

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Jamur

Jamur merupakan jasad eukariot, yang berbentuk benang atau sel tunggal, multiseluler atau uniseluler. Sel-sel jamur tidak berklorofil, dinding sel tersusun dari khitin, dan belum ada diferensiasi jaringan (10).

Fungi merupakan organisme eukariot yang sel-selnya mempunyai *nucleus* (inti sel) yang jelas/sejati dan mengandung materi genetik (DNA) yang dikelilingi oleh membran inti sel. Fungi dapat berupa organisme uniseluler, yang disebut dengan khamir, atau berupa organisme multiseluler, yang disebut dengan jamur. Fungi multiseluler yang berukuran besar kemungkinan akan terlihat seperti tumbuhan, tetapi tidak dapat melakukan proses fotosintesis seperti kebanyakan tumbuhan. Komponen utama penyusun dinding sel fungi sejati adalah substansi yang disebut dengan kitin. Fungi dapat berreproduksi secara seksual dan aseksual. Organisme ini memperoleh makanan dengan menyerap bahan-bahan organik dari lingkungan hidupnya, misalnya dari tanah, air, atau tumbuhan dan tanaman yang mereka tumpangi (11).

Menurut Fifendy (2017) (10), di dalam dunia mikroba, jamur termasuk divisio *Mycota* (fungi). Ada beberapa istilah yang dikenal untuk menyebut jamur, sebagai berikut:

- a. *Mushroom* yaitu jamur yang dapat menghasilkan tubuh buah besar, termasuk jamur yang dapat dimakan.

- b. *Mold* yaitu jamur yang berbentuk seperti benang-benang.
- c. *Khamir* yaitu jamur bersel satu.

2.1.1 Morfologi Tanaman Jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*)

Jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) adalah spesies jamur yang terdiri atas tubuh buah yang tebal, bergabus, dan berwarna kuning kemerahan pada awalnya dan kemudian berubah menjadi kecokelatan pada saat masak. Batas tubuh buah biasanya tipis, berwarna putih pada awal dan menjadi coklat terang pada tahap akhir. Bentuknya bervariasi, mulai dari bundar, semi bundar dan bentuk kipas atau seperti ginjal. Berdasarkan sifat hidupnya, *Ganoderma lucidum* termasuk jamur saprofit karena tumbuh pada batang mati atau serbuk gergaji kayu. Adanya enzim ekstraseluler yang dimiliki oleh *Ganoderma lucidum* menyebabkan jamur ini mampu perombak serat kasar terutama lignin selulosa dan menggunakannya sebagai energi untuk pertumbuhan (12).

Menurut Yunitasari (2014) (13) *Ganoderma lucidum* memiliki ciri yaitu tumbuhan yang dapat tumbuh pada pohon-pohon yang tua dan lapuk, pohon yang telah mati. Berbentuk seperti payung tidak sempurna, bertangkai relatif pendek dibandingkan dengan tubuh buah payungan yang memiliki diameter hingga 30 cm. Bentuk payungannya setengah lingkaran mirip ginjal, dengan ketebalan bervariasi antara 2-5 cm. Lingzhi memiliki warna (merah, coklat, dan kuning tergantung pada spesiesnya, memiliki aroma yang khas, isi atas payung berwarna merah mengkilat, semakin ke tepi warnanya semakin muda. Tepinya berwarna putih, begitu juga sisi bawahnya. Pada awalnya jamur lingzhi kenyal, tapi semakin tua semakin

keras. Umumnya berdiameter antara 15-50 cm dengan ketebaan antara 3-10 cm, dan jika dipotong terdiri dari 3 lapis.

Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) merupakan tanaman menahun yang umum tumbuh di batang-batang tumbuhan yang mati. Jamur lingzhi pada umumnya memiliki tubuh buah berupa kipas, kerak, papan, atau payung (4).



Gambar 2.2 *Ganoderma lucidum* (4)

2.1.2 Klasifikasi Jamur Lingzhi

Klasifikasi jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menurut Sasmito (2017) adalah sebagai berikut (4):

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Filum	: <i>Basidiomycota</i>
Kelas	: <i>Agaricomycetes</i>
Ordo	: <i>Polyporales</i>
Famili	: <i>Ganodermataceae</i>
Genus	: <i>Ganoderma</i>
Spesies	: <i>Ganoderma lucidum</i>

2.1.3 Kandungan Kimia Jamur Lingzhi

Tubuh *Ganoderma lucidum* mengandung lebih dari 200 senyawa aktif yang dapat dibagi menjadi 3 kelompok utama yakni 30% senyawa yang larut dalam air (polisakarida, germanium organik), 65% senyawa

yang larut dalam pelarut organik (adenosin, terpenoid) dan 5% senyawa yang larut dalam volatil yaitu asam ganoderat (13).

Ganoderma lucidum mengandung substansi aktif polisakarida, triterpenoida, kumarin, adenosin, germanium organik, alkaloida, asam amino, peptide, elemen anorganik, steroid, asam lemak tak jenuh, dan asam ganodermik. Khasiatnya adalah menyembuhkan sakit kronis, memperbaiki kerusakan sel, memperbaiki aktivitas enzim, meningkatkan fungsi endokrin, dan sirkulasi darah, menguatkan fungsi tubuh, imunitas, antitumor, dan antiradiasi (14).

Jamur lingzhi mengandung 26-28% karbohidrat, 3-5% lemak kasar, 59% serat kasar, dan 7-8% protein kasar. Selain itu, jamur lingzhi juga mengandung berbagai unsur bioaktif seperti terpenoid, steroid, fenol, glikoprotein, dan polisakarida, dimana triterpen dan polisakarida adalah komponen utama yang aktif secara fisiologis. Jamur lingzhi mengandung senyawa organik, seperti adenosin, asam ganoderik, protein, asam oleat, vitamin, triterpenoid, Germanium Organik (GeO), asam askorbat, dan riboflavin, dimana triterpenoid dalam jamur lingzhi tersebut berfungsi sebagai pemulih sistem kerja tubuh, penurun kolesterol dan gula darah, penstabil kerja hormon, dan mencegah alergi yang disebabkan oleh antigen. Disamping itu jamur lingzhi juga memiliki berbagai efek farmakologi termasuk imunomodulasi, antiinflamasi, antikanker, antidiabetes, antioksidatif, pemusnah radikal, infeksi bakteri dan efek antipenuaan (4).

