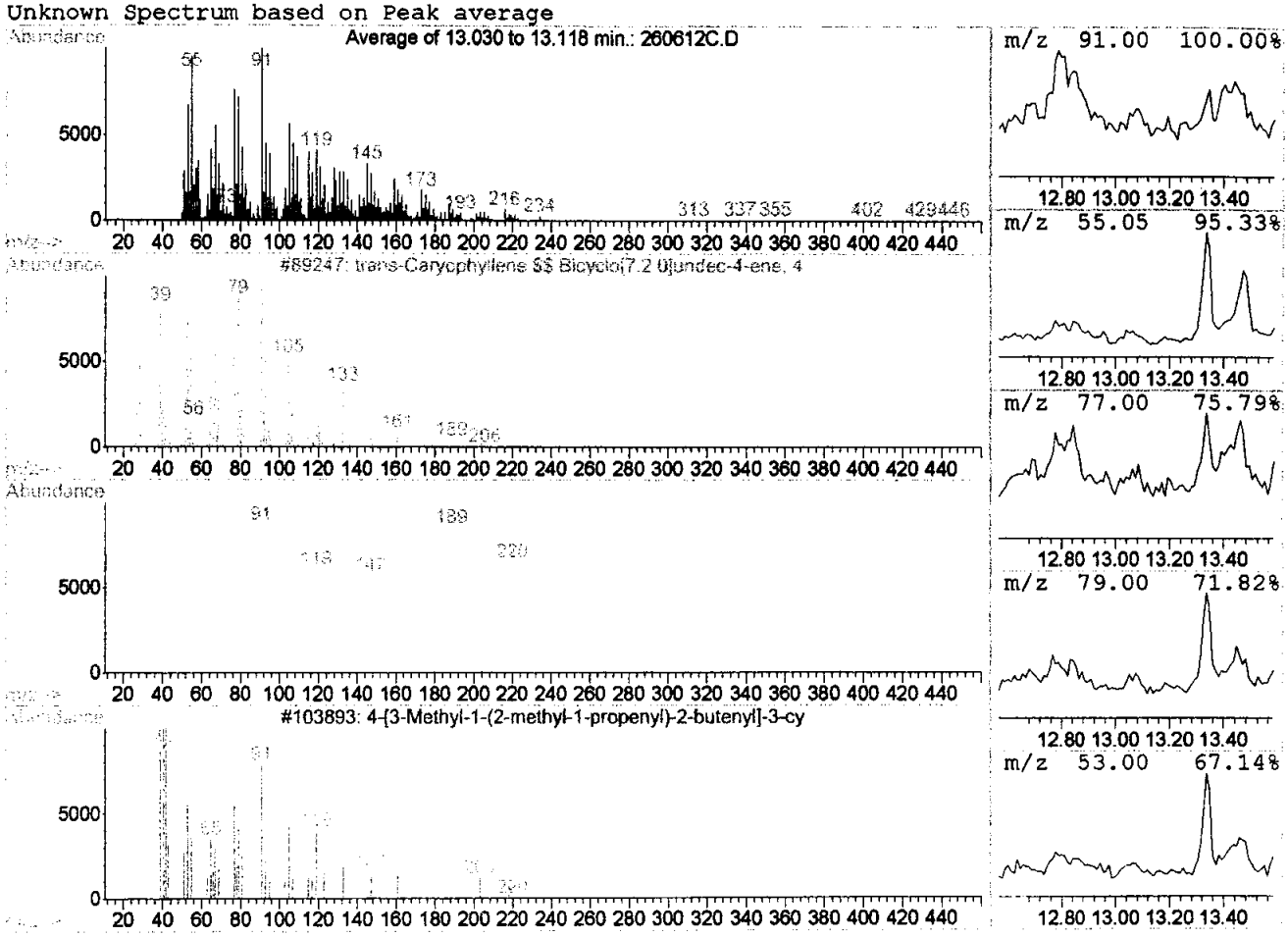
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 35 at 12.85 min Area: 19694453 Area % 3.34

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 AROMADENDRENE	89682	000489-39-4	68
2 Alloaromadendrene $$ 1H-Cycloprop[e	89480	025246-27-9	64
3 ALLOAROMADENDRENE	89772	000000-00-0	64

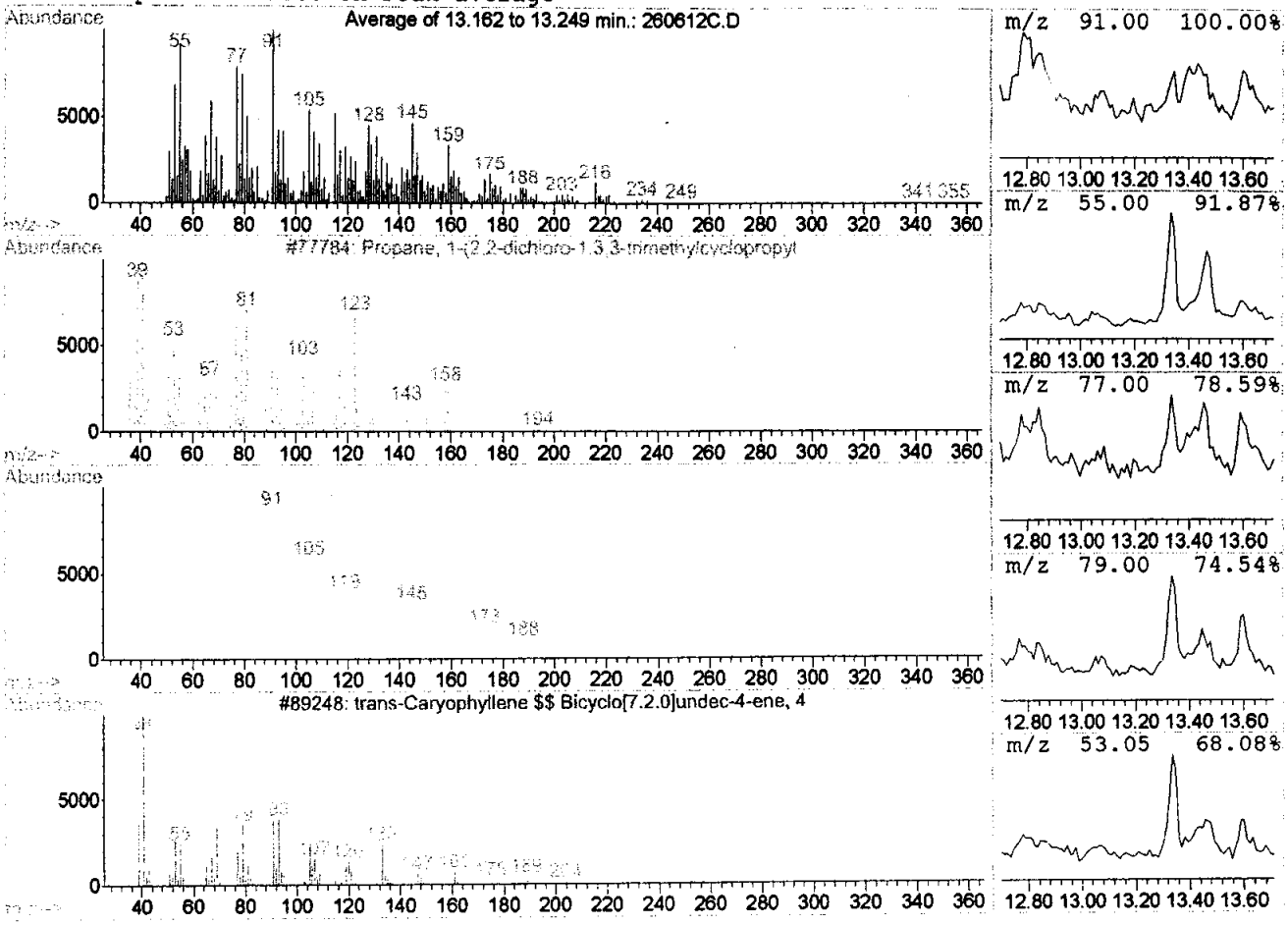
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 36 at 13.07 min Area: 12397065 Area % 2.10

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	78
2 valerenol	106002	084249-42-3	72
3 4-[3-Methyl-1-(2-methyl-1-propenyl)	103893	129194-17-8	50

Unknown Spectrum based on Peak average

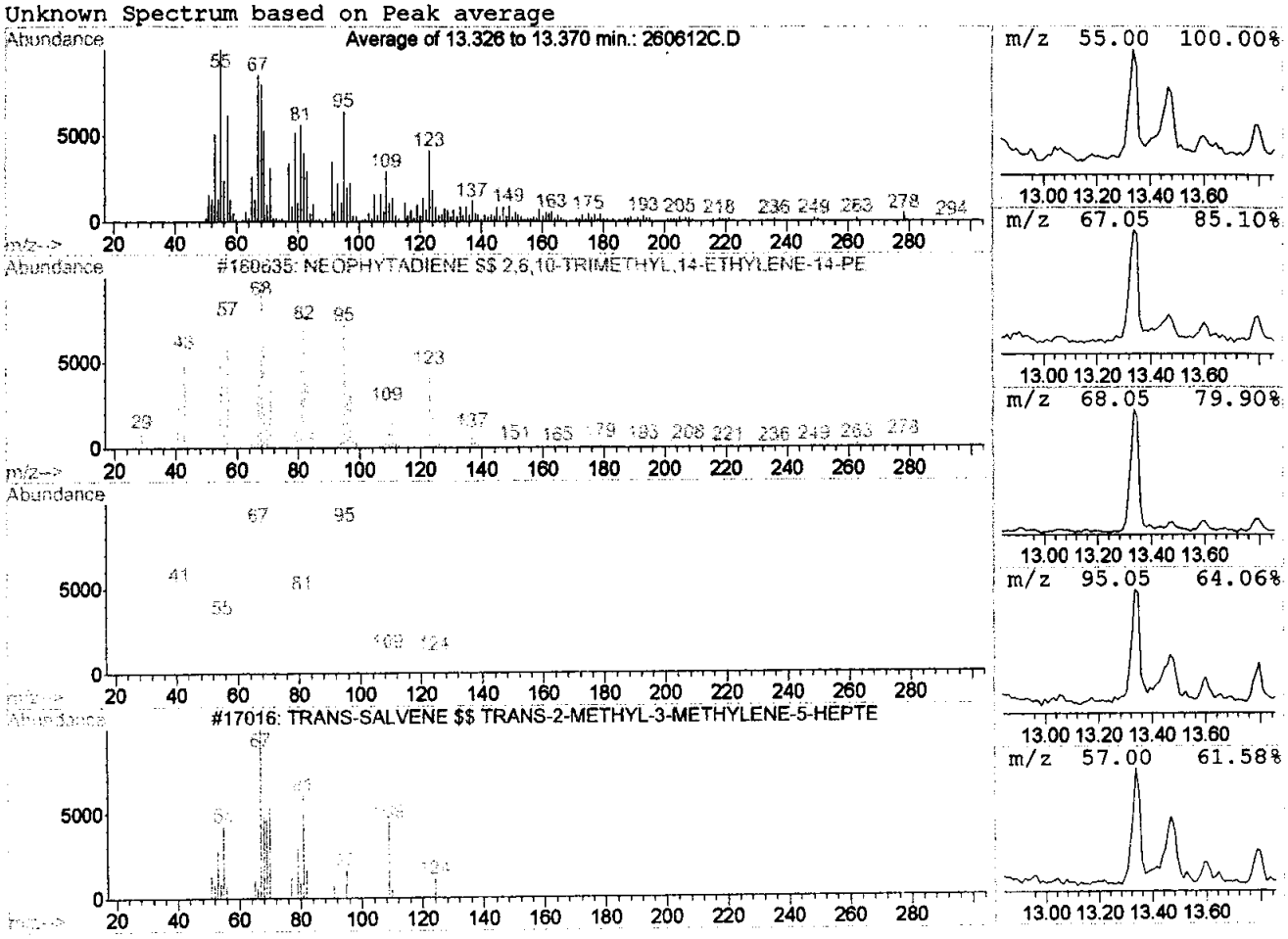


Peak Number: 37 at 13.21 min Area: 11148037 Area % 1.89

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 Propane, 1-(2,2-dichloro-1,3,3-trim	77784	024551-93-7	46
2 Mixture of trans,trans-1,3-Dimethyl	73051	066405-18-3	46
3 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89248	000087-44-5	46

