

Potensi Ekstrak *Lichen Parmelia sulcata* dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Xanthomonas campestris* pada Tanaman Kubis

The Potential of Lichen Parmelia sulcata Extract in Inhibiting the Growth of Xanthomonas campestris on Cabbage Plants

Kharisma Alfia Pranadita*, Yuliani

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*e-mail : kharismapranadita@mhs.unesa.ac.id

ABSTRAK

Lichen merupakan salah satu organisme yang memiliki tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi dan memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pestisida hayati. Salah satu jenis *lichen* yang sering dijumpai di Indonesia ialah *lichen P. sulcata*. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak *lichen P. sulcata* dan untuk menentukan konsentrasi optimal ekstrak *lichen P. sulcata* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima variasi konsentrasi yaitu 10.000 ppm, 20.000 ppm, 30.000 ppm, 40.000 ppm, dan 50.000 ppm serta menggunakan kontrol positif kloramfenikol 5% dan kontrol negatif akuades dengan empat kali pengulangan. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode kertas cakram. Data yang diperoleh berupa hambatan pertumbuhan bakteri *X. campestris* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram dan dianalisis menggunakan ANOVA serta dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *lichen P. sulcata* berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris*. Perlakuan ekstrak *lichen P. sulcata* dengan konsentrasi 50.000 ppm paling optimal dalam menghambat bakteri *X. campestris* dengan diameter sebesar $9,87 \pm 0,25$ mm.

Kata kunci: *Lichen Parmelia sulcata*, hambatan pertumbuhan, *Xanthomonas campestris*

ABSTRACT

Lichen is one organism that has a high level of biodiversity and contain secondary metabolites that can be used as raw material for biological pesticides. There are many lichens that can be found in Indonesia, one of them is *P. sulcata*. The purpose of this study was to determine the effect of *lichen P. sulcata* extract and to determine the optimal concentration of *lichen P. sulcata* extract in inhibiting the growth of bacteria *X. campestris* *in vitro*. This study used a Completely Randomized Design with five variations in the concentration of 10,000 ppm, 20,000 ppm, 30,000 ppm, 40,000 ppm, and 50,000 ppm, positive control using chloramphenicol 5%, and negative control using distilled water with four repetitions. Analysis of antibacterial activity used paper disc method. Data were obtained inhibition of growth of *Xanthomonas campestris* bacteria characterized by the formation of inhibition zone around the disc paper and analyzed using ANOVA and continued with Duncan test. The result showed that the *Lichen Parmelia sulcata* extract can inhibit the growth of bacteria *Xanthomonas campestris*. The optimum concentration of *Parmelia sulcata* extract was 50.000 ppm with clear zone diameter of 9.87 ± 0.25 mm.

Key words: *Lichen Parmelia sulcata*, inhibition of growth, *Xanthomonas campestris*

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah, kelimpahan keanekaragaman hayati tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat modern maupun tradisional, namun masih sedikit yang dimanfaatkan sebagai bahan baku pestisida hayati (Galingging, 2010). Salah satunya yaitu *lichen*. Keanekaragaman dan keberadaan *lichen* di Indonesia sangat banyak, akan tetapi masyarakat Indonesia banyak yang belum mengetahui keberadaan dan manfaatnya. Keanekaragaman jenis *lichen* mencapai 18.000 spesies yang tersebar di dunia, baik dalam bentuk makro maupun dalam bentuk mikro (Kumar, 2000), sedangkan *lichen* di Indonesia mencapai ± 17.000 (Baron, 1999).

Lichen adalah organisme gabungan antara fungi dan alga yang dapat dikelompokkan menjadi 3 jenis berdasarkan struktur thallusnya yaitu *crustose*, *foliose*, dan *fructicose*. *Lichen* memiliki sejumlah metabolit sekunder unik dan banyak di antaranya merupakan senyawa bioaktif (Balaji dan Hariharan 2007). Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam *lichen* dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pestisida hayati untuk menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* pada tanaman kubis.

