

**ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR MOLEKUL
SENYAWA KIMIA SERTA UJI AKTIVITAS BIOLOGI**
dari *THALUS Ramalina inflata*, *Hook.*, & *Tayl*

Tesis Magister

Oleh
Yusnidar Yusuf
3394032201



PROGRAM STUDI REGISTER ILMU KIMIA
PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS INDONESIA

JAKARTA

**ISOLASI DAN PENENTUAN STRUKTUR MOLEKUL
SENYAWA KIMIA SERTA UJI AKTIVITAS BIOLOGI
dari THALUS *Ramalina inflata*, *Hook.*, & *Tayl***

Tesis Magister

**Oleh
Yusnidar Yusuf
3394032201**



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KIMIA
PROGRAM PASCA SARJANA
UNIVERSITAS INDONESIA
JAKARTA
1997**

LEMBAR PERSETUJUAN

Tesis ini telah disetujui oleh



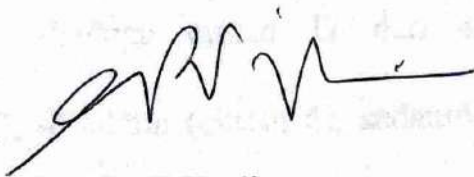
Dr. Wahyudi Priyono Suwarso
Pembimbing



Prof. Dr. H. Soleh Kosela, MSc
Penguji



Dr. Tony Sukri
Penguji



Dr. Emil Budianto
Penguji



Dr. Sumi Hudyono PWS
Penguji



Prof. Dr. H. Soleh Kosela, MSc
Ketua Program Studi Magister Ilmu Kimia
UNIVERSITAS INDONESIA

ABSTRAK

Dari ekstrak n-heksana yang berasal dari talus *Ramalina inflata*, *Hook., & Tayl* tanaman tersebut dikumpulkan/diperoleh dari Taman Nasional Botani, Seblat, Gunung Kerinci, Propinsi Jambi, Sumatra, berhasil diisolasi (+) - asam usnat dalam bentuk kristal jarum berwarna kuning.

Sedangkan dari ekstrak aseton berhasil diisolasi suatu senyawa baru dalam bentuk kristal putih, yang diduga merupakan turunan dari asam norstiktat, dimana strukturnya ditetapkan berdasarkan data spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ serta massa.

Diduga cincin D dari senyawa baru tersebut dibentuk oleh α , β , $-\delta$ -lakton (cincin 6), sedangkan cincin D dari asam norstiktat dibentuk dari cincin α , β , $-\gamma$ -lakton tidak jenuh. Ada kemungkinan bentuk lain dari struktur senyawa B, dimana gugus metilennya berada pada cincin depsidon (lingkar 8, sedangkan pada cincin depsidon normal terbentuk dari lingkaran 7).

Oleh karena itu senyawa baru tersebut diusulkan diberi nama **asam norstiktat A**. Sifat anti bakteri dari (+) -asam usnat sudah diketahui dan dikenal, sedangkan pada penelitian ini senyawa baru tersebut diketahui tidak mempunyai aktivitas biologi.

ABSTRACT

From the n-hexane extract of the *Ramalina inflata's* thallus, that is collected from the Seblat-National Botanical Garden, Mount Kerinci, West Sumatra, has been isolated usnic acid as light yellow crystal.

Whereas from the acetone extract has been isolated a new compound as white crystal with structure as derivative from the norstictic acid. Its structure is established by nmr-and mass spectral data. The D-ring of the norstictic acid is formed by α,β -unsaturated- γ -lactone, whereas the new compound is formed by α,β -unsaturated- γ -lactone. Another possibilities are, the B compound from the depsidone ring is formed by eight ring, that means methylene group belongs to the depsidone ring. Normally depsidone ring is formed by seventh ring.

So that we give the name for this new compound is norstictic acid A. The Biological activities of usnic acid is well known, but unfortunately the new isolated compound has no biological activities.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini, yang merupakan salah satu syarat untuk menempuh ujian akhir Program Studi Magister Ilmu Kimia pada Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih dan rasa hormat yang tidak terhingga kepada Bapak Dr. Wahyudi Priyono Suwarso selaku pembimbing yang dengan sabar dan banyak membantu serta memberikan petunjuk hingga terselesaikannya penulisan tesis ini.

