



**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN dan ANTIBAKTERI
EKSTRAK *Ganoderma* sp. dari HUTAN
GUNUNGKIDUL**

**Skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia**

oleh:
Miftakhul Jannah
4311415042

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2020**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, 3 Februari 2020



Miftakhul Jannah

4311415042

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak *Ganoderma* sp. dari Hutan Gunungkidul

disusun oleh

Miftakhul Jannah

4311415042

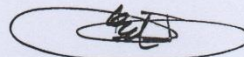
telah dipertahankan dihadapan Sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 20 Januari 2020

Semarang, 3 Februari 2020



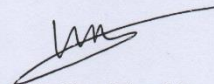
Dr. Sugianto, M.Si
NIP. 196102191993031001

Sekretaris,



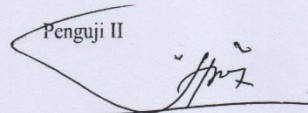
Dr. Sigit Priatmoko, M.Si
NIP. 196504291991031001

Penguji I



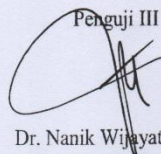
Willy Tirza Eden, S.Farm., M.Sc
NIP. 198911022015041001

Penguji II



Dr. Sri Mursiti, M.Si
NIP. 196709131999032001

Penguji III



Dr. Nanik Wijayati, M.Si
NIP. 196910231996032002

MOTTO dan PERSEMBAHAN

MOTTO

- Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap (Q.S. Al Insyirah: 5-8).
- Sesungguhnya Allah tidak akan merubah nasib suatu kaum kecuali kaum itu sendiri yang mengubah nasibnya (Q.S. Rad: 11).
- Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya (Q.S. Al Baqarah: 286).

PERSEMBAHAN

- Ibu dan Bapak yang selalu mendukung, mendoakan, dan menjadi motivasi dalam hidup
- Kakak, Adik, dan Saudara yang selalu mendoakan dan memotivasi
- Almamater
- Anggota Al Kayyis yang telah mendoakan dan memotivasi.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak *Ganoderma* sp. dari Hutan Gunungkidul”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Strata Satu Program Studi Kimia, FMIPA, Unnes.

Penulisan skripsi ini dapat terselesaikan tidak lepas dari bantuan, dukungan, serta bimbingan berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang,
2. Dekan FMIPA, Universitas Negeri Semarang,
3. Ketua Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Semarang,
4. Kepala BPTBA LIPI Yogyakarta,
5. Ibu Dr. Nanik Wijayati, M.Si. dan Ibu Cici Darsih, M.Sc. yang telah memberikan ilmu, arahan dan bimbingan dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan skripsi,
6. Bapak Willy Tirza Eden, S.Farm., M.Sc. dan Ibu Dr. Sri Mursiti, M.Si. yang telah memberikan evaluasi serta saran dalam penulisan skripsi,
7. Karyawan BPTBA LIPI Yogyakarta yang telah membantu peneliti dalam pelaksanaan penelitian
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu

Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada peneliti khususnya dan pembaca pada umumnya, serta dapat memberikan sumbangan pemikiran pada perkembangan pendidikan selanjutnya.

Semarang, 3 Februari 2020

Penulis

ABSTRAK

Jannah, M. 2020. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Ganoderma sp. dari Hutan Gunungkidul*. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Dr. Nanik Wijayati, M.Si dan Cici Darsih, M.Si.

Kata Kunci: Ekstrak *Ganoderma sp.*, total polifenol, aktivitas antioksidan, dan antibakteri.

Penyakit dalam tubuh manusia dapat dipicu oleh beberapa faktor seperti stress oksidatif dan infeksi bakteri. Stress oksidatif merupakan kondisi radikal bebas berlebih yang dapat bersumber dari hasil samping proses metabolisme tubuh. Radikal bebas merupakan spesies kimia reaktif berupa atom atau molekul dengan elektron tak berpasangan dikulit terluarnya. Pemicu penyakit lainnya seperti infeksi bakteri terjadi karena kontaminasi bakteri patogen yang resisten. Upaya untuk mengurangi dampak negatif dari stress oksidatif dan infeksi bakteri dapat dilakukan dengan pencarian senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. Salah satu sumber antioksidan dan antibakteri adalah Jamur Lingzhi (*Ganoderma sp.*). Jamur *Ganoderma sp.* mengandung metabolit sekunder salah satunya adalah senyawa polifenol. Karakter dari senyawa ini adalah adanya gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Karakter lainnya yaitu memiliki aktivitas farmakologis seperti antioksidan dan antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk menghitung kandungan polifenol, serta menguji aktivitas antioksidan dan antibakteri Jamur *Ganoderma sp.* Metode yang digunakan adalah Folin-Ciocalteu untuk uji total polifenol, Peredaman Radikal Bebas DPPH (*1,1-diphenil-2-pikril hidrazil*) pada uji aktivitas antioksidan, dan Difusi Sumuran pada uji aktivitas antibakteri. Sampel yang digunakan berupa fraksi kloroform, etil asetat dan fraksi metanol *Ganoderma sp.* Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Ganoderma sp.* mempunyai kandungan senyawa fenolik sebesar 0,62 mg GAE/g pada fraksi kloroform; 1,18 mg GAE/g pada fraksi etil asetat; dan 0,62 mg GAE/g pada fraksi metanol. Ekstrak *Ganoderma sp.* juga memiliki aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ sebesar 135,61 ppm pada fraksi kloroform; 98,94 ppm fraksi etil asetat; dan 180,56 ppm pada fraksi metanol. Selanjutnya pada uji antibakteri tidak dihasilkan zona hambat pada setiap fraksi yang digunakan.

ABSTRACT

Jannah, M. 2020. *Antioxidant and antibacterial activity of Ganoderma sp. extract from Gunungkidul Forest*. Chemistry Department, Mathematic and Science Faculties, Semarang State University. Mentor Dr. Nanik Wijayati, M.Si and Cici Darsih, M.Si.

Keywords: *Ganoderma* sp. extract, total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities.

Diseases in the human body can be triggered by several factor such as oxidative stress and bacterial infections. Oxidative stress is free radicals excess condition sourced from side product of body metabolism process. Free radicals are reactive chemical species in the form of atoms or molecules with unpaired electrons in the outer shell. Other disease triggers such as bacterial infections occur due to contamination of resistant pathogenic bacteria. The efforts to reduce negative effects of oxidative stress and bacterial infections can be done by searching for compounds that have antioxidant and antibacterial activity. One of antioxidant and antibacterial activity source is Lingzhi (*Ganoderma* sp.) mushroom. One type of secondary metabolites of *Ganoderma* sp. mushroom is polyphenols. Characters of these compounds are hydroxyl group attached aromatic ring. Polyphenols have pharmaceutical activity like antioxidant and antibacterial activity. The purpose of this study was to determine total phenolic content, antioxidant and antibacterial activity of *Ganoderma* sp. mushroom. The methods used include Folin Ciocalteu to calculate total phenolic content, scavenge DPPH free radicals to analysis antioxidant activity and Agar Well Diffussion method to analysis antibacterial activity. Samples used are chloroform fraction, ethyl acetate fraction and methanol fraction of *Ganoderma* sp. mushroom. The results showed that *Ganoderma* sp. extract contained phenolic compound 0,6 mg GAE/g of chloroform fraction; 1,18 mg GAE/g of ethyl acetate fraction; dan 0,59 mg GAE/g of methanol fraction. *Ganoderma* sp. extracts have antioxidant activity which IC₅₀ 135,61 ppm of chloroform fraction; 98,94 ppm of ethyl acetate fraction; and 180,56 ppm of methanol fraction. Antibacterial activity results there is no inhibition zone of each extract used

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN.....	ii
PENGESAHAN.....	iii
MOTTO dan PERSEMBAHAN.....	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Jamur <i>Ganoderma</i> sp.	5
2.2 Ekstraksi Bertahap.....	8
2.3 Uji Total Polifenol.....	10
2.4 Uji Aktivitas Antioksidan.....	10
2.5 Uji Aktivitas Antibakteri.....	12
2.6 Bakteri Uji.....	12
2.7 Instrumen Uji.....	17
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN.....	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2 Variabel Penelitian.....	19
3.2.1 Variabel Bebas.....	19

