Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)
Vol. 6, No. 1, (Januari 2021), P-ISSN : 2527-6328, E-ISSN : 2549-3558

Artikel Penelitian

Potensi Antimikroba Ekstrak Ethanol *Ganoderma lucidum* Menggunakan Metode Bioautografi terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtillis*

Tri Puji Lestari Sudarwati[1*)], M. A. Hanny Ferry Fernanda[1]
[1]Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya, Indonesia.
[*)] E-mail: (tri.puji.ls@akfarsurabaya.ac.id)

ABSTRAK

Potensi antibakteri ekstrak ethanol jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan metode analisis KLT bioautografi terhadap *Escherichia coli* dan *Bacillus subtillis* sebagai penelitian pendahuluan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada jamur lingzi. Soxhletasi merupakan metode untuk mengekstraksi serbuk jamur lingzhi menggunakan pelarut etanol. Bioautografi merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada jamur lingzi dan potensi antibakteri, sehingga dapat digunakan sebagai indikator awal dengan diketahuinya kandungan senyawa dalam jamur lingzi berpotensi sebagai antibakteri . Konsentrasi yang digunakan yaitu: 2%, 4%, 6%, 8%dan 10%, dengan pengulangan sebanyak 5 kali. KLT bioautografi menggunakan n-butanol : Asam asetat glasial : Air (4:1:5) sebagai eluent. Analisis yang telah dilakukan menghasilkan 3 noda dengan Rf 0,5 dengan warna kuning, Rf 0,87 warna biru, Rf 0,93 warna coklat, dengan daerah hambatan pada noda coklat dengan Rf 0,93 merupakan senyawa triterpen. Hasil dari pengukuran nilai rata-rata zona hambat yang diperoleh terhadap bakteri *E.coli* adalah sebagai berikut, pada konsentrasi 2% 5,45 mm dengan kategori lemah, konsentrasi 4% 5,14 mm, konsentrasi 6% 5,48 mm, konsentrasi 8% 5,94 mm dan konsentrasi terbesar terdapat pada konsentrasi 10% 6,98 mm dengan kategori sedang. Pada bakteri *Bacillus subtillis* konsentrasi 2% Sebesar 5,9 mm, Konsentrasi 4% Sebesar 6,34 mm, Konsentrasi 6% Sebesar 6,68 mm, Konsentrasi 8% Sebesar 7,88 mm, Dan Konsentrasi 10% Sebesar 8,6 mm dan Kategori Sedang Maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak jamur lingzhi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*. Sehingga semakin besar konsentrasi yang digunakan, semakin besar pula aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Kata kunci: Jamur lingzhi, Bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtillis*, KLT, Bioautografi.

Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum* Ethanol Extracts using Bioautography Method against *Escherichia coli* and *Bacillus subtillis*

ABSTRACT

This study was aimed to determine the antibacterial potency of ethanol extract of lingzhi mushroom (Ganoderma lucidum) using bioautographic TLC method against Escherichia coli and Bacillus subtillis. Soxhletation method was chosen to extract the bioactive compound using the ethanol solvent. Following the extraction, the obtained extract was diluted to make a serial concentration which are 2%, 4%, 6%, 8% and 10% with five replication each. Bioautographic TLC used n-butanol: glacial acetic acid: water (4: 1: 5) as a developing solvent. After complete development, the TLC plate was dried and observed for the spots which are yellow spot with Retention factor (Rf) value of 0.3, blue spot with Rf 0.87, and brown spot with Rf 0.93. Based on the reference Rf value, this third detected spot is considered as triterpene compound. The spot was then tested for the inhibition zone. In the E. coli culture medium, the average value of the inhibition zone was 5.45 mm (weak category) for the concentration of 2%, 5.14 mm for the 4%, 5.48 mm for the 6%, 5.94 mm for the 8%, and 6.98 mm (medium category) for the 10%. Meanwhile in the Bacillus subtillis culture medium, a concentration of 2% yielded 5.9 mm, 4% yielded 6.34 mm, 6% yielded 6.68 mm, 8% yielded 7.88 mm, and 10% yielded 8.6 mm (medium category). In conclusion, the lingzhi mushroom ethanol extract has antibacterial activity against both Escherichia coli and Bacillus subtillis with concentration-dependent manner.

