

**LAPORAN KEMAJUAN
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK (PPI)**

**KAJIAN FITOKIMIA DAN ANTIBAKTERI DARI EKSTRAK
MARCHANTIA GERMINATA**



Tim Pengusul:

**Susilo, S.Pd., M.Si (NIDN. 0326028502/ Ketua)
Dra. Maryanti Setyaningsih M.Si (NIDN. 00022126501 / Anggota)**

Nomor Surat Kontrak Penelitian : 779/F.03.07/2019

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA**

2021

HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK (PPI)

Judul Penelitian	: Aktivitas Antibakteri dari <i>Marchantia Germinata</i> terhadap Bakteri <i>Micrococcus Luteus</i> dan <i>Bacillus Subtilis</i>
Ketua Peneliti	
a. Nama Lengkap	: Susilo, S.Pd., M.Si.
b. NPD/NIDN	: 0326028502
c. Jabatan Fungsional	: Asisten Ahli/IIIb
d. Fakultas/Program Studi	: FKIP/Biologi
e. Nomor HP	: 0817220185
f. e-mail	: susilo@uhamka.ac.id
Anggota Peneliti I	
a. Nama Lengkap	: Dra. Maryanti Setyaningsih M.Si
b. NPD/NIDN	: 00022126501
c. Fakultas/Program Studi	: KIP/Biologi
Lama Penelitian	: 1 Tahun
Luaran Penelitian	1. Jurnal Internasional
Biaya Penelitian	Rp. 13.000.000;

Mengetahui
Ketua Program Studi

(Dra. Maryanti Setyaningsih, M.Si)
NIDN. 0022126501

Jakarta, 11 Maret 2021
Ketua Peneliti

(Susilo, S.Pd., M.Si)
NIDN. 0326028502

Menyetujui



Dekan FKIP UHAMKA

(Prof. Dr. Suswandari, M.Pd)
NIDN. 0317126903

Ka. Lemlitbang UHAMKA

(Prof. Dr. Suswandari, M.Pd)
NIDN. 0020116601



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

Jln. Tanah Merdeka, Pasar Rebo, Jakarta Timur
Telp. 021-8416624, 87781809; Fax. 87781809

**SURAT PERJANJIAN KONTRAK KERJA PENELITIAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR HAMKA**

Nomor : **779** / F.03.07 / 2019
Tanggal : 20 November 2019

Bismillahirrahmanirrahim

Pada hari ini, Rabu, tanggal Dua Puluh, bulan November, tahun Dua Ribu Sembilan Belas, yang bertanda tangan di bawah ini **Prof. Dr. Hj. Suswandari, M.Pd.**, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, selanjutnya disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**; **SUSILO S.Pd., M.Si.**, selanjutnya disebut sebagai **PIHAK KEDUA**.

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA sepakat untuk mengadakan Perjanjian Kontrak Kerja Penelitian yang didanai oleh RAPB Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA

Pasal 1

PIHAK KEDUA akan melaksanakan kegiatan penelitian dengan judul : **Kajian Fitokimia dan Antibakteri dari Ekstrak Marchantia germinata** dengan luaran wajib dan luaran tambahan sesuai data usulan penelitian Bacth 1 Tahun 2019 melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 2

Bukti luaran penelitian wajib dan tambahan harus sesuai sebagaimana yang dijanjikan dalam Pasal 1, Luaran penelitian yang dimaksud dilampirkan pada saat Monitoring Evaluasi dan laporan penelitian yang diunggah melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 3

Kegiatan tersebut dalam Pasal 1 akan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA mulai tanggal 20 November 2019 dan selesai pada tanggal 20 April 2020.

Pasal 4

PIHAK PERTAMA menyediakan dana sebesar Rp.13.000.000,- (Terbilang : *Tiga Belas Juta*) kepada PIHAK KEDUA untuk melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1. Sumber biaya yang dimaksud berasal dari Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA melalui Lembaga Penelitian dan Pengembangan.

Pasal 5

Pembayaran dana tersebut dalam Pasal 4 akan dilakukan dalam 2 (dua) termin sebagai berikut;
(1) Termin I 70 % : Sebesar 9.100.000 (Terbilang : *Sembilan Juta Seratus Ribu Rupiah*) setelah

PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

(2) Termin II 30 % : Sebesar 3.900.000 (Terbilang: *Tiga Juta Sembilan Ratus Ribu Rupiah*) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

Pasal 6

(1) PIHAK KEDUA wajib melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1 dalam waktu yang ditentukan dalam Pasal 3

(2) PIHAK PERTAMA akan melakukan monitoring dan evaluasi pelaksanaan kegiatan tersebut sebagaimana yang disebutkan dalam Pasal 1.

(3) PIHAK PERTAMA akan mendenda PIHAK KEDUA setiap hari keterlambatan penyerahan laporan hasil kegiatan sebesar 0,5 % (setengah persen) maksimal 20% (dua puluh persen) dari jumlah dana tersebut dalam Pasal 4.

(4) Dana Penelitian dikenakan Pajak Pertambahan Nilai (PPN) pada poin honor peneliti sebesar 5 % (lima persen)

Jakarta, 20 November 2019

PIHAK PERTAMA
Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA
Ketua




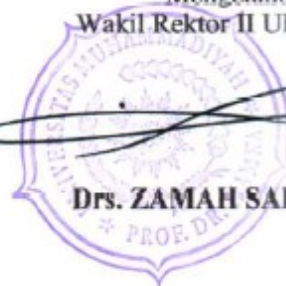
Prof. Dr. Hj. Suswandari, M.Pd

PIHAK KEDUA
Peneliti,



SUSILO S.Pd., M.Si.

Mengetahui
Wakil Rektor II UHAMKA



Drs. ZAMAH SARI M.Ag.

ABSTRAK

Lumut (Bryophyta) merupakan salah satu kelompok tumbuhan rendah dan bagian dari keanekaragaman hayati yang belum banyak mendapat perhatian. Tingginya tingkat diversitas lumut tersebut pada kenyataannya belum dapat dimanfaatkan secara optimal, Saat ini, banyak penelitian yang dilakukan oleh para peneliti diluar Indonesia yang mengkaji tentang kebermanfaatan tanaman lumut tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari – Juni 2018 di Laboratorium Mikrobiologi Terapan LIPI Cibinong. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 5 pengulangan. Perlakuan yang dimaksud adalah A1 (100% Ekstrak *Marchantia geminata*), A2 (90% Ekstrak *Marchantia geminata*), A3 (80% Ekstrak *Marchantia geminata*), A4 (70% Ekstrak *Marchantia geminata*) dan A5 (Kontrol positif *Tetracycline*). Diameter zona hambat yang terbentuk pada media diukur dan dihitung rata-rata diameter yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi. Data yang didapat diolah dengan menggunakan perhitunga uji Annava dan uji BNT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian *Marchantia geminata* lebih efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Micrococcus luteus* dibandingkan pada bakteri *Bacillus subtilis*. Pada konsentrasi 100% ekstrak *Marchantia geminata* dapat membentuk rata-rata zona hambat pada bakteri *Micrococcus luteus* sebesar 6,8 mm, sedangkan pada baketeri *Bacillus subtilis* mampu membentuk zona hambat sebesar 6,4 mm. Ekstrak *Marchantia geminata* memberikan pengaruh terhadap bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*.

Kata Kunci: Ekstrak, Antibakteri, *Marchantia germinata*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
IDENTITAS USULAN PENELITIAN	v
RINGKASAN	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan	2
D. Urgensi	2
BAB II. KAJIAN PUSTAKA	4
A. <i>Marchantia geminata</i>	4
B. <i>Micrococcus luteus</i>	5
C. <i>Bacillus subtilis</i>	7
D. Stade of the Art	10
E. Roadmap Penelitian	11
BAB III. METODE PENELITIAN	11
A. Waktu dan Tempat Penelitian	11
B. Alat dan Bahan	12
C. Cara Kerja	13
D. Alur Penelitian	13
E. Analisis Data	14
BAB IV. BIAYA DAN JADWAL PENELITIAN	14
A. Biaya Penelitian	14
B. Jadwal Penelitian	15
DAFTAR PUSTAKA	16
LAMPIRAN	16
Lampiran 1. Justifikasi anggaran penelitian	17

Lampiran 2. Susunan organisasi dan pembagian tugas tim peneliti	18
Lampiran 3. Biodata Ketua dan Anggota Peneliti	24
Lampiran 4. Surat Pernyataan Ketua Peneliti	30

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Marchatia adalah salah satu anggota dari Bryophyta yang memiliki persebaran yang sangat luas di daerah tropis. Sebagian besar merupakan tumbuhan yang hidup pada lingkungan lembab dan terlindung. Dalam satu decade terakhir, jumlah Marchatia berkisar antara 5.000 hingga 6.000 spesies (Gradstein dan Costa 2003, Gradstein dan Ilkiu-Borges 2009, Heinrichs et al. 2007). Data terbaru oleh Von Konrat (2010) menyebutkan jumlah kelompok Marchatia berkisar pada 7.500 spesies. Sebagian dari mereka telah digunakan untuk kepentingan obat-obatan. Beberapa penelitian melaporkan kandungan senyawa metabolit sekunder dari kelompok Bryophyta dapat digunakan sebagai antibiotik, antikapang, antipiretik, antitoksin, antiseptik, diuretik dan antihepatitis, antioksidan, kemoprevensi, sifat antimutagenik, dan antihepatotoksik (Guo, *et al.* 2008; Huang, *et al.* 2010; Asakawa, 2012. Bowman, *et al.* 2016). Lebih lanjut, banyak dari tanaman ini dapat mensintesis metabolit sekunder aktif seperti senyawa fenolik yang ditemukan dalam minyak esensial dengan aktivitas insektisida dan antimikroba, yang telah menjadi dasar untuk aplikasi obat-obatan alternatif dan terapi alami (Wink, 2015). Bibenzil dan bisbibenzil adalah kelompok zat yang paling penting dari senyawa fenolik yang terdapat pada *Marchantia germinata* (Adam, 1996).

Menurut Asakawa, dkk (2009) melaporkan bahwa kandungan dari berbagai spesies Marchantia, menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, dan *Staphylococcus aureus*. Antibakteri merupakan zat yang dapat menghambat atau membunuh bakteri penyebab infeksi. Infeksi disebabkan oleh bakteri atau mikroorganisme yang bersifat pathogen. Namun, dari penggunaan obat modern terlalu lama dapat menyebabkan bakteri menjadi resisten. Dimana mikroba berkembang biak di dalam

jaringan. Bakteri pathogen pada hewan dan manusia adalah *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*.

Bakteri *Micrococcus luteus* merupakan bakteri pathogen yang sering menyebabkan penyakit pada ikan. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri gram positif yang berbentuk bulat ini disebut dengan micrococcosis. Ciri yang paling umum dari infeksi bakteri ini adalah timbulnya luka pada kulit dan organ internal seperti otot, liver, dan limpa yang diikuti dengan penurunan nafsu makan (Aydin dkk., 2005). Selain bakteri *Micrococcus luteus*, bakteri pathogen lainnya adalah *Bacillus subtilis*. Bakteri ini sering menginfeksi organ mata para pencandu heroin, selain itu bakteri ini juga dapat menyebabkan keracunan pada makanan (Kumar, 2012)

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti ingin melakukan suatu penelitian tentang uji daya hambat ekstrak tumbuhan lumut *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat diambil perumusan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak *Marchantia geminata* memiliki daya hambat terhadap bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*?
2. Bagaimanakah daya hambat yang dibentuk oleh ekstrak *Marchantia geminata*?
3. Senyawa apa sajakah yang terdapat pada tumbuhan lumut *Marchantia geminata*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak lumut hati *Marchantia germinata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*.

D. Urgensi Penelitian

Tumbuhan lumut hati di Indonesia sangat melimpah dan persebarannya dapat dijumpai di area yang lembab dan basah. Dari kelimpahan yang tinggi tersebut, lumut hati terutama belum banyak dimanfaatkan secara optimal. Penelitian-penelitian tentang lumut di Indonesia memang sudah ada, namun masih belum dapat menampilkan manfaat yang jelas, mengingat diversitas jenis lumut di Indonesia sangat tinggi. Dari beberapa penelitian menyebutkan bahwa tumbuhan lumut mengandung senyawa metabolit sekunder yang berbeda antar spesies lumut. Secara ekologi *Marchantia* merupakan tumbuhan perintis dalam menciptakan habitat primer dan sekunder setelah adanya kerusakan lingkungan. *Marchantia* memiliki peran yang penting dalam menjaga porositas tanah dan mengatur tingkat kelembaban ekosistem, karena kemampuannya dalam menahan dan menyerap air (Gradstein, *et al.* 2010). *Marchantia* dapat digunakan sebagai indikator pencemaran udara. Jika udara sudah penuh dengan polutan, lumut tidak dapat tumbuh dengan baik bahkan dapat mati (Cargill, *et al.* 2013). Lebih lanjut kajian tentang potensi senyawa fitokimia tumbuhan lumut di Indonesia belum banyak dilakukan, maka penelitian ini akan menjadi modal penting dalam pengembangan IPTEK.