Aktivitas *imunomodulator* lingzhi terutama disebabkan oleh kandungan polisakaridanya, yang mampu menginduksi pematangan sel leukemia monosit menjadi sel dendritik melalui fungsi imunostimulatorenya. Ekstrak air jamur lingzhi dapat meningkatkan persentase sel limfosit TCD8+ relative pada tikus yang dipejani doxorubusin. Dimana doxorubisin adalah salah satu obat antikanker yang menimbulkan efek samping immunosupresan. Polisakarida dalam jamur lingzhi dapat mempengaruhi sel-sel yang terkait dengan imunitas tubuh, termasuk limfosit B, limfosit T, sel dendric, makrofag, dan sel Natural Killer (NK cell) (4).

Menurut Yunitasari (2014) (13) khasiat jamur lingzhi disebabkan adanya kandungan asam ganoderat dan asam lusidenat, yaitu senyawa polisakarida yang berfungsi menghambat pertumbuhan tumor. Sedangkan fungsi lain dari beberapa kandungan senyawa yang ada pada jamur lingzhi tersebut antara lain:

- a. Germanium organik: berfungsi sebagai dehidrogenerator yang menggantikan fungsi oksigen, sehingga oksigen dalam darah tidak ikut terbuang, membantu menstabilkan tekanan darah dan mempercepat proses pemulihan stroke.
- b. Polisakarida: berfungsi dalam meningkatkan sistem daya tahan tubuh.
- c. Triterpenoid: senyawa yang mengandung asam *ganoderic* dan asam *ganosporerik*.
- d. Protein: berkhasiat dalam membantu memperbaiki sel sel ginjal dan limfosit.

- e. Asam ganoderik: mempertahankan tubuh agar awet muda.
- f. Senyawa lain (sterol, asam amino, protein larut, asam oleat, serta berbagai mineral seperti Mg, Ca, Zn, Mn, Fe, Cu, dan Ge merupakan kandungan dari lingzhi yang memiliki manfaat bagi kesehatan manusia.

2.2 Tinjauan Tentang Bakteri *Clostridium*

Clostridium sp merupakan bakteri batang besar anaerob gram positif yang bergerak. Banyak klostridium menguraikan protein atau membentuk toksin, dan beberapa klostridium melakukan keduanya. Habitat alaminya adalah tanah, sedimen laut, selokan atau saluran usus hewan dan manusia; klostridium hidup sebagai saprofit (15).

Dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran oleh staf pengajar Universitas Indonesia (UI) (16) disebutkan bahwa *Clostridium* berarti kelosan benang yang kecil. Biasanya berflagel peritrikih, sehingga dapat bergerak. Spora lonjong atau bulat yang biasanya lebih besar dibadan kuman sehingga mengembung dan tumbuh secara anaerob. Spesies yang penting adalah:

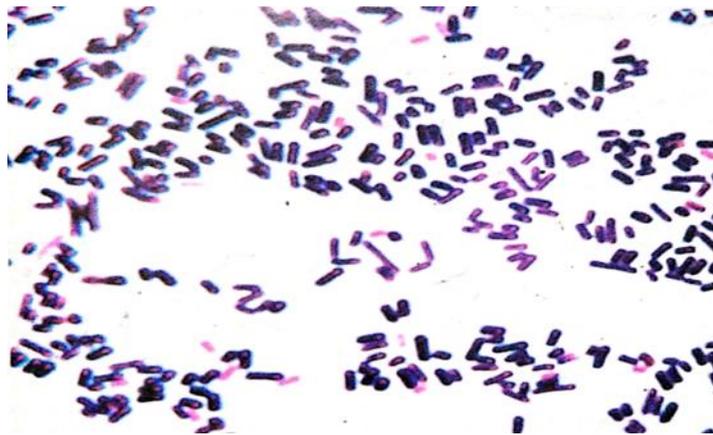
1. *Clostridium tetani*
2. *Clostridium perfringens*
3. *Clostridium botulinum*
4. *Clostridium difficile*

2.2.1 Morfologi Bakteri *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens termasuk dalam family *Clostridiaceae*. Bakteri ini merupakan bakteri anaerob Gram-positif yang bersifat patogen pada manusia. Bakteri ini tumbuh pada suhu 37 °C dan pH 5-8 (11).

Ciri-ciri *Clostridium perfringens* adalah sebagai berikut (15):

1. Batang gram positif
2. Terdapat tunggal, barpasangan, dan dalam rantai
3. Berkapsul
4. Sporanya ovoid (melonjong), sentral sampai eksentrik
5. Anaerobik
6. Menghasilkan eksotoksin, menyebabkan kelemayuh (suatu infeksi jaringan disertai gelembung gas dan keluarnya nanah)



Gambar 2.3 *Clostridium perfringens* (15)

Spesies bakteri ini dibagi menjadi enam tipe, A sampai F, berdasarkan pada toksin-toksin yang secara antigenik berbeda, yang dihasilkan oleh setiap galur. Tipe A adalah galur yang menyebabkan keracunan makanan oleh *perfringens*. Peracunan disebabkan oleh sel-sel vegetatif pada waktu membentuk spora di rongga usus. Spora akan menghasilkan eksotoksin yang enterostatik sehingga menyebabkan penyakit (15).

2.2.2 Klasifikasi Bakteri *Clostridium perfringens*

Klasifikasi dari bakteri *Clostridium perfringens* (15):

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Division	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Clostridia</i>
Order	: <i>Clostridiales</i>
Family	: <i>Clostridiaceae</i>
Genus	: <i>Clostridium</i>
Species	: <i>perfringens</i>
Binomial	: <i>Clostridium perfringens</i>

2.2.3 Patogenesis dan Gejala Penyakit

Menurut Radji (2011) (11) infeksi *Clostridium perfringens* ditandai dengan gangguan pencernaan dengan gejala kolik tiba-tiba dan diikuti dengan diare, rasa mual, kadangkala muntah, dan demam. Penyakit ini umumnya menyebabkan gejala ringan dan berlangsung dalam waktu singkat, serta jarang menyebabkan kematian. Masa inkubasi bakteri *Clostridium perfringens* berkisar 6-24 jam dan biasanya 10-12 jam. *Clostridium perfringens* tipe A dapat menimbulkan penyakit gangren dan keracunan makanan. Penyakit gangren termasuk penyakit *toksemia*, yang terjadi sebelum atau bersamaan dengan terbentuknya gas didalam jaringan. Karbohidrat jaringan tubuh dihancurkan dengan diikuti pembentukan gas dan akan terjadi hemolisis *intravascular* dan *septicemia*. Pencegahan penyakit gangren dapat dilakukan dengan cara berikut:

1. Pembedahan untuk mengangkat jaringan yang mati dan gumpalan darah ditempat bakteri berkembang biak.
2. Pemberian antitoksin
3. Pemberian antibiotik untuk menghentikan pertumbuhan bakteri.