Selanjutnya pada kesempatan ini perkenankan juga penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih kepada :

1. Tim Manajemen Program Doktor (TMPD) DIKTI Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah membantu membiayai untuk mengikuti Program Pasca Sarjana di Universitas Indonesia.
2. Rektor Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka yang telah memberi kesempatan dan izin untuk mengikuti pendidikan Program Pasca Sarjana di Universitas Indonesia.

3. Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia.
4. Bapak Prof. Dr. H. Soleh Kosela, MSc, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Kimia Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia.
5. Dekan FMIPA Universitas Indonesia.
6. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Indonesia.
7. Staf Pengajar Program Studi Ilmu Kimia Program Pasca Sarjana Universitas Indonesia.
8. Staf Pengajar Jurusan kimia FMIPA Universitas Indonesia.
9. Prof. Dr. J.A. Ellix, Australian National University, Canberra, Australia.
10. Prof. Dr. E.L Ghisalberti, Department of Chemistry, University of Western Australia, Nedlands, Perth Australia.
11. Herbarium Bogoriense - Bogor yang telah membantu melakukan determinasi terhadap tanaman *Ramalina inflata*.
12. Bapak Drs. Mun'iem, Apt. MSi dan Staf dari jurusan Farmasi Universitas Indonesia, yang telah membantu melakukan uji aktivitas Biologi.
13. Tata Usaha dan Analis Laboratorium jurusan Kimia FMIPA Universitas Indonesia.
14. Rekan-rekan mahasiswa Program Studi Ilmu Kimia serta semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
15. Drs. Riskiono Slamet, MSi Dosen IKIP Jakarta.

16. Ayah, Ibu, Suami dan Keluarga tercinta yang selalu memberikan semangat dan do'a.

Penulis yakin bahwa tanpa bantuan dari semua pihak tersebut di atas, penelitian dan penyusunan tesis ini tidak dapat terselesaikan. Semoga amal ibadah Bapak-bapak dan Ibu-ibu serta Rekan-rekan akan memperoleh imbalan yang setimpal dari Allah SWT.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini jauh dari sempurna, oleh karena itu mengharapkan kritik dan saran demi kesempurnaan tesis ini. Semoga penulisan ini dapat bermanfaat bagi yang membacanya, khususnya peminat ilmu bahan alam demi untuk perkembangan ilmu pengetahuan dalam bidang kimia.

Jakarta, Desember 1997

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN	
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1. <i>Ramalina inflata</i> (Hook., Tayl)	5
II.1.1. Morfologi Tanaman <i>Ramalina inflata</i>	7
II.1.2. Manfaat Tanaman <i>Ramalina inflata</i>	8
II.1.3. Kandungan Kimia dari <i>Ramalina inflata</i> ...	9
II.2. Uji Aktivitas Biologi	13
II.2.1. Mekanisme Kerja Anti Bakteri	14
II.2.2. Pengujian Aktivitas Anti Mikroba	15
II.2.3. Morfologi Bakteri Kuman Uji	16

BAB III. METODOLOGI DAN HASIL PENGAMATAN	19
III.1. Bahan-bahan Penelitian yang digunakan	19
III.2. Pereaksi Penelitian yang digunakan	19
III.3. Alat-alat Penelitian yang digunakan	20
III.4. Tahapan Penelitian	21
III.4.1. Pengumpulan Sampel (contoh)	21
III.4.2. Prosedur dan Hasil Penapisan Fitokimia	22
a. Alkaloid	22
b. Flavonoid	22
c. Fenol	23
d. Saponin	23
e. Tanin	23
f. Sterol/Terpen	24
III.4.3. Prosedur dan Hasil Ekstraksi serta Isolasi ..	25
III.4.4. Data Spektroskopi	30
a. Senyawa A	30
b. Senyawa B	32
III.4.5. Prosedur dan Hasil Pengujian Aktivitas	
Biologi	33