Melihat masalah seperti diatas, maka peneliti mengharapkan luaran dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat dan kegunaan dari ekstrak Lumut hati *Marchantia germinata*.
2. Dapat menjadi data bagi peneliti-peneliti untuk menelaah lebih lanjut mengenai berbagai manfaat khususnya dalam bidang kesehatan.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. State of the Art

Penelitian tentang lumut memang sudah banyak dilakukan. Namun, mengingat jumlah tumbuhan lumut yang mencapai 9.000 spesies di seluruh dunia (Shaw, *et al.* 2011), tentu masih banyak sekali kajian tumbuhan lumut yang perlu diteliti. Dari hasil kajian pustaka dari berbagai publikasi ilmiah nampak jelas bahwa tumbuhan lumut masih merupakan objek yang cukup luas untuk diteliti. Menurut beberapa hasil penelitian, tabel berikut menyajikan hasil penelitian yang merupakan *state of the art* penelitian ini.

Marchantia geminata merupakan salah satu tumbuhan yang diduga memiliki senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri (Subash *et al.*, 2015). Bakteri merupakan mikroorganisme yang dapat menyebabkan infeksi pada manusia dan hewan. Bakteri yang menyebabkan infeksi pada manusia disebut dengan bakteri patogen. Bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang bersifat patogen. Bakteri *Micrococcus luteus* menginfeksi sisik pada ikan, sedangkan *Bacillus subtilis* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan keracunan pada pangan.

Hasil penelitian Fadhillah (2010) menunjukkan bahwa Aktivitas ekstrak etanol lumut hati mempunyai anti bakteri tertinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol, etil asetat, dan heksana. Pengukuran zona hambat ekstrak etanol terhadap *S. aureus* ATCC 5923, *S. Typhimurium* ATCC 14028, dan *P. aeruginosa* berturut-turut adalah 10,8 mm, 5,8 mm, dan 4,5 mm. Untuk nilai MIC ekstrak etanol terhadap *S. aureus* ATCC 592, *S. Typhimurium* ATCC 14028, dan *P. aeruginosa* berturut-turut adalah 0,7 mg/ml, 8,0 mg/ml, dan 5,9 mg/ml. Ekstrak etanol lumut memiliki kecenderungan sifat antibakteri lebih baik terhadap *S. aureus* ATCC 5923. Kandungan senyawa fenolik, triterpenoid, flavonoid diketahui positif ada dengan kandungan total fenol sebesar 22 mg/g.

Lumut hati *Marchantia geminata* tidak hanya digunakan sebagai antibakteri tetapi dapat juga digunakan sebagai biofungisida cedawan.

Berdasarkan hasil penelitian Sarasati (2016) ekstrak lumut hati *Marchantia geminata* terhadap beberapa cendawan uji seperti *Fusarium* sp. Memberikan hasil yang baik. Ekstrak lumut dapat menghambat pertumbuhan fungi pada konsentrasi ekstrak sebesar 3,2 mg/mL.

B. *Marchantia germinata*

Secara ekologi lumut merupakan tumbuhan perintis dalam menciptakan habitat primer dan sekunder setelah adanya kerusakan lingkungan. Bryophyta memiliki peran yang penting dalam menjaga porositas tanah dan mengatur tingkat kelembaban ekosistem, karena kemampuannya dalam menahan dan menyerap air (Gradstein, *et al.* 2010). Bryophyta dapat digunakan sebagai indikator pencemaran udara. Jika udara sudah penuh dengan polutan, lumut tidak dapat tumbuh dengan baik bahkan dapat mati (Cargill, *et al.* 2013). Selain sebagai indikator lingkungan, keberadaan lumut di dalam hutan hujan tropis sangat memegang peranan penting sebagai tempat tumbuh organisme seperti serangga dan waduk air hujan (Field, *et al.* 2016).

Marchantia sp. Memiliki tubuh gametofit haploid yang biasa disebut dengan talus. Talus berwarna hijau, dorsiventral dan bercabang dua. Talus dewasa memiliki panjang beragar sekitar 2-10 cm dan lebar sekitar 0,5-3 cm. permukaan dorsal menebal di tengah secara luas, gelap yang kemudian membentuk polygonal atau area yang disebut areole. Pada permukaan dorsal talus, terdapat struktur seperti piala kecil disebut gemma-cup yang bertanggung jawab untuk multiplikasi vegetative (Kumar, 2012)

Rhizoidnya tumbuh uniseluler dan biasanya tidak berwarna atau coklat pucat. Terdapat dua tipe rhizoid yaitu rhizoid dengan dinding halus dan rhizoid tuberculate. Rhizoid dengan dinding halus dan lebar dengan dinding halus dan tipis yang membantu penyerapan air dan mineral dari tanah. Sedangkan rhizoid tuberculate memiliki dinding tebal biasanya untuk membentuk sistem konduksi kapiler untuk membantu air mencapai area penyerapan pada talus (Kumar, 2012).

Marchantiaophyta terdapat dua sub kelas yaitu *Jungermaniidae* dan *Marchantiidae* dan 6 ordo, 49 famili, 130 genus dan 6.000 spesies. Terdapat

54genus endemik di Negara bagian selatan bumi seperti New Zealand dan Argentina. Di Asia telah terdapat genus endemik dalam jumlah yang besar dibandingkan Afrika Selatan, Madagaskar dan Amerika Utara. Pada Negara tropis seperti Borneo, Sumatra dan Papua New Guinea, terdapat banyak hutan hujan yang merupakan tempat banyak ditemukannya Marchantiophyta. (Asakawa, dkk., 2009)

Menurut Ilhan et al, (2006) pada umumnya ekstrak dari lumut hati mengandung isoflavonoid, flavonoid, bioflavonoid yang efektif menghambat mikroorganisme. Menurut Fadhilah et al. (2010) Mekanisme antibakteri senyawa fenolik dan terpenoid adalah merusak struktur dinding sel dan mengganggu kerja transport aktif dan kekuatan proton di dalam membran sitoplasma bakteri.

C. Mekanisme senyawa antimikroba

Suatu antimikroba (AM) memperlihatkan toksisitas selektif, Obat ini lebih toksik daripada sel-sel hospes. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh obat yang selektif terhadap mikroba atau karena kerja obat pada reaksi biokimia penting dalam sel parasit lebih unggul dibandingkan dengan pengaruhnya pada sel hospes (Rahardjo, 2009).

Secara umum, kemungkinan situs serangan suatu zat antimikrobia dapat diduga dengan meninjau struktur serta komposisi sel mikroba. Suatu sel hidup yang normal memiliki sejumlah besar enzim yang melangsungkan proses-proses metabolik dan juga protein lainnya, asam nukleat serta senyawa-senyawa lain. Membran semipermeabel (membran sitoplasmik) mempertahankan integritas kandungan seluler; membran tersebut secara selektif mengatur keluar-masuknya zat antara sel dengan lingkungan luar. Membran ini juga merupakan situs beberapa reaksi enzim. Dinding sel merupakan penutup pelindung bagi sel selain juga berpartisipasi di dalam proses-proses fisiologi tertentu. Kerusakan pada salah satu dari situs ini dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menuju kepada matinya sel tersebut.

- 1) Kerusakan pada dinding sel: Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk.
- 2) Perubahan permeabilitas sel: Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar-masuknya bahan-bahan lain. Membran memelihara integritas komponen-komponen selular. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.
- 3) Perubahan molekul protein dan asam nukleat: Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturisasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) ireversibel (tak dapat balik) komponen-komponen seluler yang vital ini.
- 4) Penghambatan kerja enzim: Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyak zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimiawi. Penghambat ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.
- 5) Penghambatan sintesis asam nukleat protein: DNA, RNA dan protein memegang peranan amat penting di dalam proses kehidupan normal sel hal itu berarti bahwa gangguan apa pun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Fenol digunakan secara luas sebagai desinfektan dan antiseptik. Golongan fenol diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang bersifat bakterisidal. Fenol sebagai desinfektan cair tidak dipengaruhi oleh bahan organik, aktivitasnya rendah terhadap endospora bakteri, efektif pada konsentrasi 2-5% dengan mendenaturisasi protein dan merusak membran sel bakteri serta aktif pada pH asam.

Senyawa fenolik merusak sel mikroba dengan mengubah permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran bahan-bahan

intraseluler, kemudian mendenaturisasi dan menginaktifkan protein seperti enzim. Senyawa ini juga mampu memutuskan ikatan silang peptidoglikan oleh usahanya menerobos dinding sel, senyawa fenol menyebabkan kebocoran nutrient sel dengan merusak ikatan hidrofilik komponen penghasil membran sel seperti protein dan fosfolipida serta larutnya komponen-komponen yang berikatan secara hidrofilik yang berakibat meningkatnya permeabilitas membran. Terjadinya kerusakan pada membran berakibat terhambatnya aktivitas dan biosintesis enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme (Pratiwi, 2008).

D. *Bacillus subtilis*

Bacillus merupakan bakteri berbentuk batang dan dapat membentuk spora yang erat hubungannya dengan susu dan produk susu. Mereka mampu memfermentasi gula susu (laktosa) menjadi asam laktat dan asam lain. dapat berbentuk tunggal atau membentuk rantai. Termasuk bakteri nonmotil dan masuk ke dalam bakteri gram positif. Bersifat anaerobik atau anaerobik fakultatif. Bakteri ini dapat ditemukan pada produk persusuan, produk-produk dari daging, air, limbah, rongga mulut, vagina, serta saluran pencernaan makanan hewan dan manusia (Pelczar dan Chan, 2013).

Pada berbagai kasus kesehatan *Bacillus subtilis* dapat mencemari air minum. Selain itu bakteri jenis ini sering kali ditemukan pada makanan kaleng dan daging yang mengandung nitrat. Jika tidak dapat dihancurkan dengan pemanasan, maka jika suhu lingkungan sesuai dengan pertumbuhannya, bakteri tersebut akan tumbuh dan menghasilkan gas berbau busuk. Bakteri ini dapat mengkontaminasi makanan sehingga dapat menyebabkan keracunan makanan (Rumondor dkk., 2014; Kumalaningsing., 2016; Sarjono dkk., 2008).

E. *Micrococcus luteus*

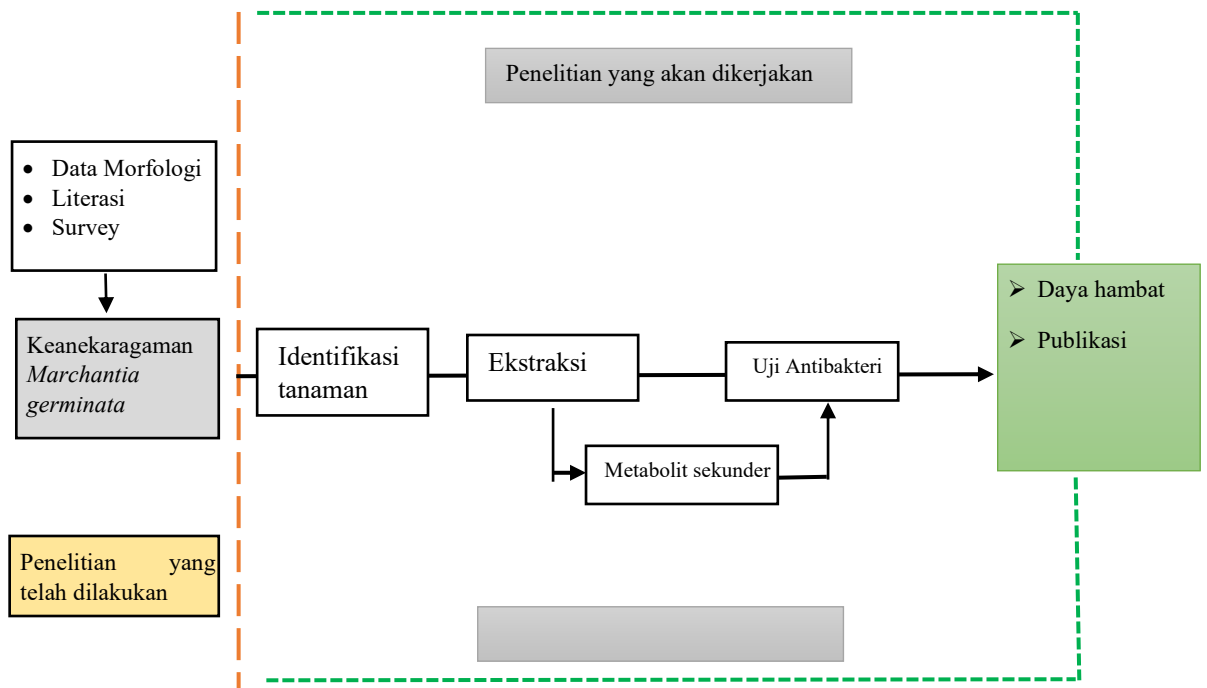
Micrococcus luteus adalah bakteri berbentuk kokus terdapat tunggal ataupun hidup berkoloni. Merupakan bakteri gram positif, bersifat anaerobic fakultatif atau mikroaerofilik. Bakteri ini dapat hidup dan menjadi patogen di

tanah, air tawar, kulit dan selaput lendir pada binatang berdarah panas, termasuk manusia (Pelczar dan Chan, 2013).

Bakteri *Micrococcus luteus* mampu menyebabkan kematian 38% dengan rerata waktu kematian 110,25 jam pada ikan. Gejala penyakit yang ditimbulkan antara lain ikan keliatan pucat, hepar pucat dan ada flek pada usus (Herfiani dkk., 2011). Menurut Kordi (2010), *Micrococcus luteus* juga merupakan penyebab penyakit cacar pada ikan, gejala yang ditimbulkan berupa ikan terlihat lemah, nafsu makan hilang, mata menonjol dan seringkali lepas, kulit kelihatan melepuh yang selanjutnya menjadi borok.