3.2.2	Variabel Terikat.....	19
3.2.3	Variabel Kontrol.....	20
3.3	Alat dan Bahan.....	20
3.3.1	Alat.....	20
3.3.2	Bahan.....	20
3.4	Prosedur Penelitian.....	20
3.4.1	Ekstraksi Bertahap.....	21
3.4.2	Uji Total Polifenol.....	21
3.4.3	Uji Aktivitas Antioksidan.....	22
3.4.4	Uji Aktivitas Antibakteri.....	22
BAB 4 HASIL dan PEMBAHASAN.....		24
4.1	Jamur <i>Ganoderma</i> sp.	24
4.2	Ekstraksi Bertahap.....	24
4.3	Uji Total Polifenol.....	24
4.4	Uji Aktvitas Antioksidan.....	26
4.5	Uji Aktivitas Antibakteri.....	29
4.6	Karakterisasi FTIR.....	30
BAB 5 KESIMPULAN dan SARAN.....		32
5.1	Kesimpulan.....	32
5.2	Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA.....		33
LAMPIRAN.....		39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1. Rendemen Ekstrak <i>Ganoderma</i> sp.	24
4.2. Total Polifenol Ekstrak <i>Ganoderma</i> sp.	26
4.3. Aktivitas Antioksidan Ekstrak <i>Ganoderma</i> sp.	28
4.4. Identifikasi gugus fungsi fraksi kloroform <i>Ganoderma</i> sp.	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Jamur <i>Ganoderma</i> sp.	5
2.2. Bakteri <i>S. aureus</i>	14
2.3. Bakteri <i>E. coli</i>	15
2.4. Bakteri <i>S. typhi</i>	16
2.5. Bakteri <i>P. aeruginosa</i>	17
4.1. Reaksi Asam Galat dengan Molibdenum.....	25
4.2. Reaksi Radikal DPPH dengan antioksidan.....	27
4.3. Reduksi Asam Askorbat.....	28
4.4. Aktivitas Antibakteri.....	29
4.5. Spektrum FT-IR fraksi kloroform <i>Ganoderma</i> sp.	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Penelitian.....	39
2. Perhitungan Penelitian.....	40
3. Analisis Data SPSS.....	52
4. Hasil Karakterisasi FT-IR.....	55
5. Gambar Prosedur dan Alat Penelitian.....	56

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kebutuhan oksigen merupakan kebutuhan fisiologis dasar bagi manusia yang diperoleh dari proses pernafasan. Kebutuhan ini digunakan untuk kelangsungan hidup sel dan jaringan serta metabolisme tubuh. Proses biokimiawi yang terjadi didalamnya memiliki konsekuensi yaitu dihasilkannya spesies kimia reaktif yang dapat membahayakan tubuh yang disebut radikal bebas. Spesies ini dapat berupa atom atau molekul dengan elektron tak berpasangan di kulit terluarnya (Phillips *et al.*, 2002).

Radikal bebas yang jumlahnya berlebih dapat membahayakan tubuh. Kondisi ini disebut dengan stres oksidatif (*oxidative stress*). Radikal bebas ini dapat mengoksidasi lemak, merusak membran, dan mengurangi kestabilan membran, serta memicu timbulnya beberapa penyakit seperti penyakit stroke, kardiovaskuler, diabetes, kanker dan penyakit neurodegeneratif (Dubey, 2015).

Bahaya stres oksidatif dalam tubuh dapat dibantu penghambatannya dengan pemberian zat antioksidan. Senyawa ini dapat membantu menetralkan radikal bebas dengan memberikan elektronnya sehingga menekan radikal tak berpasangan dan memutus rantai dari reaksi oksidasi. Proses inilah yang dapat menyelamatkan sel sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Hettiarachi, 2015).

Selain bahaya dari penyakit yang ditimbulkan oleh stress oksidatif, terdapat pula sumber penyakit yang menjadi masalah utama di negara berkembang, seperti Indonesia. Penyakit tersebut adalah penyakit infeksi, yaitu penyakit yang ditimbulkan oleh sejumlah mikroorganisme seperti bakteri patogen (Ginovyian *et al.*, 2017).

Bakteri patogen masuk ke dalam tubuh dengan berbagai cara diantaranya melalui makanan atau minuman yang telah terkontaminasi, melalui luka pada kulit, sentuhan kulit dengan penderita infeksi kulit, serta dapat pula melalui lingkungan dan peralatan medis yang terkontaminasi. Bakteri yang menetap dalam tubuh dapat menyebar dan melepaskan racun sehingga mengembangkan penyakit. Beberapa

kasus penyakit infeksi tersebut adalah gastroenteritis, demam tifoid, pneumonia, meningitis, diare akut dan infeksi saluran kemih (Kramer *et al.*, 2010).

Penanganan infeksi bakteri patogen ini telah dilakukan yaitu menggunakan senyawa antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang meningkat secara terus menerus menyebabkan berbagai masalah baru diantaranya bakteri yang resisten terhadap zat antibiotik. Kondisi tersebut berarti bakteri lebih kuat dan kurang responsif terhadap antibiotik, tetap mampu bertahan dan berkembang biak terhadap antibiotik. Beberapa peneliti yang mengkaji tentang resistensi antibiotik diantaranya adalah Dantas dan Sommer (2012) serta Olivares *et al.*, (2013) yaitu meneliti resistensi bakteri *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, dan *Staphylococcus aureus*.

Upaya untuk mengurangi dampak negatif dari stress oksidatif dan resistensi antibiotik dapat dilakukan dengan pencarian senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri. Salah satu sumber antioksidan dan antibakteri adalah Jamur Lingzhi (*Ganoderma* sp.). Tanaman ini banyak tumbuh di pohon berkayu baik yang masih hidup maupun pohon kayu yang telah mati di hutan subtropis Asia, Eropa, dan Amerika. Sifat dari tanaman ini dapat berlaku sebagai saprofit maupun parasit (Siwulski *et al.*, 2015).

Ganoderma sp. diduga memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung banyak metabolit sekunder seperti polifenol, polisakarida, lemak, minyak, germanium, terpenoid dan sterol (Juan *et al.*, 2012). Beberapa penelitian mengenai aktivitas antioksidan dan antibakteri *Ganoderma* sp. telah dilakukan diantaranya adalah penelitian oleh Celik *et al.*, (2014) pada *Ganoderma lucidum*. Hasil penelitian Celik menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ pada ekstrak metanol sebesar 3.82 µg/mL dan ekstrak etanol sebesar 7.03 µg/mL, serta aktivitas antibakteri dengan zona hambat sebesar 10-25 mm.

Kamble *et al.*, (2011) meneliti aktivitas antibakteri pada *Ganoderma lucidum* terhadap bakteri gram positif dan gram negatif dengan zona hambat maksimal pada konsentrasi 100 mg/mL. Aktivitas antioksidan metode DPPH pada jamur *Ganoderma applanatum* berhasil diteliti aktivitasnya sebesar 59,24 mgTEs/g oleh Zengin *et al.*, (2015). Hasil penelitian uji aktivitas antibakteri terhadap ekstrak

etanol jamur *Ganoderma applanatum* dilakukan oleh Oviasogie *et al.*, (2015). Hasil penelitian menunjukkan zona hambat sebesar 15,03 mm pada bakteri *Staphylococcus aureus*; 17,10 mm pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*; dan 18,17 mm pada *Candida albicans*.

Aktivitas antioksidan dan antibakteri dari *Ganoderma* sp. sangat dipengaruhi oleh kandungan metabolit di dalamnya. Kandungan tersebut akan berbeda dari satu *Ganoderma* sp. dengan *Ganoderma* sp. lain yang tumbuh ditempat yang berbeda kondisi geografisnya. Hal tersebut dikarenakan beberapa faktor diantaranya adalah perbedaan temperatur, kelembaban, cahaya, jenis tanah, pH dan nutrisi di dalamnya serta tekanan atmosfer (Deduke *et al.*, 2012). Pada penelitian ini akan digunakan sampel Jamur *Ganoderma* sp. yang berasal dari hutan Gunungkidul, Yogyakarta.

Salah satu jenis metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas antioksidan dan antibakteri adalah senyawa polifenol. Senyawa ini merupakan metabolit sekunder yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin benzen. Senyawa polifenol secara kimiawi memiliki gugus yang heterogen, beberapa senyawa larut dalam air, larut dalam pelarut organik, beberapa ditemukan sebagai glikosida, dan beberapa lainnya sebagai polimer yang tidak dapat larut.

Karakter lain dari senyawa polifenol adalah memiliki aktivitas farmakologis (Miguel, 2017). Penelitian mengenai aktivitas farmakologis senyawa polifenol telah dilakukan oleh Peneliti seperti Oliveira *et al.*, (2016) yang meneliti aktivitas antioksidan senyawa fenol pada propolis. Singh *et al.*, (2011) meneliti senyawa polifenol asam galat yang dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis seperti antiinflamasi, anti mutagenik, dan antikarsinogenik.