Keywords: *Ganoderma lucidum, Escherichia coli, Bacillus subtillis*, KLT, Bioautography

1. PENDAHULUAN

Pemanfaatan tanaman obat merupakan warisan budaya bangsa berdasarkan pengalaman pengetahuan, dan keterampilan secara turun-temurun dari generasi ke generasi. Adapun bagian.

tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan obat yaitu daun, kulit, buah, biji, dan akar tanaman yang diolah menjadi obat tradisional. Dimana obat tradisional memiliki efek samping yang lebih ringan daripada obat modern, disamping itu harga obat tradisional lebih terjangkau dan bahan baku mudah didapatkan. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah jamur lingzhi.

Jamur lingzhi ditemukan oleh seorang petani bernama Seng Nong. Lebih dari 365 jenis tumbuhan telah diuji coba dari segi manfaat untuk kesehatan. Lingzhi merupakan jenis tanaman yg memiliki khasiat untuk pengobatan. Seng Nong menyatakan, kriteria unggul nilai atau manfaat dari tanaman obat adalah bila dikonsumsi dalam jangka waktu lama tidak menimbulkan efek samping [1] . Selain itu juga mengandung lebih dari 200 senyawa aktif yang di bagi menjadi tiga kelompok utama, yakni 30% senyawa larut dalam air, 65% senyawa larut dalam pelarut organik, dan 5% senyawa volatil. Polisakarida dan germanium organik merupakan senyawa larut dalam air, Adenosin dan terpenoid adalah senyawa yang larut dalam pelarut organik, sedangkan asam ganoderat termasuk senyawa volatil [2] . Sehingga untuk mendapatkan khasiat yang maksimal maka perlu dilakukan proses ekstraksi. Kandungan dalam jamur lingzi salah satunya adalah memiliki fungsi sebagai amtibakteri. Adapun komponen senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri adalah steroid, alkaloid, dan flavonoid. Adapun metode bioautografi dapat menunjukkan aktivitas antibakteri serta senyawa yang bersifat sebagai antibakteri Deteksi kandungan antibakteri pada bahan alam yang digunakan sebagai obat. Adapun penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtillis* dapat diobati menggunakan tanaman herbal, salah satunya adalah jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) [3].

Escherichia coli enteropatogenik (EPEC) jenis ini merupakan penyebab diare pada bayi, infeksi EPEC mengakibatkan diare berair yang biasanya dapat sembuh sendiri, tetapi ada juga yang menjadi kronis, gejala diare biasanya di sertai demam. Setelah makanan masuk ke dalam saluran cerna, mikroba yang berada pada lingkungan asing di perut melakukan penetrasi pada mukosa lapisan usus yang tipis. Selain itu, jamur lingzhi dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang disebabkan karena adanya kontaminasi dari salah satu bakteri udara yang dapat menyebabkan infeksi. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Bacillus subtilis*. *Bacillus subtilis* tidak termasuk organisme yang patogen terhadap manusia, namun jika seseorang dalam keadaan imunitasnya turun maka ada kemungkinan infeksi dapat terjadi [3] . *Bacillus subtilis* merupakan bakteri gram positif yang tergolong bakteri patogen. Bakteri ini dapat menyebabkan beberapa penyakit diantaranya keracunan makanan, meningitis dan infeksi [4] . *Bacillus subtilis* merupakan salah satu organisme yang paling luas diteliti di alam (5).

Berdasarkan Latar belakang tersebut, maka untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) dengan pelarut etanol yang merupakan universal sehingga dapat mengikat seluruh senyawa yang terkandung dalam jamur lingzhi menggunakan metode bioautografi kontak. Dimana bioautigrafi kontak dilakukakan untuk mengetahui aktivitas dan kandungan senyawa antimikroba ekstrak jamur lingzhi (*gamoderma lucidum)* yang dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*.

2. METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu soxhlet, *evaporator*, botol vial, LAF dan labu ukur. Pada tahap pengujian yaitu lempeng KLT, cawan petri, kotak UV. Bahan yang digunakan pada proses ekstraksi yaitu pelarut ethanol 96%, aquadest steril. Untuk proses pengujian yaitu asetat glasial, aquadest, media NA, media NB. Adapun cara kerjanya yaitu.