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

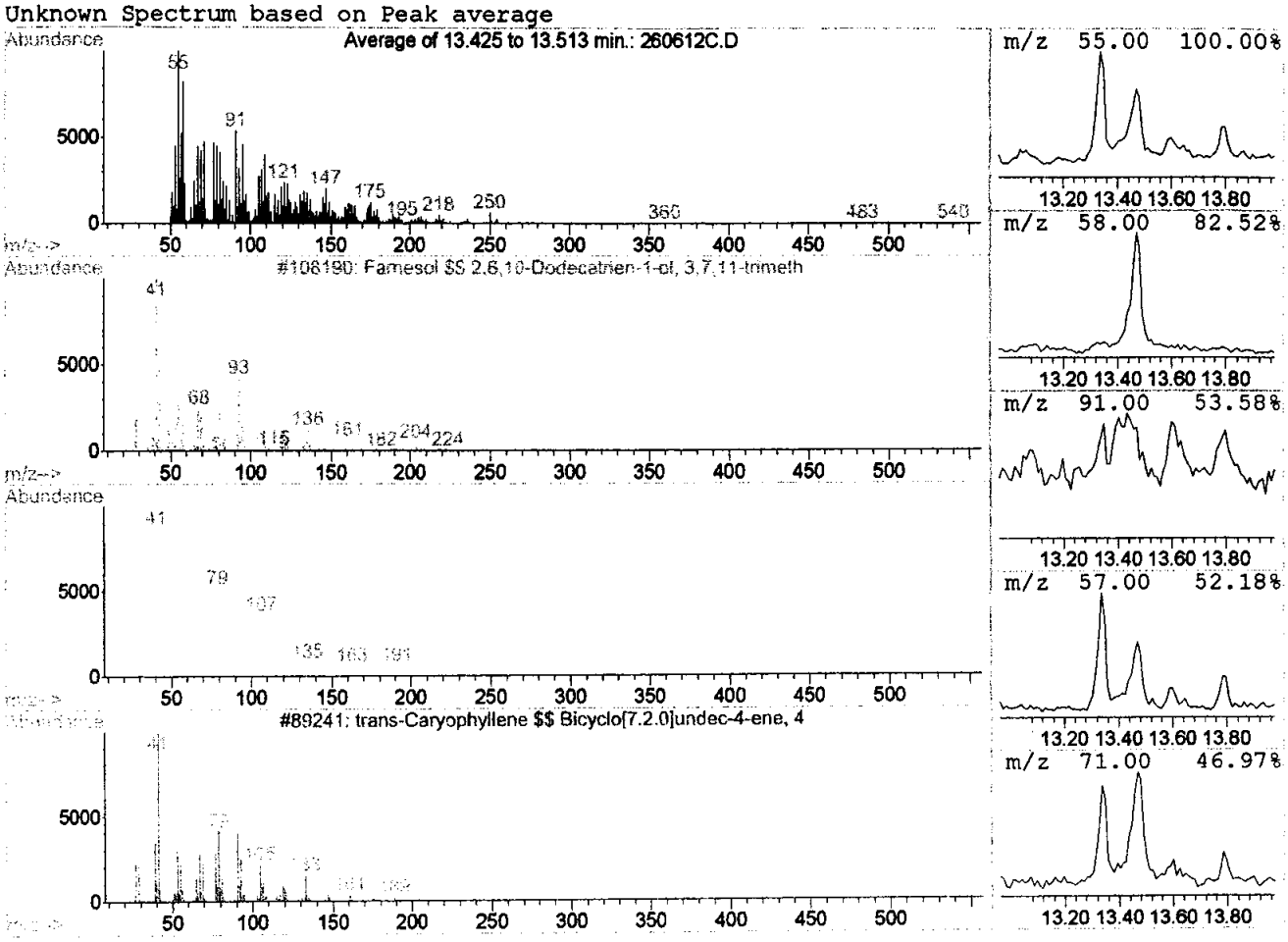


Peak Number: 38 at 13.35 min Area: 18044708 Area % 3.06

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 NEOPHYTADIENE $$ 2,6,10-TRIMETHYL,1	160635	000000-00-0	94
2 3-Nonyne (CAS) $$ 3-C9H16	16909	020184-89-8	49
3 TRANS-SALVENE $$ TRANS-2-METHYL-3-M	17016	000000-00-0	49

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

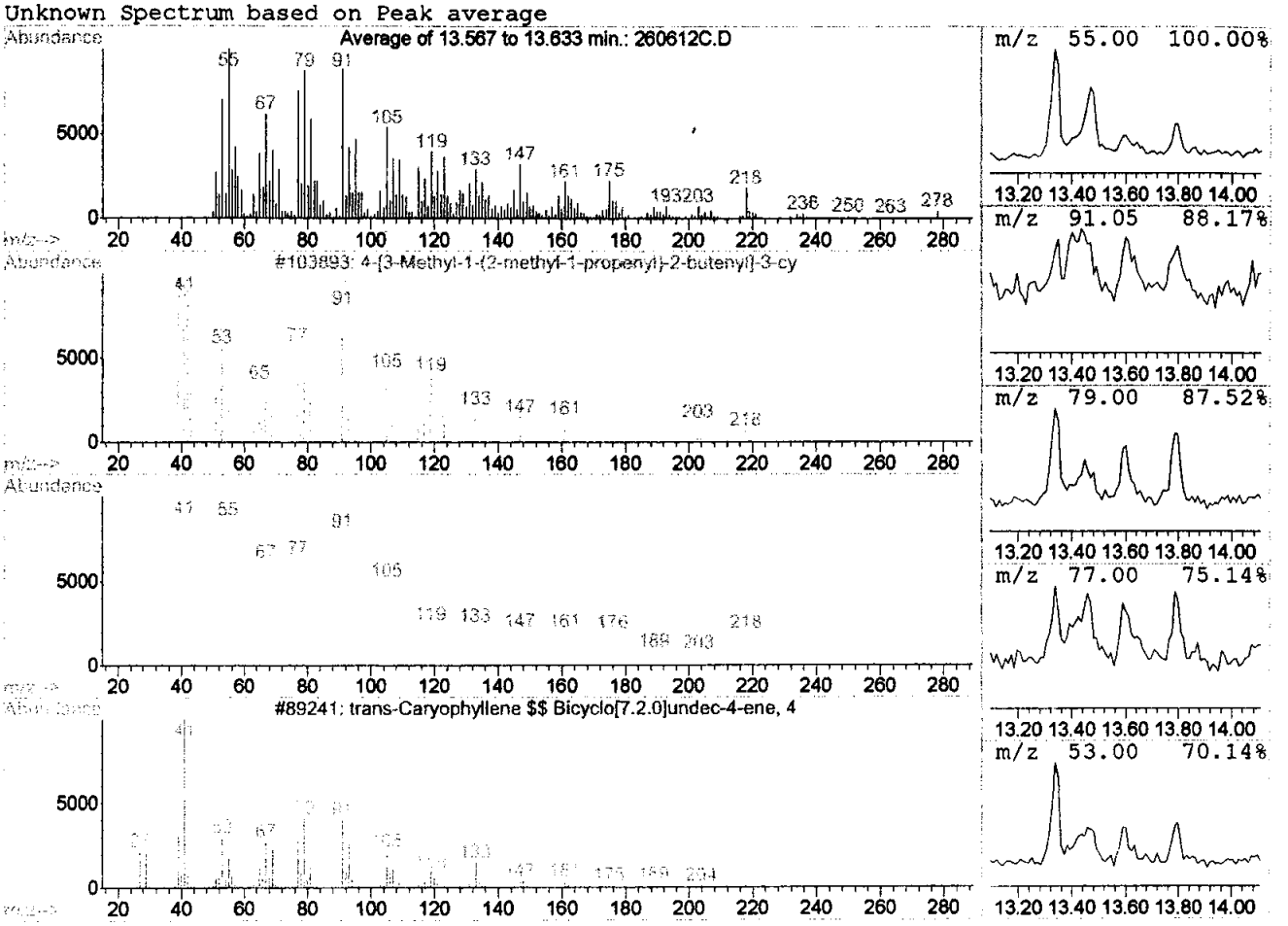


Peak Number: 39 at 13.47 min Area: 29098219 Area % 4.93

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 Farnesol $$ 2,6,10-Dodecatrien-1-ol	108190	004602-84-0	50
2 Patchulane $$ 1H-3a,7-Methanoazulen	91928	019078-35-4	45
3 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89241	000087-44-5	38

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

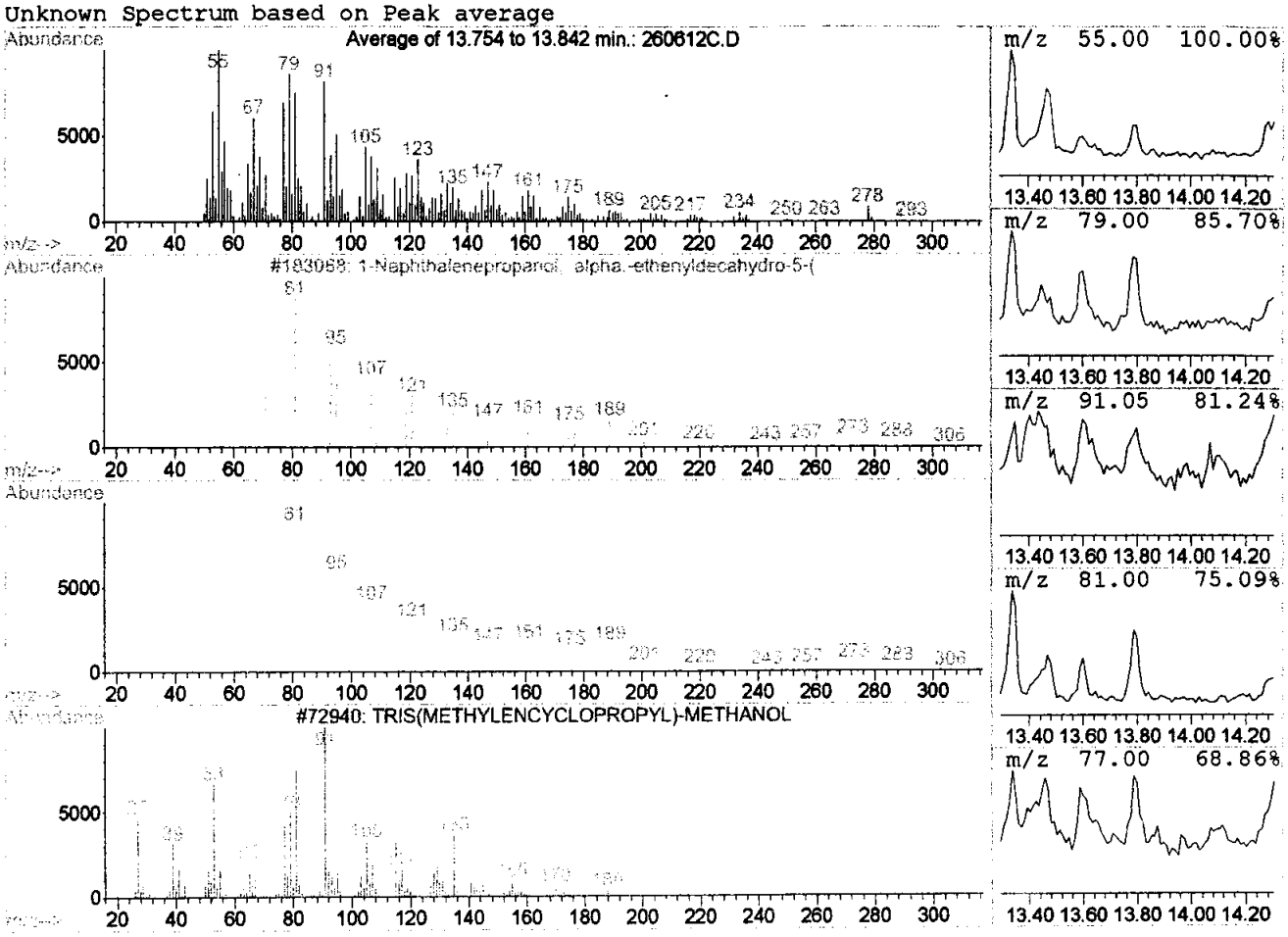


Peak Number: 40 at 13.60 min Area: 15581750 Area % 2.64

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 4-[3-Methyl-1-(2-methyl-1-propenyl)	103893	129194-17-8	43
2 (+)-Vitrenal $$ (1R,6R,7S,10R)-Vitr	103766	077283-84-2	41
3 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89241	000087-44-5	38

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

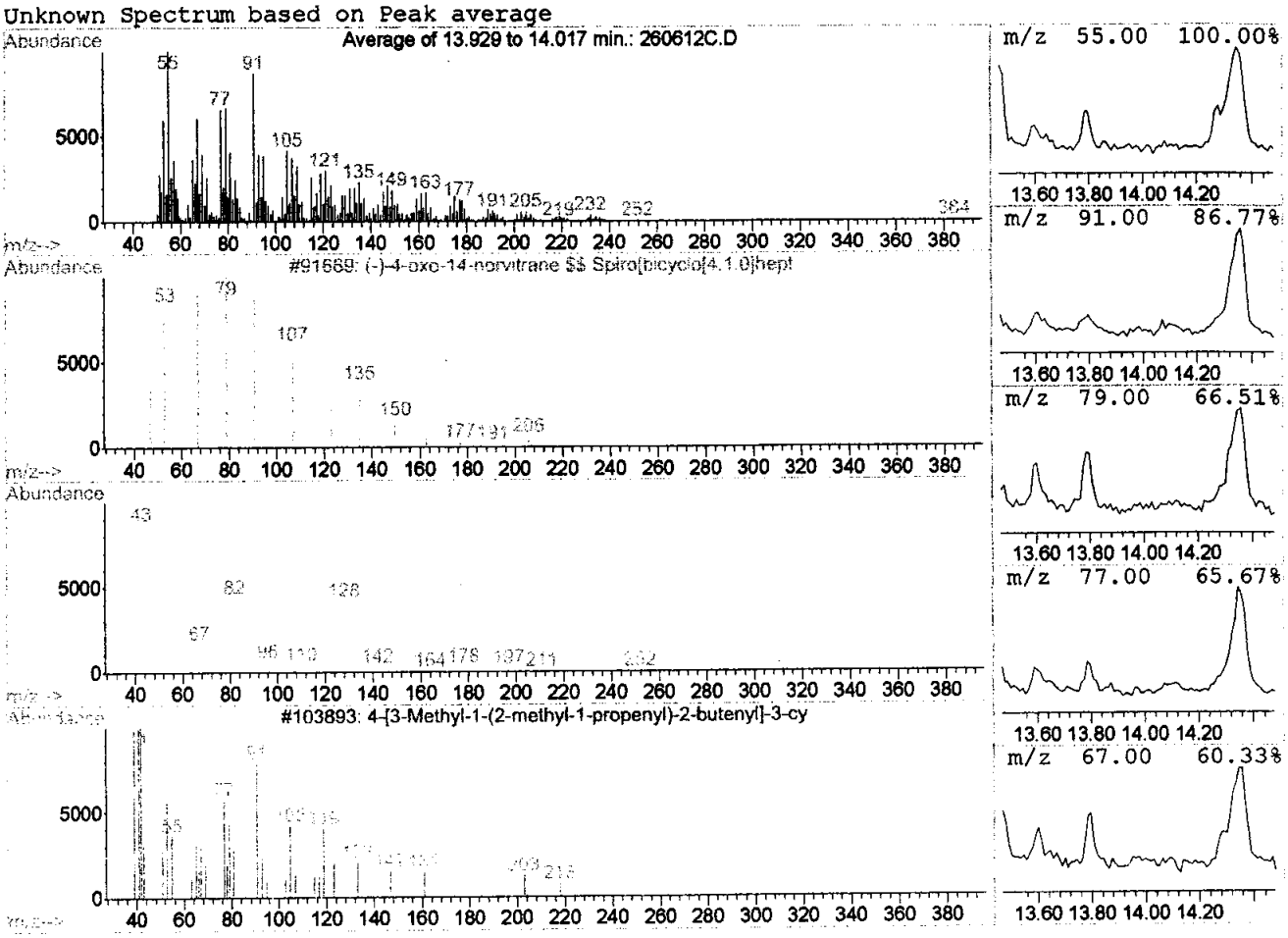


Peak Number: 41 at 13.80 min Area: 18199489 Area % 3.08

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 1-Naphthalenepropanol, .alpha.-ethe	183068	004549-12-6	53
2 1-Naphthalenepropanol, .alpha.-ethe	183067	004549-12-6	49
3 TRIS(METHYLENCYCLOPROPYL)-METHANOL	72940	000000-00-0	49