Cayan *et al.*, (2015) meneliti senyawa fenol dalam Jamur *Ganoderma adspersum*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan kandungan senyawa fenol seperti *fumaric acid*, *caffeic acid*, *benzoic acid*, *ferulic acid*, *coumarin*, *ellagic acid*, dan *rosmarinic acid*. Senyawa *fumaric acid* dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri, sedangkan senyawa *caffeic acid* memiliki aktivitas biologis seperti antioksidan, antibakteri, dan antiinflamasi. Sehingga pada penelitian ini dilakukan uji total polifenol serta uji aktivitas farmakologis yaitu uji aktivitas antioksidan dan antibakteri sampel Jamur *Ganoderma* sp.

1.1. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Berapakah kandungan total polifenol dalam ekstrak *Ganoderma* sp.?
- b. Bagaimanakah aktivitas antioksidan ekstrak *Ganoderma* sp.?
- c. Bagaimanakah aktivitas antibakteri ekstrak *Ganoderma* sp.?

1.2. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Menghitung kandungan total polifenol ekstrak *Ganoderma* sp.
- b. Mengetahui tingkat aktivitas antioksidan ekstrak *Ganoderma* sp.
- c. Mengetahui tingkat aktivitas antibakteri ekstrak *Ganoderma* sp.

1.3. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat mengenai potensi jamur *Ganoderma* sp. sebagai sumber antioksidan dan antibakteri alami.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jamur *Ganoderma* sp.

a. Klasifikasi

Kingdom : Fungi
Divisi : Agaricomycota
Kelas : Basidiomycota
Ordo : Polyporales
Famili : Ganodermataceae
Genus : *Ganoderma*
Spesies : *Ganoderma* sp.

b. Nama Daerah

China : Lingzhi, Ling chih
Jepang : Munnertake, Sachitake, dan Reishi
Korea : Youngzhi
(Paterson, 2006)

c. Deskripsi Jamur *Ganoderma* sp.



Gambar 2.1. Jamur *Ganoderma* sp.

Jamur *Ganoderma* sp. seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.1 memiliki badan buah bertangkai, berbentuk setengah lingkaran, seperti kipas atau ginjal dengan diameter 30-250 mm dan ketebalan 4-8 cm. Permukaan badan buah memiliki struktur menonjol yang tidak beraturan seperti gerigi.

Warna badan buah dapat bervariasi diantaranya merah mengkilap, merah kecoklatan, dan hitam kemerahan serta warna yang lebih terang di bagian tepinya ketika aktif tumbuh. Badan buah yang masih muda memiliki warna coklat kekuningan dan merah kekuningan. Warna akan semakin gelap dengan bertambahnya usia tumbuh jamur (Siwulski *et al.*, 2015). Terdapat enam jenis jamur *Ganoderma* sp. yang telah diketahui dalam buku China berdasarkan perbedaan warna badan buah yaitu seishi(biru), kokushi(hitam), hakushi(putih), sekishi(merah), ohshi(kuning), dan shishi(ungu) (Baby *et al.*, 2015).

Jamur *Ganoderma* sp. tersebar secara luas di hutan tropis dan subtropis di beberapa benua seperti Eropa, Amerika Utara, Amerika Selatan dan Asia. Tanaman ini dapat tumbuh di pohon berkayu yang masih hidup maupun yang sudah mati. Jamur *Ganoderma* sp. di benua timur memiliki pertumbuhan yang cepat di pohon plum (*Prunus salicina*) yang telah mati, sedangkan di Eropa tanaman ini sering ditemukan di pohon berkayu pada saat musim panas dan musim gugur (Siwulski *et al.*, 2015).

Jamur *Ganoderma* sp mengandung metabolit sekunder yang berpotensi memiliki aktivitas farmakologis seperti antioksidan dan antibakteri. Jamur ini pada dasarnya telah banyak digunakan oleh masyarakat Cina, Korea dan banyak negara lainnya sebagai bahan obat tradisional. Penggunaan ini bahkan telah dilakukan sejak bertahun-tahun yang lalu. Meskipun begitu penelitian mengenai *Ganoderma* sp. masih terus dilakukan disebabkan karena kandungan metabolit sekunder dalam *Ganoderma* sp. sangat melimpah dan aktivitas senyawanya dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor (Sanodiya *et al.*, 2009).

Salah satu faktornya yaitu tempat tumbuh *Ganoderma* sp. Kandungan metabolit sekunder *Ganoderma* sp. di negara iklim tropis akan berbeda dengan metabolit sekunder *Ganoderma* sp. yang berasal dari negara dengan iklim yang berbeda. Hal tersebut dimungkinkan akan berdampak pada perbedaan aktivitas farmakologis *Ganoderma* sp.

Nagaraj *et al.*, (2014) membandingkan aktivitas *Ganoderma applanatum* dari dua tempat yang berbeda dan menghasilkan tingkat aktivitas antioksidan yang berbeda. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas farmakologis jamur *Ganoderma* sp.

d. Senyawa aktif jamur *Ganoderma* sp. dan aktivitas biologi

Beberapa senyawa aktif yang terkandung dalam jamur *Ganoderma* sp. antara lain polisakarida, terpenoid, dan steroid (Juan *et al.*, 2012). Senyawa lain yang juga terkandung dalam jamur *Ganoderma lucidum* diantaranya adalah fenolik, protein, peptida, asam amino, nukleosida, asam lemak, alkaloid, dan ion anorganik (Li *et al.*, 2013). Senyawa-senyawa tersebut dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis seperti antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antitumor, dan antivirus.

Senyawa aktif yang terkandung dalam *G. lucidum* seperti ganodermanondiol(1), lusidumol(2), metil lusidenat A(3), dan etil lusidenat A(4) diteliti tingkat toksisitasnya terhadap sel kanker CA46, HL60, K562, HepG2, SW480, dan SMMC-7221. Senyawa etil lusidenat menunjukkan sitotoksitas terhadap sel kanker HL60 dan CA46 dengan IC_{50} sebesar 25,98 $\mu\text{g/mL}$ dan 20,42 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan senyawa ganodermanondiol aktif terhadap sel kanker HL60 dengan nilai IC_{50} sebesar 22,49 $\mu\text{g/mL}$. Sementara itu, senyawa lusidumol memiliki aktivitas lemah terhadap sel kanker K562 dengan IC_{50} sebesar 37,25 $\mu\text{g/mL}$ (Li *et al.*, 2013).

Peneliti Liu *et al.*, (2012) juga mengkaji senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel tumor manusia yaitu asam ganoderik Jc terhadap sel leukimia (*Human Myeloid Leukimia*) HL60 dengan nilai IC_{50} sebesar 8,30 μM dan ganoderiol E terhadap sel tumor payudara MCF-7 dengan IC_{50} 6,35 μM serta HL60 dengan nilai IC_{50} sebesar 21,70 μM .

Senyawa polisakarida dalam ekstrak *G. lucidum* juga berhasil diteliti aktivitas antitumor dan antiinflamasinya. Hasil yang diperoleh pada uji antitumor adalah penurunan volume dan massa tumor sebesar 80,0 %; 77,6 % setelah implantasi tumor karsinoma dan penurunan sebesar 79,5 %; 81,2% sebelum implantasi tumor pada dosis 100 mg/kg. Pada uji antiinflamasi

digunakan dua metode yaitu *carrageenan induced* dan *formalin induced* dengan hasil yang diperoleh yaitu penghambatan sebesar 57,6 % dan 58,2 % pada dosis 100 mg/kg (Joseph *et al.*, 2011).

Hasil penelitian uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak metanol *Ganoderma tsugae* tua, muda, miselia dan filtrat dilakukan oleh Mau *et al.*, (2005). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol *G. tsugae* tua dan muda memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yaitu sebesar 96,8 % dan 93,6 % pada 20 mg/mL dengan EC_{50} sebesar 0,53 dan 1,11 mg/mL dengan metode diena terkonjugasi. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol *G. tsugae* tua dan muda terhadap penangkalan radikal bebas DPPH sebesar 88,4% dan 93,8% pada konsentrasi 5 mg/L, sedangkan pada miselia dan filtrat sebesar 85,7% dan 79,3% pada 10 mg/mL. Total polifenol ditemukan berada di semua sampel dengan *range* antara 24,0-35,6 mg/g.