1. Tahap pertama :
   a. Pembuatan Ekstrak *Ganoderma lucidum* dibuat dengan cara serbuk *Ganoderma lucidum* diambil sebanyak 10 gram di ekstraksi dengan soxhlet menggunakan 100 ml pelarut etanol 96%. Kemudian pelarut dipanaskan untuk menghasilkan uap untuk dialirkan pada serbuk *Ganoderma lucidum* Pada proses ini berlangsung secara kontinyu atau terus menerus.
   b. Hasil Soxhlet tersebut diuapkan menggunakan alat *evaporator* pada suhu 60°C untuk memisahkan pelarut etanol dengan senyawa aktif dari jamur lingzhi, sampai memperoleh ekstrak yang pekat dan kental. Ekstrak kental tersebut dimasukkan ke dalam botol vial steril, disimpan dalam ruang LAF dan siap untuk digunakan.
   c. Ekstrak yang telah di *evaporator* di encerkan dengan konsentrasi 2% 4% 6%

8% dan 10% dengan cara sebagai berikut:

- Konsentrasi 2% : 0,2 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest steril dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.
- Konsentrasi 4% : 0,4 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest steril dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.
- Konsentrasi 6% : 0,6 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.
- Konsentrasi 8% : 0,8 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest steril dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.
- Konsentrasi 10% : 1 gram ekstrak jamur lingzhi ditambahkan dengan air aquadest steril dalam labu ukur ad 10 ml kemudian homogenkan.

2. Tahap Kedua:
   a. Hasil pengenceran di totolkan pada plat KLT sebanyak 2µl kemudian dielusi menggunakan eluen n-butanol:asam asetat glasial:aquadest (4:1:5), tunggu sampai terelusi sempurna.
   b. Amati noda yang dihasilkan pada plat KLT kemudian hitung nilai Rf menggunakan penggaris lalu catat hasilnya.
   c. Plat KLT tempelkan pada media agar yang telah terinokulasi dengan bakteri selama ± 30 menit, angkat lempeng KLT kemudian inkubasi selama 24 jam. Lakukan pengulangan sebanyak 6 kali.
   d. Amati zona hambat yang dihasilkan yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi. Sajikan data dalam bentuk kurva.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan dari proses bioautografi dari jamur lingzi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtillis* maka diperoleh data sebagai berikut:

a. Berdasarkan KLT Bioautografi diperoleh 3 totolan dengan nilai Rf pada Tabel 1

Tabel 1. Nilai Rf masing-masing warna noda

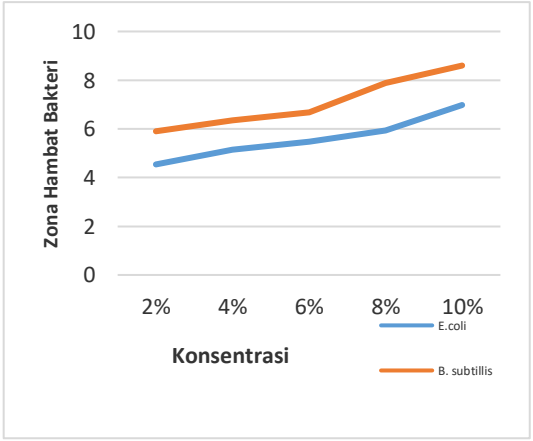
No.	Warna noda	Rf
1.	Kuning	0,5
2.	Biru	0,87
3.	Coklat	0,93

Hasil KLT yang didapatkan pada penelitian diamati dibawah sinar UV 366 nm menunjukkan adanya 3 noda dengan Rf yang berbeda-beda yaitu 0,5 dengan noda warna kuning, 0,87 dengan noda warna biru, dan 0,93 dengan noda warna coklat. Senyawa yang tertinggi dengan Rf 0,93 yaitu,. Hasil plat KLT yang telah terelusi lalu tempelkan pada media *Nutrient Agar* selama 15-30 menit, kemudian angkat plat KLT dan inokulasi selama 24 jam.