Perkembangan bakteri sulit dihentikan dengan pembedahan jaringan setempat jika bakteri sudah menyebar sehingga perlu dilakukan amputasi bagian anggota badan yang terkena untuk menyelamatkan jiwa penderita.

Sedangkan dalam kasus keracunan makanan, dimana beberapa daging dan produk daging mentah kemungkinan mengandung spora *Clostridium perfringens*. Jika daging tersebut dimasak pada suhu yang tidak dapat membunuh spora, *Clostridium perfringens* kemungkinan besar dapat berkembang biak dengan baik. Makanan masih terlihat normal, tetapi setelah dikonsumsi atau dicerna, bakteri akan berkembang dan mencapai jumlah yang dapat menginfeksi usus. Di dalam usus, *Clostridium perfringens* dapat membentuk dan mengeluarkan enterotoksin. Toksin ini merangsang enzim adenilat siklase pada dinding usus yang mengakibatkan konsentrasi cAMP (*adenosin monofosfat siklik*) meningkat sehingga terjadi hipersekresi air dan klorida pada usus dan menghambat reabsorpsi natrium. Keadaan ini dapat menimbulkan rasa nyeri pada perut, diare, dan kadang-kadang rasa mual dan muntah. Gejala berlangsung sekitar 8-24 jam setelah mengkonsumsi makanan yang tercemar dan berakhir 12-18 jam kemudian (11).

2.2.4 Penularan

Penularan bakteri *Clostridium perfringens* terjadi melalui makanan yang terkontaminasi oleh tanah dan tinja, terutama jika makanan tersebut sebelumnya disimpan dengan cara yang memungkinkan bakteri berkembang biak. Hampir semua penyakit infeksi *Clostridium perfringens*

dikaitkan dengan pemasakan makanan dan daging yang kurang baik, misalnya kaldu daging, daging cincang, saus yang terbuat dari daging sapi, kalkun dan ayam. Spora dapat bertahan hidup pada suhu masak normal. Spora dapat tumbuh dan berkembang saat pendinginan, saat penyimpanan makanan pada suhu kamar, dan atau saat pemanasan yang tidak sempurna. Kontaminasi bakteri yang diperlukan untuk menimbulkan gejala klinis cukup banyak, yaitu sekitar 10^5 bakteri per gram makanan (11).

2.3 Tinjauan Tentang Ekstraksi Metode Soxhlet

Menurut Kumoro (2015) (17) menyatakan bahwa pada tehnik ekstraksi soxhlet, bagian dari tanaman yang telah digiling menjadi halus dimasukan ke dalam kantong berpori (*Thimble*) yang dibuat dari kertas saring yang kuat dan dimasuk kan kedalam ruang ekstraksi pada alat soxhlet, dan pelarut yang terdapat dalam labu kemudian dipanaskan dan uapnya akan mengembun pada Condenser. Kemudian embunan dari pelarut tersebut akan merayap turun menuju kantong berpori yang berisi bagian tanaman yang akan diekstrak.

Bahan aktif akan terekstrak ketika terjadi kontak antara embunan pelarut dan bagian tanamannya. Dan pada saat ketinggian cairan dalam ruang ekstraksi telah meningkat hingga mencapai puncak pipa kapiler, maka cairan dalam ruang ekstraksi akan tersedot mengalir kelabu (17).

Proses ekstraksi ini berlangsung secara terus menerus (kontinyu). Dimana ekstraksi ini akan dijalankan sampai tetesan pelarut yang terdapat pada pipa kapiler tidak lagi meninggalkan residu ketika diuapkan. Keuntungan dari metode tersebut adalah terletak pada penggunaan

kuantitas bahan baku, meskipun hanya menggunakan pelarut yang lebih sedikit, akan tetapi dapat mengekstrak bahan aktif dengan lebih banyak (17).

Menurut Heinrich (2009) (18) menyatakan bahwa metode soxhlet merupakan metode ekstraksi terbaik dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya, karena pada metode soxhlet tersebut aktivitas biologis tidak hilang saat dipanaskan.

2.3.1 Metode Uji Daya Hambat Antibakteri

Menurut Handrianto (2015) (19), uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu, metode difusi dan metode pengenceran. Pada prinsip kerjanya metode daya antibakteri yang digunakan adalah metode difusi.

Metode ini dilakukan dengan mengamati zona hambat yang terlihat disekitar area jernih, bening atau bersih yang mengelilingi kertas cakram tempat zat dengan aktivitas antibakteri. Diameter zona hambat dapat diukur menggunakan penggaris atau jangka sorong.

Metode pengujian antibakteri ini dapat dilakukan dengan dua cara yaitu:

1. Metode difusi cakram.

Metode difusi cakram berdasarkan prinsip kerjanya adalah dengan menjenuhkan bahan uji yang akan digunakan kedalam kertas cakram. Kemudian menanamkan kertas cakram yang mengandung bahan uji pada media pembedihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang akan diuji, kemudian inkubasi pada suhu 37°C. Selama 1x24 jam setelah

diinkubasi selama 1x24 jam dilakukan pengamatan pada area jernih disekitar kertas cakram untuk melihat ada tidaknya pertumbuhan mikroba (19).

2. Metode Sumuran

Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (20).

2.3.2 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri adalah bahan atau zat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan sifat daya antibakteri, aktivitas antibakteri terdiri atas dua macam yaitu; aktivitas bakteriostatik yang berfungsi dalam menghambat pertumbuhan, tetapi tidak membunuh patogen dan aktivitas bakterisidal yang berfungsi dalam membunuh patogen dalam kisaran luas (21).

Menurut Pelczar and Chan (1998) (22) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri atau ekstrak yang digunakan, maka semakin tinggi pula aktivitas antibakterinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Adapun mekanisme kerja antibakteri dibagi menjadi 5 cara yaitu:

1. Kerusakan pada dinding sel.

Merusak struktur dinding sel melalui cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk.

2. Perubahan permeabilitas sel

Didalam sel membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu dan mengatur aliran keluar masuknya bahan bahan lain, kemudian membran memelihara integritas komponen-komponen selular. Sehingga kerusakan yang terjadi pada membran ini dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

3. Penghambatan molekul protein dan asam nukleat

Suatu sel dapat hidup tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini yaitu mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (*denaturasi irreversible* (tak dapat baik) komponen-komponen selular yang vital ini.