Meningkatnya penggunaan bahan alam sebagai obat disebabkan karena tingginya minat dan frekuensi penggunaan obat yang berasal dari bahan alam. Hasil penelitian menyatakan bahwa 40% dari 35 jenis obat yang paling banyak digunakan merupakan obat yang diperoleh dari senyawa bahan alam dan turunannya (Chin *et al.*, 2006). Pemanfaatan *lichen* sebagai bahan pembuatan obat-obatan berhubungan dengan kandungan senyawa-senyawa di dalamnya. Senyawa yang terdapat di dalam *lichen* dapat digunakan sebagai antifungi, antibakteri, antiinflamasi, dan antivirus (Manojlovic *et al.*, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Purwanti *et al.* (2016), bakteri *S. dysenteriae* dan *B. cereus* dapat dihambat oleh ekstrak *lichen P. sulcata*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Putri (2011) dua bakteri yaitu *X. campestris* dan *P. syringae* dapat dihambat oleh ekstrak *lichen Ramalina javanica* Nyl. Hasilnya menunjukkan bahwa diameter zona hambat terbesar terbentuk pada konsentrasi tertinggi yaitu 50.000 ppm sebesar 27,25 mm. pada konsentrasi 25.000 ppm mampu menghambat bakteri *X. campestris*, sedangkan pada konsentrasi 30.000 ppm mampu membunuh bakteri *X. campestris*.

Berdasarkan permasalahan tersebut, maka dilakukan penelitian untuk menguji potensi

ekstrak *lichen P. sulcata* dalam menghambat bakteri *X. campestris* secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental yang dilakukan pada bulan Januari-Maret 2018. Pembuatan ekstrak *lichen P. sulcata* dilakukan di Laboratorium Fisiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya, sedangkan untuk pengujian antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, Erlenmeyer, corong kaca, timbangan digital, ose, rak tabung reaksi, pembakar spiritus, cawan petri, LAF, dan inkubator. Bahan yang digunakan adalah ekstrak *lichen P. sulcata*, bakteri *X. campestris*, alkohol 70%, *Nutrient Agar*, *Nutrient Broth*, metanol 96%, akuades steril, dan kloramfenikol.

Pembuatan ekstrak *lichen* dilakukan dengan menyiapkan 100-200 g serbuk *lichen* dan dimaserasi ke dalam 96% metanol dengan perbandingan 1:10 selama 5 hari, setelah 5 hari pisahkan endapan dan filtrat dengan kertas saring. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C untuk memisahkan antara metanol dengan ekstrak. Dilanjutkan dengan pengujian fitokimia untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *lichen P. sulcata*.

Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri adalah metode difusi cakram. Pertama suspensi bakteri, ekstrak *lichen P. sulcata* dan media NA disiapkan, kemudian media NA dicairkan dengan cara dipanaskan terlebih dahulu, setelah cair bakteri disuspensikan dan diletakkan pada cawan Petri steril sebanyak 1 ml, media NA yang sudah dicairkan dengan suhu sekitar 60°C dituangkan pada cawan petri sebanyak 20 ml dan dihomogenkan, diamkan media dalam cawan petri hingga memadat. Kertas cakram dari kertas saring steril yang berdiameter 6 mm disiapkan, kemudian kertas cakram direndam pada larutan ekstrak *lichen P. Sulcata* konsentrasi 10.000, 20.000, 30.000, 40.000, dan 50.000 ppm, antibiotik kloramfenikol 5%, serta larutan kontrol negatif (akuades steril) selama 10 menit, setelah itu kertas cakram diletakkan di atas media yang sudah dicampur dengan bakteri. Media yang sudah diberi perlakuan diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37 °C, kemudian dilakukan pengukuran zona hambat. Hasil yang diperoleh diuji normalitas Kolmogorov-Smirnov dan dilanjutkan dengan uji Duncan menggunakan SPSS 20.0 for Windows.

HASIL

Hasil uji potensi ekstrak *Lichen P. sulcata* berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris*. Hasil yang diperoleh berupa hambatan pertumbuhan yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat. Zona hambat yang terbentuk berupa zona jernih yang terdapat di sekitar kertas cakram.