Joseph *et al.*, (2009) melaporkan uji aktivitas antioksidan dengan beberapa metode terhadap ekstrak kloroform *Ganoderma lucidum* yang mengandung terpenoid dan alkaloid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas penangkalan radikal bebas DPPH oleh ekstrak kloroform sebesar 91,12 % pada 1000 μ g/mL. Selain itu, IC_{50} yang diperoleh pada metode peredaman radikal superoksida yaitu 144,66 μ g/mL, pada metode penghambatan peroksidasi lemak diperoleh IC_{50} sebesar 593,33 μ g/mL, sedangkan pada metode peredaman radikal nitrit oksida diperoleh IC_{50} sebesar 21,66 μ g/mL.

Jamur ini juga memiliki aktivitas antiinflamasi yang diuji menggunakan dua metode yaitu *carrageenan induced acute* dan *formalin induced chronic inflammation*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kloroform jamur *G. lucidum* memberikan efek secara signifikan pada berat badan 100 mg/kg dibandingkan dengan standar obat *diclofenac*.

2.2 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan teknik pemisahan ekstrak menggunakan berbagai macam pelarut. Zat aktif dalam material akan berpindah ke dalam pelarut berdasar

tingkat kepolarannya (Tiwari *et al.*, 2011). Senyawa polar akan larut dalam pelarut polar, begitu pula sebaliknya senyawa nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar.

Peneliti telah menganalisis dampak dari penggunaan beberapa jenis pelarut dengan perbedaan kepolaran seperti kloroform, heksan, etil asetat dan metanol terhadap aktivitas antioksidan. Penggunaan pelarut dengan perbedaan polaritas juga diperlukan untuk mengekstrak senyawa fenolik dari berbagai jenis tanaman (Wong, 2006).

2.3 Ekstraksi Berbantu Gelombang Ultrasonik

Ekstraksi merupakan penyarian atau penarikan zat aktif dari jaringan tumbuhan menggunakan pelarut tertentu. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbantu gelombang ultrasonik, yaitu dengan memberikan gelombang ultrasonik (20-2000 kHz) pada sampel. Gelombang ini akan membantu menghancurkan dinding sel, membantu meningkatkan kemampuan pelarut dalam penetrasi sel dan meningkatkan hasil ekstrak atau rendemen. UAE dapat dioperasikan pada suhu yang rendah sehingga mampu mempertahankan kualitas senyawa yang diekstrak (Salas *et al.*, 2010).

Gelombang ultrasonik yang melewati medium mengakibatkan getaran partikel medium amplitudo sejajar dengan arah rambat secara longitudinal, sehingga menyebabkan partikel medium membentuk rapatan (strain) dan regangan (stress). Proses yang kontinyu menyebabkan terjadinya rapatan dan regangan di dalam medium. Gelombang ultrasonik apabila dalam medium cair dapat menyebabkan kavitasi akustik. Selama proses kavitasi berlangsung terjadi *bubble collapse* (ketidakstabilan gelembung), yaitu pecahnya gelembung yang kecil akibat suara.

2.4 Uji Total Polifenol

Senyawa fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil yang selalu melekat pada cincin fenil. Senyawa ini dapat dikategorikan ke dalam beberapa senyawa diantaranya adalah fenol sederhana, kumarin, tannin, saponin, flavonoid, asam fenolik, dan flavonol (Pereira *et al.*, 2009).

Uji total polifenol dilakukan untuk menghitung kadar fenolik atau “*phenolic hydroxyl groups*” menggunakan reagen Folin-Ciocalteu. Senyawa polifenol dapat mengalami oksidasi sehingga berperan sebagai reduktor. Asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam reagen Folin-Ciocalteu akan direduksi oleh senyawa polifenol menjadi kompleks molibdenum biru. Adanya senyawa fenolik dalam sampel dilihat dari perubahan warna larutan uji yang sebelumnya tak berwarna menjadi biru. Senyawa ini memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 765 nm (Mashuni *et al.*, 2017). Peningkatan kadar fenolik dalam sampel akan sebanding dengan meningkatnya intensitas warna biru (Tsao, 2010).

2.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Antioksidan dapat didefinisikan sebagai komponen bioaktif yang dapat menghambat atau menunda oksidasi suatu molekul. Syarat suatu senyawa disebut sebagai zat antioksidan adalah pada konsentrasinya yang rendah sudah memiliki aktivitas mencegah oksidasi (*oxidizable*) (Moharram *et al.*, 2014).

Uji aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode, diantaranya adalah metode DPPH. Metode ini dilakukan menggunakan reagen radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikril hidrazil*). Reagen tersebut bersifat stabil pada suhu kamar dan menghasilkan larutan berwarna violet dalam metanol. Senyawa ini memiliki absorbansi yang kuat pada panjang gelombang 517 nm (Indis, 2016). Saat bereaksi dengan senyawa antioksidan, warna larutan akan berubah menjadi kuning muda.

Metode peredaman radikal bebas ini menggunakan nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration*) sebagai parameter untuk menentukan konsentrasi senyawa antioksidan yang mampu menghambat 50% oksidasi. Presentase peredaman dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ sampel}}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

A blanko= Nilai absorbansi blanko

A sampel= Nilai absorbansi sampel

Hasil % peredaman dimasukkan ke dalam persamaan regresi untuk mengetahui nilai IC₅₀. Konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai sumbu x dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai sumbu ordinatnya (sumbu y) (Badarinath, *et al.*, 2010). Rumus menentukan nilai IC₅₀ adalah sebagai berikut.

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = variabel terikat (IC₅₀)

x = variabel bebas

a = slope

b = intersep

Nilai IC₅₀ berbanding terbalik dengan kekuatan antioksidan. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin kuat aktivitas antioksidan yang dimiliki suatu senyawa dan begitu sebaliknya.

Vitamin C (asam askorbat) merupakan senyawa yang biasanya digunakan sebagai standar antioksidan. Senyawa ini berupa lakton yang memiliki enam karbon dengan rumus molekul C₆H₈O₆, berat molekul 176,13 g/mol, memiliki titik lebur sekitar 190°C, berbentuk serbuk atau hablur, berwarna putih atau agak kuning. Stabil di udara dalam keadaan kering dan mudah teroksidasi dalam larutan, mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol, tidak larut dalam klorofom, eter dan benzen (Pratiwi dan Techniamuti, 2018).

Vitamin C dapat ditemukan dalam jaringan tanaman. Daun daunan hijau mengandung vitamin C dalam jumlah yang sama dengan yang dikandung dalam klorofil. Vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam dalam air (*aqueous antioxidant*). Senyawa ini mendonorkan elektron pada ikatan rangkap karbon kedua kepada radikal membentuk *monodehydro askorbat*, kemudian mendonorkan elektronnya pada karbon ketiga dan berubah menjadi *dehydroaskorbat*. Sehingga satu molekul vitamin C dapat bereaksi dengan dua molekul radikal (Padayatty, *et al.*, 2003)

2.6 Uji Aktivitas Antibakteri

Mekanisme senyawa antibakteri secara umum dilakukan dengan berbagai cara diantaranya merusak dinding sel yaitu menghambat pembentukannya atau

mengubahnya setelah selesai terbentuk, mengubah permeabilitas membran sitoplasma, mengganggu sintesis protein, dan menghambat kerja enzim.

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi agar. Metode difusi agar (*Agar Well Diffusion*) dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dalam ekstrak (Vipra, 2013). Potensi antibakteri dalam ekstrak dapat ditunjukkan pada konsentrasi rendah memiliki daya hambat yang besar. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL.

Metode difusi agar atau sering disebut metode difusi teknik sumuran yaitu dengan membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian. Ekstrak yang akan diuji kemudian diinjeksikan ke dalam lubang. Setelah inkubasi, dilakukan pengukuran daerah hambatan di sekeliling lubang (Balouiri *et al.*, 2016).

Penelitian antibakteri ekstrak jamur *Ganoderma* metode difusi sumuran diantaranya adalah Kamra, 2011 yang meneliti ekstrak *Ganoderma lucidum* konsentrasi 0,5 mg/100 μ L dan 1,0 mg/ μ L terhadap bakteri *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Prototus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil yang diperoleh berupa zona hambat antara 9,0 sampai 23 mm.

Sande *et al.*, (2019) menguji ekstrak *Ganoderma lucidum* terhadap bakteri dengan metode difusi sumuran. Hasil yang diperoleh berupa zona hambat terhadap bakteri *Meticillin Resistent-Staphylococcus aureus*(MRSA) sebesar 10,3 mm pada ekstrak metanol dan etil asetat; dan 13,3 mm pada ekstrak heksan serta 31 mm pada kontrol positif ampisilin.