4. Penghambatan kerja enzim

Setiap enzim dari berates-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. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

5. Penghambatan sistesa asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan amat penting didalam proses kehidupan normal sel. Hal itu berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

2.4 Pengamatan Zona Hambat

Zona hambat adalah daerah yang bening yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri disekitar kertas cakram. Pengamatan dan kesimpulan aktivitas bakteri berdasarkan zona hambat menurut Mukhtar (2012) adalah sebagai berikut (23):

Diameter Daya Hambat Bakteri (mm)	Kategori Zona Hambat Bakteri
< 9 mm	Tidak Aktif
9 - 12 mm	Kurang Aktif
13 - 18 mm	Aktif
> 18 mm	Sangat Aktif

Tabel 2.4 Kategori Zona Hambat Bakteri

Sedangkan menurut Soleha (2015), kategori interpretasi hasil uji aktivitas antibakteri metode difusi sumuran untuk bahan alam adalah sebagai berikut (24):

1. *Resisten* (R) : ≤ 10 mm
2. *Intermediate* (I) : 11-16 mm
3. *Susceptible* (S) : ≥ 17 mm

2.5 Uji Korelasi

Digunakan untuk mengetahui keeratan hubungan atau korelasi antar variabel. Kriteria dari koefisien (r) menurut (25) adalah seperti tabel dibawah ini:

Tabel 2.5 Kriteria Koefisien Korelasi

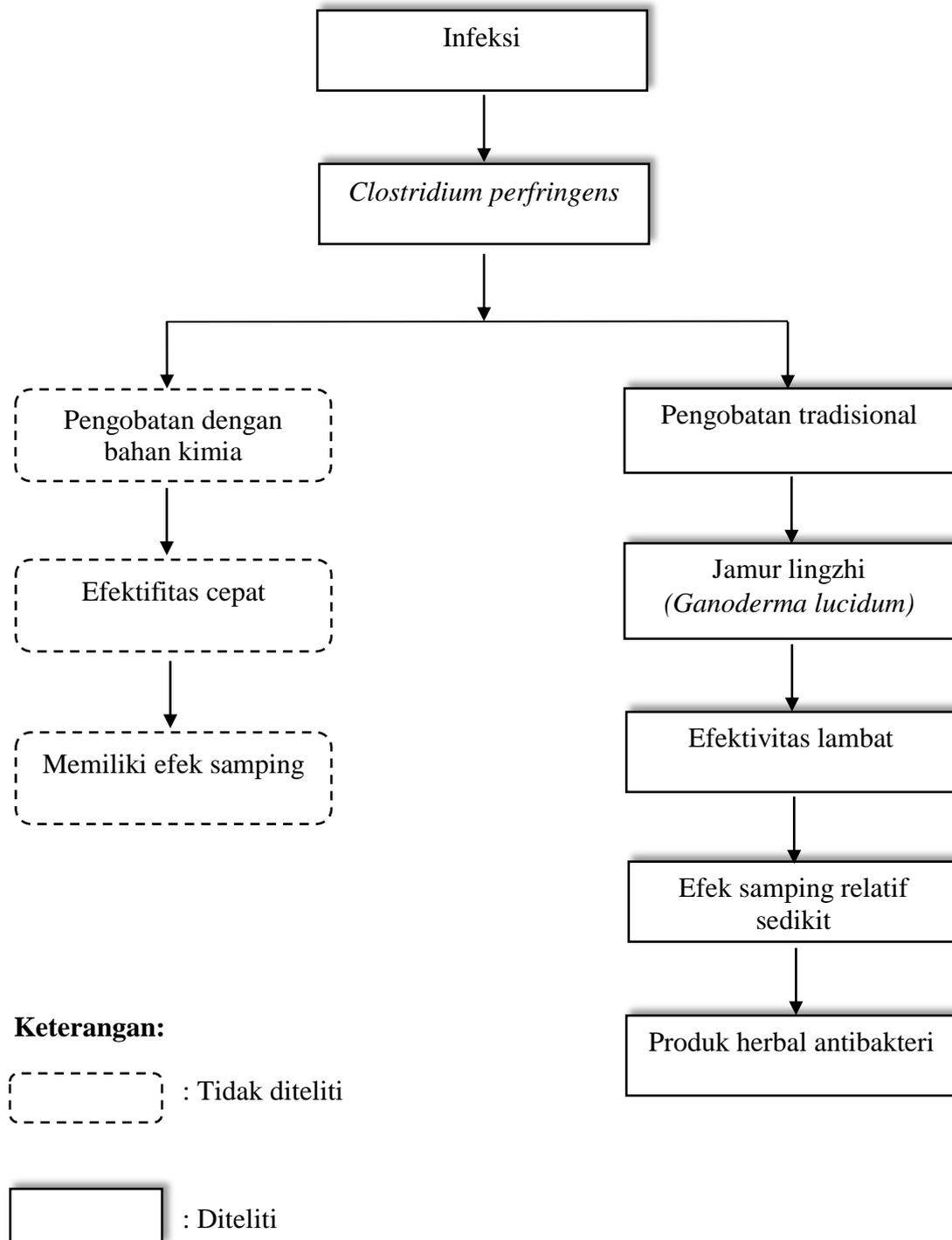
No	Nilai Koefisien Korelasi	Keeratan Korelasi Antara Variabel
1	$-1,00 \leq r \leq -0,80$	Korelasi negatif kuat
2	$-0,79 \leq r \leq -0,50$	Korelasi negatif sedang
3	$-0,49 \leq r \leq -0,20$	Korelasi negatif lemah
4	$-0,19 \leq r < 0,00$	Korelasi negatif sangat lemah
5	$r = 0$	Tidak ada korelasi
6	$0,00 < r \leq 0,19$	Korelasi positif sangat lemah
7	$0,20 \leq r \leq 0,49$	Korelasi positif lemah
8	$0,50 \leq r \leq 0,79$	Korelasi positif sedang
9	$0,80 \leq r \leq 1,00$	Korelasi positif kuat

2.6 Uji Anova *One Way*

Menurut (Wijaya, 2012) Uji Anova *oneway* adalah suatu uji yang digunakan untuk jenis penelitian komparatif dengan tujuan untuk dapat melihat apakah terdapat perbedaan antar variabelnya (26).

- a. Apabila $\text{sig} > 0,05$, maka H_0 diterima, H_1 ditolak artinya tidak terdapat perbedaan, atau pengaruh yang sama pada setiap variabelnya.
- b. Apabila $\text{sig} < 0,05$, maka H_0 ditolak, H_1 diterima artinya terdapat perbedaan, atau pengaruh yang sama pada setiap variabelnya.