BAB III METODE PENELITIAN

A. Alur Penelitian



Gambar 1. Alur penelitian

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini direncanakan akan dilakukan pada bulan Desember 2019 sampai bulan Februari 2020. Pengambilan sampel tanaman sample lumut yang diambil dari Taman Lumut Kebun Raya Cibodas. Identifikasi tanaman terong dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Terapan LIPI, Cibinong.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian yaitu inkubator, autoklaf, microwave, laminar air flow lemari pendingin, tabung reaksi dan raknya,

cawan petri, erlenmayer, pipet endorf dan tipsnya, pinset, lampu Bunsen, penggaris, jas lab, pensil, label nama dan kertas copy.

2. Bahan

Lumut *Marchantia germinata* di ekstraksi dengan metode ekstraksi organik yang diterapkan pada laboratorium mikrobiologi terapan yaitu dengan cara mengambil senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada *Marchantia germinata*. Bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis* diperoleh dari laboratorium mikrobiologi LIPI, media NA (Nutrien Agar) media MHB (Mueller Hinton Broth), Etil asetat, Metanol, Alkohol 70%, Aquades steril, alumunium foil, kapas, pematik api, tissue dan cakram kertas.

D. Metode dan Prosedur Kerja

Metode uji antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan metode disc diffusion yang telah dimodifikasi yaitu cakram kertas yang bersisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Zona hambat yang terbentuk ditandai dengan adanya area bening disekitara cakram (Partiwi, 2008).

1. Pengumpulan dan Determinasi Tumbuhan

Lumut hati *Marchantia germinata* yang digunakan dalam penelitian ini adalah lumut hati yang diperoleh di kawasan wisata curug cibereum dan curug Cilember sebanyak 500 gram, dan dilakukan determinasi di Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor, LIPI.

2. Pembuatan Ekstrak Lumut hati *Marchantia germinata*

Lumut hati *Marchantia germinata* yang telah diperoleh di bersihkan dari tanah, akar dan serat-serat yang melakat sehingga hanya tersisa bagian daunnya saja, kemudian lumut yang sudah dibersihkan dikeringkan dalam suhu kamar tanpa bantuan sinar matahari. Lumut yang sudah kering kemudian diblender, selanjunya lumut diekstraksi dengan menggunakan cara ekstraksi organik halus. Lumut ditimbang sebanyak 3 gram kemudian

tempatkan lumut di Erlenmeyer dan tambahkan etil asetat sebanyak 60 ml, lalu ditutup dengan aluminium foil dan di *shaker* selama 24 jam.

Lumut yang sudah di *shaker* selama 24 jam kemudian disaring dengan menggunakan kasa dan kertas saring, kemudian hasil saringan tersebut dipindahkan ke wadah evaporator untuk menghilangkan kandungan etil asetat. Hasil dari evaporator dibilas dengan menggunakan metanol sebanyak 1ml dan ekstrak *Marchantia germinata* dengan konsentrasi 100% siap digunakan.

3. Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh alat dan bahan yang akan digunakan sebelumnya dicuci bersih, selanjutnya dikeringkan dan dibungkus dengan kertas kopi kemudian disterilisasi di dalam *autoclave* selama 15-30 menit dengan mengatur tekanan sebesar 15 dyne/cm^3 (15 atm) dan suhu 121°C .

4. Pembuatan Media Uji Antibakteri

Media untuk mengkultur bakteri dibuat dengan 2 lapisan yaitu *Bottom layer* dan *upper layer*. Lapisan *bottom layer* berfungsi sebagai penyangga media, sedangkan *upper layer* berfungsi sebagai media pertumbuhan bakteri. Lapisan *bottom layer* dibuat dengan mencampurkan 4,2 gram MHB dan 3,6 gram Agar kemudian bahan tersebut dilarutkan dengan 200 ml Aquades. Lapisan *upper layer* dibuat dengan mencampurkan 0,525 gram MHB dan 0,45 gram Agar kemudian dilarutkan 50 ml aquades. Kedua bahan tersebut dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf sesuai dengan prosedur sterilisasi.

Bahan yang sudah disterilisasi kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dalam kondisi suhu yang stabil atau hangat-hangat kuku. Lapisan *bottom layer* dituang terlebih dahulu sampai mengisi setengah cawan petri, kemudian lapisan *upper layer* yang suhunya stabil dicampurkan bakteri uji sesuai dengan perhitungan OD, kemudian tuangkan ke dalam cawan petri di atas lapisan penyangga. Pembuatan media tersebut dilakukan di *laminar air flow* untuk mencegah kontaminasi.

5. Pembuatan Stok Bakteri

Pembuatan stok bakteri dilakukan untuk memperbanyak bakteri, dengan cara menginokulasi 100 mikro dari biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus*. Pembuatan stok bakteri dilakukan di media cair yaitu dengan menggunakan MHB. Sebanyak 0,525 gram MHB di larutkan dengan 50 ml aquades, kemudian dipindahkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5ml/tabung, selanjutnya media tersebut disterilisasi. Media yang telah disterilisasi telah siap untuk digunakan, untuk pembiakan bakteri 100 mikro bakteri diambil dari biakan murni bakteri, kemudian dicampurkan kedalam media MHB, setelah dicampurkan, tabung reaksi yang berisi biakan bakteri tersebut di *shaker* selama 24 jam.

6. Pembuatan stok variable konsentrasi

Stok ekstrak *Marchantia germinata* dibuat dalam berbagai konsentrasi yaitu 70%, 80%, 90%, 100%. Aquades digunakan sebagai kontrol negative dan *tetracycline* digunakan sebagai kontrol positif. Cakram uji kosong diletakkan di cawan petri steril, kemudian setiap cakram uji ditetaskan setiap konsentrasi sebanyak 50 mikro dengan menggunakan mikropipet. Tunggu sampai seluruh konsentrasi meresap kedalam cakram, kemudian cakram diletakkan di media uji. Pembuatan stok variable konsentrasi dilakukan dengan cara pengenceran dengan menggunakan aquadest.

7. Uji aktivitas antibakteri ekstrak *Marchantia germinata*

Uji aktivitas antibakteri ekstrak *Marchantia germinata* dimulai dengan mempersiapkan:

a. Bakteri uji

Bakteri uji disiapkan terlebih dahulu, bakteri yang akan diuji di inokulasi selama 24 jam dalam media cair NB.

b. Media uji antibakteri

Media untuk uji antibakteri dibuat dengan menggunakan MHB dan agar. Media untuk uji antibakteri terdiri dari dua lapisan yaitu *bottom layer* dan *upper layer*. *Bottom layer* memiliki tekstur yang lebih keras dibandingkan dengan *upper layer*, karena *bottom layer* berfungsi

sebagai penyangga, sedangkan *upper layer* berfungsi sebagai tempat pertumbuhan bakteri. Untuk proses pembuatan dan perhitungan setiap lapisan sudah dijelaskan pada poin sebelumnya.

Media *upper layer*, sebelum dituangkan kedalam cawan petri terlebih dahulu diberikan biakan bakteri uji yang telah di inokulasi selama 24 jam. Banyak bakteri yang dicampurkan pada media *upper layer* disesuaikan dengan perhitungan OD bakteri.

c Meletakkan cakram uji

Setelah lapisan *bottom layer* dan *upper layer* dituangkan kedalam cawan petri, maka selanjutnya adalah menempatkan cakram diatas lapisan *upper layer*. Sebelum cakram diletakkan pada media uji, masing-masing cakram di teteskan terlebih dahulu konsentrasi uji sebanyak 50 mikro, pemberian ekstrak dilakukan secara bertahap yaitu 20 mikro, 15 mikro dan 15 mikro. Hal ini dilakukan supaya seluruh ekstrak yang diberikan terserap sempurna pada cakram. Tunggu hingga seluruh konsentrasi bahan uji menyerap sempurna pada cakram.

Setelah seluruh konsentrasi menyerap pada cakram, selanjutnya cakram dipindahkan kedalam media uji. Peletakkan cakram pada media uji harus berhati-hati tidak boleh terjadi kontaminasi. Peletakkan cakram menggunakan pinset yang telah di sterilisasi. Cakram diletakkan pada bagian masing-masing, peletakkan cakram sedikit ditekan kedalam untuk menghindari terjadinya pergerakan pada cakram. Setelah seluruh cakram diletakkan, media disimpan terlebih dahulu didalam kulkas selama 30 menit. Hal ini berfungsi untuk konsentrasai ekstrak pada cakram dapat berdifusi pada media.

d Inkubasi

Media selanjutnya dipindahkam kedalam inkubator bakteri pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam media dikeluarkan dan diamati terdapat zona bening disekitar cakram. Hasil yang didapat dicatat untuk data penelitian.

E. Analisis Data

Hasil yang diperoleh di analisis secara deskriptif kualitatif. Analisis data dilakukan dengan uji ANAVA satu arah untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan dalam uji daya hambat ekstrak lumut hati (*Marchantia germinata*). Sebelumnya dilakukan uji normalitas sebagai uji prasyarat, apabila data tidak normal maka analisis dengan menggunakan uji non parametrik Kruskal Wallis (Nurgana, 1985).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

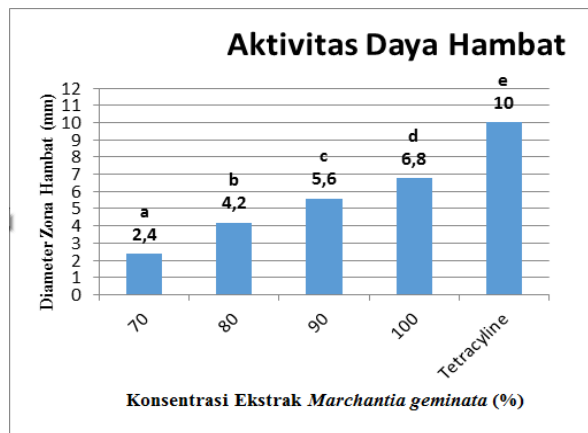
A. Deskripsi Wilayah Penelitian

Di Indonesia lumut masih dianggap sebagai tumbuhan gulma oleh beberapa kalangan. Padahal lumut hati jenis *Marchantia germinata* telah lama dijadikan tumbuhan obat-obatan di Cina karna diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Dalam menyikapi hal tersebut, penulis melakukan penelitian lebih lanjut tentang uji antibakteri ekstrak lumut hati *Marchantia germinata* terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Micrococcus luteus*.

B. Hasil Penelitian

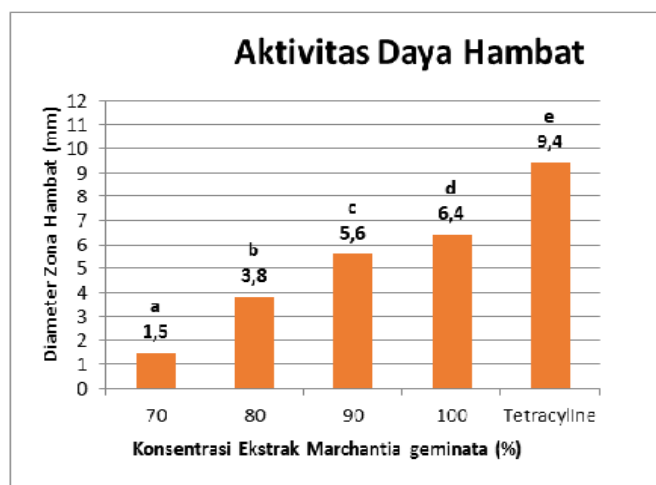
Peneliti melakukan uji antibakteri lumut hati *Marchantia geminata* terhadap dua bakteri uji yaitu *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*. Lumut hati dipeoleh dari Curug Cibereum kawasan Taman Wisata Alam Gunung Gede Pangrango. Pemberian ekstrak *Marchantia geminata* pada masing-masing konsentrasi memiliki pengaruh terhadap bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*. Penelitian daya hambat dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terbentuk pada media MHA yang telah diinkubasi bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis* selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada media MHA tampak pembentukan zona hambat pada cakram yang diberikan ekstrak *Marchantia geminata* dan cakram yang ditetesi dengan tetrasiklin.

Pengaruh dari masing-masing ekstrak memperlihatkan hasil yang berbeda pula. Hal ini dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk pada media uji yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar cakram. Rata-rata zona hambat yang terbentuk dapat di lihat pada gambar 1.



Gambar 1. Barchart rata-rata aktivitas daya hambat ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus*

Pada gambar 1 menunjukkan aktivitas yang terjadi pada ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri uji *Micrococcus luteus*. Rata-rata diameter zona hambat dari setiap konsentrasi mengalami peningkatan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *Marchantia geminata* memiliki aktivitas untuk menghambat bakteri bila kadar konsentrasi ekstrak ditingkatkan.



Gambar 2. Barchart rata-rata aktivitas daya hambat ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Bacillus subtilis*

Gambar 2 menunjukkan hasil rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi ekstrak. Zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji *Bacillus subtilis* lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji *Micrococcus luteus*.