Kontrol negatif (akuades) tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris*. Kontrol positif (Kloramfenikol 5%) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris*, hambatan yang terbentuk sebesar $19,25 \pm 0,95$ mm. Pada perlakuan menggunakan ekstrak *Lichen P. sulcata* diperoleh hasil rata-rata diameter hambatan pertumbuhan terkecil terdapat pada konsentrasi 10.000 ppm yaitu sebesar $4,37 \pm 0,47$ mm dan hambatan pertumbuhan terbesar terdapat pada konsentrasi 50.000 ppm dengan rata-rata sebesar $9,87 \pm 0,25$ mm. Konsentrasi 50.000 ppm merupakan konsentrasi optimal pada ekstrak *Lichen P. sulcata* dilihat dari luas hambatan pertumbuhan yang terbentuk (Tabel 1).

Tabel 1. Rerata diameter zona hambat

No.	Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) \pm SD
1.	Kontrol negatif (akuades)	$0,00 \pm 0,00^a$
2.	Kontrol positif (Kloramfenikol)	$19,25 \pm 0,95^g$
3.	Konsentrasi 10.000 ppm	$4,37 \pm 0,47^b$
4.	Konsentrasi 20.000 ppm	$5,62 \pm 0,47^c$
5.	Konsentrasi 30.000 ppm	$7,25 \pm 0,86^d$
6.	Konsentrasi 40.000 ppm	$8,87 \pm 0,47^e$
7.	Konsentrasi 50.000 ppm	$9,87 \pm 0,25^f$

Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan bahwa berdasarkan uji Duncan diperoleh hasil yang berbeda nyata dengan taraf signifikansi 5%.

Rata-rata diameter yang terbentuk dianalisis menggunakan Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov untuk melihat distribusi data yang diperoleh, dan diperoleh hasil $p(0,162) > \alpha(0,05)$ yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal, karena nilai p lebih besar dari α (α), kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA dengan taraf signifikansi (α) 0,05 diperoleh nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ nilai $p < (0,00 < 0,05)$, sehingga dapat diketahui bahwa data tersebut signifikan atau terdapat perbedaan antar perlakuan, dan dapat dilanjutkan uji Duncan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang paling optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris*.

Hasil uji Duncan (Tabel 1) menunjukkan bahwa perlakuan kontrol negatif bernotasi a berbeda nyata terhadap semua perlakuan, dan perlakuan kontrol positif yang bernotasi g juga menunjukkan berbeda nyata terhadap semua perlakuan. Pada perlakuan konsentrasi 10.000 ppm dengan notasi b, konsentrasi 20.000 ppm yang bernotasi c, konsentrasi 30.000 ppm yang bernotasi d, konsentrasi 40.000 ppm yang bernotasi e, dan konsentrasi 50.000 ppm yang bernotasi f menunjukkan notasi yang berbeda-beda, hal tersebut dikarenakan semua perlakuan konsentrasi menunjukkan berbeda nyata terhadap semua perlakuan.

Pengaruh konsentrasi ekstrak *Lichen P. sulcata* terhadap pertumbuhan bakteri *X. campestris* diketahui mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Hal tersebut menunjukkan apabila konsentrasi yang digunakan semakin tinggi, maka hambatan pertumbuhan juga semakin meningkat, yang berarti daya hambat terhambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* juga semakin besar.

PEMBAHASAN

Hasil pengujian potensi ekstrak *Lichen P. sulcata* pada beberapa konsentrasi yaitu konsentrasi 10.000 ppm, 20.000 ppm, 30.000 ppm, 40.000 ppm dan 50.000 ppm mampu menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* dengan membentuk zona hambat disekitar kertas cakram. Zona hambat merupakan tempat yang ditumbuhi bakteri. Pada tiap-tiap konsentrasi zona hambat yang terbentuk berbeda-beda. Zona hambat terkecil terdapat pada konsentrasi 10.000 ppm, yaitu sebesar $4,37 \pm 0,47$ mm, dan zona hambat terbesar terdapat pada konsentrasi 50.000 ppm, yaitu sebesar $9,87 \pm 0,25$ mm.

Pada penelitian yang telah dilakukan konsentrasi ekstrak *Lichen P. sulcata* yang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* terdapat pada konsentrasi 50.000 ppm dengan hambatan pertumbuhan sebesar $9,87 \pm 0,25$ mm. Kemampuan hambatan pertumbuhan pada konsentrasi optimal termasuk dalam golongan yang kuat. Pan *et al.* (2009), menjelaskan bahwa diameter zona hambat yang berkisar ≥ 6 mm, termasuk dalam kategori kuat.