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

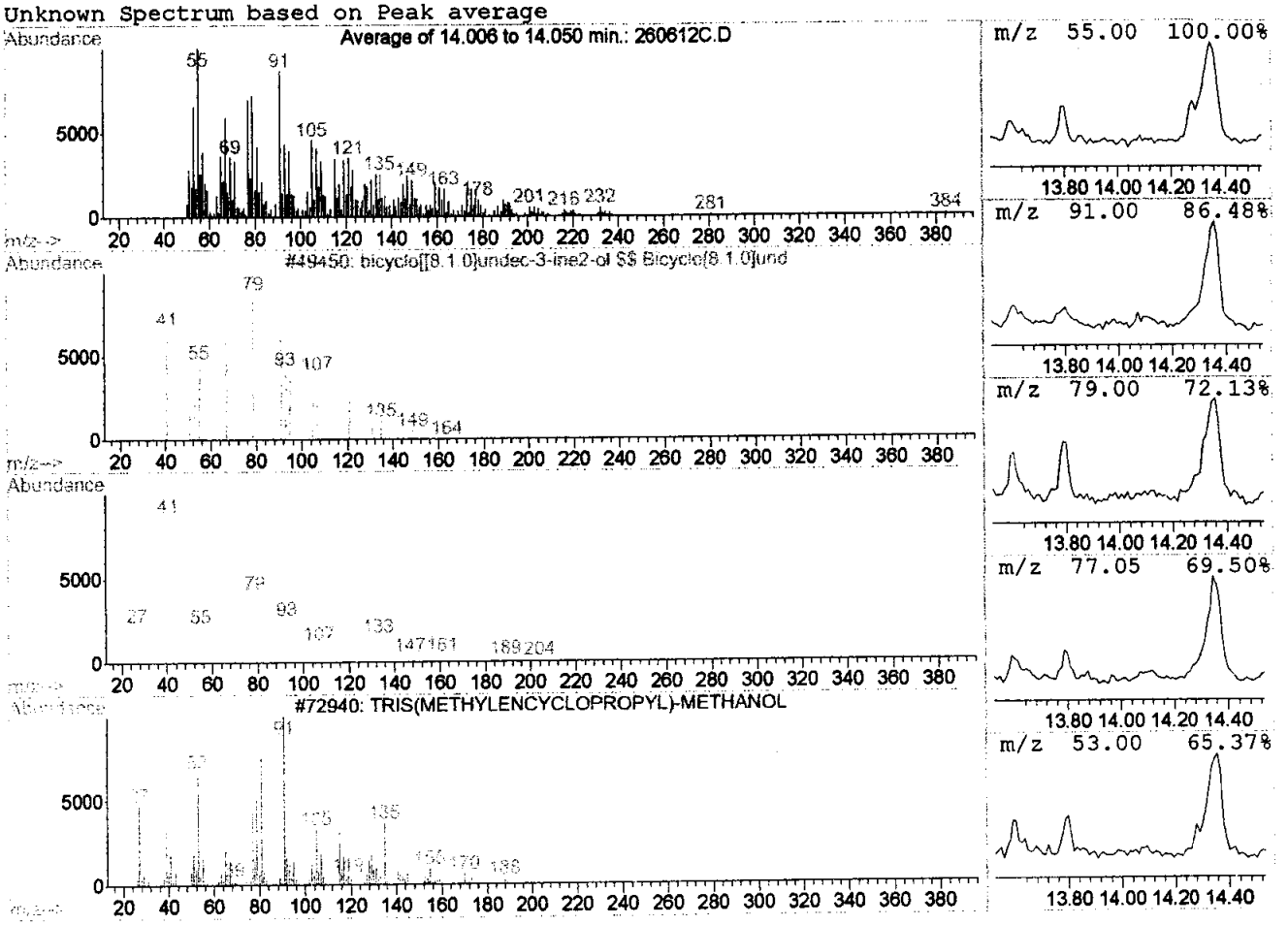


Peak Number: 42 at 13.97 min Area: 6288749 Area % 1.07

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 (-)-4-oxo-14-norvitrane $$ Spiro[bi	91669	077284-02-7	86
2 Acetamide, N-methyl-N-[4-[4-[2-hydr	136971	000000-00-0	49
3 4-[3-Methyl-1-(2-methyl-1-propenyl)	103893	129194-17-8	46

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

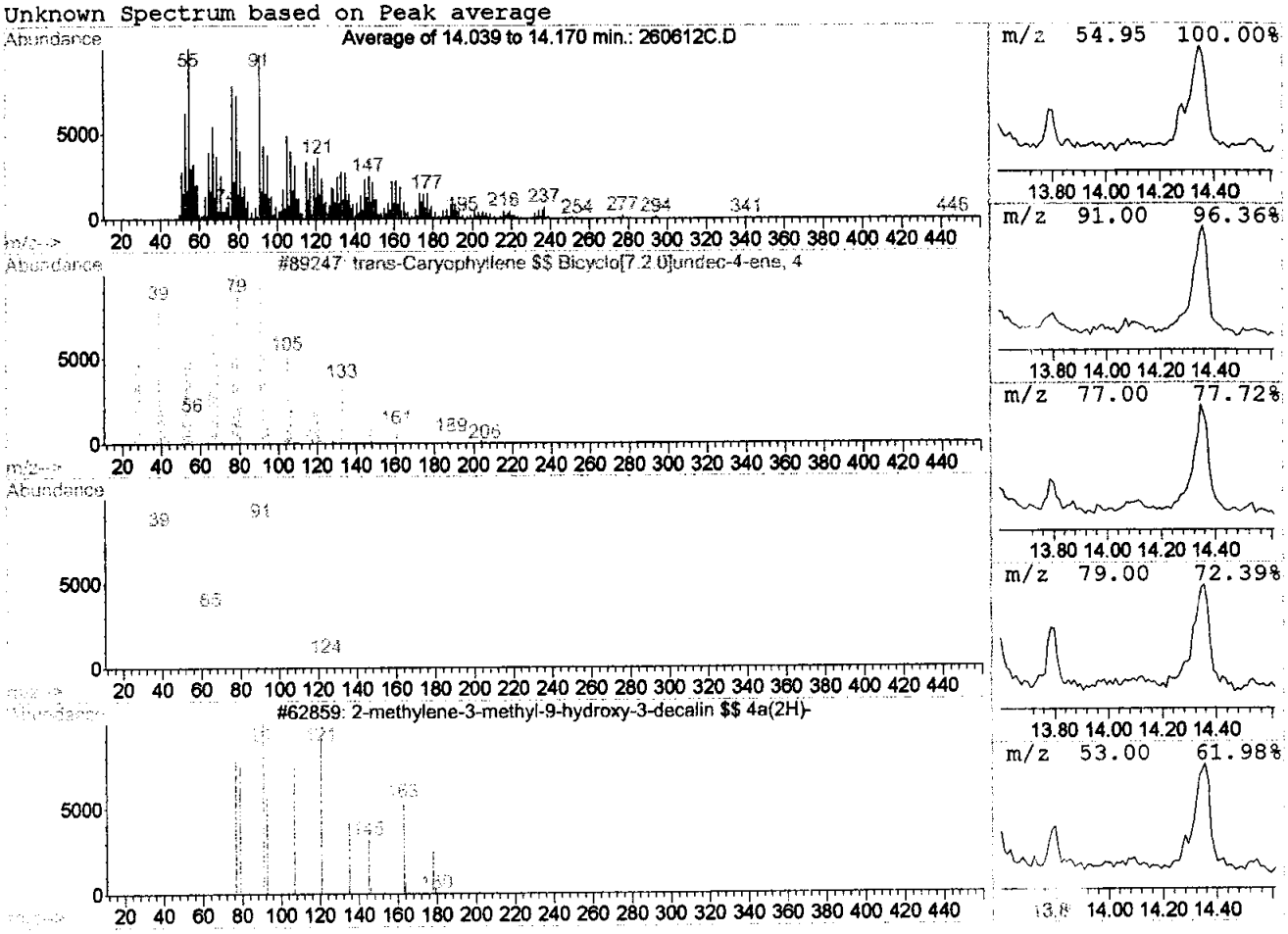
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 43 at 14.03 min Area: 3378784 Area % 0.57

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 bicyclo[[8.1.0]undec-3-ine2-ol $$ B	49450	108869-49-4	49
2 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89241	000087-44-5	46
3 TRIS(METHYLENCYCLOPROPYL)-METHANOL	72940	000000-00-0	30

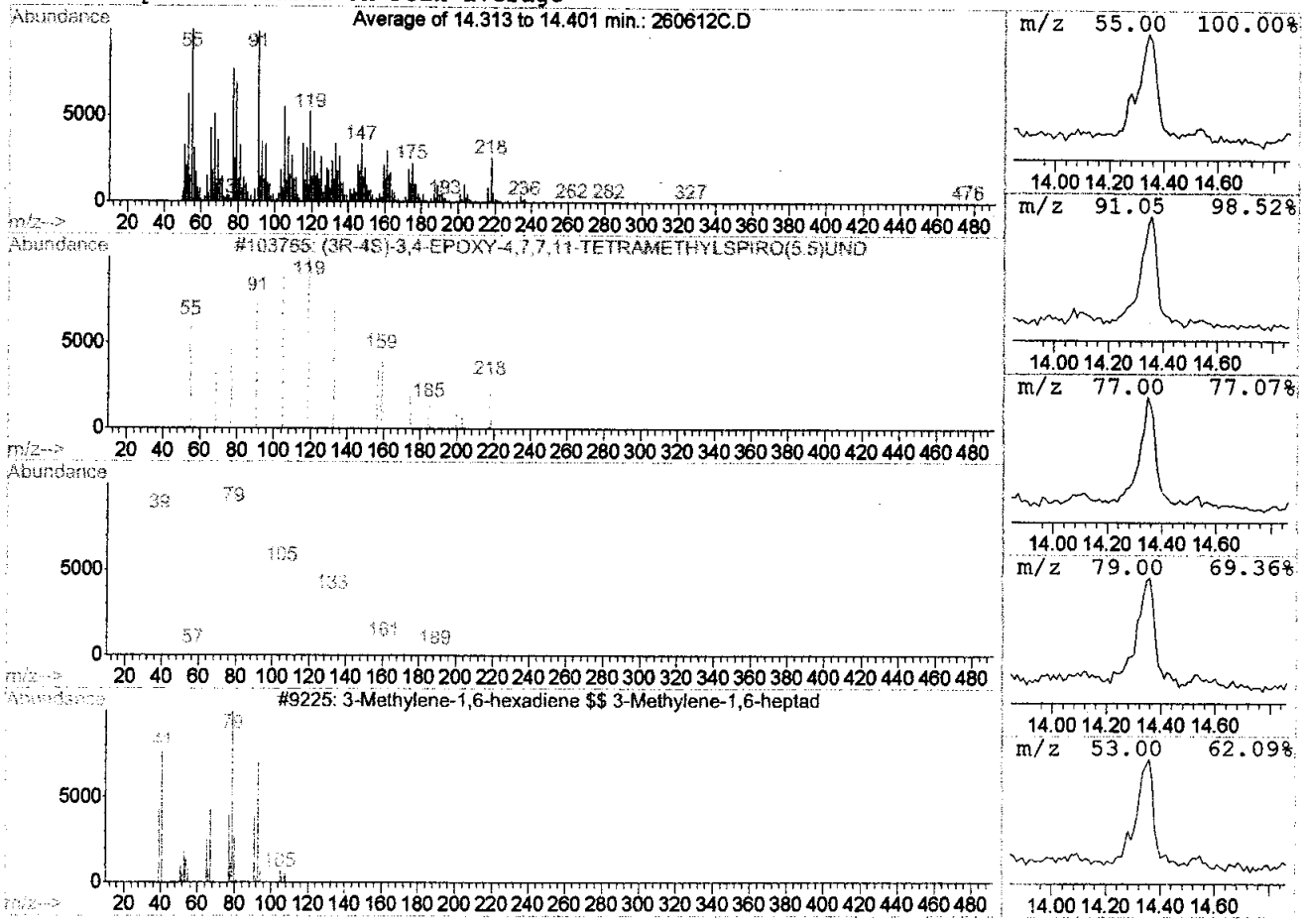
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 44 at 14.10 min Area: 15329154 Area % 2.60