2.7 Bakteri Uji

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis bakteri gram positif yaitu *S. aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. typhi*. Perbedaan jenis tersebut berdasarkan faktor diantaranya adalah susunan dinding sel yang dimilikinya. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri

karena struktur dinding sel yang lebih sederhana dibandingkan struktur bakteri gram negatif (Jahan *et al.*, 2011).

2.7.1 Bakteri *Staphylococcus aureus*

a. Klasifikasi

Domain : *Bacteria*
Kingdom : *Eubacteria*
Divisi : *Firmicutes*
Kelas : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

b. Deskripsi



Gambar 2.2. Bakteri *S. aureus*

Bakteri *S. aureus* seperti ditunjukkan pada Gambar 2.2. merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat, bersifat aerob fakultatif, tidak menghasilkan spora dan tidak motil, berdiameter 0.7-1.2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur. Bakteri *S. aureus* mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigenik.

Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan infeksi dengan tingkat keparahan yang bervariasi. Infeksi yang ditimbulkan dapat berupa infeksi minor di kulit seperti furunkulosis dan impetigo, infeksi traktus

urinarius, infeksi trakrus respiratorius, serta infeksi mata (Deleo *et al.*, 2010).

2.7.2 Bakteri *Escherichia coli*

a. Klasifikasi

Kingdom : *Bacteria*
Divisi : *Proteobacteria*
Kelas : *Gammaproteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherechia coli*
Spesies : *Escherechia coli*

b. Deskripsi



Gambar 2.3. Bakteri *E. coli*

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek seperti ditunjukkan pada Gambar 2.3. memiliki panjang sekitar 2,4 μm , lebar 0,4 μm bersifat anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, sebagian besar bergerak dengan flagel pentrikus.

Bakteri ini sering ditemukan di dalam pencernaan manusia, hewan berdarah panas dan burung, di tanah, di lingkungan akuatik, makanan, dan tinja. Bakteri *E. coli* ini bersifat patogen, dapat menyebabkan beberapa penyakit pada manusia, antara lain: infeksi usus, dan infeksi saluran kemih (Hammerum dan Ole, 2009).

2.7.3 Bakteri *Salmonella typhi*

a. Klasifikasi

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : *Proteobacteria*

Kelas : *Gamma Proteobacteria*

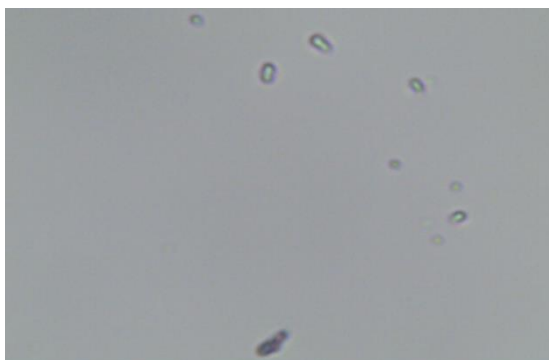
Ordo : *Enterobacteriales*

Famili : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Salmonella*

Spesies : *Salmonella typhi*

b. Deskripsi



Gambar 2.4. Bakteri *S. typhi*

Bakteri *S. typhi* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang seperti ditunjukkan pada Gambar 2.4. dengan diameter 0,5-0,8 μm dan panjang 1-3 μm , tumbuh pada suasana aerob dan anaerob fakultatif, pada suhu 15-41°C. Suhu pertumbuhan optimum adalah pada 37,5 °C.

Bakteri *S. typhi* masuk ke dalam tubuh melalui makanan atau minuman yang telah terkontaminasi. Infeksi oleh bakteri ini ditandai dengan gejala-gejala seperti demam, diare, pusing, kram perut dan mual. Penyakit yang dapat ditimbulkan oleh bakteri *S. typhi* adalah demam tifoid. Bakteri ini akan berkolonisasi dan bermultiplikasi serta berkembang biak secara intraseluler dan masuk ke dalam saluran kelenjar getah bening. Bakteri kemudian masuk ke dalam peredaran darah lalu menyebar ke seluruh organ tubuh (Cita, 2011).

2.7.4 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

a. Klasifikasi

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : *Proteobacteria*

Kelas : *Gamma Proteobacteria*

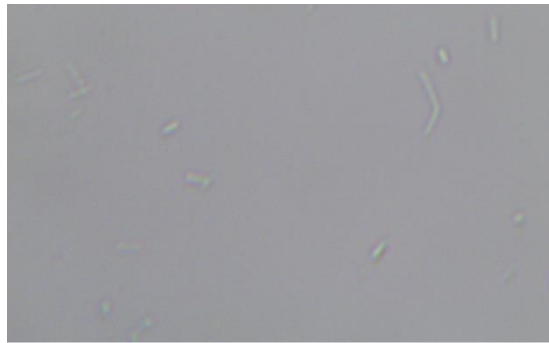
Ordo : *Pseudomonales*

Famili : *Pseudomonadaceae*

Genus : *Pseudomonas*

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

b. Deskripsi



Gambar 2.5. Bakteri *P. aeruginosa*

Bakteri *P. aeruginosa* merupakan bakteri berbentuk batang seperti ditunjukkan pada Gambar 2.5. dengan ukuran sekitar 0,6-2 μm . *P. aeruginosa* termasuk ke dalam bakteri gram negatif. Bakteri ini dapat tumbuh dengan mudah pada berbagai jenis media pembiakan pada suhu 37-42°C.

Bakteri *P. aeruginosa* menginfeksi dengan terlebih dahulu menempel dan membentuk koloni pada membran mukosa atau kulit, menginvasi secara lokal dan menyebabkan penyakit sistemik. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi pada luka dan luka bakar, menimbulkan pus hijau kebiruan, meningitis, dan infeksi saluran kemih. Infeksi pada saluran pernafasan dapat menyebabkan pneumonia, infeksi pada mata dapat menimbulkan keratitis (Lutpiatina, 2017).

2.8 Instrumen Uji

2.8.1 Spektrofotometer Uv Vis

Spektrofotometer Uv Vis merupakan instrumen yang digunakan berdasarkan pada absorbansi foton. Daerah panjang gelombang spektrofotometer Uv Vis sekitar 200-800 nm. Absorpsi sinar Uv Vis terjadi oleh molekul atau atom yang disebabkan promosi elektron dari keadaan elektronik dasar ke keadaan tereksitasi. Spektrum yang diabsorpsi oleh senyawa adalah sejumlah sinar yang diserap oleh satu senyawa pada panjang gelombang tertentu (Irawan, 2019).

Prinsip kerja dari Instrumen Uv Vis adalah berdasar pada hukum Lambert-Beer, yang menyatakan hubungan linearitas antara absorbansi dengan konsentrasi sampel. Hukum Lambert-Beer dapat ditulis sebagai berikut.

$$A = \epsilon \times b \times C$$

Keterangan :

A= Absorbansi

ϵ = Koefisien ekstingsi molar ($M^{-1}cm^{-1}$)

b= Tebal kuvet (cm)

C= Konsentrasi (M)

Keuntungan utama instrumen spektrofotometri Uv Vis adalah bahwa instrumen ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Wunas *et al.*, 2011).

2.8.2 *Elissa Reader*

Elissa Reader merupakan instrumen spektrofotometer yang khusus disusun untuk membaca lempeng mikro (*microplate*). Prinsip instrumen ini hampir sama dengan spektrofotometer konvensional, tetapi *Elissa Reader* dapat menghasilkan peningkatan jumlah sampel yang dapat dianalisis, memiliki filter atau kisi-kisi difraksi yang membatasi rentang panjang gelombang sekitar 400-750 nm. Absorbansi pada *Elissa Reader* dilakukan secara vertikal, sehingga bukan dipengaruhi oleh tebalnya kuvet namun bergantung pada volume di dalam *microplate hole* (Heredia *et al.*, 2006).

2.8.2 Spektrometer Inframerah

Spektrometer Inframerah atau FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) merupakan alat yang digunakan untuk mengetahui gugus fungsi dalam suatu molekul atau senyawa dengan mengukur vibrasi antar atom. Sinar radiasi inframerah yang dilewatkan ke senyawa akan membuat senyawa tersebut menyerap energi sehingga terjadi vibrasi. Panjang gelombang serapan suatu ikatan bergantung pada jenis getaran ikatan antar atom. Oleh karena itu, tipe ikatan yang berlainan akan menyerap radasi inframerah pada panjang gelombang yang berbeda.