Berdasarkan data yang diperoleh semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, maka semakin besar potensi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri, begitu juga sebaliknya, jika konsentrasi yang digunakan rendah, maka semakin rendah juga potensi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut dikarenakan terdapat kandungan senyawa

metabolit sekunder pada lichen *P. sulcata* yang bersifat antimikroba. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa terdapat kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak lichen *P. sulcata* berupa flavonoid, alkaloid, steroid, triterpenoid, tanin, saponin dan fenol. Hal ini sesuai dengan Kusumaningrum (2011), yang menjelaskan bahwa lichen *P. sulcata* mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, dan alkaloid yang memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Pembentukan senyawa metabolit sekunder lichen *P. sulcata* yang bersifat sebagai antibakteri berawal dari senyawa metabolit primer alga, dimana alga memiliki kemampuan berfotosintesis yang mampu mengubah senyawa organik sederhana menjadi senyawa yang lebih kompleks, kemudian hasil biosintesis alga diberikan kepada jamur untuk dimetabolisis lebih lanjut menjadi senyawa yang diperlukan untuk pembentukan talus dan metabolit sekunder. Alga akan membentuk metabolit primer dan menghasilkan karbohidrat jenis monosakarida, kemudian dibagikan ke jamur yang bersimbiosis dengan alga melalui 3 jalur biosintesis yaitu jalur shikimat, mevalonat dan poliketida untuk mengubah metabolit primer menjadi sekunder (Hale, 1979; Winiati, 1999; dan Priyono, 2004).

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam lichen *P. sulcata* bersifat lipofilik yang dapat merusak membran sel bakteri dan mendenaturasi protein sel (Hendra *et al.*, 2011). Mekanisme senyawa flavonoid yaitu dengan membentuk senyawa kompleks bersamaan dengan protein ekstraseluler yang dapat mengakibatkan membran sel rusak sehingga air dengan mudah masuk ke dalam sel bakteri, air yang masuk secara berlebihan tersebut mengakibatkan membran sel bakteri bengkak dan pecah (Volk dan Wheeler, 1993; Cowan, 1999; Nuria *et al.*, 2009).

Senyawa fenol membentuk ikatan hidrogen dengan protein ekstraseluler untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Ikatan tersebut berperan dalam pembentukan dinding sitoplasma dan menjaga keseimbangan permeabilitas membran. Apabila protein ekstraseluler dirusak oleh fenol maka ikatan hidrogen tidak dapat bekerja secara optimal. Hal tersebut dapat menyebabkan bakteri lisis, makromolekul dan ion tidak seimbang, sehingga dapat menyebabkan bakteri mati. Menurut Theresia *et al.*, (2014). Senyawa fenol dapat merusak total membran sitoplasma dan mengendapkan protein sel apabila digunakan dalam konsentrasi tinggi, namun apabila hanya digunakan dalam konsentrasi yang cukup rendah senyawa fenol hanya akan menyebabkan

membran sitoplasma rusak dalam skala rendah yang mengakibatkan rusaknya metabolit penting dan menginaktivasi enzim (Oliver *et al.*, 2001).

Ekstrak lichen *P. sulcata* juga mengandung senyawa alkaloid. Mekanisme kerja senyawa tersebut dengan cara merusak komponen pembentuk peptidoglikan, yang dapat berakibat pada kematian sel karena dinding sel tidak tersusun secara utuh (Darsana *et al.*, 2012). Gangguan pada sel bakteri tidak hanya disebabkan oleh alkaloid, senyawa saponin juga dapat menyebabkan gangguan pada sel. Senyawa saponin dapat menghambat protein dan enzim dari dalam sel, sehingga menyebabkan rusaknya permeabilitas membran. Rusaknya membran tersebut dapat mengganggu kelangsungan hidup bakteri (Amrulloh, 2008).