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	78
2 4-12-HYDROXY ETHYL)SPIRO(2.3)HEX-4-	16760	070302-69-1	58
3 2-methylene-3-methyl-9-hydroxy-3-de	62859	094922-23-3	43

Unknown Spectrum based on Peak average

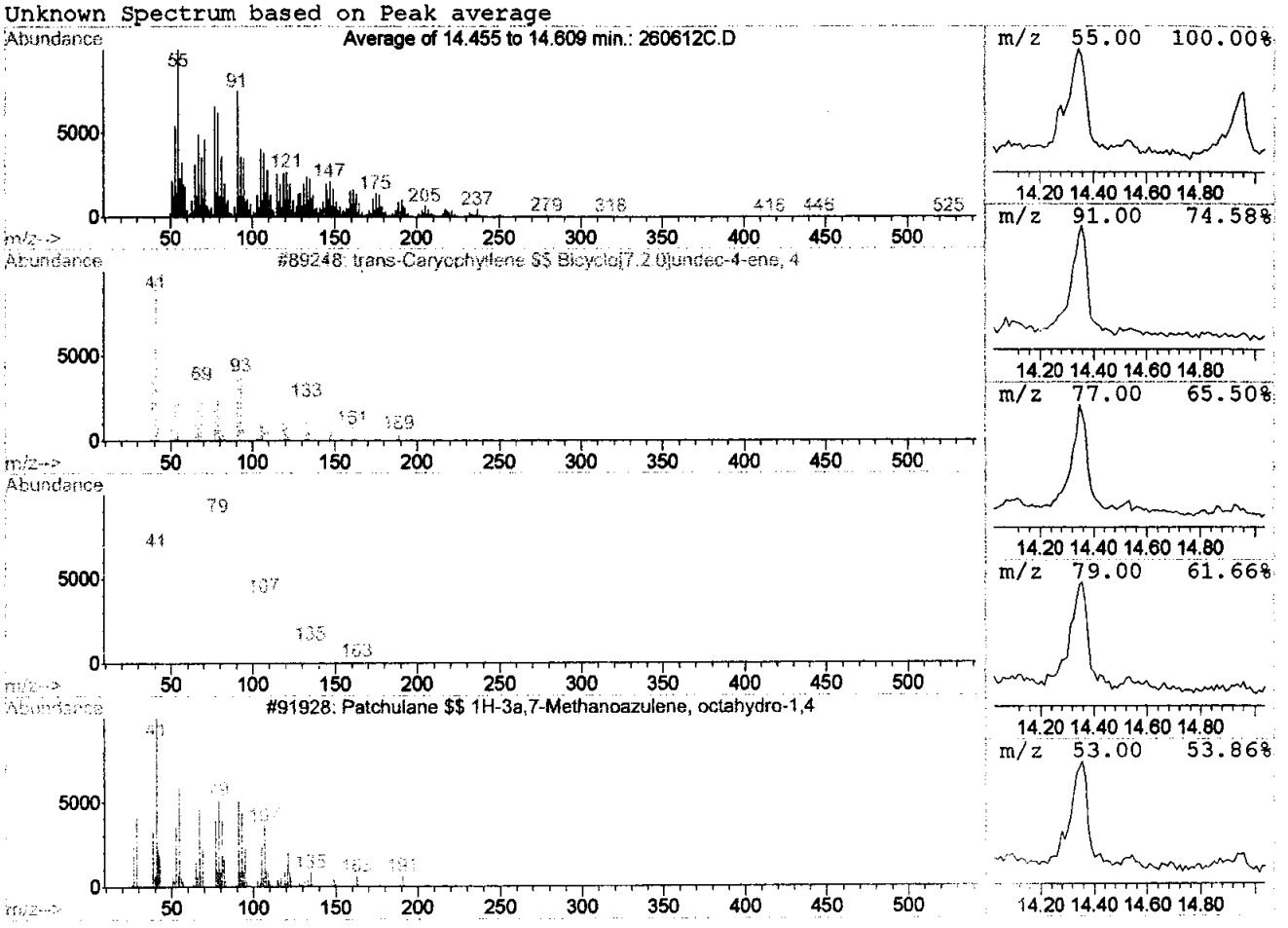


Peak Number: 45 at 14.36 min Area: 46290680 Area % 7.84

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 (3R-4S)-3,4-EPOXY-4,7,7,11-TETRAMET	103765	000000-00-0	38
2 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	35
3 3-Methylene-1,6-hexadiene $$ 3-Meth	9225	016626-48-5	30

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

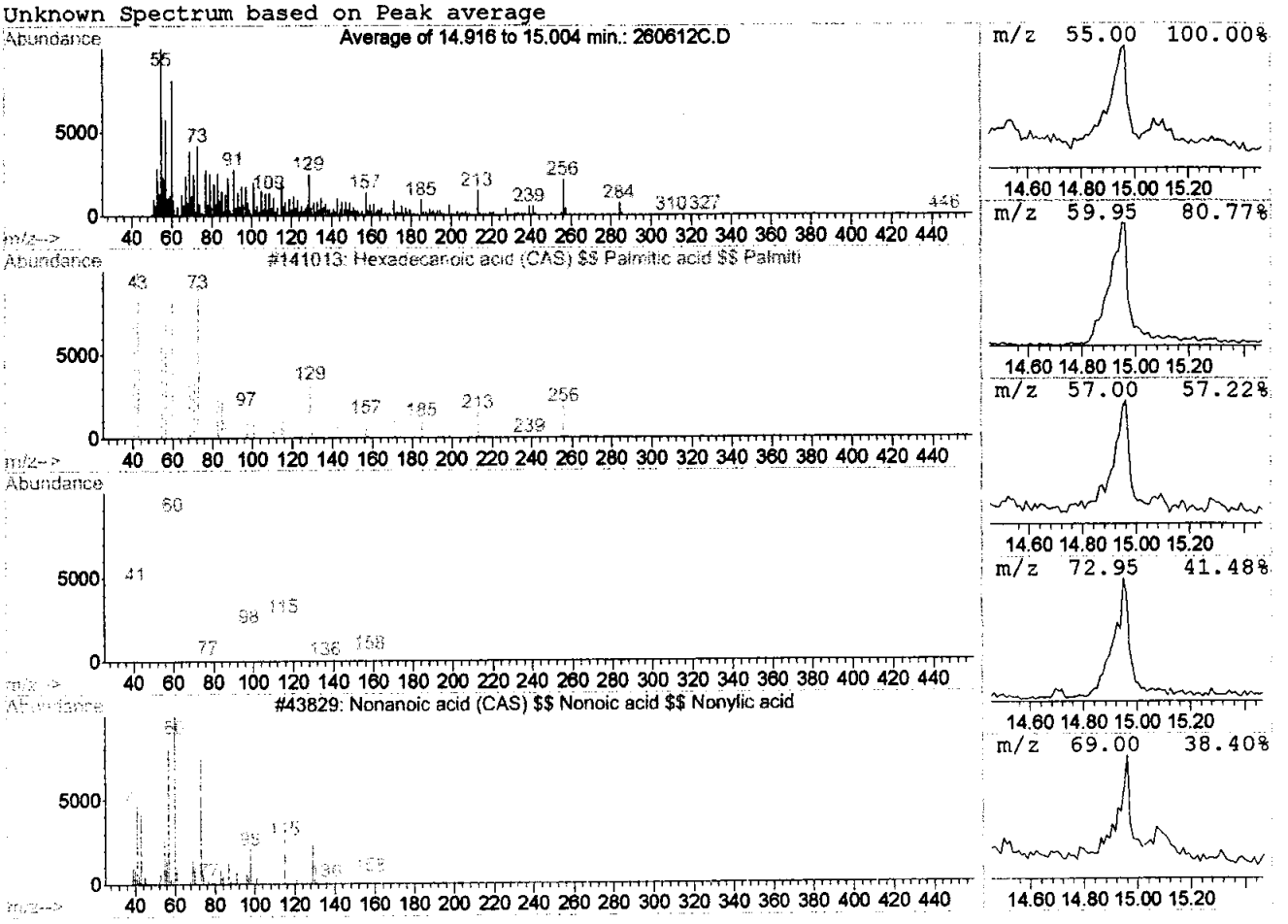


Peak Number: 46 at 14.53 min Area: 18454833 Area % 3.13

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89248	000087-44-5	60
2 bicyclo[[8.1.0]undec-3-ine2-ol $$ B	49450	108869-49-4	52
3 Patchulane $$ 1H-3a,7-Methanoazulen	91928	019078-35-4	46

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

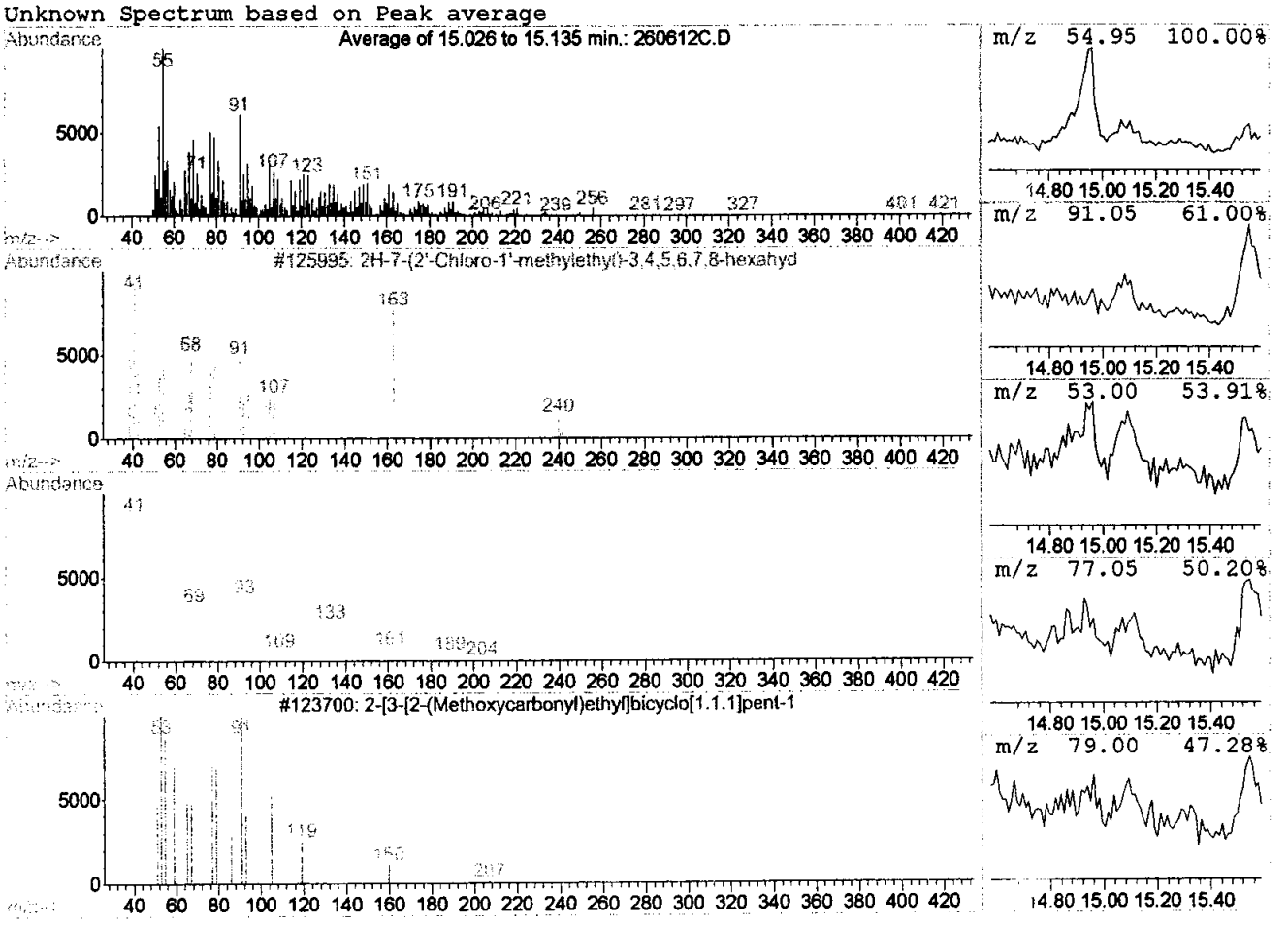


Peak Number: 47 at 14.96 min Area: 21088546 Area % 3.57

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 Hexadecanoic acid (CAS) $$ Palmitic	141013	000057-10-3	49
2 NONANOIC ACID	44057	000000-00-0	46
3 Nonanoic acid (CAS) $$ Nonoic acid	43829	000112-05-0	46