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tampak dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-Oktober 2019 di Laboratorium Balai Penelitian Teknologi Bahan Alam (BPTBA)-LIPI Yogyakarta.

3.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan simbol dari suatu kejadian, tindakan, karakteristik, sifat khusus atau atribut yang dapat diukur atau dikategorikan. Variabel memiliki variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Wahyudin, 2015). Pada penelitian ini digunakan tiga variabel yaitu:

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel terikat (Sugiyono, 2010). Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu variasi konsentrasi dan jenis kontrol positif yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dan antioksidan. Sampel berupa ekstrak kloroform, etil asetat dan metanol *Ganoderma* sp. Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan yaitu 12,5; 25; 50; 100; dan 200 ppm, sedangkan konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu 250, 500, 750, 1000 dan 1250 ppm.

Uji aktivitas antioksidan menggunakan kontrol positif berupa Asam Askorbat dengan konsentrasi 5, 10, 20, 40 dan 80 ppm. Sedangkan kontrol positif pada uji aktivitas antibakteri berupa ampisilin dengan konsentrasi 250, 500, 750, 1000 dan 1250 ppm.

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2010). Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu nilai IC_{50} dan diameter zona hambat.

3.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dapat mempengaruhi (memperkuat atau memperlemah) hubungan antara variabel bebas dan terikat (Sugiyono, 2010). Variabel kontrol atau terkendali dalam penelitian ini adalah volume dan waktu ekstraksi, waktu dan suhu inkubasi.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas, kertas saring (Whatman 40), pipet mikro (Socorex), *microplate*, *aluminium foil*, bunsen, jarum ose bulat, plastik wrap, *borer*, *scalpel*, falkon, kapas, kain kasa, jangka sorong (Mitutoyo), Sonikator (Elmasonic), Neraca analitik (Explorer), *Waterbath* (Mettler), *Magnetic stirrer* (Velp Scientifica), Vortex (VM-300), *Biohazard safety cabinet* (JSCB-1200SB), Autoklaf (TOMY SX-700), Inkubator (Binder), *Elisa Reader* (Thermoscientific), Spektrofotometer UV-Vis (Halo RB-10).

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi metanol *Ganoderma* sp., akuades, alkohol 70%, metanol teknis, etil asetat teknis, kloroform p.a. (Merck), DMSO (*dimethyl sulfoxide*) (Merck), reagen DPPH (*1,1-diphenil-2-pikril hidrazil*) (Sigma Aldrich), reagen Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich), asam askorbat (Sigma Aldrich), asam galat (Sigma Aldrich), ampisilin (Sigma Aldrich), larutan Na₂CO₃ 20% (Merck), *nutrinet agar* (Merck), *nutrient broth* (Merck), kultur bakteri *Staphylococcus aureus*, kultur bakteri *Salmonella typhi*, kultur bakteri *Escherichia coli*, dan kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan penelitian meliputi ekstraksi bertahap, uji total polifenol, uji aktivitas antioksidan dan uji antibakteri.

3.4.1 Ekstraksi Berbantu Gelombang Ultrasonik

Jamur *Ganoderma* sp. diekstrak menggunakan pelarut metanol kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan tiga jenis pelarut yaitu kloroform, etil asetat dan metanol. Sebanyak 4 gram ekstrak metanol *Ganoderma* sp. ditambahkan pelarut kloroform 400 mL, kemudian disonikasi selama 60 menit pada suhu $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Larutan kemudian disaring sehingga diperoleh fraksi larut kloroform dan fraksi yang tidak larut kloroform. Kedua fraksi tersebut kemudian dikeringkan.

Fraksi yang tidak larut kloroform diekstrak kembali menggunakan pelarut etil-asetat sebanyak 400 mL, disonikasi dengan waktu dan suhu yang sama untuk mendapatkan fraksi larut etil asetat dan fraksi yang tidak larut etil asetat. Fraksi tidak larut etil asetat yang telah kering diekstrak kembali menggunakan pelarut metanol 400 mL, disonikasi dengan waktu dan suhu yang sama seperti langkah sebelumnya untuk mendapatkan fraksi larut metanol dan fraksi tidak larut metanol. Ekstraksi masing-masing pelarut dilakukan sebanyak dua kali

Hasil akhir ekstraksi ini diperoleh fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol. Fraksi yang telah kering masing-masing ditimbang menggunakan neraca analitik untuk mengetahui rendemen ekstrak yang diperoleh.

3.4.2 Uji Total Polifenol (Darsih *et al.*, 2019)

Sebanyak 250 μL sampel atau asam galat dimasukkan ke dalam tabung reaksi gelap. Akuades sebanyak 3,75 mL ditambahkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 250 μL . Larutan dihomogenkan dan diinkubasi selama 8 menit.

Selanjutnya larutan Na_2CO_3 20% sebanyak 0,75 mL ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan, dan diinkubasi selama 2 jam. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 765 nm dengan Spektrofotometer Uv Vis.

Larutan standar asam galat yang digunakan dalam uji total polifenol terdiri dari berbagai konsentrasi yaitu 0, 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm, sedangkan konsentrasi sampel yaitu 1000 ppm.

3.4.3 Uji Aktivitas Antioksidan (Darsih *et al.*, 2019)

Sampel dilarutkan ke dalam pelarut metanol pada beberapa variasi konsentrasi (12,5 µg/mL-200 µg/mL) dengan volume 80 µL dan direaksikan dengan DPPH (1 mM dalam metanol) sebanyak 20 µL. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang di tempat gelap. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan Elissa reader. Kemampuan sampel dalam menangkal radikal DPPH akan dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \left[\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right] \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

A_0 merupakan absorbansi blanko, A_1 merupakan absorbansi sampel.

3.4.4 Uji Aktivitas Antibakteri (Jonathan, 2010)

3.4.4.1 Pembuatan Media *Nutrient Agar*

Sebanyak 30 gram *Nutrient Agar* ditambah dengan akuades sebanyak 1500 mL. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan di atas *hotplate* hingga mendidih. Media kemudian dituang ke dalam erlenmeyer 1000 mL, ditutup dengan kasa dan *aluminium foil*. Selanjutnya *Nutrient Agar* disteril pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.4.2 Peremajaan Inokulum Bakteri

Sebanyak 5 mL media *Nutrient Broth* dimasukkan ke dalam falkon kemudian ditambahkan sebanyak 500 µL kultur bakteri. Inokulum bakteri dihomogenkan, kemudian diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Absorbansi kultur bakteri diukur pada panjang gelombang 600 nm. Hasil absorbansi yang didapatkan digunakan untuk menghitung jumlah bakteri dalam media menggunakan kurva standar Mc Farland 1.10^8 - 5.10^8 CFU.

3.4.4.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Media *Nutrient Agar* hangat (suhu $\pm 60^\circ\text{C}$) sebanyak 18 mL dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 100 µL kultur bakteri. Media dan bakteri diratakan dengan menggoyang-goyangkan petri membentuk angka delapan dan tegak lurus. Media yang telah mengeras dibuat lubang menggunakan pelubang baja ($d=8$ mm).

Sebanyak 25 μ L ekstrak *Ganoderma* sp., kontrol positif dan kontrol negatif pada beberapa variasi konsentrasi (250, 500, 750, 1000 dan 1250 ppm) dilarutkan ke dalam pelarut DMSO kemudian dimasukkan ke dalam lubang. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat bakteri kemudian diukur menggunakan jangka sorong.

3.4.4.4 Analisis Data

Total polifenol dan aktivitas antioksidan ekstrak *Ganoderma* sp. dinyatakan sebagai nilai rata-rata(n=3). Data polifenol dan aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan SPSS 16.0 untuk ANOVA dilanjutkan dengan post hoc Duncan's test ($p < 0.05$).

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Jamur *Ganoderma* sp.

Jamur *Ganoderma* sp. yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari hutan Gunungkidul, Yogyakarta. Jamur *Ganoderma* sp. diekstraksi menggunakan pelarut metanol. Menurut Shamaki *et al.*, (2012) ekstrak metanol jamur *Ganoderma lucidum* dilaporkan mengandung senyawa flavonoid, karbohidrat, tanin, saponin dan terpenoid yang memiliki aktivitas farmakologis. Ekstrak metanol yang didapatkan kemudian difraksinasi menggunakan tiga jenis pelarut yaitu kloroform, etil asetat dan metanol.

Tabel 4.1 Rendemen ekstrak *Ganoderma* sp.