Senyawa terpenoid yang terkandung dalam lichen *P. sulcata* merupakan senyawa yang mudah larut dalam lipid, sehingga dinding sel bakteri dapat ditembus dengan mudah. Rachmawati *et al.*, (2011) menjelaskan bahwa senyawa terpenoid dapat bereaksi dengan protein transmembran dan membentuk ikatan polimer kuat di luar sel, yang dapat menyebabkan porin rusak serta mengakibatkan menurunnya permeabilitas dinding sel. Pada bakteri gram negatif protein transmembran berguna untuk masuknya enzim tertentu.

Penelitian ini menggunakan bakteri *X. campestris*. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif yang tersusun atas tiga lapisan dinding sel yaitu lipopolisakarida (LPS), lipoprotein, dan membran luar fosfolipid. Membran tersebut berperan dalam menyaring zat antibakteri yang masuk ke dalam sel bakteri (Pelczar dan Chan, 2008). Lipoprotein yang terdapat pada membran luar berfungsi untuk menstabilkan membran luar dan menjadi perlekatan pada lapisan peptidoglikan, sedangkan lipopolisakarida merupakan antigen yang terdapat pada permukaan sel dan akan keluar apabila sel mengalami lisis (Jawetz *et al.*, 2005).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Purwanti (2016) diketahui bahwa ekstrak lichen *P. sulcata* mampu menghambat bakteri gram negatif (*S. dysenteriae*) maupun bakteri gram positif (*B. cereus*). Penelitian lain yang dilakukan oleh Rankovic *et al.*, (2007) mengenai penghambatan pertumbuhan bakteri menunjukkan bahwa ekstrak lichen *P. sulcata* mampu menghambat beberapa jenis bakteri gram negatif dan beberapa jenis bakteri gram positif.

Pada penelitian ini menggunakan kontrol negatif akuades dan kontrol positif kloramfenikol 5%. Perlakuan kontrol negatif (akuades) tidak

terbentuk zona hambatan, sedangkan pada perlakuan kontrol positif terbentuk zona hambat. Kontrol positif digunakan untuk pembandingan antara ekstrak *lichen P. sulcata* dengan antibiotik kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris*. Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif ataupun gram negatif (Pelczar dan Chan, 2008). Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini perlakuan kontrol positif kloramfenikol membentuk zona hambat sebesar $19,25 \pm 0,95$ mm. Hal tersebut dikarenakan antibiotik yang digunakan termasuk senyawa murni yang bersifat konstan.