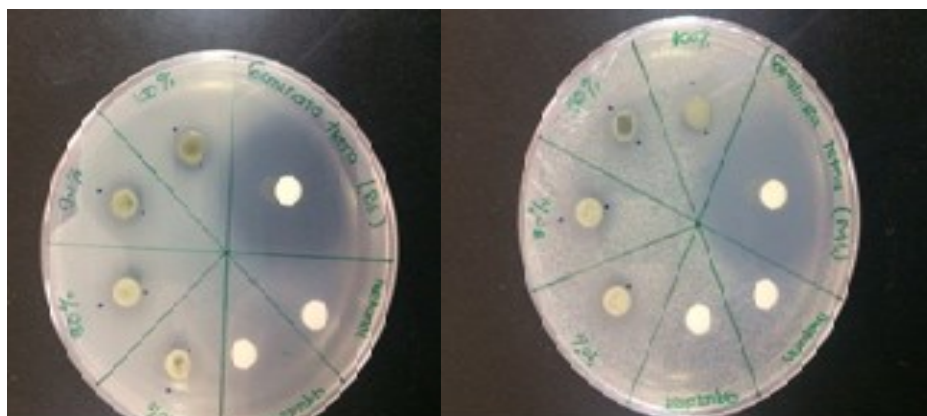
Pada bakteri *Micrococcus luteus* rata-rata diameter yang terbesar terdapat pada konsentrasi ekstrak 100% yaitu sebesar 6,8 mm dan yang terkecil terdapat pada konsentrasi ekstrak 70%, rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 70% hanya 2,4 mm. Zona hambat pada bakteri *Bacillus subtilis* lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat pada bakteri *Micrococcus luteus*. Rata-rata diameter yang terbentuk pada konsentrasi 100% sebesar 6,4 mm sedangkan rata-rata diameter yang terbentuk pada konsentrasi 70% hanya sebesar 1,5 mm. Perbedaan diameter zona hambat yang terbentuk pada kedua bakteri uji dapat dipengaruhi dengan beberapa faktor, diantaranya adalah penyerapan ekstrak pada media yang tidak sempurna. Data yang terdapat pada gambar menunjukkan hasil bahwa ekstrak *Marchantia geminata* lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Micrococcus luteus* dibandingkan dengan bakteri *Bacillus subtilis*.

C. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Terapan LIPI pada bulan Januari 2019. Lumut hati yang digunakan sebagai bahan penelitian ini adalah spesies *Marchantia geminata* yang diambil di kawasan wisata curug Cibereum. Lumut yang diperoleh kemudian dibersihkan dengan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran dan serabut-serabut yang menempel. Lumut hati dikeringkan dalam suhu ruangan dan hindari dari sinar matahari. Hal ini dilakukan supaya zat-zat metabolit sekunder yang terdapat pada lumut hati tidak rusak. Ekstraksi lumut dilakukan dengan cara ekstraksi organik yaitu dengan menggunakan senyawa kimia organik. Lumut yang telah dihaluskan direndam terlebih dahulu dengan etil asetat dalam wadah Erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan aluminium foil kemudian di shaker selama 24 jam. Lumut yang telah di shaker kemudian di saring dengan menggunakan kain kasa dan kertas saring kemudian menguapkan etil asetat dengan menggunakan rotary evaporator. Harborne (2006), menyatakan bahwa penggunaan panas di atas suhu 50⁰C akan merusak senyawa volatil dari golongan terpenoid dan fenolik dengan berat

molekul rendah. Sebagian besar antibakteri asal tumbuhan diketahui merupakan metabolit sekunder yang teridentifikasi sebagai golongan fenolik dan terpenoid dalam fraksi minyak atsiri (Harborne, 2006). Asakawa (2004), melaporkan bahwa sebagian besar lumut *Marchantia* sp. kaya akan senyawa fenolik dan terpenoid. Senyawa metabolit sekunder terutama senyawa fenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Aktivitas antibakteri terbagi dalam beberapa kategori, bila membentuk zona hambat sebesar 20 mm atau lebih maka aktivitas antibakteri tersebut sangat kuat, sedangkan bila zona hambat terbentuk antara 11-12 mm termasuk kedalam kategori kuat, zona hambat antara 5-10 mm masuk kedalam kategori sedang dan untuk kategori lemah zona hambat yang terbentuk kurang dari 5 mm (David & Stout, 1971)



Gambar 3. Diameter zona hambat ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*

Gambar 3 merupakan hasil dari penelitian ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*. Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan media uji memperlihatkan adanya zona hambat yang terbentuk disekitar cakram yang diberi ekstrak *Marchantia geminata*. Rerata zona hambat yang terbentuk pada bakteri uji *Micrococcus luteus* pada konsentrasi 100% sebesar 6,8 mm, konsentrasi 90% sebesar 5,6 mm, konsentrasi 80% sebesar 4,2 dan konsentrasi 70% sebesar 2,4 mm. Pada bakteri uji *Bacillus subtilis* zona hambat yang terbentuk lebih kecil dibandingkan dengan bakteri uji *Micrococcus luteus*.

Pada konsentrasi 100% rata-rata zona hambat yang terbentuk sebesar 6,4 mm, konsentrasi 90% sebesar 5,6 mm, konsentrasi 80% sebesar 3,8 dan pada konsentrasi 70% zona hambat terbentuk sebesar 1,5 mm. kontrol positif pada penelitian ini adalah dengan menggunakan antibiotik tetrasiklin. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan aquadest. Aquadest merupakan pelarut yang digunakan untuk membuat variable konsentrasi. Hal ini dapat membuktikan bahwa mencampurkan aquadest pada pembuatan variable konsentrasi tidak mempengaruhi terbentuknya zona hambat pada media. Berdasarkan hasil dari penelitian tersebut maka ekstrak *Marchantia geminata* pada konsentrasi 100% dan 90% memiliki kemampuan sedang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*.

Lebar zona hambat dapat dijadikan ukuran untuk melihat kekuatan senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak *Marchantia geminata*. Semakin lebar zona hambat yang terbentuk maka semakin kuat senyawa bioaktif yang menghambat pertumbuhan bakteri (Setyabudy, 2008)

Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 80% dan 70% memang sangat kecil dan masuk kedalam kategori lemah dan kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, hal tersebut dapat disebabkan karena kurangnya pemberian ekstrak *Marchantia geminata* pada cakram kertas. Kontrol positif Tetrasiklin berfungsi sebagai pembanding zona hambat yang terbentuk dari ekstrak *Marchantia geminata* sehingga, dapat diketahui zona hambat pada konsentrasi berapakah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan maksimal.

Zona hambat yang terbentuk dapat dijadikan sebagai ukuran untuk melihat kekuatan senyawa bioaktif atau metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak *Marchantia geminata*. Zona hambat yang terbentuk semakin lebar maka semakin kuat pula senyawa bioaktif yang menghambat pertumbuhan bakteri. Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 80% dan 70% memang sangat kecil dan masuk kedalam kategori lemah dan kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, hal tersebut dapat

disebabkan karena kurangnya pemberian ekstrak *Marchantia geminata* pada cakram.

Bahan antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat bila kadar antibakterinya ditingkatkan, dengan demikian ekstrak *Marchantia geminata* dapat menghasilkan zona hambat yang lebih besar apabila kadar yang diberikan ditingkatkan menjadi lebih besar. Zona hambat yang terbentuk dari ekstrak *Marchantia geminata* karena terdapat senyawa bioaktif pada lumut tersebut. Penggunaan pelarut pada tahap ekstraksi dapat mempengaruhi pembentukan daya hambat maka dari itu untuk mendapatkan hasil yang maksimal dapat menggunakan jenis pelarut dan bakteri uji yang berbeda.

Berdasarkan perhitungan uji anava didapatkan hasil bahwa ekstrak *Marchantia geminata* memiliki pengaruh terhadap bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis*. Hasil perhitungan membuktikan bahwa ekstrak *Marchantia geminata* lebih aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Micrococcus luteus* dibandingkan dengan bakteri *Bacillus subtilis*. Dalam Mewari dkk (2008) Total aktivitas ekstrak terhadap masing-masing pathogen sensitif juga dievaluasi. Methanol dan ekstrak flavonoid bebas pada ekstrak *Marchantia germinata* menunjukkan aktivitas terbaik melawan *S. aureus*, *P. mirabilis* dan *C. albicans*. Studi saat ini menunjukkan bahwa ekstrak yang diuji dari *Marchantia germinata* mungkin dieksploitasi untuk obat antimikroba di masa depan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data mengenai “Uji Antibakteri Ekstrak Lumut Hati *Marchantia germinata* L terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Micrococcus luteus*” maka dapat disimpulkan bahwa Pemberian ekstrak *Marchantia geminata* memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis* dan zona hambat yang terbentuk masuk kedalam kategori sedang

B. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan peneliti memberikan saran kepada pembaca sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada bakteri jenis lain untuk mengetahui aktivitas antibakteri
2. Berkaitan dengan adanya aktivitas antibakteri yang terlihat maka, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kandungan lumut hati *Marchantia germinata* sebagai antibiotik alami agar dapat dimanfaatkan dalam dunia pengobatan kedepannya.
3. Berkaitan dengan adanya aktivitas antibakteri yang terlihat maka, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kandungan lumut hati *Marchantia germinata* sebagai antibiotik alami agar dapat dimanfaatkan dalam dunia pengobatan kedepannya.

BAB VI. LUARAN YANG DICAPAI

Luaran yang akan dihasilkan dalam penelitian ini adalah artikel ilmiah yang akan dipublikasikan pada jurnal nasional. Jurnal yang menjadi target publikasi adalah sebagai berikut:

IDENTITAS JURNAL

1	Nama Jurnal	Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences
2	Website Jurnal	http://www.envirobiotechjournals.com/journal_details.php?jid=1
3	Status Makalah	Submitted
4	Jenis Jurnal	Internasional
4	Tanggal Submit	10 Februari 2021

5 Bukti Screenshot submit

The screenshot shows the 'Submit Article to Journal' form. The navigation bar includes Home, International Journals, Books, Environmental Consulting, About Us, and Contact. The form fields are as follows:

- Select Journal:** Asian Journal of Microbiology, Biotechnology
- Name of Corresponding Author:** Susilo, Susilo
- Address:** Biology Education, Jl. Tanah Merdeka, Kp. Rambutan, Ciracas
- City:** East Jakarta
- State:** Jakarta
- Country:** Indonesia
- Tel No.:** 0817220185
- Email:** susilo@uhania.ac.id
- Title of Paper:** In Vitro Antibacterial properties of *Marchantia geminis*
- Authors of the paper:** Maryanti Setyaningsih
- Institution where the work has been carried out:** Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka

Below the form, there is a 'Thank You for Submitting Your Research Paper' message and contact information for EM International.

IDENTITAS SEMINAR

1	Nama Jurnal	
2	Website Jurnal	
3	Status Makalah	

4	Jenis Prosiding	
4	Tanggal Submit	
5	Bukti Screenshot submit	

IDENTITAS HAK KEKAYAAN INTELEKTUAL

1	Nama Karya	
2	Jenis HKI	
3	Status HKI	
4	No Pendaftaran	

BAB VIII RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI

Hasil penelitian pemberian ekstrak *Marchantia geminata* pada bakteri *Micrococcus luteus* dan *Bacillus subtilis* telah memberikan telah memperlihatkan pengaruhnya terhadap bakteri tersebut. Hal ini mengindikasikan bahwa kandungan senyawa pada ekstrak *Marchantia geminate* memiliki potensi sebagai antibakteri. Oleh sebab itu diperlukan langkah lanjutan untuk meneliti lebih mendalam terkait senyawa tersebut dan konsentrasi yang tepat sehingga diperoleh prototipe antibakteri. Penelitian lebih lanjut juga diperlukan untuk jenis tanaman lumut lainnya yang memiliki hubungan kekerabatan terdekat untuk memperoleh agen hayati yang melimpah.

DAFTAR PUSTAKA

- Asakawa, Yoshinori. (2012). *Phytochemical And Biological Studies Of Bryophytes*. Tokushima Bunri University.
- Aydin, S., Abdulkadi, C., Hasan, Y. & Ihsan, A. (2005). Clinical, phatological and Haematological Effec of *Micrococcus luteus* Infections in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Walbaum*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*. Vol. 4(2): 167-174
- Banting, M.D.M., Aquino, D.J.C., David, E.S., Undan, J.R. (2017). Phylogenetic Analysis of Liverworts (Marchantiophyta) in Imugan Falls, Santa Fe, Nueva Vizcaya, Philippines Using rbcL Gene Marker. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.* Vol.6(1):81-88.
- Bowman, J. L., Araki, T. & Kohchi, T. (2016). Marchantia: Past, Present and Future. *Plant Cell Physiol.* Vol.57(2):205–209. [doi:10.1093/pcp/pcw023](https://doi.org/10.1093/pcp/pcw023).
- Bukvicki, D., Gottardi, D., Veljic, M., Marin, P. D., Vaninni, L. & Guerzoni, M.E. **2012**. Identification of Volatile Components of Liverwort (*Porella cordaeana*) Extracts Using GC/MS-SPME and Their Antimicrobial Activity. *Molecules*. Vol. 17: 6982-6995. [doi:10.3390/molecules17066982](https://doi.org/10.3390/molecules17066982).
- BPOM. (2017). Laporan Tahunan.
- Davis, W.W., & Stout, T.R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay I. Factors Influencing Variability and Error. *Applied Microbiology*. Vol. 22(4): 659-665
- Fadhilla, R. (2010). *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Tumbuhan Lumut Hati (Marchantia palacea) Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusukan Makanan*. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Fadhilla, R. (2012). *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Tumbuhan Lumut Hati (Marchantia palacea) Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusukan Makanan*. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Harbone, J.B. (2006). *Metode Fitokimi: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Terjemahan : Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro)*. Bandung. Institut Pertanian Bogor.
- Banting, M.D.M., Aquino, D.J.C., David, E.S., Undan, J.R. (2017). Phylogenetic Analysis of Liverworts (Marchantiophyta) in Imugan Falls, Santa Fe, Nueva Vizcaya, Philippines Using rbcL Gene Marker. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.* Vol.6(1):81-88.
- Kumar, S. (2012). *Textbook of Microbiology*. Jaype Brothers Medical Publishers (P) Ltd. New Delhi.
- Manosalva, L., Mutis, A., Urzúa, A., Fajardo, V. & Quiroz, A. **2016**. Antibacterial Activity of Alkaloid Fractions from *Berberis microphylla* G. Forst and Study of Synergism with Ampicillin and Cephalothin. *Molecules*. Vol.21:76. [doi:10.3390/molecules21010076](https://doi.org/10.3390/molecules21010076).
- Pelczar and Chan, (2013). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI Press: Jakarta
- Pratiwi, ST. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta