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

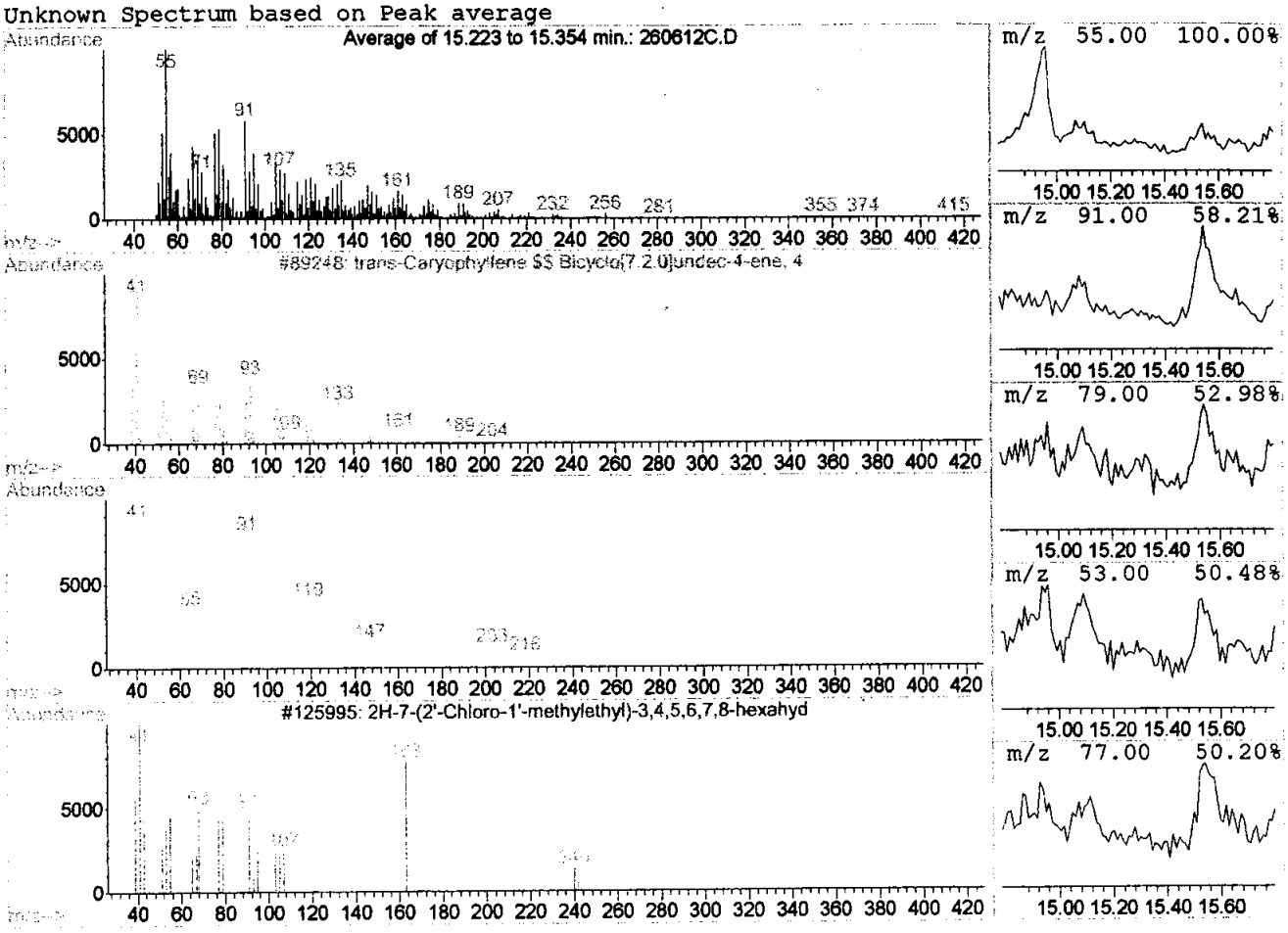
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 48 at 15.08 min Area: 11247824 Area % 1.91

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 2H-7-(2'-Chloro-1'-methylethyl)-3,4	125995	071616-17-6	58
2 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89248	000087-44-5	53
3 2-[3-[2-(Methoxycarbonyl)ethyl]bicy	123700	000000-00-0	50

Unknown Spectrum based on Peak average

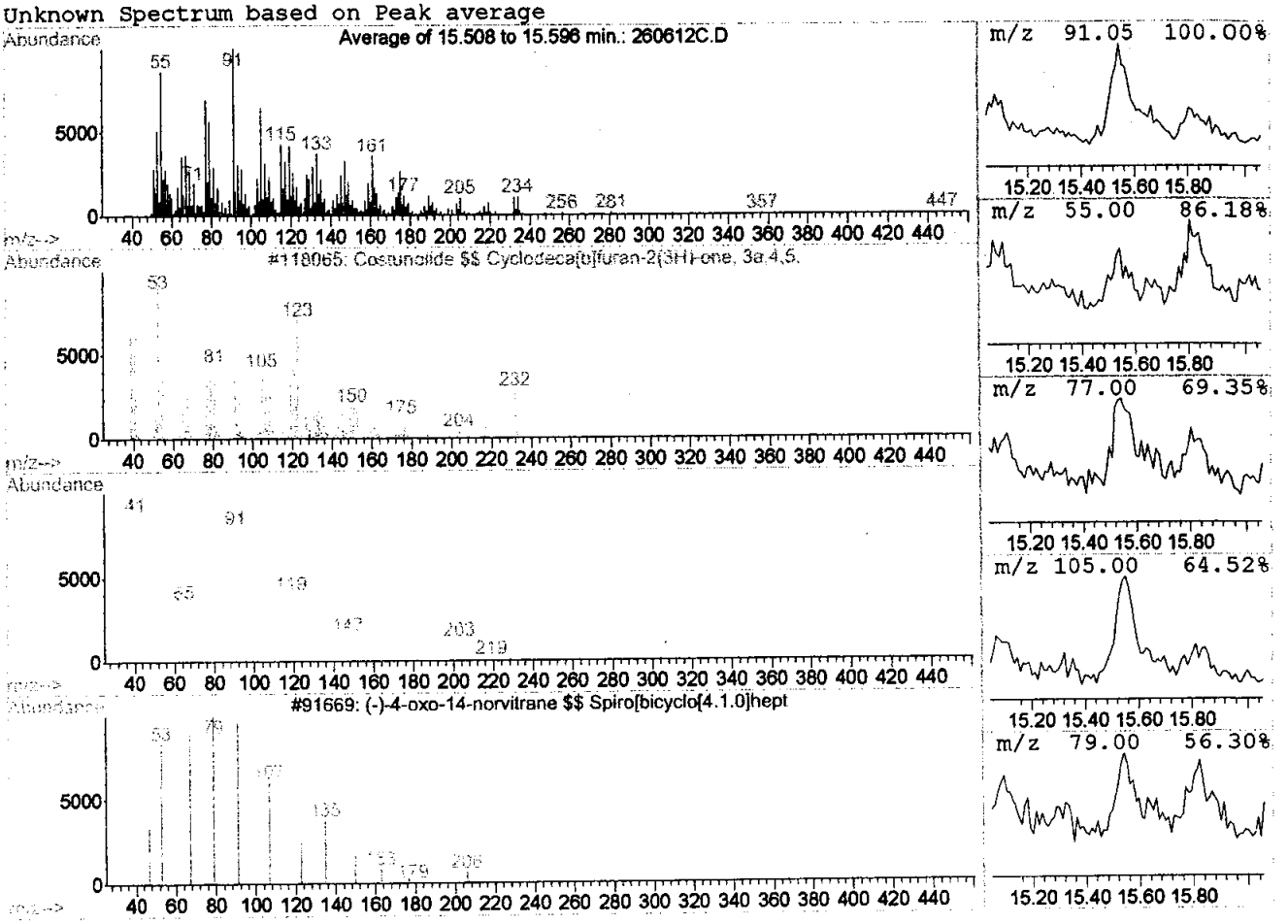


Peak Number: 49 at 15.29 min Area: 7448525 Area % 1.26

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89248	000087-44-5	55
2 4-[3-Methyl-1-(2-methyl-1-propenyl)	103893	129194-17-8	50
3 2H-7-(2'-Chloro-1'-methylethyl)-3,4	125995	071616-17-6	49

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average



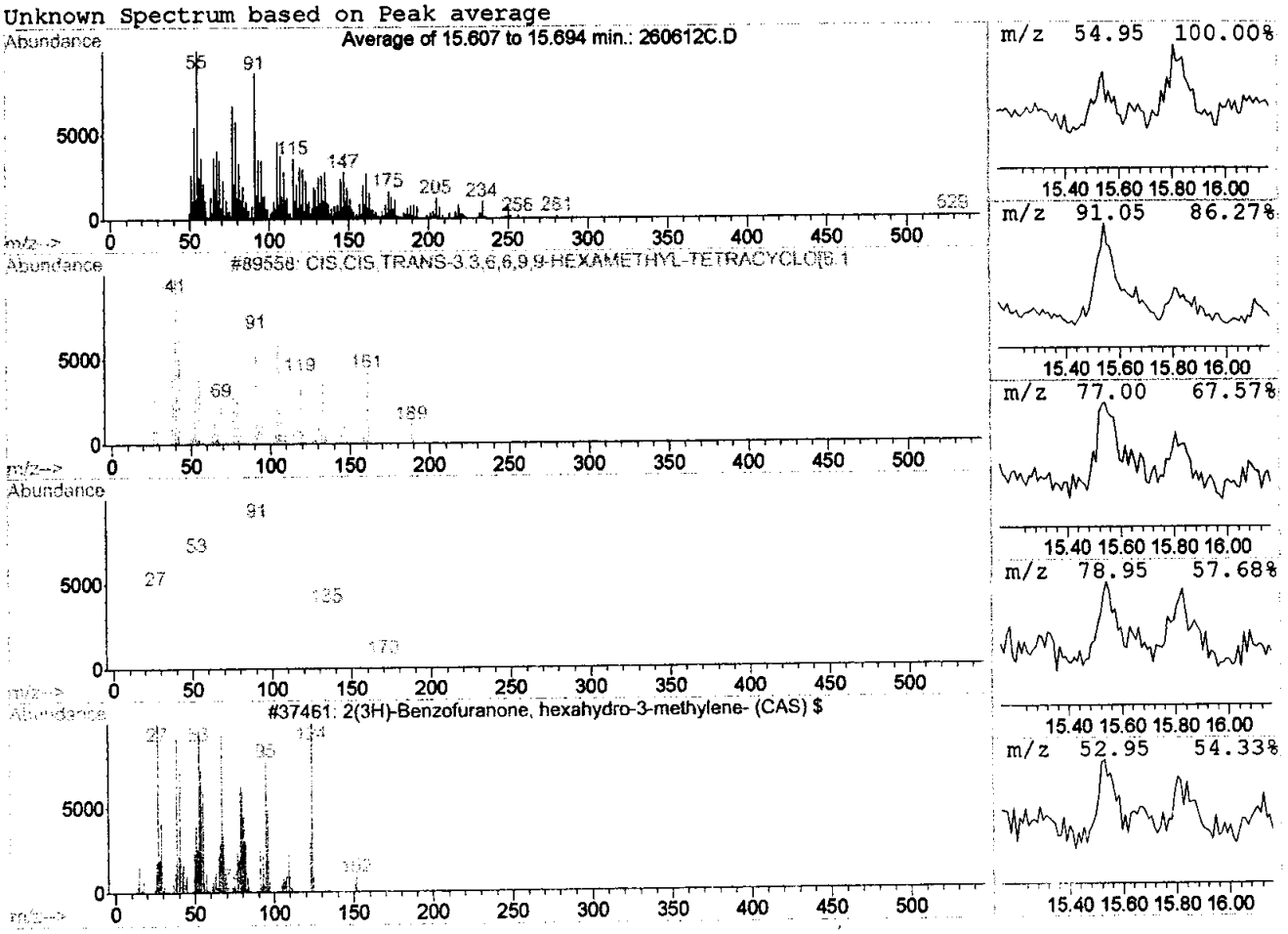
Peak Number: 50 at 15.55 min Area: 11326064 Area % 1.92

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 Costunolide $$ Cyclodeca[b]furan-2(	118065	000553-21-9	53
2 4-[3-Methyl-1-(2-methyl-1-propenyl)	103893	129194-17-8	43
3 (-)-4-oxo-14-norvitrane $$ Spiro[bi	91669	077284-02-7	43