A. Prosedur dan hasil pengamatan uji pendahuluan aktivitas biologi	33
B. Prosedur dan hasil pengamatan uji aktivitas anti bakteri	34
BAB IV. PEMBAHASAN	40
IV.1. Penapisan Fitokimia	40
IV.2. Penentuan Struktur Molekul	40
IV.2.1. Penentuan struktur molekul senyawa A	41
IV.2.2. Penentuan struktur molekul senyawa B	51
IV.3. Pengujian Aktivitas Biologi	59
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	61
V.1. Kesimpulan	61
V.2 S a r a n	62
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN	66

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Spesimen Herbarium Tumbuhan <i>Ramalina inflata</i>	9
Gambar 2. Kromatografi Lapis Tipis dari ekstrak n-heksana dan senyawa A	26
Gambar 3. Kromatografi Lapis Tipis dari ekstrak aseton dan senyawa B	28
Gambar 4. Skema pemisahan dan Isolasi kandungan kimia dari <i>Ramalina inflata</i>	29
Gambar 5. Struktur asam usnat dari <i>Usnea bayleyi</i> dan senyawa A ..	46
Gambar 6. Pola fragmentasi senyawa A	49
Gambar 7. Biosintesis dari asam usnat melalui oksidasi pengabungan poliketida	50
Gambar 8. Struktur asam norstiktat dan struktur senyawa B yang diusulkan	57
Gambar 9. Pola fragmentasi senyawa B	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.	Hasil uji Fitokimia Tumbuhan <i>Ramalina inflata</i> 24
Tabel 2.	Konsentrasi Hambat Minimum kuman gram Negatif <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 37
Tabel 3.	Konsentrasi Hambat Minimum kuman gram Negatif <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27822 38
Tabel 4.	Konsentrasi Hambat Minimum kuman gram Positif <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 39
Tabel 5.	Penentuan Zona Hambatan terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 39
Tabel 6.	Perbandingan data spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa A yang diperoleh dari hasil isolasi dengan asam usnat yang diperoleh dari Budi Arman dan Layla Gani 45
Tabel 7.	Perbandingan data spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa A yang diperoleh dari hasil isolasi dengan asam usnat yang diperoleh dari Budi Arman dan Layla Gani 46

Tabel 8.	Perbandingan data spektra ^{13}C -NMR asam usnat dari <i>Usnea bayleyi</i> , asam usnat dari <i>Usnea dasypoga</i> dan senyawa A	47
Tabel 9.	Perbandingan sifat fisik dan bentuk fisik serta rotasi optik dan kelarutan asam usnat menurut literatur, asam usnat dari <i>Usnea bayleyi</i> dan senyawa A	48
Tabel 10.	Perbandingan Pola Fragmentasi senyawa B, asam norstiktat dan asam stiktat	56

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Herbarium Bogoriense Bogor	66
Lampiran 2. Spektrum Infra Merah senyawa A	67
Lampiran 3. Spektrum Proton RMI (H^1 -RMI) senyawa A	68
Lampiran 4. Spektrum Karbon RMI (C^{13} -RMI) senyawa A	69
Lampiran 5. Spektrum DEPT senyawa A	70
Lampiran 6. Spektrum Massa senyawa A	71
Lampiran 7. Spektrum Infra Merah senyawa B	72
Lampiran 8. Spektrum Proton RMI (H^1 -RMI) senyawa B	73
Lampiran 9. Spektrum Karbon RMI (C^{13} -RMI) senyawa B	74
Lampiran 10. Spektrum DEPT senyawa B	75
Lampiran 11. Spektrum Massa senyawa B	76
Lampiran 12. Foto hasil uji aktivitas biologi berupa Konsentrasi Hambat Minimum dan uji Zona Hambatan	77

BAB I

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya dengan berbagai macam tumbuhan. Jenis tumbuhan tersebut dibagi menjadi tumbuhan tingkat tinggi dan tumbuhan tingkat rendah. Tumbuhan *Ramalina inflata* adalah tumbuhan yang termasuk ke dalam kelompok Lichen dari Familia Ramalinaceae¹, tergolong sebagai tumbuhan tingkat rendah. Tumbuhan ini banyak terdapat di pulau Sumatra, Jawa, Irian Jaya, Kalimantan dan tempat-tempat lain di dunia, seperti Amerika, Jepang, Malaysia, Eropa, Australia dan Afrika². Menurut kebiasaan nenek moyang kita, tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai obat tradisional, yang secara turun temurun dikenal dengan sebutan jamu.