Berat Awal(g)	Fraksinasi	Berat akhir(g)	Rendemen (%)
3,66	Fr. Kloroform	2,25	61,47
	Fr. Etil Asetat	0,21	5,73
	Fr. Metanol	0,46	12,56

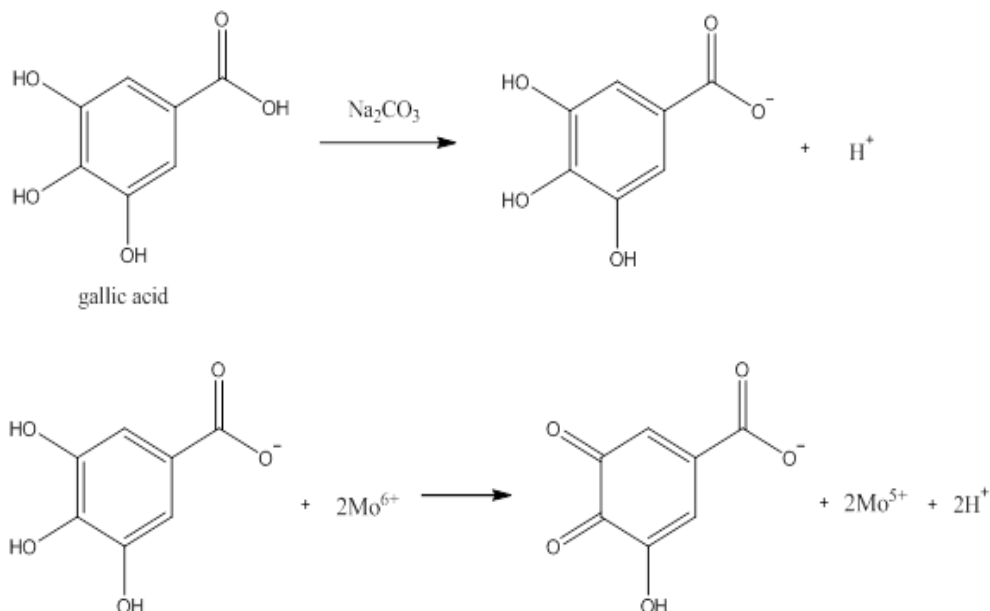
Hasil fraksinasi seperti pada Tabel 4.1. menunjukkan perbandingan rendemen fraksi yang didapatkan menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda. Penggunaan tiga jenis pelarut ini dikarenakan memiliki kepolaran yang berbeda sehingga dapat menarik senyawa dalam jamur *Ganoderma* sp. dengan kepolaran yang berbeda pula.

4.2 Total polifenol ekstrak *Ganoderma* sp.

Uji total polifenol dilakukan untuk menghitung gugus hidroksil fenolat pada sampel. Uji ini dilakukan menggunakan reagen Folin Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu mengandung natrium fosfomolibdat dan fosfotungstat yang bereaksi dengan semua jenis fenol. Prinsip reaksi uji ini adalah reaksi oksidasi reduksi dalam suasana basa (Nunes, 2012).

Senyawa polifenol akan berubah menjadi ion fenolat dalam suasana basa. Ion fenolat mereduksi fosfomolibdat dan fosfotungstat dalam reagen Folin Ciocalteu selama proses oksidasi fenol menjadi senyawa kompleks molibdenum-tungsten.

Ion fenolat dibentuk melalui disosiasi proton dalam suasana basa yang didapatkan dari suatu senyawa alkali yaitu natrium karbonat (Prior *et al.*, 2005)



Gambar 4. Folin Ciocalteu (Nunes, 2012).1 Reaksi Asam Galat dengan Senyawa Molibdenum dari reagen

Konsentrasi senyawa polifenol yang semakin besar maka ion fenolat yang terbentuk pun semakin banyak. Sehingga semakin banyak fosfomolibdat dan fosfotungstat yang tereduksi menyebabkan warna biru yang terbentuk semakin pekat. Hal ini menyebabkan absorbansi yang terukur pun semakin besar.

Kandungan total polifenol pada ekstrak kloroform, etil asetat dan metanol yang diperoleh ditetapkan sebagai massa ekuivalen asam galat. Asam galat memiliki tiga gugus hidroksi fenolat yang dapat bereaksi senyawa dalam reagent Folin Ciocalteu seperti pada Gambar 4.1 (Fu *et al.*, 2011).

Asam galat dibuat kurva baku untuk menghasilkan persamaan regresi linier yang digunakan dalam menentukan jumlah total polifenol dalam sampel. Hasil persamaan regresi linier tersebut adalah $y=0,0091x-0,0395$ dengan linearitas sebesar 0,9995. Nilai linearitas menunjukkan korelasi antara konsentrasi dengan absorbansi yang dihasilkan. Absorbansi sampel yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan regresi linier sehingga diperoleh total kandungan polifenol seperti pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Total polifenol ekstrak *Ganoderma* sp.

Sampel	mg GAE/g (1000 ppm)
Ekstrak Kloroform	0,62 ^a
Ekstrak Etil Asetat	1,18 ^b
Ekstrak Metanol	0,62 ^a

Kode *subscript* menunjukkan bahwa berbeda secara signifikan dengan $p < 0,05$

Hasil analisis statistika menggunakan ANOVA ($p < 0.05$) menunjukkan bahwa rata-rata nilai total polifenol ekstrak etil asetat berbeda signifikan terhadap ekstrak kloroform dan metanol tetapi rata-rata polifenol ekstrak kloroform dan metanol tidak berbeda signifikan. Nilai rata-rata total polifenol dalam penelitian ini yaitu 0,62. Nilai rata-rata total polifenol ekstrak etil asetat tertinggi dibandingkan dengan ekstrak lainnya dengan nilai sebesar 1,18 mg GAE/g.

Tingginya kandungan polifenol pada pelarut etil asetat dimungkinkan karena senyawa aktif fenolik yang terkandung di dalam *Ganoderma* sp. memiliki kepolaran yang sama atau hampir sama dengan etil asetat.

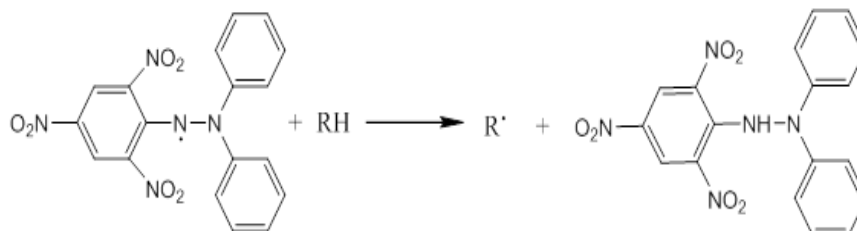
4.2 Uji aktivitas antioksidan ekstrak *Ganoderma* sp.

Uji aktivitas antioksidan beberapa ekstrak hasil fraksinasi dilakukan menggunakan metode peredaman radikal DPPH. Metode ini dipilih karena beberapa kelebihan yang dimilikinya diantaranya yaitu efektif, efisien dan sederhana. Pengukuran pada metode ini difokuskan pada pengurangan absorbansi radikal bebas oleh senyawa antioksidan (Kedare and Singh, 2011).

Mekanisme reaksi yang terjadi yaitu secara oksidasi reduksi. Radikal *1,1-diphenil-2-pikril hidrazil* (DPPH) akan direduksi oleh zat antioksidan seperti pada Gambar 4.2 yang diwakili dengan simbol RH bekerja menyumbangkan atom hidrogen, untuk mendapatkan radikal dengan struktur yang stabil yaitu *1,1-diphenil-2-pikril hidrazin* (DPPH-H) (Molyneux, 2004).