2.7 Kerangka Konseptual



Gambar 2.4 Kerangka Konseptual

2.7 Hipotesis

Ekstrak metanol jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) dapat berpengaruh pada pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens* jika diuji dengan metode sumuran.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian dalam karya tulis ilmiah ini adalah eksperimental dengan Analisa kualitatif.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini digunakan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak jamur lingzhi dengan menggunakan pengulangan sebanyak 6 kali replikasi pada beberapa konsentrasi.

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian

Konsentrasi Replikasi	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)
1	A1	B1	C1	D1	E1	F1
2	A2	B2	C2	D2	E2	F2
3	A3	B3	C3	D3	E3	F3
4	A4	B4	C4	D4	E4	F4
5	A5	B5	C5	D5	E5	F5
6	A6	B6	C6	D6	E6	F6

Keterangan:

A: Kontrol negative

D: Ekstrak dengan konsentrasi 60 µg/ml

B: Ekstrak dengan konsentrasi 20 µg/ml

E: Ekstrak dengan konsentrasi 80 µg/ml

C: Ekstrak dengan konsentrasi 40 µg/ml

F: Ekstrak dengan konsentrasi 100 µg/ml

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Maarif Hasyim Latif yang berada di Jl. Ngelom Megare Sepanjang Sidoarjo. Penyusunan proposal KTI dimulai pada bulan Oktober 2020 sampai dengan bulan November 2020, sedangkan penelitian dan penyusunan KTI dimulai pada bulan Desember 2020.

3.4 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) yang didapatkan dari petani jamur Jl. Parangtritis Km 5,8 Panggunharjo Sewon Bantul, Yogyakarta sedangkan bakteri *Clostridium perfringens* yang diperoleh dari Balai Kesehatan Surabaya.

3.5 Sampel, Besar Sampel, dan Cara Pengambilan Sampel

3.3.1 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) dewasa. Berwarna merah kecoklatan, bertekstur keras seperti kayu dan berbentuk seperti kipas. Sampel jamur lingzhi diperoleh dari salah satu petani yang membudidayakan Jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*).

3.3.2 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan untuk membuat ekstrak adalah serbuk jamur lingzhi sebanyak 25 gram, diekstraksi dengan 60 ml pelarut metanol. Menggunakan metode Soxhlet. Hasil ekstrak tersebut diambil 60 ml, lalu diencerkan pada beberapa konsentrasi yaitu, 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 100 µg/ml. Kemudian diambil 10 µg ekstrak *Ganoderma*

lucidum dari masing masing konsentrasi dan ditetaskan 10 µg kedalam sumur berlabel. Bakteri uji yang digunakan yaitu biakan murni *Clostridium perfringens*.

3.3.3 Cara Pengambilan Sampel

Sampel serbuk kering tubuh buah *Ganoderma lucidum* sebanyak 25 gram. Ekstraksi dengan menggunakan soxhlet selama 10 jam dengan pelarut metanol sebanyak 60 ml.

3.6 Variabel Penelitian

Variabel Penelitian ini menggunakan 3 variabel:

1. Variabel Manipulasi (variabel bebas): meliputi konsentrasi ekstrak *Ganoderma lucidum*.
2. Variabel Respon (variabel terikat): meliputi zona hambat bakteri *Clostridium perfringens*.
3. Variabel Kontrol (variabel terkendali): suhu inkubasi (37°C), lama inkubasi (24 jam), media pertumbuhan (*Nutrient Agar*), jenis baketeri (*Clostridium perfringens*), jenis jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*).

3.7 Definisi Operasional

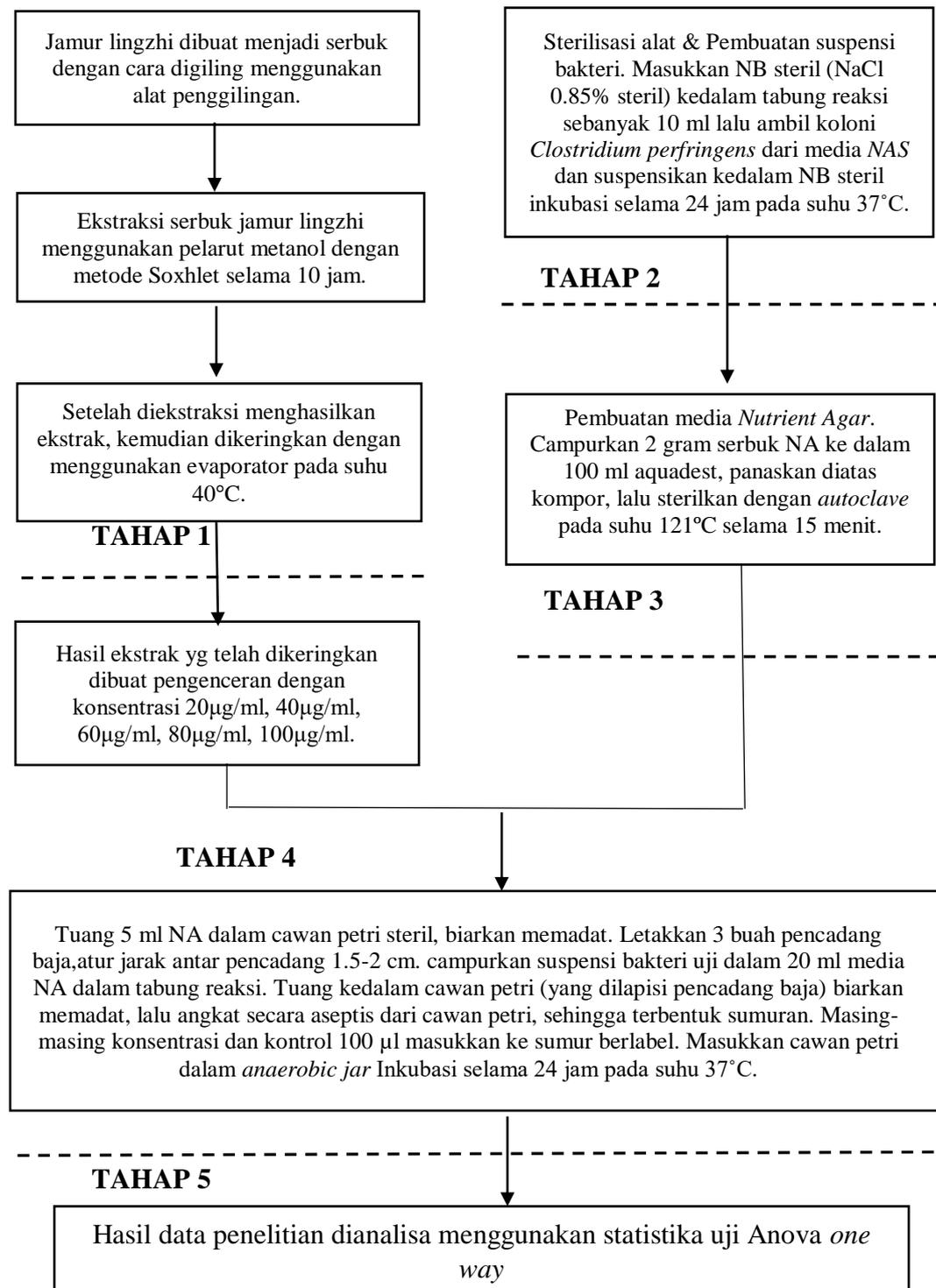
1. Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik.
2. Metode soxhlet adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengisolasi minyak lemak.
3. Media berfungsi untuk menumbuhkan mikroba, isolasi, memperbanyak jumlah, menguji sifat fisiologi dan perhitungan jumlah