Dari penelitian terdahulu³, dapat diketahui bahwa kandungan kimia dari tumbuhan yang termasuk dalam kelompok Lichen tersebut, umumnya mempunyai khasiat sebagai anti mikroba dengan berbagai variasi bentuk kristalnya serta mempunyai ciri dan warna yang bermacam-macam.

Isolasi beberapa spesies dari golongan Lichen, di mana salah satunya adalah spesies *Ramalina inflata*⁴, telah diketahui mengandung senyawa aktif, di antaranya : **Asam Usnat 1**, **Asam Divarikatat 2**, **Asam Sekikat 3**,

ada
kandungan
khasiat
dg bentuk
kristal?

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. *Ramalina inflata*.

Ramalina inflata termasuk dalam katagori tumbuhan suku rendah, yang dikelompokkan ke dalam Lichen atau Lumut kerak. Tumbuhan ini dapat berkembang pada daerah dengan ketinggian hingga ± 1000 meter di atas permukaan laut, menyukai sinar matahari, lingkungan yang cukup kering (tidak begitu lembab) dan bebas polusi udara ⁴. Umumnya banyak ditemukan di hutan-hutan cukup rapat, tetapi masih bisa ditembus sinar matahari dan tempat tumbuhnya menempel pada pohon, batu-batuan, tanah, pohon-pohon lapuk (epihit / saprofit).

Tanaman ini dibentuk dari 2 macam tumbuhan, yaitu **fungi (Mycobion)** dan **algae (Phycobion)**. Kedua mikro organisme tersebut tumbuh secara bersama-sama dan **saling menguntungkan (symbiose mutualistik)** ⁹ atau salah satu mikro organismenya **lebih dominan dari yang lain (komensalisme)**.

Pertumbuhan dari tanaman tersebut sangat lambat dan mempunyai waktu hidup yang lama, sedangkan perkembang biakannya melalui spora dari masing-masing induknya yaitu fungi dan algae.

BAB III

METODOLOGI DAN HASIL PENGAMATAN

III.1. Bahan-bahan Penelitian yang digunakan meliputi :

- Tanaman *Ramalina inflata*
- n-Heksana
- Kloroform
- Aseton
- Etanol
- Etil Asetat
- Piridin
- Pelat silika gel untuk KLT
- Pereaksi untuk penapisan Fitokimia
- Asam asetat

III.2. Pereaksi Penelitian yang digunakan meliputi :

- Dragendorf
- Mayer
- HCl 10% v/v
- Amil alkohol

BAB IV

PEMBAHASAN

IV.1 Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia yang dilakukan terhadap talus *Ramalina inflata* menunjukkan bahwa tanaman tersebut mengandung senyawa fenol, saponin, tanin dan sterol/terpen¹³. Dari hasil uji tersebut memberikan indikasi yang paling jelas adalah pada uji fenol. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman tersebut mengandung senyawa turunan fenol.

IV.2 Penentuan Struktur Molekul.

Penentuan struktur molekul senyawa A dan senyawa B, dilakukan dengan menganalisis data spektroskopi: infra merah, ultra violet, resonansi magnetik inti-proton (¹H-NMR), resonansi magnetik inti-karbon (¹³C-NMR), DEPT dan massa (MS)²¹.