Berdasarkan nilai Rf diatas menurut [6] terbentuk noda berwarna coklat, hijau tua sampai ungu tua merupakan senyawa triterpenoid, menghasilkan Rf antara 0,125-0,95. Hal tersebut disebabkan oleh penggunaan pelarut pada saat ekstraksi merupakan pelarut universal sehingga semua senyawa mampu terlarut dalam pelarut ethanol 96%. Pada proses KLT menggunakan eluen n-butanol : asam asetat glasial : aquadest (4 : 1 : 5) yang bersifat sangat polar Kepolaran fase diam dan fase gerak hampir sama, tetapi masih lebih polar fase gerak sehingga senyawa yang dipisahkan terangkat mengikuti fase gerak sehingga senyawa tersebut terangkat mengikuti eluennya [7] .

b. Sifat antibakteri ekstrak terhadap bakteri uji:

Potensi Antibakteri pada bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Bacillus subtillis* menggunakan metode bioautografi, dimana totol yang telah diperoleh pada lempeng KLT yang telah diidentifikasi kemudian diinokulasikan pada cawan petri yang telah terdapat media uji NA dan biakan bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Bacillus subtillis* yang telah diisolasi selama 24 jam, sehingga diperoleh kurva sebagai berikut:



Gambar 1. Kurva Uji Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Jamur Lingzhi terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtillis*

Hasil penelitian ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 2% termasuk kategori lemah, pada konsentrasi 4%, 6%, 8%, 10% termasuk kategori sedang, pada bakteri *Bacillus subtillis* pengukuran zona bening yang terbentuk dengan kategori rata-rata sedang. Hal ini dikarenakan senyawa antibakteri Triterpenoid berdasarkan mekanisme kerja antibakteri memiliki sifat bakteroistatik yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan menganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel mikroba, membran atau dinding sel tidak terbentuk [8] . Menurut [9] Mekanisme kerja senyawa triterpenoid termasuk senyawa yang dapat merusak dinding sel, penghambatan molekul protein dan asam nukleat serta penghambatan kerja enzim. Maka terjadi kebocoran nutrisi sel sehingga dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Sifat dinding sel dari bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Bacillus subtillis* berbeda yakni *Escherichia coli* merupakan bakteri bacil gram negative sedangkan bakteri *Bacillus subtillis* merupakan bakteri gram positif. Susunan dinding sel bakteri gram negative dan gram positif berbeda dimana bakteri gram negative mempunyai struktur dinding sel lebih tipis dibandingkan dengan bakteri gram positif, namun sama-sama memiliki potensi anti bakteri pada jenis bakteri Gram negative mupun Gram positif.

4. KESIMPULAN

Uji bioautografi yang digunakan terhadap ekstrak Jamur lingzi (Ganoderma lusidum) menghasilkan senyawa terlarut yakni senyawa triterpenoid sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Bacillus subtillis* dengan kategori sedang.

5. UCAPAN TERIMAKASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada seluruh tim peneliti Mikrobiologi Akademi farmasi Surabaya.

6. PENDANAAN

Penelitian ini tidak didanai oleh sumber hibah manapun.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ofodile LN, Uma NU, Kokubun T, Grayer RJ, Ogundipe OT, Simmonds MSJ. Antimicrobial activity of some Ganoderma species from Nigeria. Phyther Res. 2005;
2. Surahmaida, Sudarwati TPL, Junairiah. Identification of secondary metabolites and activity test of Ganoderma lucidum methanol extract as anti-termite (Coptotermes curvignathus) biopesticide. Biosci Res. 2018;15(3).
3. Kamble R, Venkata S, Gupte AM. Antimicrobial activity of Ganoderma lucidum mycelia. J Pure Appl Microbiol. 2011;
4. L TS, P MC, H RL, M K, awa Schulz. Antimicrobial screening of crude extracts from the indigenous Ganoderma lucidum mushrooms in Namibia. African J Microbiol Res. 2013;
5. Gao Y, Tang W, Gao HE, Chan E, Lan J, Li X, et al. Antimicrobial activity of the medicinal mushroom Ganoderma. Food Reviews International. 2005.
6. Madjid ADR, Rahmawati DA, Fasya AG. Variasi Komposisi Eluen pada Isolasi Steroid dan Triterpenoid Alga Merah Eucheuma cottonii dengan Kromatografi Kolom Basah. ALCHEMY. 2020;
7. Kamilah Hayati E, Fasyah A, Sa'adah L. FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA TANIN PADA DAUN BELIMBING WULUH (Averrhoa bilimbi L.). J Kim. 2010;
8. Volk. Mikrobiologi Dasar Jilid 1. Microbiology. 1993.
9. Pelczar MJ. Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1. Universitas Indonesia. 2007.