mikroba, dimana dalam proses pembuatannya harus disterilisasi dan menerapkan metode aseptis untuk menghindari kontaminasi pada media.

4. *Nutrient Agar* (NA) merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar.
5. *Nutrient Broth* (NB) adalah media untuk mikroorganisme yang berbentuk cair. Intinya sama dengan *Nutrient Agar* (NA). Dalam penelitian ini menggunakan NaCl 0,85% steril.
6. Cara aseptis adalah cara sterilisasi dengan menggunakan teknik yang dapat memperkecil kemungkinan terjadinya pencemaran atau kontaminasi dengan mikroba hingga seminimal mungkin.
7. Metode sumuran adalah membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri.
8. Ekstrak jamur lingzhi adalah sediaan pekat yang didapat dari hasil ekstraksi simplisia kering jamur lingzhi dengan pelarut metanol menggunakan metode Soxhlet.
9. Diameter zona hambat bakteri *Clostridium perfringens* adalah zona bening pada media agar yang terbentuk di sekitar sumuran, yang sudah diinokulasi dengan bakteri *Clostridium perfringens*. Diameter zona hambat dapat diukur menggunakan jangka sorong sesuai dengan kategori zona hambat.

10. Konsentrasi adalah ukuran yang digunakan untuk menyatakan beberapa banyak zat terlarut dan pelarut yang terdapat dalam larutan pekat maupun encer. Pada penelitian ini dibuat larutan dengan konsentrasi 20 μ g/ml, 40 μ g/ml, 60 μ g/ml, 80 μ g/ml, dan 100 μ g/ml.
11. Cawan petri (*plate*) adalah alat kaca berbentuk bulat dengan pinggiran setinggi 1 cm untuk tempat media pembiakan bakteri.

3.8 Kerangka Operasional



Gambar 3.1 Kerangka Operasional

3.9 Teknik dan Instrumen Penelitian

Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode sumuran untuk mengetahui pengaruh ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) terhadap bakteri *Clostridium perfringens* pada media agar Nutrient agar (NA).

1. Tahap pertama

a. Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu: Alat penggilingan bahan alam, soxhlet, botol vial, dan cawan porselen.

Bahan yang digunakan yaitu: Jamur lingzhi dan pelarut metanol.

b. Pembuatan Ekstrak *Ganoderma lucidum*

Ekstrak *Ganoderma lucidum* dibuat dengan cara sempel kering dari serbuk *Ganoderma lucidum* diambil sebanyak 25 gram direndam dalam 60 ml larutan metanol (MeOH) dalam wadah kaca dan dibiarkan selama 48 jam sambil diaduk sesekali kemudian disaring dan dihasilkan residu dan filtrat. Filtrat dievaporasi dan dihasilkan ekstrak kental metanol (polar). Kemudian pelarut dipanaskan untuk menghasilkan uap untuk dialirkan pada serbuk *Ganoderma lucidum*. Pada proses ini terjadi kondensasi dari fase gas ke cair. Hasil Soxhlet tersebut diuapkan menggunakan alat evaporator pada suhu 40°C untuk memisahkan pelarut metanol sampai memperoleh ekstrak kering. Ekstrak kering dimasukkan kedalam botol vial steril, disimpan dalam ruangan LAF dan siap untuk digunakan (27).

2. Tahap kedua

a. Sterilisasi alat-alat gelas yang akan digunakan dalam penelitian dengan menggunakan oven pada suhu 180°C selama 2 jam, pinset dibakar dengan pembakaran diatas api langsung dan labu ukur, gelas ukur, media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

b. Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu: tabung reaksi, rak tabung reaksi, kawat ose, pipet volume 10 ml, dan spiritus bakar.

Bahan yang digunakan, yaitu: *Nutrient Broth (NB)* (NaCl 0.85% steril) dan biakan bakteri *Clostridium perfringens*.

c. Pembuatan suspensi biakan *Clostridium perfringens*

NB steril dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 10 ml, lalu ambil biakan bakteri *Clostridium perfringens* dari media NAS dengan menggunakan kawat ose 1 goresan kemudian disuspensikan kedalam NB steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Kekeruhan suspensi bakteri uji harus setara dengan 1.5×10^8 CFU/ml.

3. Tahap ketiga

a. Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu: cawan petri, timbangan analitik, pipet volume 10 ml, mikro pipet, gelas ukur, beaker glass, erlemeyer, sendok tanduk, batang pengaduk, kaca arloji, *autoclave*, *incubator*, dan kompor.

b. Membuat Media *Nutrient agar*

Membuat media NA dengan mencampurkan sebanyak 2 gram serbuk NA ke dalam 100 ml aquadest, dipanaskan diatas kompor hingga berwarna seperti minyak goreng. Lalu media NA disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

4. Tahap keempat

a. Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu: timbangan analitik, kaca arloji, labu ukur, dan sendok tanduk.

Bahan yang digunakan yaitu: ekstrak jamur lingzhi dan aquadest.

b. Pembuatan ekstrak 500 ppm

Menimbang ekstrak jamur lingzhi sebanyak 50 mg kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 ml, kemudian dihitung konsentrasi ppm nya, yaitu $50 \text{ mg}/100 \text{ ml} = 50 \text{ mg}/0,1 \text{ L} = 500 \text{ ppm}$ ($\mu\text{g}/\text{ml}$).

c. Membuat pengenceran ekstrak dengan konsentrasi 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$, dan 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (kontrol positif menggunakan Penicillin-G dan kontrol negatif menggunakan aquadest) dengan cara sebagai berikut:

1) Konsentrasikan 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$: 2 ml ekstrak jamur lingzhi ditambahkan aquadest dalam labu ukur ad 50 ml, kemudian homogenkan.