Sarasati, A. (2016). *Potensi Ekstrak Lumut Hati Marchantia geminate Sebagai Biofungisida Cendawan Pascapanen Buah Tomat*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Subash K. G., Anand S. dan Saurav M. **2015**. A review on some species of marchantia with reference to distribution, characterization and importance. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. Vol. 4(4): 1576-1588

Lampiran 1

Uji Normalitas Terhadap Diameter zona hambat bakteri *Micrococcus luteus*

Tujuan : Untuk mengetahui normalitas diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Micrococcus luteus*

Tes Normalitas Distribusi

a. Menghitung Range

$$\begin{aligned} R &= \text{nilai maximum} - \text{nilai minimum} \\ &= 11 - 2 \\ &= 9 \end{aligned}$$

b. Menghitung banyaknya kelas

$$\begin{aligned} K &= 1 + 3,3 \log 25 \\ &= 5,6 \approx 5 \end{aligned}$$

c. Menghitung panjang kelas

$$P = \frac{R}{K} = \frac{9}{5} = 1,8 \approx 2$$

Kelas	o_i	BK	Nilai Z		Tabel Z		L	E_i
2 – 3	5	1,5 – 3,5	- 1,61	-0,86	0,4463	0,3051	0,1412	3,5
4 – 5	7	3,5 – 5,5	-0,86	-0,11	0,3051	0,0438	0,2613	6,5
6 – 7	8	5,5 – 7,5	-0,11	0,64	0,0438	0,2389	0,2827	7,0
8 – 9	1	7,5 – 9,5	0,64	1,39	0,2389	0,4177	0,1788	4,5
10 – 11	4	9,5 – 11,5	1,39	2,11	0,4177	0,4826	0,0649	1,6
Jumlah	25							

d. Menghitung χ^2

$$\chi^2_{\text{hitung}} = \sum \left(\frac{E_i - o_i}{E_i} \right)^2$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = \frac{(5-3,5)^2}{3,5} + \frac{(7-6,5)^2}{6,5} + \frac{(8-7,0)^2}{7,0} + \frac{(1-4,5)^2}{4,5} + \frac{(4-1,6)^2}{1,6}$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 0,64 + 0,04 + 0,142 + 2,7 + 3,6$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 7,122$$

e. Menentukan derajat kebebasan

$$db = 5 - 3 = 2$$

f. Menentukan nilai χ^2 dari daftar

$$\chi^2_{0,99}(2) = 9,21$$

g. Penentuan normalitas

Ternyata $\chi^2_{\text{hitung}} < \chi^2_{0,99}(2)$, maka populasi **data berdistribusi normal.**

Lampiran 4

Uji Homogenitas Terhadap Diameter zona hambat bakteri *Micrococcus luteus*

Tujuan : Untuk mengetahui Diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Micrococcus luteus*

Hipotesis :

H_0 : Data rata-rata diameter zona hambat bervariasi tidak homogen

H_1 : Data rata-rata diameter zona hambat bervariasi homogeny

Statistik Pengujian :

$$V_g = \frac{\sum(n_{i-1})V_i}{\sum(n_{i-1})}$$

$$B = (\log V_g) \times \sum(n_{i-1})$$

$$X^2 = 2,3026 \left\{ B - \sum(n_{i-1}) \log V_i \right\}$$

Keterangan :

n = Jumlah data

V_g = Variansi gabungan

B = Nilai Barlett

x = Nilai rata-rata

Taraf nyata :

$$X^2_{(0,99)(k-1)} =$$

$$X^2_{(0,99)(4)} = 13,3$$

Kriteria Pengujian :

1. HI ditolak jika X^2 hitung $> X^2_{(0,99)(4)}$
2. HI diterima jika X^2 hitung $< X^2_{(0,99)(4)}$

Tes Homogenitas

- a. Menentukan variansi-variansi

$$V_1 = 0,19 \quad V_2 = 0,29 \quad V_3 = 0,19 \quad V_4 = 0,29 \quad V_5 = 0,49$$

- b. Menghitung variansi gabungan

$$V_g = \frac{\sum (n_i - 1) V_i}{\sum (n_i - 1)}$$

$$V_g = \frac{(4)0,19 + (4) 0,29 + (4)0,19 + (4) 0,29 + (4) 0,49}{4+4+4+4+4}$$

$$V_g = \frac{0,76+1,16+0,76+1,16+1,96}{20}$$

$$V_g = \frac{5,8}{20} = 0,29$$

- c. Menghitung nilai B (Bartlett)

$$B = (\log V_g) \sum (n_i - 1)$$

$$B = (\log 0,29) \cdot (20)$$

$$= -10,7520$$

- d. Menghitung nilai χ^2 hitung

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 2,3026 \{ B - \sum (n_i - 1) \cdot \log V_i \}$$

$$\text{Mencari } \sum (n_i - 1) \cdot \log V_i$$

$$= 4 \log 0,19 + 4 \log 0,29 + 4 \log 0,19 + 4 \log 0,29 + 4 \log 0,49$$

$$= (-2,88) + (-2,15) + (-2,88) + (-2,15) + (-1,24)$$

$$= -11,3$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 2,3026 \{ B - \sum (n_i - 1) \cdot \log V_i \}$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 2,3026 \{ -10,75 - (-11,3) \}$$

$$= 2,3026 \{ 0,55 \}$$

$$= 1,266$$

- e. Mencari nilai χ^2 dari daftar

$$\text{Nilai } \chi^2_{0,99} (k - 1) = \text{Nilai } \chi^2_{0,99} (4) = 13,3$$

- f. Menentukan homogenitas variansi

Ternyata χ^2 hitung $< \chi^2_{0,99} (4)$, maka kelima variansi tersebut homogen

Lampiran 5

Uji ANAVA Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *Micrococcus luteus*

Tujuan : Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pemberian ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus*

Hipotesis :

H_0 : Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus*

H_1 : Terdapat pengaruh pemberian ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus*

Statistik Pengujian UJI ANAVA 1 Faktor

- $JK_T = \sum X^2 - \frac{(\sum XT)^2}{n_T} =$
- $JK_A = \sum \frac{(\sum x_A)^2}{n_a} - \frac{(\sum x_T)^2}{n_T} =$
- $JK_d = JK_T - JK_A$
- $dB_A = a - 1$
- $dB_d = n_T - a$
- $dB_T = n_T - 1$
- $RK_A = JK_A \div dB_A$
- $RK_d = JK_d \div dB_d$
- $F = RK_A \div RK_d$

Keterangan :

- JK : Jumlah kuadrat
dB : Derajat kebebasan
RK : Rata-rata kuadrat
 a : Antar kelompok
 d : Dalam kelompok

Taraf nyata :

$$F_{(0,01)} = (dB_A/dB_d) =$$

$$F_{(0,05)} = (dB_A/dB_d) =$$

Kriteria Pengujian :

1. H_0 ditolak jika $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ 1% dan 5%
2. H_1 diterima jika $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ 1% dan 5%

Tabel Statistik

Statistic	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	Total
N	5	5	5	5	5	25
$\sum x$	34	28	21	12	50	145
$\sum x^2$	232	158	89	30	502	1011
\bar{x}	6,8	5,6	4,2	2,4	10	29

a. Jumlah kuadrat total (JK_T)

$$\begin{aligned} JK_T &= \sum x^2_T - \frac{(\sum x_T)^2}{n_T} \\ &= 1011 - \frac{(145)^2}{25} \\ &= 1011 - 841 \\ &= 170 \end{aligned}$$

b. Jumlah kuadrat antar kelompok A (JK_A)

$$\begin{aligned} JK_A &= \sum \frac{(\sum x_A)^2}{n_A} - \frac{(\sum x_T)^2}{n_T} \\ &= \left[\frac{(34)^2}{5} + \frac{(28)^2}{5} + \frac{(21)^2}{5} + \frac{(12)^2}{5} + \frac{(50)^2}{5} \right] - \frac{(145)^2}{25} \\ &= 231,2 + 156,8 + 88,2 + 28,8 + 500 - 841 \\ &= 164 \end{aligned}$$

c. Kuadrat dalam kelompok (JK_d)

$$JK_d = JK_T - JK_A$$

$$= 170 - 164$$

$$= 6$$

d. Derajat kebebasan antar kelompok A (db_A)

$$db_a = a - 1$$

$$= 5 - 1$$

$$= 4$$

e. Derajat kebebasan dalam kelompok (db_d)

$$db_d = n_T - a$$

$$= 25 - 5$$

$$= 20$$

f. Derajat total (db_T)

$$db_T = n_T - 1$$

$$= 25 - 1$$

$$= 24$$

g. Rata-rata kuadrat antar kelompok A (Rk_A)

$$Rk_A = Jk_A : db_A$$

$$= 164 : 4$$

$$= 41$$

h. Rata-rata kuadrat dalam kelompok (Rk_d)

$$Rk_d = Jk_d : db_d$$

$$= 6 : 20$$

$$= 0,3$$

i. Nilai F

$$F = Rk_A : Rk_d$$

$$= 41 : 0,3$$

$$= 136,6$$

j. Nilai f dari daftar tabel

$$F_{0,01}(db_A, db_d) = F_{0,01}(4/20) = 4,43$$

$$F_{0,05}(db_A, db_d) = F_{0,05}(4/20) = 2,87$$

k. Ringkasan Anava

Sumber variansi	Jk	Db	Rk	Nilai		
				F _{hitung}	F _{tabel}	
					1%	5%
A	164	4	41	136,6	4,43	2,87
D	6	20	0,3	-	-	-
T	170	24	-	-	-	-

Keterangan :

$F_{hitung} \geq F_{tabel} 1\%$: Sangat Signifikan

$F_{hitung} \geq F_{tabel} 5\%$: Signifikan

$F_{hitung} \leq F_{tabel} 5\%$: Tidak Signifikan

1. kesimpulan

Ternyata $F < F_{0,01 (4/20)}$, efektivitas keenam perlakuan tersebut berbeda sangat signifikan

Lampiran 6

Uji BNT Diameter Zona Hambat Terhadap Bakteri *Micrococcus luteus*

Tujuan : Untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus*

$$\begin{aligned} \text{BNT 5\%} &= t_{0,975} (db_d) \sqrt{\frac{2 \times RK_d}{n}} & \text{BNT 1\%} &= t_{0,995} (db_d) \sqrt{\frac{2 \times RK_d}{n}} \\ &= t_{0,975} (20) \sqrt{\frac{2 \times 0,3}{5}} & &= t_{0,995} (20) \sqrt{\frac{2 \times 0,3}{5}} \\ &= 2,09 \times 0,346 = 0,72 & &= 2,84 \times 0,346 = 0,98 \end{aligned}$$

Uji BNT Diameter Zona Hambat ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Micrococcus luteus*

Perlakuan	Nilai Rata-rata	Beda Nilai Rata-rata				
		A1	A2	A3	A4	A5
A ₁ (100%)	6,8	-	1,2**	2,6**	4,4**	3,2**
A ₂ (90%)	5,6	-	-	1,4**	3,2**	4,8**
A ₃ (80%)	4,2	-	-	-	1,8**	5,8**
A ₄ (70%)	2,4	-	-	-	-	7,6**
A ₅ (+)	10	-	-	-	-	-
BNT 1% = 0,98**						
BNT 5% = 0,72*						

Keterangan : * = Berbeda Signifikan

** = Berbeda Sangat Signifikan

Lampiran 7

Uji Normalitas Terhadap Diameter zona hambat bakteri *Bacillus subtilis*

Tujuan : Untuk mengetahui normalitas diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Bacillus subtilis*

Tes Normalitas Distribusi

a. Menghitung Range

$$\begin{aligned} R &= \text{nilai maximum} - \text{nilai minimum} \\ &= 11 - 2 \\ &= 9 \end{aligned}$$

b. Menghitung banyaknya kelas

$$\begin{aligned} K &= 1 + 3,3 \log 25 \\ &= 5,6 \approx 5 \end{aligned}$$

c. Menghitung panjang kelas

$$P = \frac{R}{K} = \frac{9}{5} = 1,8 \approx 2$$

Kelas	o_i	BK	Nilai Z		Tabel Z		L	E_i
1 – 2	5	0,5 – 2,5	-1,786	-1,051	0,4624	0,3531	0,1094	2,7
3 – 4	5	2,5 – 3,5	-1,051	-0,316	0,3531	0,1217	0,2314	5,7
5 – 6	8	4,5 – 6,5	-0,361	0,419	0,1217	0,1591	0,2808	7,0
7 – 8	3	6,5 – 8,5	0,419	1,154	0,1554	0,3749	0,2195	5,4
9 – 10	4	9,5 – 10,5	1,154	1,889	0,3749	0,4699	0,095	2,3
Jumlah	25							

d. Menghitung χ^2

$$\chi^2_{\text{hitung}} = \sum \left(\frac{E_i - O_i}{E_i} \right)^2$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = \frac{(5-2,7)^2}{2,7} + \frac{(5-5,7)^2}{5,7} + \frac{(8-7,0)^2}{7,0} + \frac{(3-5,4)^2}{5,4} + \frac{(4-2,3)^2}{2,3}$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 1,95 + 0,08 + 0,14 + 1,06 + 1,2$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 4,43$$

e. Menentukan derajat kebebasan

$$db = 5 - 3 = 2$$

f. Menentukan nilai χ^2 dari daftar

$$\chi^2_{0,99}(2) = 9,21$$

g. Penentuan normalitas

Ternyata χ^2 hitung $< \chi^2_{0,99}(3)$, maka populasi **data berdistribusi normal.**