260612C.D FRAG1.M Tue Jun 26 15:14:26 2012

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

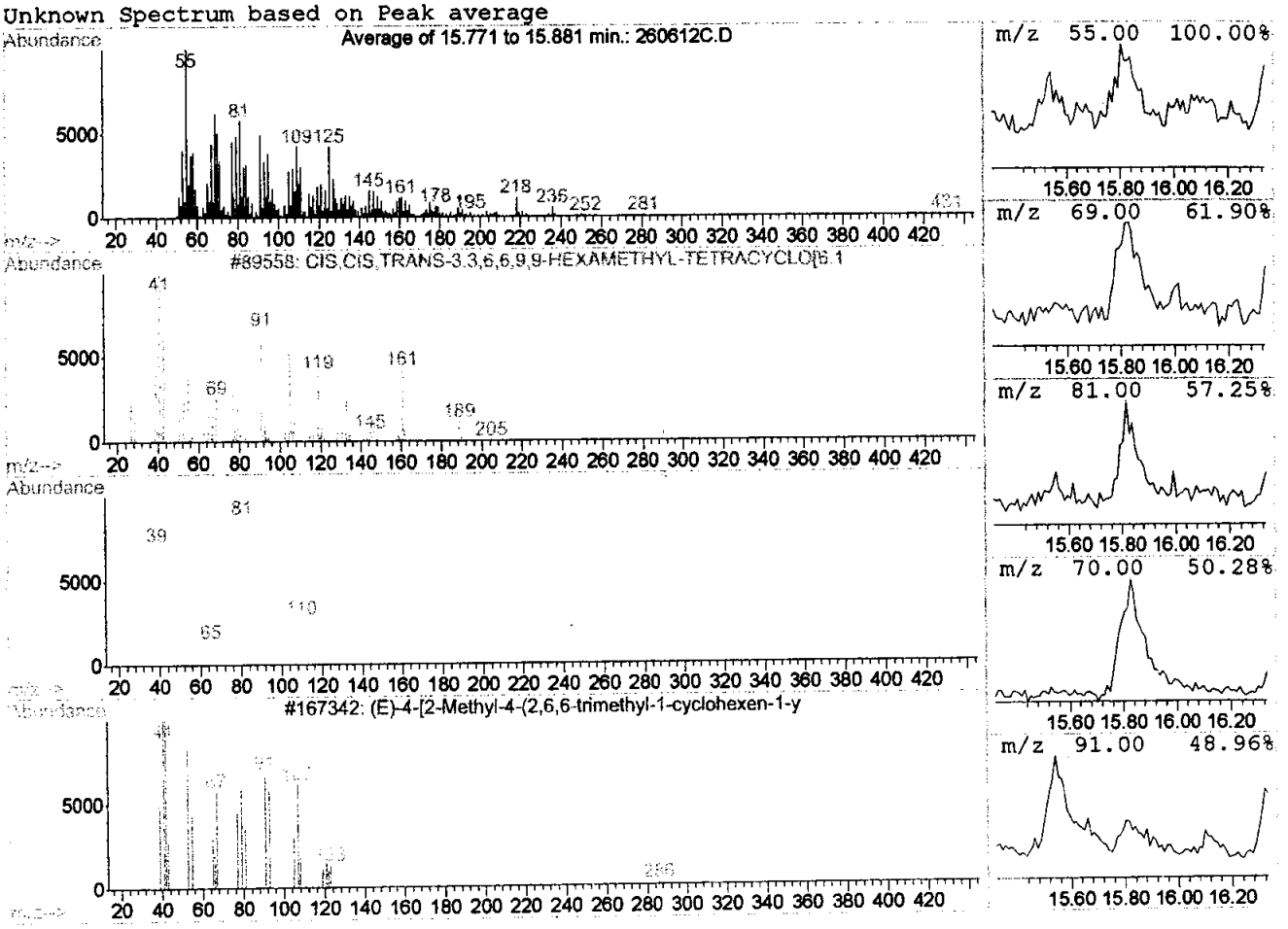


Peak Number: 51 at 15.65 min Area: 5963755 Area % 1.01

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 CIS,CIS,TRANS-3,3,6,6,9,9-HEXAMETHY	89558	056390-01-3	47
2 TRIS(METHYLENCYCLOPROPYL)-METHANOL	72940	000000-00-0	46
3 2(3H)-Benzofuranone, hexahydro-3-me	37461	053387-38-5	43

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

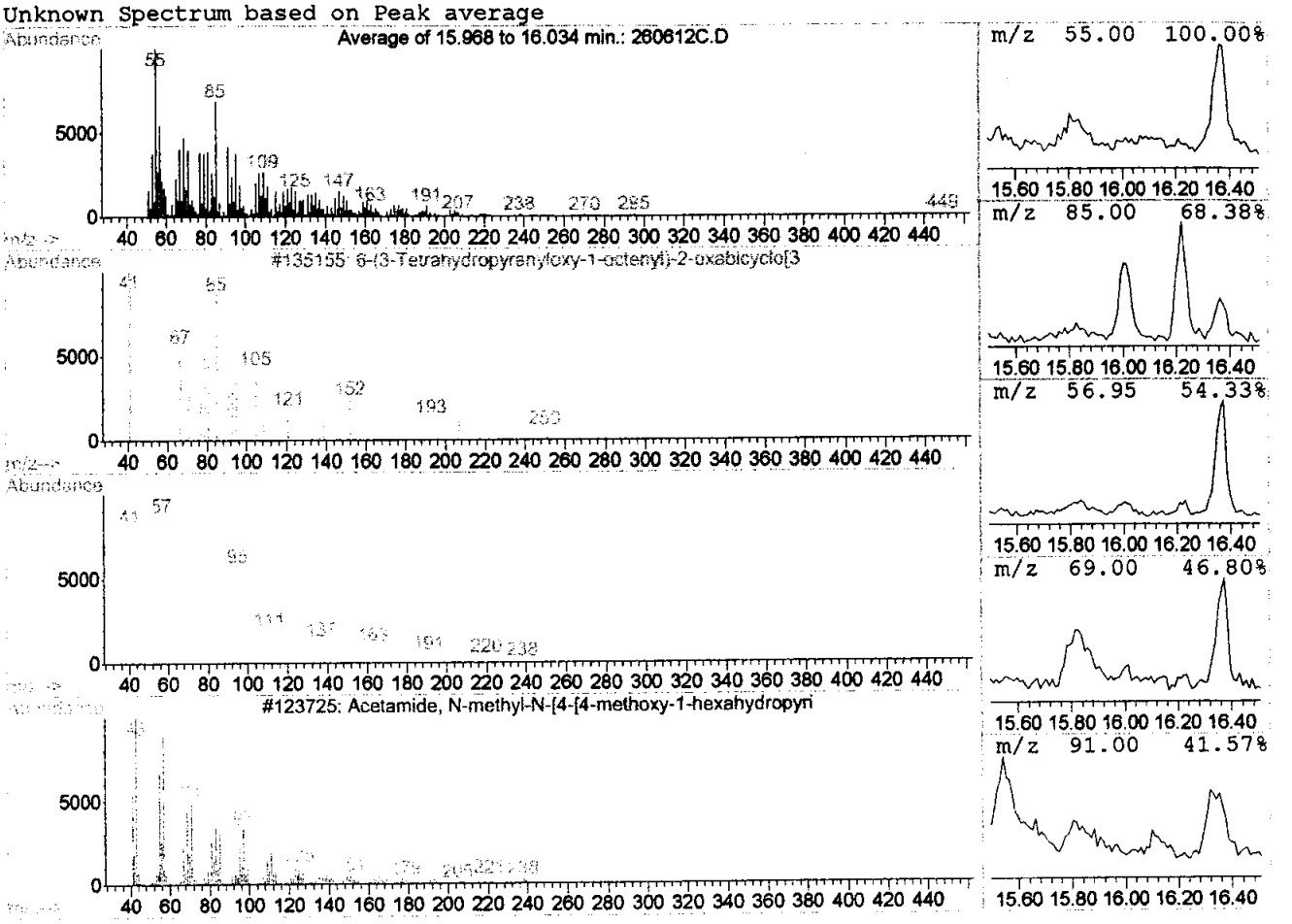


Peak Number: 52 at 15.83 min Area: 13137669 Area % 2.23

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 CIS,CIS,TRANS-3,3,6,6,9,9-HEXAMETHY	89558	056390-01-3	46
2 2,4-Heptadienal, (E,E)- (CAS) $$ tr	9748	004313-03-5	43
3 (E)-4-[2-Methyl-4-(2,6,6-trimethyl-	167342	129194-20-3	43

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

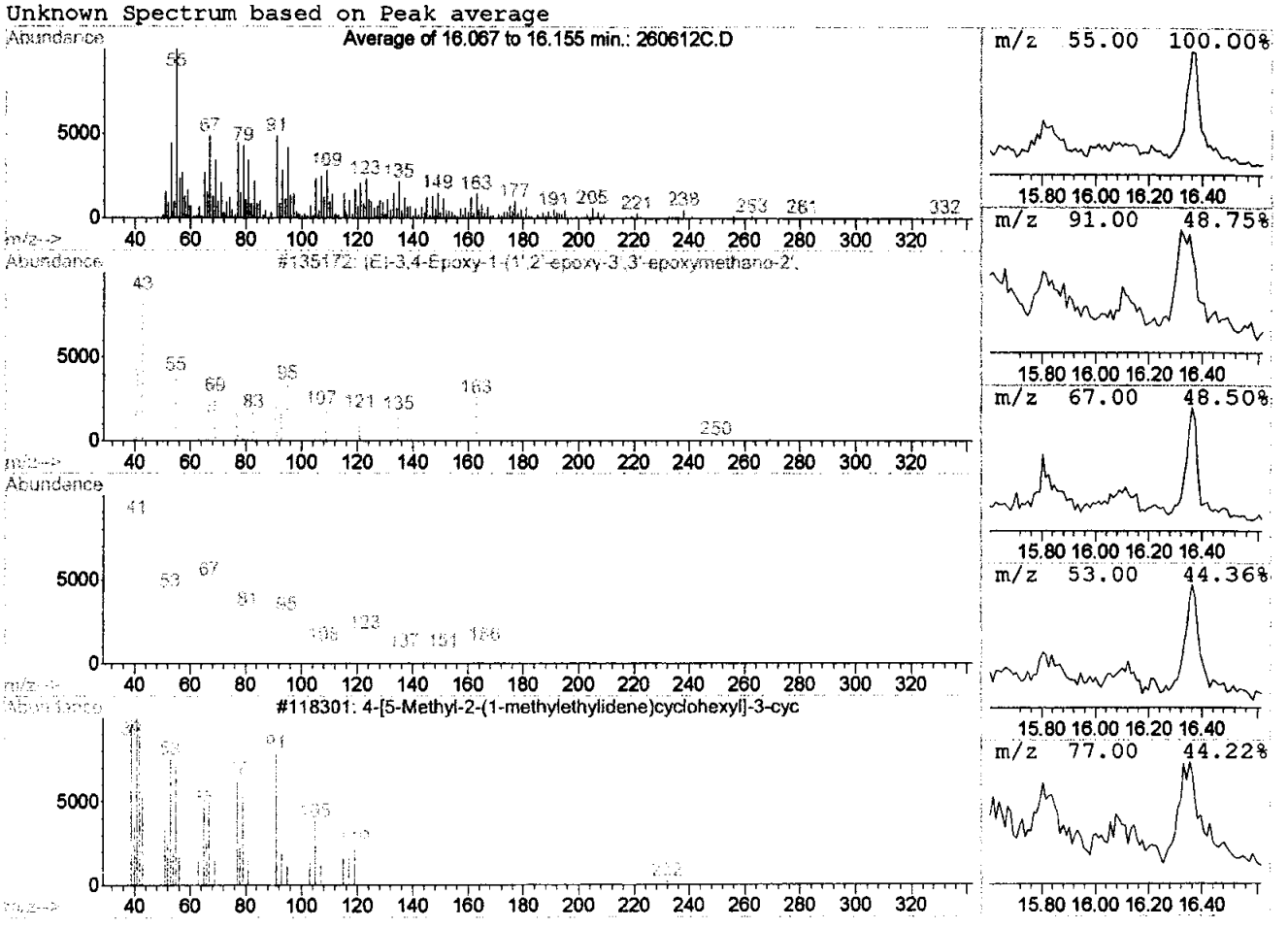
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 53 at 16.00 min Area: 3206728 Area % 0.54

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 6-(3-Tetrahydropyranyloxy-1-octenyl	135155	071424-23-2	64
2 1-Butyl-2-ethyloctahydro-4,7-epoxy-	124198	062583-58-8	47
3 Acetamide, N-methyl-N-[4-[4-methoxy	123725	000000-00-0	35

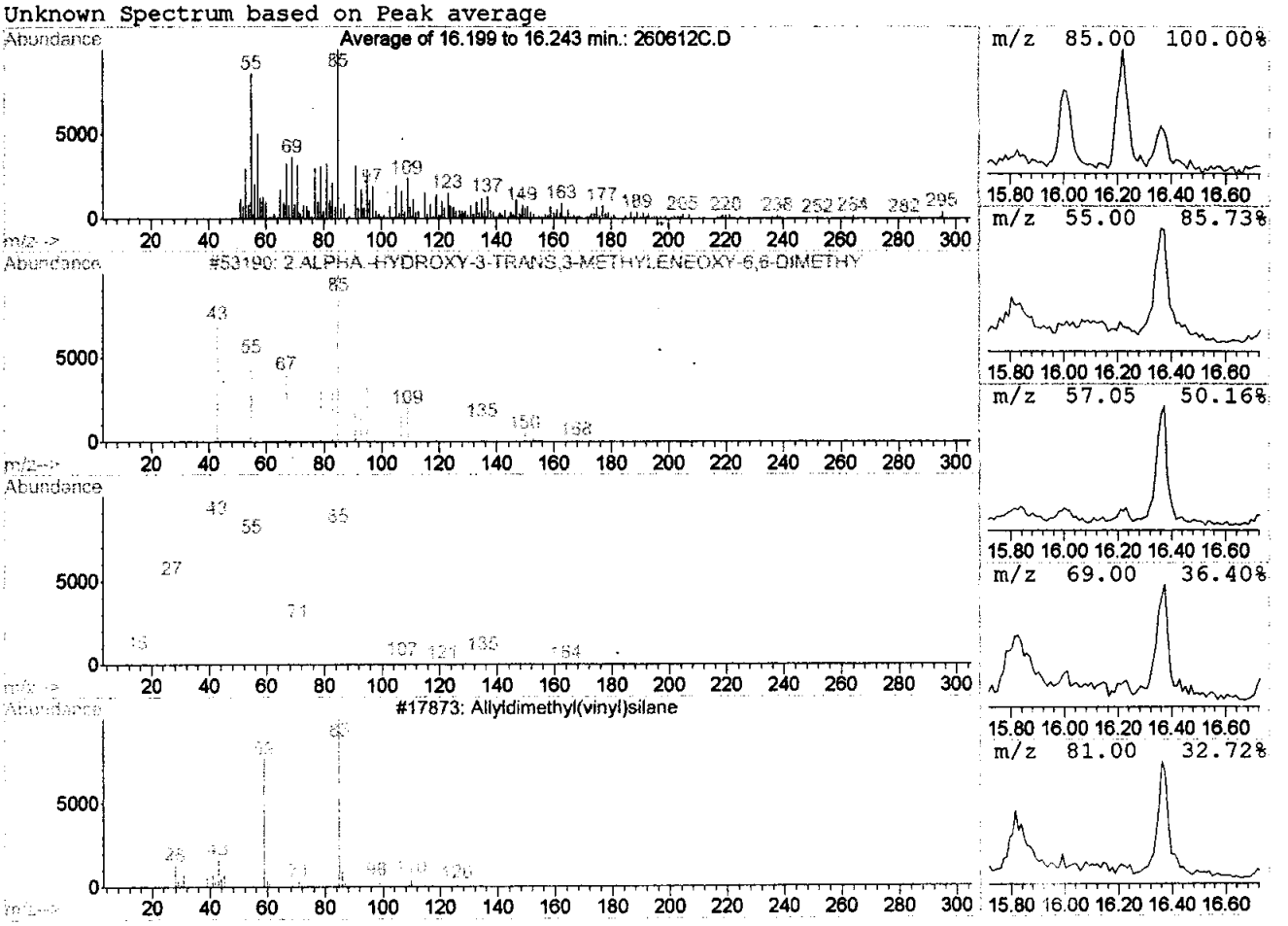
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 54 at 16.11 min Area: 6084228 Area % 1.03