- 2) Konsentrasikan 40 $\mu\text{g/ml}$: 4 ml ekstrak jamur lingzhi ditambahkan aquadest dalam labu ukur ad 50 ml, kemudian homogenkan.
 - 3) Konsentrasikan 60 $\mu\text{g/ml}$: 6 ml ekstrak jamur lingzhi ditambahkan aquadest dalam labu ukur ad 50 ml, kemudian homogenkan.
 - 4) Konsentrasikan 80 $\mu\text{g/ml}$: 8 ml ekstrak jamur lingzhi ditambahkan aquadest dalam labu ukur ad 50 ml, kemudian homogenkan.
 - 5) Konsentrasikan 100 $\mu\text{g/ml}$: 10 ml ekstrak jamur lingzhi ditambahkan aquadest dalam labu ukur ad 50 ml, kemudian homogenkan.
- d. Tuangkan 5 ml NA dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat (sebagai *base layer*). Setelah memadat, diletakkan 3 buah pencadang baja dan diatur jaraknya antar pencadang 1.5 - 2 cm. Lalu campurkan suspensi bakteri uji (*Clostridium perfringens*) ke dalam 20 ml media NA dalam tabung reaksi, campuran tersebut dituang kedalam cawan petri yang telah ada pencadang baja sebagai lapisan kedua (*seed layer*) dan biarkan memadat. Pencadang baja diangkat secara aseptis dari cawan petri, sehingga terbentuk sumuran.
- e. Masing-masing variasi konsentrasi ekstrak jamur lingzhi dan kontrol sebanyak 100 μl dimasukkan ke dalam sumur berlabel.

- f. Masukkan cawan petri dalam *anaerobic jar* kemudian inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam posisi tegak.
 - g. Lakukan pengamatan zona bening dan selanjutnya ukur diameter zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong (28).
5. Tahap kelima

Untuk efektivitas antibakteri dari bahan ekstrak, bisa dilihat dari luas diameter zona hambat yang dibentuk oleh ekstrak. Amati zona hambat pada masing-masing konsentrasi, catat dan dokumentasi, Dan hasil data penelitian dianalisa menggunakan statistik uji *Anova one way*.

3.10 Teknik Pengolahan Data dan Analisa Data

3.10.1 Teknik Pengolahan Data

Pengamatan dilakukan setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 33°C dan data yang diperoleh adalah:

1. Hasil diameter zona hambat yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens* disajikan dalam bentuk tabulasi.
2. Efektifitas ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens* ditampilkan secara diskriptif.

3.10.2 Teknik Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan statistik SPSS23 dengan membandingkan diameter zona hambat dari masing masing

konsentrasi ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) dengan menggunakan uji *Anova One Way*.

3.10 Rancangan Hasil Penelitian

Tabel 3.2 Rancangan Hasil Penelitian

Perlakuan	Kontrol Negatif	Luas Zona Hambat (mm ²)				
		20 µg/mL	40 µg/mL	60 µg/mL	80 µg/mL	100 µg/mL
1						
2						
3						
4						
5						
6						
Rata-rata						
Kategori						

BAB IV

HASIL PENELITIAN

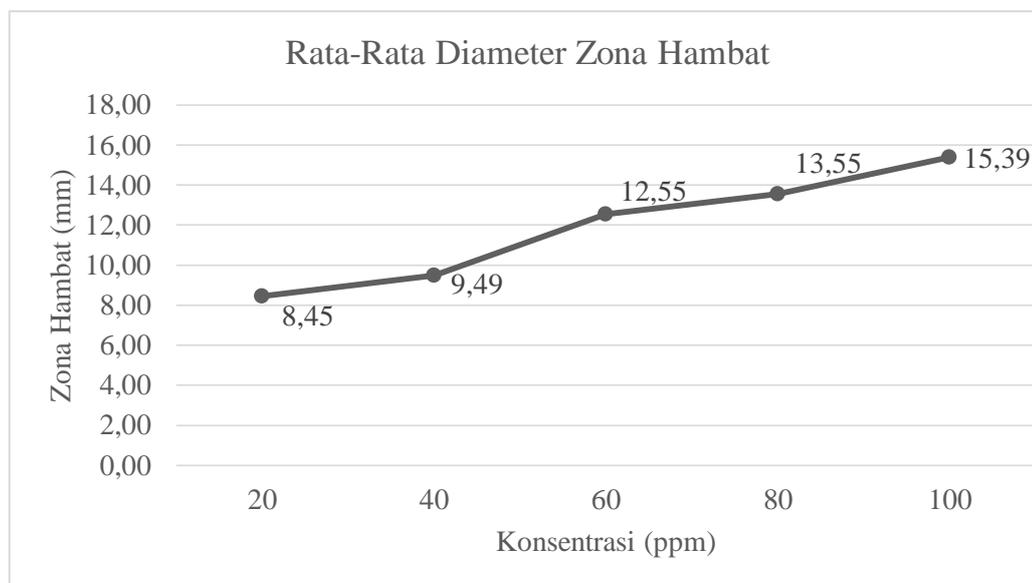
Pengujian pengaruh konsentrasi ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut metanol terhadap zona hambat bakteri *Clostridium perfringens* dengan menggunakan metode sumuran dengan proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan direplikasi sebanyak 6 kali. Hasil uji aktivitas antibakteri dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri *Clostridium perfringens* pada Konsentrasi Tertentu

No	Parameter	Hasil Pemeriksaan						
		Replikasi	Konsentrasi					
	Kontrol negatif (0)		20	40	60	80	100	
1	Ekstrak Metanol Jamur Lingzhi Terhadap Bakteri <i>Clostridium perfringens</i>	1	-	8,21	9,41	12,33	13,51	15,55
		2	-	8,32	9,49	12,46	13,25	15,61
		3	-	8,36	9,56	12,68	13,43	15,21
		4	-	8,66	9,36	12,64	13,59	15,28
		5	-	8,93	9,66	12,63	13,95	15,33
		Rata-Rata	-	8,45	9,49	12,55	13,55	15,39
		Kategori	-	Sedang	Sedang	Kuat	Kuat	Kuat

Berdasarkan tabel 4.1 terlihat bahwa ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) pada konsentrasi tertentu terhadap bakteri *Clostridium perfringens* dengan replikasi sebanyak 6 kali menghasilkan diameter rata-rata zona hambat yang hampir sama terhadap bakteri *Clostridium perfringens*. Berdasarkan hasil uji daya hambat dengan konsentrasi 20 µg/ml dan 40 µg/ml, menghasilkan diameter rata-rata zona hambat dengan kategori sedang. Sedangkan hasil uji daya hambat

dengan konsentrasi 60 $\mu\text{g/ml}$, 80 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ menghasilkan diameter rata-rata zona hambat dengan kategori kuat.