Lampiran 8

Uji Homogenitas Terhadap Diameter zona hambat bakteri *Bacillus subtilis*

Tujuan : Untuk mengetahui Diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Bacillus subtilis*

Hipotesis :

H_0 : Data rata-rata diameter zona hambat bervariasi tidak homogen

H_1 : Data rata-rata diameter zona hambat bervariasi homogen

Statistik Pengujian :

$$V_g = \frac{\sum(n_{i-1})V_i}{\sum(n_{i-1})}$$

$$B = (\log V_g) \times \sum(n_{i-1})$$

$$X^2 = 2,3026 \left\{ B - \sum(n_{i-1}) \log V_i \right\}$$

Keterangan :

n = Jumlah data

V_g = Variansi gabungan

B = Nilai Barlett

x = Nilai rata-rata

Taraf nyata :

$$X^2_{(0,99)(k-1)} =$$

$$X^2_{(0,99)(4)} = 13,3$$

Kriteria Pengujian :

3. H_0 ditolak jika X^2 hitung $> X^2_{(0,99)(4)}$

4. HI diterima jika χ^2 hitung $< \chi^2_{(0,99)(4)}$

Tes Homogenitas

g. Menentukan variansi-variansi

$$V_1 = 0,299 \quad V_2 = 0,299 \quad V_3 = 0,199 \quad V_4 = 0,299 \quad V_5 = 0,799$$

h. Menghitung variansi gabungan

$$V_g = \frac{\sum (n_i - 1) V_i}{\sum (n_i - 1)}$$

$$V_g = \frac{(4)0,299 + (4)0,299 + (4)0,199 + (4)0,299 + (4)0,799}{4+4+4+4+4}$$

$$V_g = \frac{1,196+1,196+0,796+1,196+3,196}{20}$$

$$V_g = \frac{7,58}{20} = 0,379$$

i. Menghitung nilai B (Bartlett)

$$B = (\log V_g) \sum (n_i - 1)$$

$$B = (\log 0,379) \cdot (20)$$

$$= -8,42$$

j. Menghitung nilai χ^2 hitung

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 2,3026 \{ B - \sum (n_i - 1) \cdot \text{Log } V_i \}$$

$$\text{Mencari } \sum (n_i - 1) \cdot \text{Log } V_i$$

$$= 4 \log 0,299 + 4 \log 0,299 + 4 \log 0,199 + 4 \log 0,299 + 4 \log 0,799$$

$$= (-2,079) + (-2,079) + (-2,804) + (-2,079) + (-0,389)$$

$$= -9,448$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 2,3026 \{ B - \sum (n_i - 1) \cdot \text{Log } V_i \}$$

$$\chi^2_{\text{hitung}} = 2,3026 \{ -8,42 - (-9,448) \}$$

$$= 2,3026 \{ 1,028 \}$$

$$= 2,367$$

k. Mencari nilai χ^2 dari daftar

$$\text{Nilai } \chi^2_{0,99} (k - 1) = \text{Nilai } \chi^2_{0,99} (4) = 13,3$$

l. Menentukan homogenitas variansi

Ternyata χ^2 hitung $< \chi^2_{0,99} (4)$, maka kelima variansi tersebut homogeny

Lampiran 9

Uji ANAVA Terhadap Diameter Zona Hambat Bakteri *Bacillus subtilis*

Tujuan : Untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pemberian ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Bacillus subtilis*

Hipotesis :

H_0 : Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Bacillus subtilis*

H_1 : Terdapat pengaruh pemberian ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Bacillus subtilis*

Statistik Pengujian UJI ANAVA 1 Faktor

- $JK_T = \sum X^2 - \frac{(\sum XT)^2}{n_T} =$
- $JK_A = \sum \frac{(\sum x_A)^2}{n_a} - \frac{(\sum x_T)^2}{n_T} =$
- $JK_d = JK_T - JK_A$
- $dB_A = a - 1$
- $dB_d = n_T - a$
- $dB_T = n_T - 1$
- $RK_A = JK_A \div dB_A$
- $RK_d = JK_d \div dB_d$
- $F = RK_A \div RK_d$

Keterangan :

- JK : Jumlah kuadrat
dB : Derajat kebebasan
RK : Rata-rata kuadrat
 α : Antar kelompok

d : Dalam kelompok

Taraf nyata :

$$F_{(0,01)} = (dB_A/dB_d) =$$

$$F_{(0,05)} = (dB_A/dB_d) =$$

Kriteria Pengujian :

1. H_0 ditolak jika $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ 1% dan 5%
2. H_1 diterima jika $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ 1% dan 5%

a. Tabel Statistik

Statistic	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	Total
N	5	5	5	5	5	25
$\sum x$	32	28	19	8	47	134
$\sum x^2$	206	158	73	14	445	896
\bar{x}	6,4	5,6	3,8	1,5	9,4	26,7

b. Jumlah kuadrat total (JK_T)

$$\begin{aligned} JK_T &= \sum x^2_T - \frac{(\sum x_T)^2}{n_T} \\ &= 896 - \frac{(134)^2}{25} \\ &= 896 - 718,24 \\ &= 177,76 \end{aligned}$$

c. Jumlah kuadrat antar kelompok A (JK_A)

$$\begin{aligned} JK_A &= \sum \frac{(\sum x_A)^2}{n_A} - \frac{(\sum x_T)^2}{n_T} \\ &= \left[\frac{(32)^2}{5} + \frac{(28)^2}{5} + \frac{(19)^2}{5} + \frac{(8)^2}{5} + \frac{(47)^2}{5} \right] - \frac{(134)^2}{25} \\ &= 204,8 + 156,8 + 72,2 + 12,8 + 441,8 - 718,24 \\ &= 170,16 \end{aligned}$$

d. Kuadrat dalam kelompok (JK_d)

$$\begin{aligned} JK_d &= JK_T - JK_A \\ &= 177,76 - 170,16 \\ &= 7,6 \end{aligned}$$

e. Derajat kebebasan antar kelompok A (db_A)

$$\begin{aligned} db_a &= a - 1 \\ &= 5 - 1 \\ &= 4 \end{aligned}$$

f. Derajat kebebasan dalam kelompok (db_d)

$$\begin{aligned} db_d &= n_T - a \\ &= 25 - 5 \\ &= 20 \end{aligned}$$

g. Derajat total (db_T)

$$\begin{aligned} db_T &= n_T - 1 \\ &= 25 - 1 \\ &= 24 \end{aligned}$$

h. Rata-rata kuadrat antar kelompok A (Rk_A)

$$\begin{aligned} Rk_A &= Jk_A : db_A \\ &= 170,16 : 4 \\ &= 42,54 \end{aligned}$$

i. Rata-rata kuadrat dalam kelompok (Rk_d)

$$\begin{aligned} Rk_d &= Jk_d : db_d \\ &= 7,6 : 20 \\ &= 0,38 \end{aligned}$$

j. Nilai F

$$\begin{aligned} F &= Rk_A : Rk_d \\ &= 42,54 : 0,38 \\ &= 111,9 \end{aligned}$$

k. Nilai f dari daftar tabel

$$\begin{aligned} F_{0,01}(db_A, db_d) &= F_{0,01}(4/20) = 4,43 \\ F_{0,05}(db_A, db_d) &= F_{0,05}(4/20) = 2,87 \end{aligned}$$

1. Ringkasan Anava

Sumber variansi	Jk	Db	Rk	Nilai		
				F _{hitung}	F _{tabel}	
					1%	5%
A	170,16	4	42,54	111,9	4,43	2,87
D	7,6	20	0,38	-	-	-
T	177,76	24	-	-	-	-

Keterangan :

$F_{hitung} \geq F_{tabel} 1\%$: Sangat Signifikan

$F_{hitung} \geq F_{tabel} 5\%$: Signifikan

$F_{hitung} \leq F_{tabel} 5\%$: Tidak Signifikan

m. kesimpulan

Ternyata $F < F_{0,01 (4/20)}$, efektivitas kelima perlakuan tersebut berbeda sangat signifikan

Lampiran 10

Uji BNT Diameter Zona Hambat Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis*

Tujuan : Untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Bacillus subtilis*

$$\begin{aligned}
 \text{BNT 5\%} &= t_{0,975} (db_d) \sqrt{\frac{2 \times RK_d}{n}} & \text{BNT 1\%} &= t_{0,995} (db_d) \sqrt{\frac{2 \times RK_d}{n}} \\
 &= t_{0,975} (20) \sqrt{\frac{2 \times 0,38}{5}} & &= t_{0,995} (20) \sqrt{\frac{2 \times 0,38}{5}} \\
 &= 2,09 \times 0,39 = 0,815 & &= 2,84 \times 0,39 = 1,11
 \end{aligned}$$

Uji BNT Diameter Zona Hambat ekstrak *Marchantia geminata* terhadap bakteri *Bacillus subtilis*

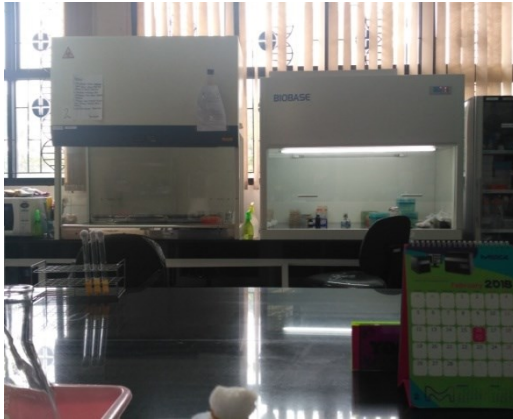
Perlakuan	Nilai Rata-rata	Beda Nilai Rata-rata				
		A1	A2	A3	A4	A5
A ₁ (100%)	6,4	-	0,8*	2,6**	4,9**	3**
A ₂ (90%)	5,6	-	-	1,8**	4,1**	3,8**
A ₃ (80%)	3,8	-	-	-	2,3**	5,6**
A ₄ (70%)	1,5	-	-	-	-	7,9**
A ₅ (+)	9,4	-	-	-	-	-
BNT 1% = 1,11**						
BNT 5% = 0,815*						

Keterangan : * = Berbeda Signifikan

** = Berbeda Sangat Signifikan

Lampiran 11. Alat penelitian

1. Laminar airflow



2. Spectro



3. Evaporator



4. Mikro pipet



7. Oven

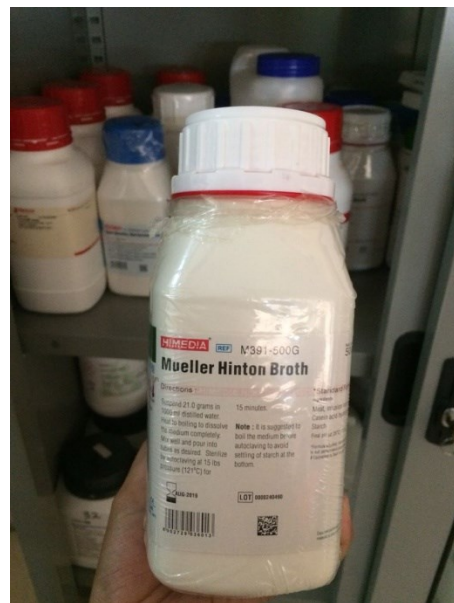


Lampiran 11. Bahan penelitian

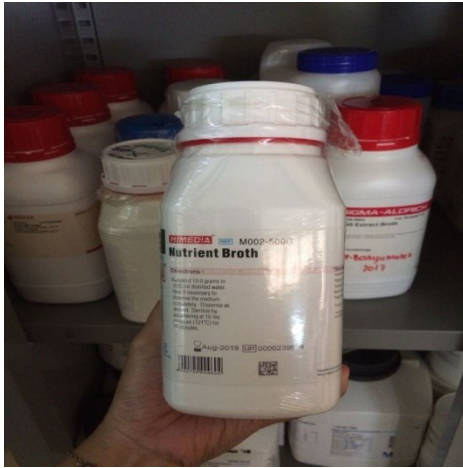
1. Agar (media pertumbuhan)



2. MHB (media pertumbuhan)



3. Nutrient Broth (media inokulasi)



Lampiran 12. Bakteri uji, media dan ekstrak

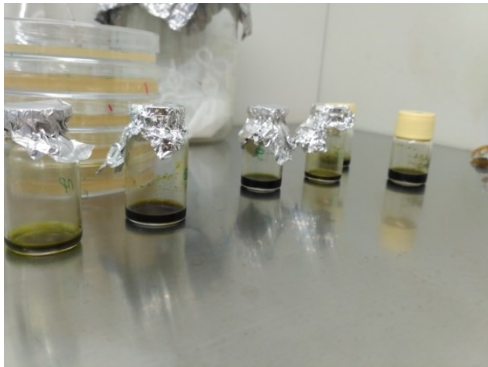
1. Bakteri uji



2. Media steril



3. Ekstrak



4. Lumut kering



ARTIKEL

In Vitro Antibacterial properties of Marchantia germinate Extracts

Susilo dan Maryanti Setyaningsih

¹ Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta, Indonesia, 13830

* Email Korespondensi: susilo@uhamka.ac.id

Abstract

Crude extracts from various plants in Indonesia have been widely used for the traditional treatment of infectious diseases. However, clinical exploitation of antibacterials by modern laboratories is rarely reported. This study investigated the in vitro antimicrobial activity of *Marchantia geminata* against the bacteria *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*. The research was conducted in February - June 2018 at the Applied Microbiology Laboratory of LIPI Cibinong. This research is an experimental study using a completely randomized design method (CRD) with 5 treatments and 5 repetitions. The treatments in question were A1 (100% *Marchantia geminata* Extract), A2 (90% *Marchantia geminata* Extract), A3 (80% *Marchantia geminata* Extract), A4 (70% *Marchantia geminata* Extract) and A5 (Tetracycline positive control). The diameter of the inhibition zone formed on the media was measured and the average diameter formed from each concentration was calculated. The data obtained were processed using the Anava test and LSD test calculations. The results showed that the administration of *Marchantia geminata* was more effective at inhibiting the growth of *Micrococcus luteus* bacteria than in *Bacillus subtilis*. At a concentration of 100% *Marchantia geminata* extract can form an average inhibition zone of the bacteria *Micrococcus luteus* of 6.8 mm, while the *Bacillus subtilis* is able to form an inhibition zone of 6.4 mm. *Marchantia geminata* extract has an effect on the bacteria *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*.