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 (E)-3,4-Epoxy-1-(1',2'-epoxy-3',3'-	135172	091186-32-2	64
2 2(E)-(4-Methyl-3 pentenylidene)-but	51199	000000-00-0	58
3 4-[5-Methyl-2-(1-methylethylidene)c	118301	129194-15-6	52

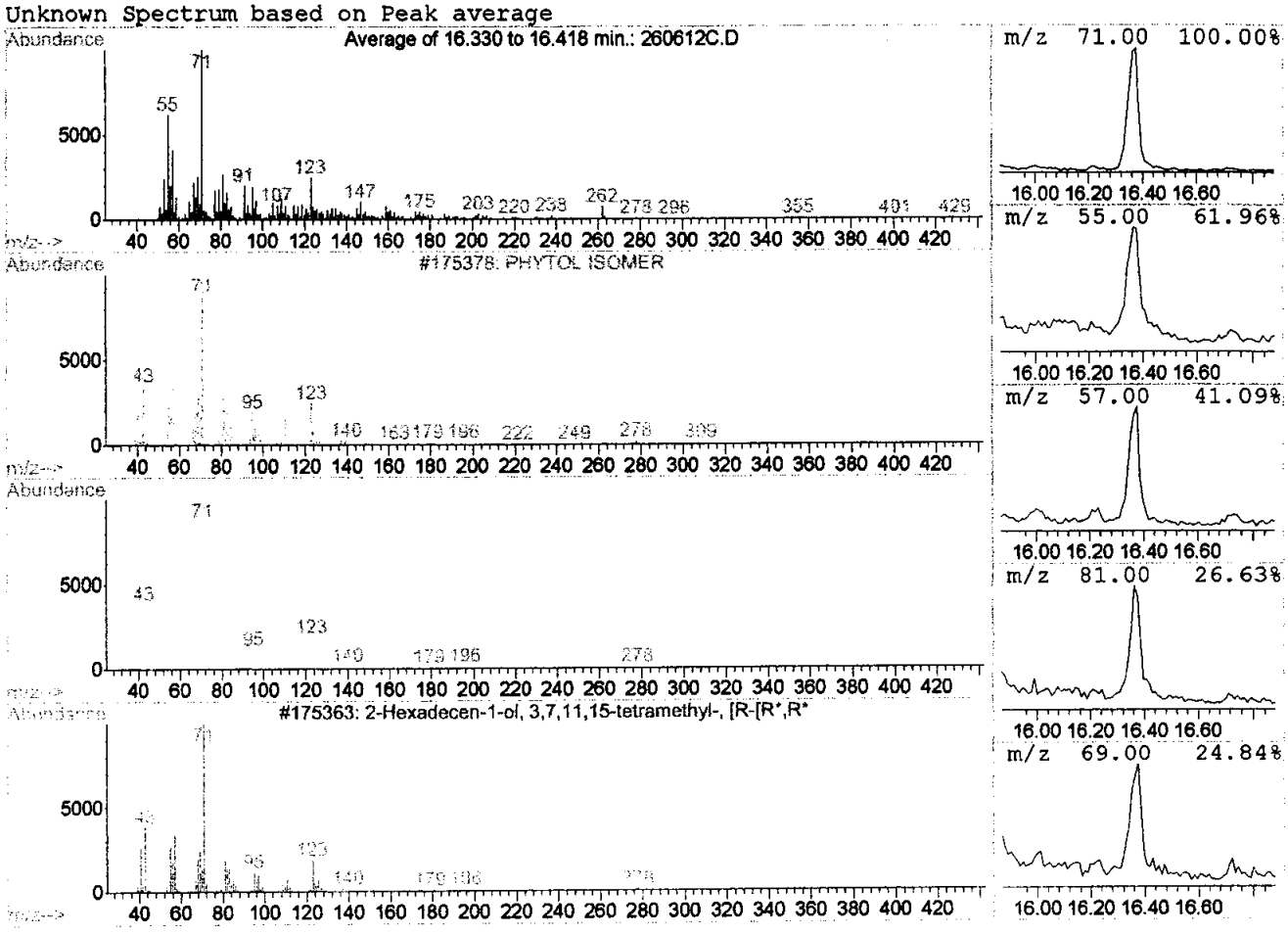
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 55 at 16.22 min Area: 2275124 Area % 0.39

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 2.ALPHA.-HYDROXY-3-TRANS,3-METHYLEN	53190	057288-58-1	58
2 Pentane, 3-(bromomethyl)- (CAS) $$	48369	003814-34-4	46
3 Allyldimethyl(vinyl)silane	17873	000000-00-0	35

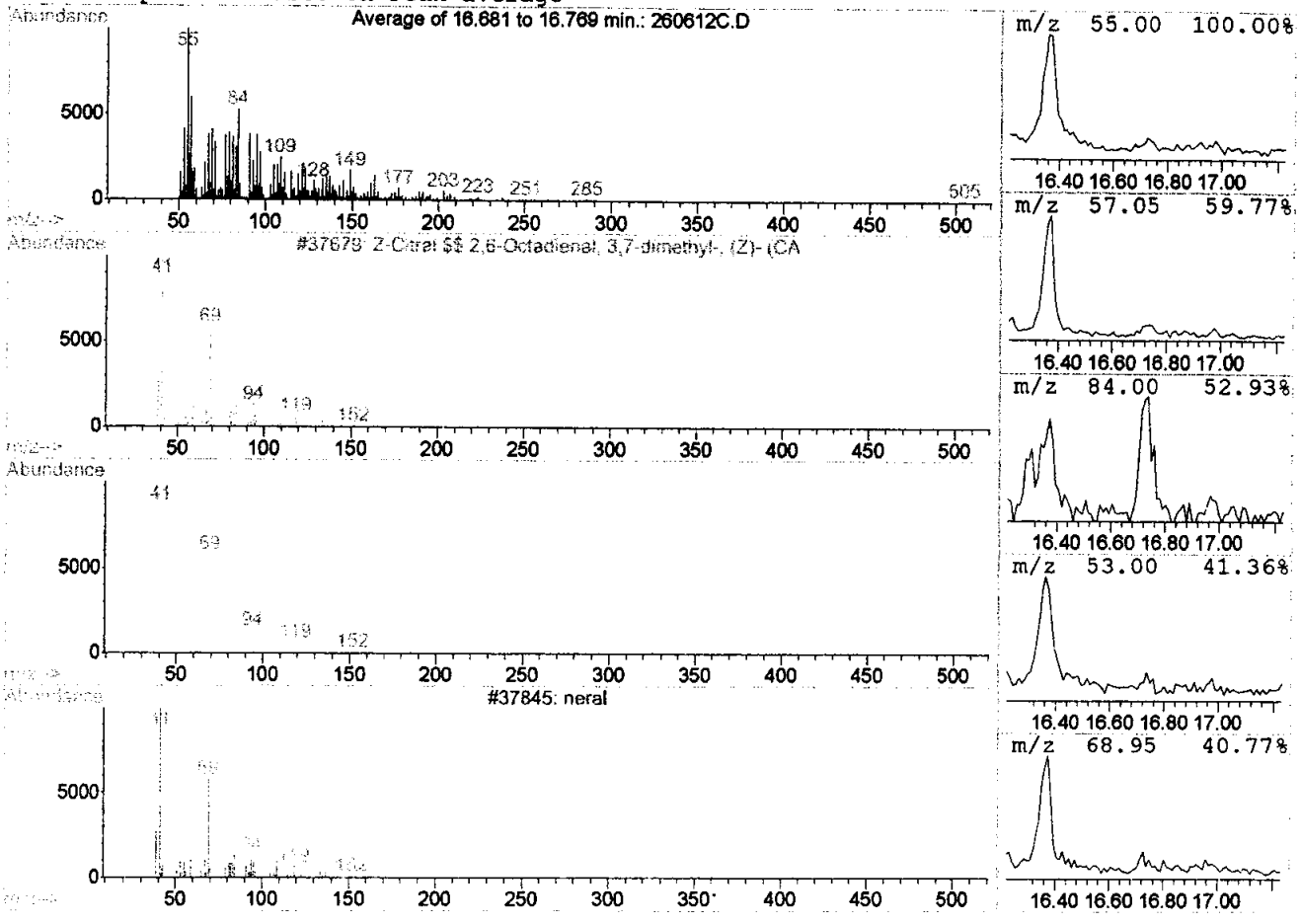
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 56 at 16.37 min Area: 19243756 Area % 3.26

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 PHYTOL ISOMER	175378	000000-00-0	70
2 PHYTOL	175374	000000-00-0	53
3 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetrame	175363	000150-86-7	53

Unknown Spectrum based on Peak average

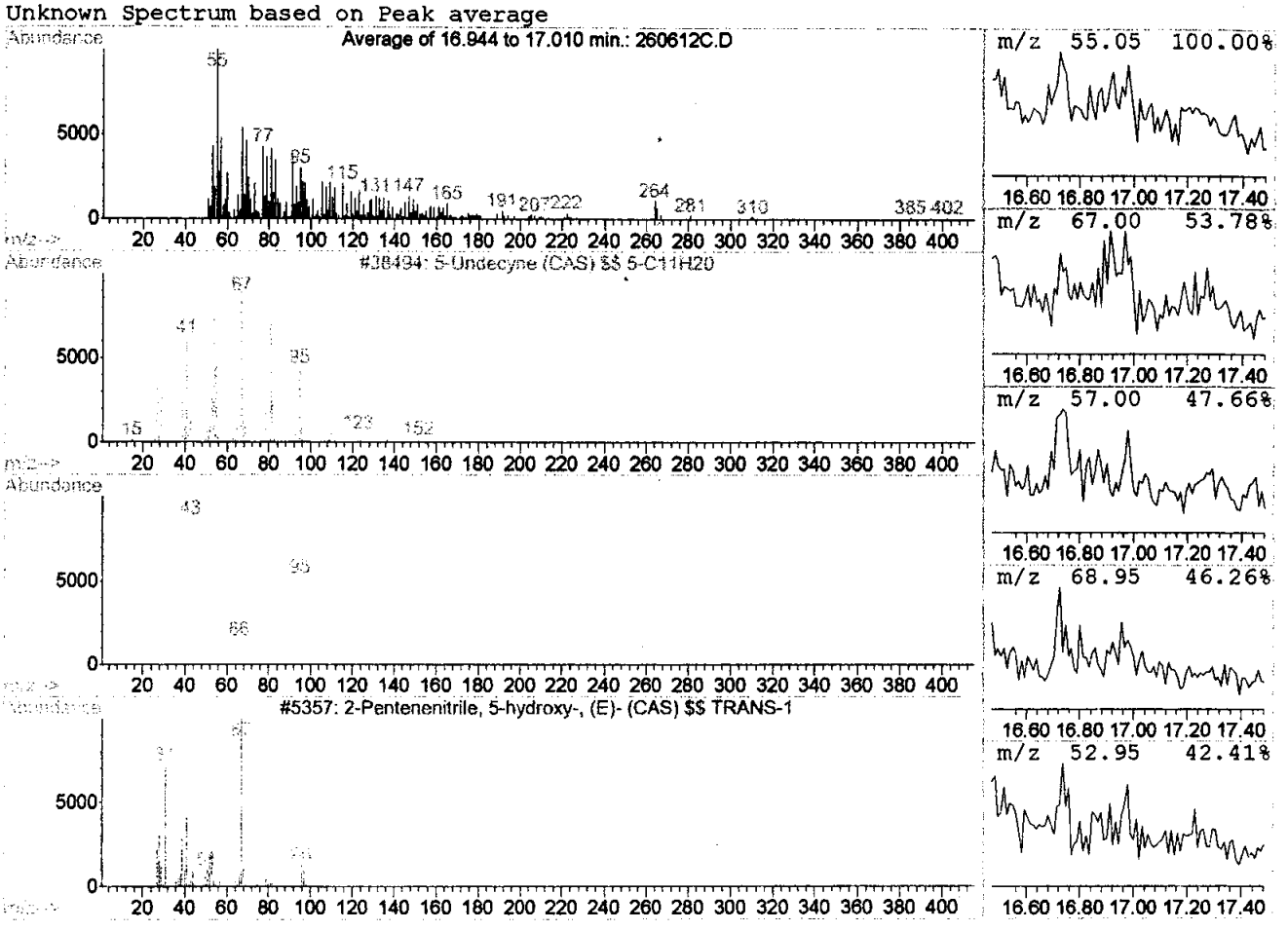


Peak Number: 57 at 16.72 min Area: 2667920 Area % 0.45

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 Z-Citral $$ 2,6-Octadienal, 3,7-dim	37679	000106-26-3	59
2 Z-Citral $$ 2,6-Octadienal, 3,7-dim	37680	000106-26-3	59
3 neral	37845	000106-26-3	59