Berdasarkan uraian di atas dapat diketahui bahwa konsentrasi ekstrak yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* adalah konsentrasi 50.000 ppm, karena membentuk hambatan pertumbuhan paling besar dan berbeda nyata dengan semua perlakuan. Kemampuan hambat ekstrak *lichen P. sulcata* pada konsentrasi tertinggi 50.000 ppm termasuk dalam golongan yang cukup kuat, oleh sebab itu dapat disimpulkan bahwa ekstrak *lichen P. sulcata* memiliki kemampuan yang cukup luas dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan berpotensi sebagai antibakteri yang bersifat alami.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak *lichen P. sulcata* berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris*. Konsentrasi ekstrak *lichen* yang optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *X. campestris* adalah konsentrasi 50.000 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrulloh I, 2008. Uji Potensi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) sebagai Antimikrobia terhadap Bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* dan Jamur *Fusarium oxysporum*. Skripsi. Jurusan Biologi FSAINTEK UIN Malang.
- Balaji P dan Hariharan GN, 2007. In vitro Antimicrobial Activity of Parmotrema praesorediosum Thallus Extracts. *Research Botany*. 2(1): 54-59.
- Baron G, 1999. Understanding Lichens. The Richmond Publishing Co.ltd. England.
- Chin Y, Balunas MJ, Chai HB, Kinghorn AD, 2006. Drug Discovery from Natural Sources. *The AAPS*. 8(2): 239-253.
- Cowan MM, 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564 – 582.
- Darsana I, Besung I, Mahatmi H, 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Perumbuhan Bakteri *Eschericia coli* secara *In Vitro*. Indonesia Medicus Veterinus.
- Galingging RY, 2010. Pengendalian Hama Tanaman Menggunakan Pestisida Nabati Ramah Lingkungan. Kalteng. (Online), (<http://www.litbang.deptan.go.id>, diakses 2 Oktober 2016).
- Hale ME, 1979. How to Know the Lichen. Smithsonian Institution. Washington DC.
- Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY, Oskoueian E, 2011. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of Phaleria macropora (Scheff.) Boerl Fruit. *Int Mol Sci*. 12: 3422-3431.
- Jawetz M dan Adelberg, 2005. *Mikrobiologi kedokteran*. EGC: Jakarta.
- Kumar MSM, 2000. Lichen (Macrolichen) Flora of Kerala Part of Western Ghats. Kerala Forest Research Institute Peechi, Thrissur. *KFRI Research Report*. 194: 186.
- Kusumaningrum IK, 2011. Isolasi Dan Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada *Parmotrema Tinctorum* (Despr Ex. Nyl.) Hale Dan *Hypotrachyna Ossealba* (Vain.) Y.S. Park & Hale Serta Uji Bioaktivitasnya Sebagai Senyawa Sitotoksik Dan Antioksidan. *Disertasi*. Depok: Universitas Indonesia.
- Manojlovic NT, Vasiljevic P, Juskovic M, Najman S, Jankovic S, Andjelkovic AM, 2010. HPLC Analysis and Cytotoxic Potential of Extracts from the Lichen *Thamnomia vermicularis* var. subuliformis. *Medicinal Plants Research*. 9: 817-823.
- Nuria MC, Faizatun A, Sumantri, 2009. Uji Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap bakteri *Stapilococcus aurelus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Media Grow* (Online), (5): 26-37. (<http://www.unwahas.ac.id/publikasiilmiah/index.php/Mediagro/article/view/559>, diaksesunduh 23 Maret 2018).
- Oliver SP, Gillespie BE, Lewis MJ, Ivey SJ, Almeida RA, Luther DA, Johnson DL, Lamar KC, Moorehead HD, Dowlen HH, 2001. Efficacy of a new premilking teat disinfectant containing a phenolic combination for the prevention of mastitis. *Dairy Sci*. 84: 1545-1549.
- Pan X, Chen F, Wu T, Tang H, Zhao Z, 2009. The acid, Bile Tolerance and Antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control*. 20: 598-602.
- Pelczar MJ dan Chan ECS, 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Priyono S, Pujianto S, Ferniah RS, 2004. Edisi Kapang Antagonis Trichoderma lignorum Terhadap Pertumbuhan Kapang Patogen Phytophthora infestan Penyebab Penyakit Hawar Daun Pada Tanaman Kentang. Prosiding No. ISBN: 979-263.4. FMIPA. Universitas Diponegoro. Semarang.

- Purwanti F, Isnawati, Guntur T, 2016. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak *Lichen P. sulcata* terhadap Bakteri *S. dysenteriae* dan *B. cereus*. *Lentera Bio*. 6(3): 55-61.
- Putri OR, 2011. Uji Daya Hambat Ekstrak Aseton Lichen *Ramalina javanica* Nyl. terhadap Pertumbuhan Bakteri *Xanthomonas campestris* dan *Pseudomonas syringae*. Universitas Airlangga.
- Rachmawati F, Nuria MC, Sumantri, 2011. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak kloroform Ekstrak etanol pegagan (Cantela asiatica L urb) serta Identifikasi senyawa aktifnya.* (Online), (<http://www.unwahas.ac.id/publikasiilmiah/index.php/ilmuFarmasidanklinik/article/view/372>, diakses 23 Maret 2018).
- Rankovic B, Misic M, Sukdolak S, 2007. Evaluation of Antimicrobial Activity of the *Lichens* *Lasallia pustulata*, *Parmelia sulcata*, *Umbilicaria crustulosa*, and *Umbilicaria cylindrical*. *Pleiades Publishing*. University of Kragujevac. Serbia.
- Theresia IP, Yustina, Yuni S, 2014. Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan*. 38(1).
- Volk dan Wheeler, 1993. *Mikrobiologi Dasar Jasad V.* Jakarta : Erlangga.
- Winiati S, 1999. Isolasi dan Elusidasi Struktur serta Penentuan Aktivitas Biologi Senyawa Kimia dalam N-heksana dan Fraksi Aseton Dari Talus Lichen *Ramalina javanica* (Nyl). Tesis Magister Sain. Program Pascasarjana Universitas Indonesia. Depok.