Keywords: *Antibacterial; Bacillus Subtilis; Inhibitory Zone; Marchantia geminata; Micrococcus luteus*

Preliminary

Mosses (Bryophyta) are the second largest taxonomic group of the kingdom plantae (Mukhia, Mandal, Singh, & Singh, 2019). Mosses are also included in one of the lower plant groups and part of the biodiversity that has minimal attention (Windadri & Susan, 2013). The spread of moss in Indonesia is very wide. In fact, the high level of moss diversity cannot be utilized optimally.

Mosses have many important roles for the environment. Like liverworts which are environmental and ecological indicators (Giordano et al., 2004; Gradstein, Griffin, Morales, & Nadkarni, 2001; Mukhia et al., 2019). Liverworts are found in terrestrial ecosystems that are relatively humid and shady (Gradstein & Costa, 2003). Menurut Smith, (1999); Veljić, Ćirić, Soković, Janačković, & Marin, (2010) Moss grows branches, trunks and roots that open from a shrub or tree, and rarely grows on rocks. Liverworts are also an important component of vegetation in the world, which is a major part of biodiversity in wet forests, wetlands, mountains, and tundra ecosystems. (Hallingbäck & Hodgetts, 2000; Söderström et al., 2016). But it has been a long time since no one has conducted research on this group of plants. The last few times, Dulger, Yayintas, & Gonuz, (2005); Ilhan, Savaroğlu, Çolak, Işçen, & Erdemgil, (2006); Ojo, Ajayi, & Anibijuwon, (2007), isolate this plant. After being isolated, it turns out that there are many bioactive substances in mosses and liverworts. Even compounds entirely new to the

ARTIKEL

plant kingdom have been obtained from relatively unexplored plant groups, such as liverworts (Sabovljevic & Sabovljevic, 2008).

Currently, many studies have been carried out by researchers outside Indonesia that examine the benefits of this moss plant. However, in Indonesia, studies on the benefits of moss plants can still be said to be small when compared to the high amount of moss diversity (Fadhilla, Iskandar, & Kusumaningrum, 2012).

The use of marchantia liverworts as a traditional medicinal plant has long been applied in several countries such as China. Various biological activities observed from the moss extract include antibacterial, anti-inflammatory, antipyretic, antitoxin, antiseptic, diuretic and anti-hepatitis (Fadhilla et al., 2012). Antibacterials are substances that can inhibit or kill bacteria that cause infection. Infections are caused by pathogenic bacteria or microorganisms. *Micrococcus luteus* bacteria are pathogenic bacteria that often cause disease in fish (Kumar & Chaudhary, 2010). This disease, which is caused by gram-positive spherical bacteria, is called micrococcosis (Aydin, Ciltas, Yetim, & Akyurt, 2005; Mewari & Kumar, 2008; Kusdarwati, Sari, & Mukti, 2010). Apart from the *Micrococcus luteus* bacteria, other pathogenic bacteria are *Bacillus subtilis*. These bacteria often infect the eye organs of heroin addicts, besides these bacteria can also cause food poisoning (Braga et al., 2005; Kumar & Chaudhary, 2010).

Food poisoning cases are a case that often occurs around us, in 2017 the POM has recorded 57 food poisoning news obtained from the mass media and PHOEC. The results of the BB / BPOM report in 2017 reported that throughout Indonesia there were 53 cases of food poisoning. A total of 5293 people were exposed to food poisoning, cases of food poisoning were reported as many as 2041 people and 3 people died (BPOM, 2017).

Food poisoning or food preservation can be controlled with plant extracts. This plant extract is an antimicrobial found in moss and has been shown to be potentially effective as a natural alternative prevention for controlling food poisoning. (Mostafa et al., 2018).

Asakawa, et al (2009) reported that Marchantin A content of various *Marchantia* species, showed antibacterial activity against *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, and *Staphylococcus aureus*. These contents are secondary metabolites. Secondary metabolites found in plants are used as a means for plants to defend themselves against herbivores and against bacteria, fungi and viruses (Seigler, 1995; Wink, 2010; Wink, 2015). Several secondary metabolites also function as signaling compounds to attract animal pollinators and seed dispersers, furthermore as antioxidants and UV protectors. According to Ilhan et al., (2006) In general, extracts from liverworts contain isoflavonoids, flavonoids, and bioflavonoids which effectively inhibit microorganisms. According to Fadhilla et al. (2012), the antibacterial mechanism of phenolic compounds and terpenoids is to damage the cell wall structure and interfere with the active transport and proton forces in the cytoplasmic membrane of bacteria.

The content of secondary metabolites found in *Marchantia geminata* functions as an antibacterial. Based on the content of secondary metabolites found in *Marchantia geminata*, the researchers wanted to conduct research on the inhibition test of *Marchantia geminata* extract against *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis* bacteria.

ARTIKEL

Method

Marchantia geminata is taken in the tourist area of Curug Cibereum, then the moss is cleaned of dirt and attached fibers. The moss is dried at room temperature and kept out of the sun. This is done so that the secondary metabolites contained in liverworts are not damaged. The moss sample was then crushed and extracted using ethyl acetate.

The antibacterial test method used in this study was the modified disc diffusion method, namely a paper disc with an antimicrobial agent placed on agar media that had been planted with microorganisms. The zone of inhibition that is formed is marked by a clear area around the disc (Pratiwi, 2008). Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan yaitu konsentrasi 70%, 80%, 90%, 100% dan Tetrasiklin sebagai kontrol positif.

This study used the main ingredient, *Marchantia geminata* liverwort, which was obtained from the tourist area of Curug Cibereum. *Marchantia geminata* was extracted in LIPI's Applied Microbiology laboratory, *Micrococcus luteus* bacteria, *Bacillus subtilis*, NB Media (Nutrient Broth), MHB (Muller Hinton Broth), Agar, ethyl acetate and aquadest.

Marchantia geminata extraction

Isolation of bioactive components can be done through an extraction process using a solvent and the type of solvent used depends on the nature of the nature, I and the solubility of the components to be extracted. (Sultana, Anwar, & Ashraf, 2009). Solvents, extraction methods and solvent concentration are important extrinsic factors in determining the antibacterial properties extracted from a material (Thomas et al., 2012).

We made the *Marchantia geminata* extract using the organic extraction method. Dry liverworts first at room temperature and keep out of the sun, the next step is to smooth the moss using a blender. Dissolving moss using ethyl acetate solvent, then mixing the solution using a shaker for 24 hours, then filtering the solution and then evaporating the ethyl acetate from the filter using a rotary evaporator. The results of this evaporation produce yield around the tube, then rinse the yield using methanol. The rinse result is a concentration of 100% *Marchantia geminata* extract.

Making Test Media

The test media in this study used 2 layers, namely the Bottom layer and the Upper layer. Making the bottom layer media was done by mixing 4.2 grams of Muller Hinton Borth powder with 3.6 grams of agar powder and then dissolving the powder using 200 ml of distilled water. Making the upper layer media was done by dissolving 0.525 grams of Muller Hinton Borth and for the next 0.45 grams, dissolving the powder using 50 ml aquadest. The test bacteria used in this study are the newest stock bacteria. The newest stock bacteria are the result of inoculating the previous stock bacteria. The inoculation medium for bacteria used Nutrient Borh as much as 0.525 grams and dissolved the media with 50 ml of distilled water. Media for antibacterial testing must be sterile so that there is no contamination with other organisms. The stylization process is carried out using an autoclave. The next step is to pour the bottom layer media into the petri dish. While waiting for the bottom layer media to solidify, the researcher makes a concentration

ARTIKEL

variable stock using a hard disk. The concentration variable stock was made by mixing 100% *Marchantia geminata* extract with aquadest. Dropping *Marchantia geminata* extract must be in accordance with the conditions of the paper disc so that all the extract that is dropped can be absorbed properly. The bottom layer media that has solidified then then pour the upper layer media that has been mixed with the tested bacteria and the upper layer is left to stand until it solidifies. The next process is to stick a paper disc on the upper layer media and then put the test media in the refrigerator for 3 hours so that the extract can diffuse properly on the media. The last step in the antibacterial test is to put the media in a bacterial incubator for 24 hours. Researchers made observations after the media was placed in the icubator for 24 hours. If a clear area is formed on the media, this identifies the inhibitory power of the extract. Researchers measured the zone of inhibition using calipers (Pratiwi, 2008). The antimicrobial test was performed using the disk diffusion method reported by Murray et al.15. The microorganisms tested were incubated overnight at 37°C. After 20 ml of the culture medium was compacted, 100 µl of the standardized bacterial suspension adjusted to the bacterial cell density of 3×10^8 CFU / ml was evenly distributed on the media. After drying, a 6 mm diameter filter paper disc containing 5 µl of pure essential oil was lightly pressed against the inoculated agar surface. The plates were incubated in a microbiological incubator at 37° C for 24 hours. Gentamicin sulfate and chloramphenicol were used as positive controls. The diameter of the inhibition zone formed around the filter paper over agar cultures is measured in millimeters as an index of antibacterial activity. All tests were carried out in triplicate and zone of inhibition on experimental plates compared to controls.

Data collection

The parameter of this research is to use the diameter of the inhibition zone formed in the tested bacteria. The diameter of the inhibition zone is obtained by calculating the diameter of the clear area - the diameter of the paper disc in mm (Davis & Stout, 1971).

Data analysis

The data analysis of this study used the ANOVA test to determine whether or not the effect of each extract concentration on the tested bacteria was present or not

Result

Researchers conducted an antibacterial test of *Marchantia geminata* liverwort against two tested bacteria, namely *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*. The liverworts were obtained from Curug Cibereum, the Gunung Gede Pangrango Nature Park area. *Marchantia geminata* extract at each concentration had an effect on the bacteria *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*. Inhibition research was carried out by measuring the inhibition zone formed on MHA media which had been incubated by the bacteria *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis* for 24 hours at 37oC. In the MHA media, the formation of an inhibition zone on the discs given *Marchantia geminata* extract and the discs dripped with tetracycline was seen.

ARTIKEL

The effect of each extract showed different results. This can be seen from the inhibition zone formed on the test media which is marked by the clear zone around the disc. The average inhibition zone formed can be seen in Figure 1 and Figure 2.

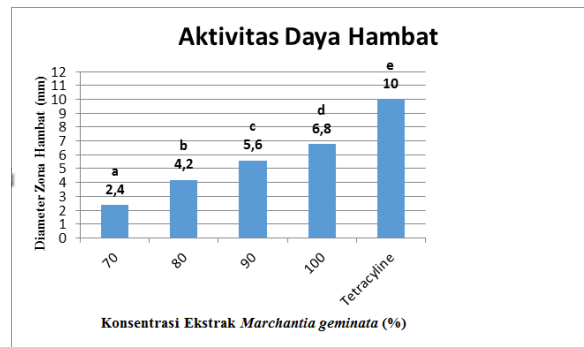
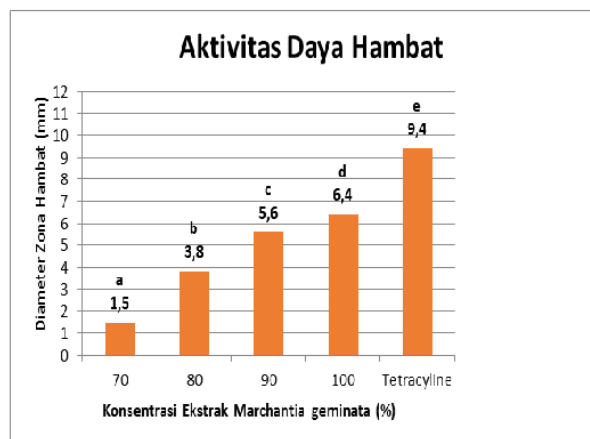


Figure 1. Barchart mean of inhibitory activity of *Marchantia geminata* extract against *Micrococcus luteus* bacteria

Figure 1 shows the activity that occurs in the *Marhantia gemiata* extract against the test bacteria *Mirococcus luteus*. The average diameter of the inhibition zone from each concentration has increased. This shows that *Marchantia geminata* extract has activity to inhibit bacteria when the extract concentration is increased.