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

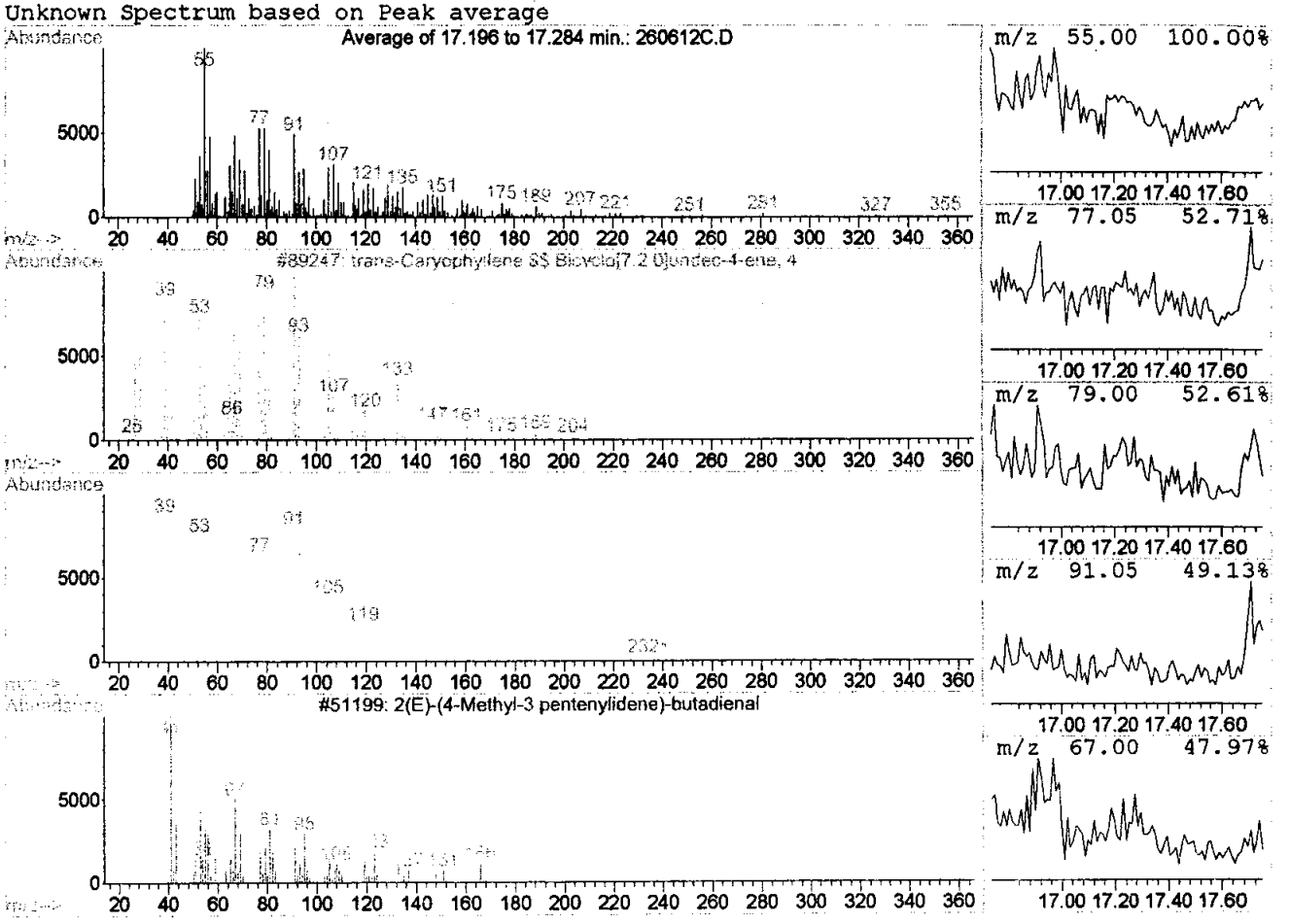
Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 58 at 16.98 min Area: 1177355 Area % 0.20

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 5-Undecyne (CAS) $$ 5-C11H20	38494	002294-72-6	47
2 Formaldehyde, methyl(2-propynyl)hyd	5088	000000-00-0	46
3 2-Pentenenitrile, 5-hydroxy-, (E)-	5357	053778-56-6	43

Unknown Spectrum based on Peak average

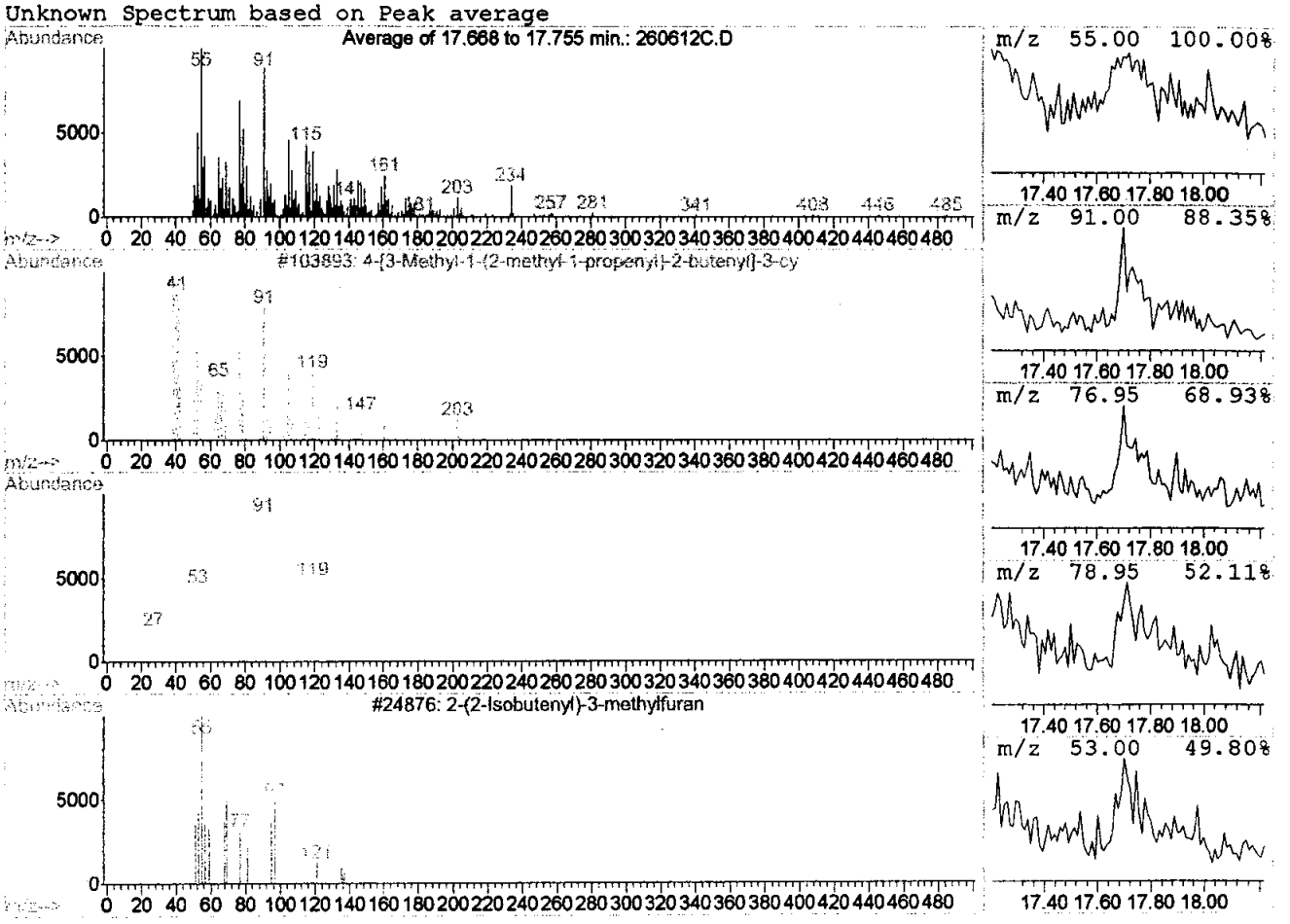


Peak Number: 59 at 17.24 min Area: 1155628 Area % 0.20

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 trans-Caryophyllene $$ Bicyclo[7.2.	89247	000087-44-5	52
2 4-[5-Methyl-2-(1-methylethylidene)c	118301	129194-15-6	49
3 2(E)-(4-Methyl-3 pentenylidene)-but	51199	000000-00-0	49

IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average

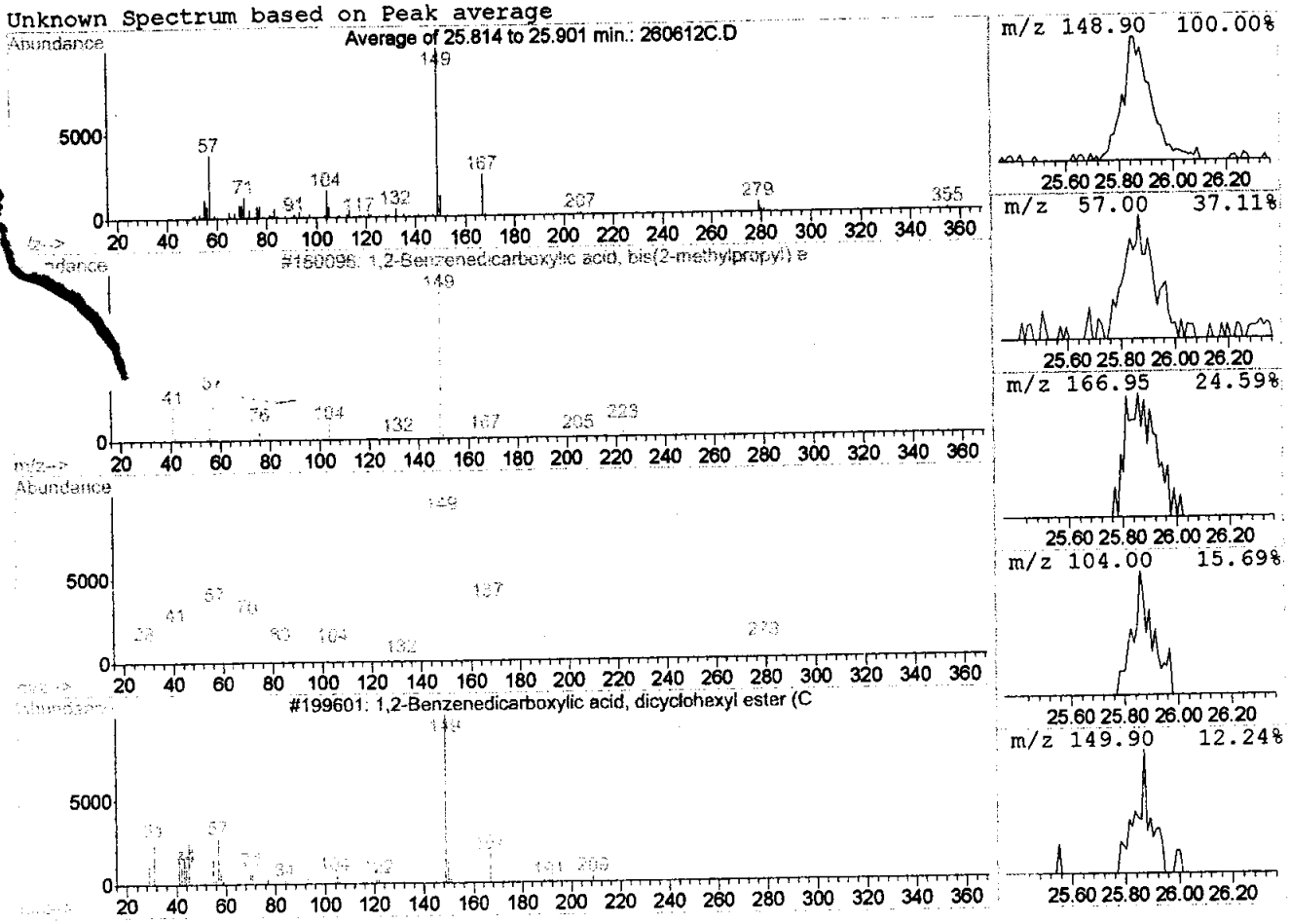


Peak Number: 60 at 17.71 min Area: 1708314 Area % 0.29

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 4-[3-Methyl-1-(2-methyl-1-propenyl)	103893	129194-17-8	47
2 2,8-Decadiyne (CAS)	23228	004116-93-2	35
3 2-(2-Isobutenyl)-3-methylfuran	24876	000000-00-0	30

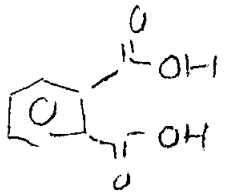
IR- PERPUSTAKAAN UNIVERISTAS AIRLANGGA

Unknown Spectrum based on Peak average



Peak Number: 61 at 25.86 min Area: 915032 Area % 0.16

The 3 best hits from each library.	Ref#	CAS#	Qual
C:\DATABASE\WILEY275.L			
1 1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2	160096	000084-69-5	59
2 1,2-Benzenedicarboxylic acid, diiso	230990	027554-26-3	56
3 1,2-Benzenedicarboxylic acid, dicyc	199601	000084-61-7	53



fgs . plastisizer .

name : asoftalat .

ptrst