Spektroskopi infra merah²² diperlukan untuk menentukan jenis gugus fungsi yang terdapat dalam molekul yang dianalisis. Spektrum resonansi magnetik inti proton untuk menentukan letak dan jumlah proton dalam molekul serta menentukan gugus yang berdekatan dengan

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan :

1. Tanaman *Ramalina inflata* mengandung senyawa yang termasuk dalam golongan senyawa turunan fenol, antara lain diperoleh senyawa A merupakan (+) -asam usnat; dan senyawa B yang diduga merupakan turunan dari asam norstiktat, dengan rumus molekul $C_{18}H_{16}O_7$, diusulkan diberi nama **asam norstiktat A** (turunan dari asam norstiktat).
2. Ekstrak n-heksana dan ekstrak aseton mempunyai aktivitas antibakteri terhadap kuman uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Senyawa A mempunyai aktivitas antibakteri terhadap kuman uji *Staphylococcus aureus*, sedangkan senyawa B tidak mempunyai efek terhadap kuman uji.

DAFTAR PUSTAKA

1. Culberson, C.F, Culberson, W.L, Johnson A., "The *Ramalina americana* complex (Ascomycotina, *Ramalinaceae*) Chemical and Geographic Corelations", American Bryological and Lichenological Society Summer, Omaha, v. 93 (2), p. 167 - 186, 1990
2. Stevens, G.N., "Tropical - Sub tropical *Ramalinae* in the *Ramalina farinacea* complex A Lichen", Discription, Distribution, Morphology, Chemistry, Ecology, v. 15, Academic Press, London, p. 213 - 229, 1983
3. Galloway, D.J., Tropical Lichens : Their Systematic, Concervation and Ecology, special volume no. 43, Department of Botany, Academic Press, London, 1991
4. Stevens, G.N., The Lichen genus *Ramalina* in Australia, Department of Botany University of Quisland, St. Lucia, 4067. Australia, 1987
5. Mien A. Rifai, Kamus Mikologi, Pusat Pembinaan dan Pengembangan Bahasa, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Jakarta, hal 47, 1979
6. Moat, A.G, Foster, J.W., "Microbial Physiology" John Willey & Sons, Singapore, p. 3 - 8, 1979
7. Elix, J.A, Din, L.B, Samsudin, M.W.B., "New species of *Ramalina* (Lichenized Ascomycotina) from Australasia and Malaysia; Bull. Br. Mus. Nat. Hist. (Bot.) 16 (2) : Ithaca, N..y., p. 41 - 44, 1991
8. Kashiwadani, H. "Some Chilean Species of the Genus *Ramalina*" (Lichens), Bull-Natl-Sci-Mus-Ser-B-Bot, v.16 (1), Tokyo, p. 1 - 2, 1990
9. Misna, A, Agruwal, R.P., 11 Lichens (A Preliminary Text), New Delhi, p. 42 - 47, 1978
10. Purpis, W, Coppins, B.J, Hawkdwoorth, D.L, James, P.W, More, D.M., The Lichen Flora of Great Britain and Ireland, Natural Historical Museum Publication in Association with the British Lichen Society, London, p.11-12, 1985



Lampiran 1. Surat Herbarium Bogoriense Bogor

HERBARIUM BOGORIENSE

Balai Penelitian dan Pengembangan Botani
Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi - LIPI
(Centre for Research and Development In Biology - LIPI)

Jalan Raya Juanda No. 22, P.O. Box 110, Bogor 16122 - Indonesia Telp. 0251 - 320315 Fax. 0251 - 325654

Bogor, 20 April 1996

No. : 410/II.1.03/IF.Id/IV/96

Lampiran :

Perihal : Hasil identifikasi tumbuhan

Kepada Yth.
Sdr. Yusnidar Yusuf
Jl. PFP Raya No. 10 Rt 02/09
Kelapa Dua Wetan

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Balitbang Botani, Puslitbang Biologi-LIPI, Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol	Jenis	Suku
1.	01	<i>Usnea baileyi</i> A. Zahlbr.	Usneaceae
2.	02	<i>Usnea flexuosa</i> Ras.	Usneaceae
3.	03	<i>Ramalina inflata</i> Hook.f. et Tayl.	Usneaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Ka. Balitbang Botani
Puslitbang Biologi - LIPI,
MUS

Dr. Johanis F. Hoge
NIP. 320001071