Fogure 2. Barchart mean inhibitory activity of *Marchantia geminata* extract against *Bacillus subtilis*

Figure 2 shows the results of the average inhibition zone diameter formed from each extract concentration. The inhibition zone formed in the *Bacillus subtilis* test bacteria was smaller than the inhibition zone formed in the *Micrococcus luteus* test bacteria.

In the *Micrococcus luteus* bacteria the largest average diameter was found at the 100% extract concentration, which was 6.8 mm and the smallest was at the extract concentration of 70%, the average diameter of the inhibition zone formed at a concentration of 70% was only 2.4 mm. The inhibition zone in *Bacillus subtilis* bacteria is smaller than the inhibition zone in *Micrococcus luteus* bacteria. The average diameter formed at a concentration of 100% was 6.4 mm, while the average diameter formed at a concentration of 70% was only 1.5 mm. The difference in the diameter of the inhibition zone formed in the two tested bacteria can be influenced by several factors, including the absorption of

ARTIKEL

the extract in imperfect media. The data contained in the figure shows the results that *Marchantia geminata* extract is more effective in inhibiting the growth of *Micrococcus luteus* bacteria compared to *Bacillus subtilis* bacteria.

Discussion

This research was conducted at the LIPI Applied Microbiology Laboratory in January, May-June 2018. The liverworts used as material for this study were the *Marchantia geminata* species taken in the Cibereum waterfall tourism area. The moss obtained is then cleaned using running water to remove dirt and fibers that stick. Dry liverworts at room temperature and keep out of the sun. This is done so that the secondary metabolites found in liverworts are not damaged. Moss extraction is carried out by means of organic extraction, namely by using organic chemical compounds. The moss that has been mashed is soaked with ethyl acetate in an Erlenmeyer container and covered with aluminum foil and then in a shaker for 24 hours. The moss that has been shaken is then filtered using gauze and filter paper then evaporates the ethyl acetate using a rotary evaporator. Harbone (2006), stated that the use of heat above a temperature of 50 C will destroy volatile compounds from the terpenoid and phenolic groups with low molecular weight. Most of the antibacterials of plant origin are known to be secondary metabolites identified as phenolic and terpenoid groups in the essential oil fraction. (Harbone, 2006). Asakawa (2004), reported that most of the moss *Marchantia* sp. rich in phenolic compounds and terpenoids. Secondary metabolite compounds, especially phenolic compounds, can inhibit bacterial growth.

Antibacterial activity is divided into several categories, if it forms an inhibition zone of 20 mm or more then the antibacterial activity is very strong, whereas if the inhibition zone is formed between 11-12 mm it is categorized as strong, the inhibition zone between 5-10 mm is categorized as moderate and for the weak category the inhibition zone formed is less than 5 mm (Davis & Stout, 1971).

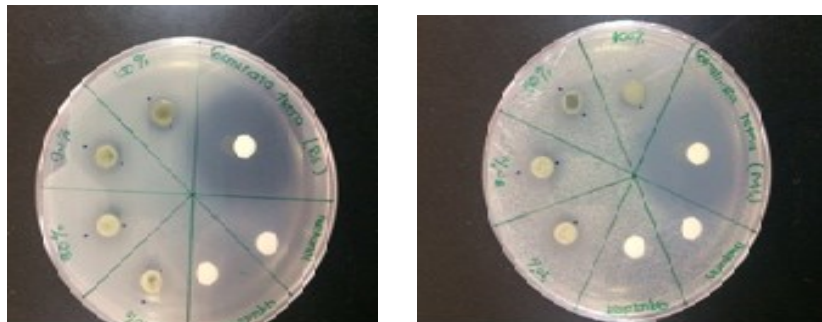


Figure 3. Diameter of the inhibition zone of *Marchantia geminata* extract against the bacteria *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*

Figure 3 is the result of a *Marchantia geminata* extract study against *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*. Based on the results of observations made by the test media, it shows that an inhibition zone is formed around the disc which is given *Marchantia geminata* extract. The mean inhibition zone formed in the *Micrococcus luteus* test bacteria at a concentration of 100% was 6.8 mm, a concentration of 90% was 5.6 mm, a concentration of 80% was 4.2 and a concentration of 70% was 2.4 mm. In the *Bacillus subtilis* test bacteria, the inhibition zone formed was smaller than the *Micrococcus luteus*

ARTIKEL

test bacteria. At 100% concentration the average inhibition zone formed is 6.4 mm, 90% concentration is 5.6 mm, 80% concentration is 3.8 and at 70% concentration the inhibition zone is formed of 1.5 mm. positive control in this study was to use tetracycline antibiotics. The negative control used in this study was aquadest. Aquadest is a solvent that is used to create a variable concentration. This can prove that mixing aquadest in making the concentration variable does not affect the formation of the inhibition zone on the media. Based on the results of these studies, *Marchantia geminata* extract at concentrations of 100% and 90% had moderate ability to inhibit the growth of the bacteria *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*.

The width of the inhibition zone can be used as a measure to determine the strength of the bioactive compounds contained in the *Marchantia geminata* extract. The wider the inhibition zone formed, the stronger the bioactive compounds that inhibit bacterial growth (Setiabudy, 2008).

The inhibition zone formed at concentrations of 80% and 70% is indeed very small and falls into the weak category and is less effective in inhibiting bacterial growth, this can be due to the lack of *Marchantia geminata* extract on paper discs. Tetracycline positive control functions as a comparison of the inhibition zone formed from *Marchantia geminata* extract so that the inhibition zone can be found at what concentration can inhibit bacterial growth maximally.

The formed inhibition zone can be used as a measure to see the strength of bioactive compounds or secondary metabolites contained in *Marchantia geminata* extract. The wider the inhibition zone formed, the stronger the bioactive compounds that inhibit bacterial growth. The inhibition zone formed at concentrations of 80% and 70% is indeed very small and falls into the weak category and is less effective in inhibiting bacterial growth, this can be due to the lack of *Marchantia geminata* extract on the disc.

Certain antibacterial agents can increase their activity if their antibacterial levels are increased, thus *Marchantia geminata* extract can produce a larger zone of inhibition if the levels given are increased to a greater extent. The zone of inhibition is formed from the *Marchantia geminata* extract because there are bioactive compounds in the moss. The use of solvents at the extraction stage can affect the formation of inhibition, therefore to get maximum results, different types of solvents and test bacteria can be used.

Based on the calculation of the anava test, the results showed that *Marchantia geminata* extract had an effect on the bacteria *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis*. The calculation results prove that *Marchantia geminata* extract is more active in inhibiting the growth of *Micrococcus luteus* bacteria compared to *Bacillus subtilis* bacteria.

Conclusion

Marchantia geminata extract gave an effect on the growth of bacteria *Micrococcus luteus* and *Bacillus subtilis* and the inhibition zone formed was included in the medium category.

Acknowledgments

ARTIKEL

Thanks to Lemlitbang UHAMKA for providing this research and LIPI especially in the Applied Microbiology Laboratory for providing a source of bacteria and providing a place for research.

Reference

- Asakawa, E. al. (2009). Bryophytes: bio-and chemical diversity, bioactivity and chemosystematics. *Int J for Reviews and Communication in Heterocyclic Chem.*
- Asakawa, Y. (2004). *Chemosystematics of the hepatica*. Tokushima Japan: Phytochem.
- Aydin, S., Ciltas, A., Yetim, H., & Akyurt, I. (2005). Clinical, pathological and haematological effects of *Micrococcus luteus* infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 4(2), 167–174. Retrieved from <http://medwelljournals.com/abstract/?doi=javaa.2005.167.174>
- BPOM. (2017). *Laporan Tahunan*.
- Braga, L. C., Shupp, J. W., Cummings, C., Jett, M., Takahashi, J. A., Carmo, L. S., ... Nascimento, A. M. A. (2005). Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1–2), 335–339. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.08.034>
- Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay I. Factors Influencing Variability and Error. *Applied Microbiology*, 22(4), 659–665.
- Dulger, B., Yayintas, O. T., & Gonuz, A. (2005). Antimicrobial activity of some mosses from Turkey. *Fitoterapia*, 76(2), 730–732.
- Fadhilla, R., Iskandar, E. A. P., & Kusumaningrum, H. D. (2012). Aktivitas Antimikroba Ekstrak Tumbuhan Lumut Hati (*Marchantia palacea*) Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 23(2), 126–131. <https://doi.org/10.6066/jtip.2012.23.2.126>
- Giordano, S., Sorbo, S., Adamo, P., Basile, A., Spagnuolo, V., & Cobianchi, R. C. (2004). Biodiversity and trace element content of epiphytic bryophytes in urban and extraurban sites of southern Italy. *Plant Ecology*, 170(1), 1–14. <https://doi.org/10.1023/b:vege.0000019025.36121.5d>
- Gradstein, S. R., & Costa, D. P. (2003). The hepaticae and anthocerotae of Brazil. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 81, 1–316.
- Gradstein, S. R., Griffin, D., Morales, M. I., & Nadkarni, N. (2001). Diversity and habitat differentiation of mosses and liverworts in the cloud forest of Monteverde. *Costa Rica. Caldasia*, 23(1), 203–212.
- Hallingbäck, T., & Hodgetts, N. (2000). Mosses, liverworts, and hornworts. Status survey and conservation action plan for bryophytes. In *International Union for Conservation of Nature, Gland*.

ARTIKEL

- Harbone, J. B. (2006). *Metode Fitokimi: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Terjemahan : Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ilhan, S., Savaroğlu, F., Çolak, F., Işçen, C. F., & Erdemgil, F. Z. (2006). Antimicrobial activity of *Palustriella commutata* (Hedw.) ochrya extracts (Bryophyta). *Turkish Journal of Biology*, 30(3), 149–152.
- Kumar, P., & Chaudhary, L. B. (2010). Antibacterial activity of moss *Endotomonurus* (Hook) Hamp. against some pathogenic bacteria. *International J of Live Sci* 5, 605–608.
- Kusdarwati, R., Sari, L., & Mukti, A. T. (2010). Antibacterial Effort of Adas Fruit (*Foeniculum vulgare*) Extract on *Micrococcus luteus* Bacterial By In Vitro. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 2(1), 31–35.
- Mewari, N., & Kumar, P. (2008). Antimicrobial activity of extracts of *Marchantia polymorpha*. *Pharmaceutical Biology*, 46(10–11), 819–822. <https://doi.org/10.1080/13880200802315725>
- Mostafa, A. A., Al-Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N., & Bakri, M. M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.004>
- Mukhia, S., Mandal, P., Singh, D. K., & Singh, D. (2019). Comparison of pharmacological properties and phytochemical constituents of in vitro propagated and naturally occurring liverwort *Lunularia cruciata*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2534-4>
- Ojo, O. O., Ajayi, A. O., & Anibijuwon, I. I. (2007). Antibacterial potency of methanol extracts of lower plants. *Journal of Zheijiang University Science B*, 8(3), 189–191.
- Pratiwi, S. T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Sabovljevic, A., & Sabovljevic, M. (2008). Bryophytes, a source of bioactive and compounds. In *Phytopharmacology and therapeutic values IV, the series "recent Progress in medicinal plants"*. (pp. 9–25). USA: Studium Press LLC.
- Seigler, D. S. (1995). *Plant Secondary Metabolism*. Boston, MA, USA: Kluwer Academic Publishers.
- Setiabudy, R. (2008). Antimikroba. In *Farmakologi dan terapi edisi 5. Tanu I*. Jakarta: EGC.
- Smith, A. J. E. (1999). *The liverworts of Britain and Ireland*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Söderström, L., Hagborg, A., Von Konrat, M., Bartholomew-Began, S., Bell, D., Briscoe, L. Zhu, R. L. (2016). World checklist of hornworts and liverworts.

ARTIKEL

PhytoKeys, 59(1), 1–828. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.59.6261>

Sultana, B., Anwar, F., & Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167–2180. <https://doi.org/10.3390/molecules14062167>

Thomas, B. T., Effedua, H. I., Agu, G. C., Akinduti, P. A., Ejilude, O., Efuntoye, M. O., Oluwadun, A. (2012). Extrinsic factors influencing antibacterial activities of *Tapinanthus bangwensis* against diarrheal causing organisms. *Int J Microbiol*, 3(4), 33–37. <https://doi.org/10.5829/idosi.ijmr.2012.3.1.56210>.

Veljić, M., Ćirić, A., Soković, M., Janačković, P., & Marin, P. D. (2010). Antibacterial and antifungal activity of the liverwort (*Ptilidium pulcherrimum*) methanol extract. *Archives of Biological Sciences*, 62(2), 381–386. <https://doi.org/10.2298/ABS1002381V>

Windadri, F. indah, & Susan, D. (2013). Keanekaragaman jenis lumut di kepulauan raja ampat, papua barat. *Bululetin Kebun Raya*, 16(2), 75–84.

Wink, M. (2010). Functions of Plant Secondary Metabolites and their Exploitation in Biotechnology. *Annual Plant Reviews; Wiley-Blackwell: London*, 39.

Wink, M. (2015). Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines*, 2(3), 251–286. <https://doi.org/10.3390/medicines2030251>