Gambar 4.1 Kurva Rata-Rata Diameter Zona Hambat

Berdasarkan gambar 4.1 dapat dilihat bahwa ekstrak jamur lingzhi memiliki sifat antibakteri. Semakin besar konsentrasi maka akan semakin besar pula hasil zona hambat yang akan diperoleh. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut metanol terhadap zona hambat bakteri *Clostridium perfringens* memiliki daya hambat dengan kategori sedang pada konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$ dan 40 $\mu\text{g/ml}$, dan daya hambat dengan kategori kuat pada konsentrasi 60 $\mu\text{g/ml}$, 80 $\mu\text{g/ml}$, dan 100 $\mu\text{g/ml}$. Kemudian data dianalisis menggunakan statistik SPSS 24 uji Anova *Oneway*.

Tabel 4.2 Uji Anova Oneway**ANOVA**

ZH

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	753.931	5	150.786	4132.451	.000
Within Groups	.876	24	.036		
Total	754.807	29			

Pada tabel 4.2 menunjukkan bahwa nilai signifikasi yang diperoleh 0,000 nilai tersebut $< 0,05$ menunjukkan $H_1 =$ diterima, $H_0 =$ ditolak artinya bahwa pengaruh konsentrasi ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan metode soxhlet berpengaruh terhadap bakteri *Clostridium perfringens* dengan terbentuknya zona hambat dan nilai signifikasinya 0,000.

Tabel 4.3 Tabel Uji Duncan**ZH**Duncan^a

K	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	5	.0000					
20	5		8.4960				
40	5			9.4960			
60	5				12.5480		
80	5					13.5460	
100	5						15.4080
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.							
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.							

Pada tabel 4.3 Berdasarkan hasil yang diperoleh konsentrasi pada 0 ppm (kontrol negatif) berbeda nyata terhadap konsentrasi 20ppm (20µg/ml), 40ppm (40µg/ml), 60ppm (60µg/ml), 80ppm (80µg/ml), dan 100ppm (100µg/ml). Sedangkan untuk ke 5 konsentrasi yang lainnya terdapat pula perbedaan nyata yang dipengaruhi kadar dari masing-masing konsentrasi ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*).

BAB V

PEMBAHASAN

Menurut Morales *et al.* (2003), aktivitas zona hambat antimikroba dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu : aktivitas lemah (<5mm), sedang (5-10mm), kuat (>10-20 mm), sangat kuat (>20-30 mm) (29). Berdasarkan tabel uji aktivitas ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut metanol terhadap zona hambat bakteri *Clostridium perfringens* terlihat bahwa ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) pada konsentrasi berbeda dan masing-masing dilakukan 6 kali pengulangan menghasilkan diameter rata-rata zona hambat yang sama terhadap bakteri *Clostridium perfringens*. Pada hasil uji pengaruh ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut metanol terhadap zona hambat bakteri *Clostridium perfringens* konsentrasi 20µg/ml dan 40 µg/ml masuk dalam kategori zona hambat sedang dan konsentrasi 60 µg/ml sampai 100µg/ml masuk dalam kategori zona hambat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens*.

Metanol adalah cairan tidak berwarna dan sedikit berbau dengan rumus kimia CH₃OH. Metanol disebut juga methyl alcohol, wood spirit, carbinol, wood alcohol, dan wood naphta. Berat molekul metanol adalah 32.04 g/mol. Titik didih pada suhu 64.6°C dan titik leleh pada suhu -97.6°C. Metanol bersifat larut dalam air, etanol, eter, dan cairan organik lainnya. 1 ppm mempunyai nilai yang sama dengan 1.31 mg/m³ metanol (30).

Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut metanol merupakan pelarut terbaik yang bisa digunakan dalam proses ekstraksi. Metanol dikenal sebagai pelarut universal (31). Astarina, dkk. (2013) dalam Ramdani, dkk (31),

menyatakan bahwa gugus hidroksil dan metil pada metanol memberikan kecenderungan menarik analit-analit yang bersifat polar maupun nonpolar. Oleszek (2000) dalam Ramdani, dkk (31) juga mengungkapkan bahwa saponin dapat diekstrak secara baik dengan menggunakan pelarut metanol dengan konsentrasi lebih dari 40%, saponin merupakan senyawa glikosida yang tersusun atas dua jenis molekul sebagai kerangka utama yaitu kerangka steroid atau triterpenoid yang bersifat nonpolar serta memiliki gugus hidroksil yang mampu berikatan dengan gula sederhana yang bersifat polar, sehingga saponin mampu terlarut lebih baik didalam pelarut metanol.

Senyawa yang terdapat pada Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) diantaranya adalah polisakarida dan triterpenoid. Triterpenoid adalah senyawa yang mempunyai fungsi sebagai antimikroba. Terbentuknya zona hambat dapat dilihat dari zona bening yang terbentuk pada sekitar sumuran. Terbentuknya zona bening di sekitar sumuran dipengaruhi karena senyawa triterpenoid mempunyai mekanisme kerja terhadap bakteri. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri kan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (32).

Berdasarkan respon uji daya hambat jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) terhadap bakteri *Clostridium perfringens* menunjukkan jika konsentrasi 20µg/ml dan 40 µg/ml masuk kategori zona hambat sedang dan konsentrasi 60 µg/ml sampai 100µg/ml masuk kategori zona hambat kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens*.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Dari hasil pengujian lima konsentrasi ekstrak jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) dengan pelarut metanol terhadap diameter zona hambat bakteri *Clostridium perfringens* didapatkan konsentrasi optimal yang dapat digunakan sebagai antibakteri pada konsentrasi 100µg/ml dengan luas zona hambat rata-rata 15,39 mm. Konsentrasi 100µg/ml merupakan konsentrasi optimal sebagai antibakteri karena menghasilkan metabolik sekunder seperti senyawa polisakarida dan triterpenoid. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) dapat berpengaruh pada pertumbuhan bakteri *Clostridium perfringens* jika diuji dengan metode sumuran.

6.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut pada ekstrak metanol jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) sebagai antibakteri.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan metode dan pelarut yang berbeda.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan konsentrasi ekstrak jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) yang lebih bervariasi untuk mendapatkan konsentrasi yang optimal sebagai antibakteri.