Radikal baru $R\cdot$ dapat berinteraksi dengan radikal lain untuk membentuk molekul stabil (DPPH-H, R-R). Proses tersebut secara fisik ditandai dengan pemudaran warna ungu menjadi kuning sehingga terjadi penurunan serapan (absorbansi) (Kalayoncu *et al.*, 2010). Pengukuran penurunan absorbansi pada

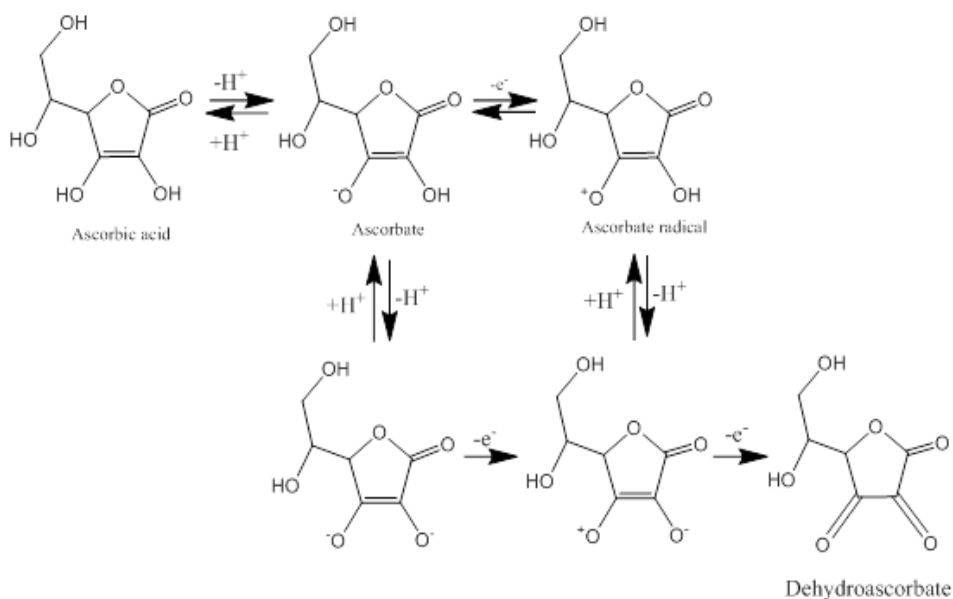
larutan uji dihitung terhadap serapan kontrol larutan DPPH dan pelarut metanol tanpa sampel.



Gambar 4.2. Reaksi Radikal DPPH dengan senyawa antioksidan (Molyneux, 2004).

Senyawa standar yang digunakan dalam uji aktivitas antioksidan adalah asam askorbat yang telah diketahui mempunyai aktivitas antioksidan. Senyawa ini merupakan ketolakton yang larut dalam air dengan dua gugus ion hidroksil. Asam askorbat adalah agen pereduksi yang kuat dengan mendonorkan dua elektronnya, membentuk askorbat radikal dan *dehydroascorbic* seperti ditunjukkan pada Gambar 4.3.

Asam Askorbat di dalam tubuh bekerja sama dengan vitamin E untuk melindungi LDL dari radikal peroksil. Asam askorbat bahkan dapat bereaksi dengan sebagian besar radikal dan dapat bertindak sebagai antioksidan yang tidak larut dalam air.



Gambar 4.3. Reduksi Asam Askorbat (Sisein, 2014).

Parameter aktivitas antioksidan dinyatakan dalam IC_{50} (*Inhibition Concentration*) yaitu konsentrasi yang dapat menghambat atau meredam 50% radikal DPPH. Nilai IC_{50} berkebalikan dengan kekuatan antioksidan. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti kekuatan aktivitas antioksidan yang dimiliki semakin besar (Zhou, 2004). Asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dalam menangkal radikal DPPH dengan nilai IC_{50} yang sangat kecil yaitu 25,46 ppm. Sedangkan hasil yang diperoleh dari uji aktivitas antioksidan beberapa fraksi *Ganoderma* sp. tertera pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Aktivitas antioksidan ekstrak *Ganoderma* sp.

Sampel	IC_{50}(ppm)
Fraksi Kloroform	135,61 ^b
Fraksi Etil Asetat	95,58 ^c
Fraksi Metanol	180,56 ^a

Kode *subscript* menunjukkan bahwa berbeda secara signifikan dengan $p < 0,05$

Hasil analisis statistika ANOVA ($p < 0.05$) menunjukkan bahwa nilai rata-rata IC_{50} fraksi kloroform, etil asetat, dan metanol berbeda secara signifikan. Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 95,58. Aktivitas antioksidan ini digolongkan kuat. Aktivitas antioksidan paling lemah dibandingkan dengan fraksi lainnya yaitu fraksi metanol dengan nilai IC_{50} 180,56. Meskipun memiliki nilai IC_{50} paling besar dibandingkan dengan fraksi kloroform dan fraksi etil asetat, namun aktivitas antioksidan fraksi metanol ini digolongkan lemah (Fidrainny, 2014).

Hasil aktivitas antioksidan pada fraksi kloroform dan metanol ini sejalan dengan penelitian Gowrie (2014) yang mengkaji aktivitas antioksidan ekstrak kloroform, etanol dan metanol jamur *G. lucidum*. Hasil penelitian Gowrie menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak kloroform lebih besar dibandingkan dengan ekstrak metanol.

Aktivitas antioksidan ekstrak *Ganoderma* sp. pada penelitian ini berhubungan dengan hasil uji total polifenol. Tingkat aktivitas antioksidan fraksi etil asetat, kloroform, dan metanol sebanding dengan banyaknya senyawa polifenol yang

terkadung didalamnya. Semakin tinggi aktivitas antioksidan maka semakin banyak pula senyawa polifenol yang terkandung dalam fraksi tersebut.

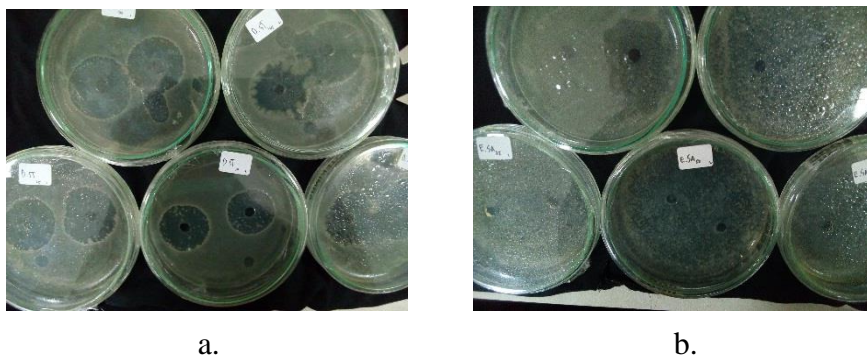
Hal penelitian juga hampir sejalan dengan penelitian Ling (2013) yang menghitung total polifenol dan menguji aktivitas antioksidan pada rumput laut. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kandungan total polifenol dalam ekstrak sebanding dengan aktivitas antioksidan metode DPPH. Semakin tinggi kandungan total polifenol maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya.

Menurut peneliti Pietta (2000) bahwa senyawa fenolik memiliki kemampuan menangkal radikal bebas karena struktur unik yang dimilikinya. Struktur tersebut dapat menangkal radikal dengan berbagai cara seperti peredaman radikal, reduksi, mendonorkan atom hidrogen dan oksien singlet, serta *metal chelators* untuk mengurangi jumlah radikal bebas.

4.3 Uji aktivitas antibakteri ekstrak *Ganoderma* sp.

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini digunakan metode difusi sumuran dengan sampel berupa fraksi kloroform, etil asetat, dan metanol *Ganoderma* sp. serta kontrol positif berupa ampisilin. Konsentrasi yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri yaitu 500, 750, 1000, dan 1250 ppm.

Mekanisme aktivitas antibakteri menurut peneliti Tenover (2006) dapat terjadi dengan berbagai cara diantaranya menghambat sintesis protein, menghambat pertumbuhan atau viabilitas bakteri, menghambat proses metabolisme, serta mempengaruhi membran sel dengan mengubah permeabilitas dan menyebabkan kebocoran sel.



Gambar 4.4 Aktivitas antibakteri: a.) kontrol positif ampisilin, b.) ekstrak *Ganoderma* sp.

Hasil uji aktivitas antibakteri seperti pada Gambar 4.4 a menunjukkan adanya zona hambat pada kontrol positif ampisilin. Selanjutnya pada Gambar 4.4 b tidak dihasilkan zona hambat ekstrak *Ganoderma* sp. untuk setiap variasi konsentrasi terhadap bakteri yang digunakan baik gram positif maupun gram negatif.

Hasil ini dibandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Shamaki *et al.*, (2012) yang menguji aktivitas antibakteri ekstrak metanol, n butanol dan etil asetat *Ganoderma lucidum* konsentrasi 50-200 mg/mL terhadap bakteri *S. faecalis*, *S. aureus*, *C. pyogene*, *B. subtilis*, *S. typhi*, *E. coli*, *K. pneumoneae*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, dan *E. aeruginosa*. Hasil menunjukkan tidak adanya zona hambat pada ekstrak metanol dan n butanol terhadap bakteri yang diuji. Sedangkan pada ekstrak etil asetat dihasilkan zona hambat terhadap bakteri *S. aureus*, *C. pyogene*, *B. subtilis*, *S. typhi*, *K. pneumoneae*, *P. aeruginosa*, dan *P. mirabilis*, serta tidak adanya zona hambat pada bekteri *S. faecalis*, *E. coli*, dan *E. aeruginosa*.

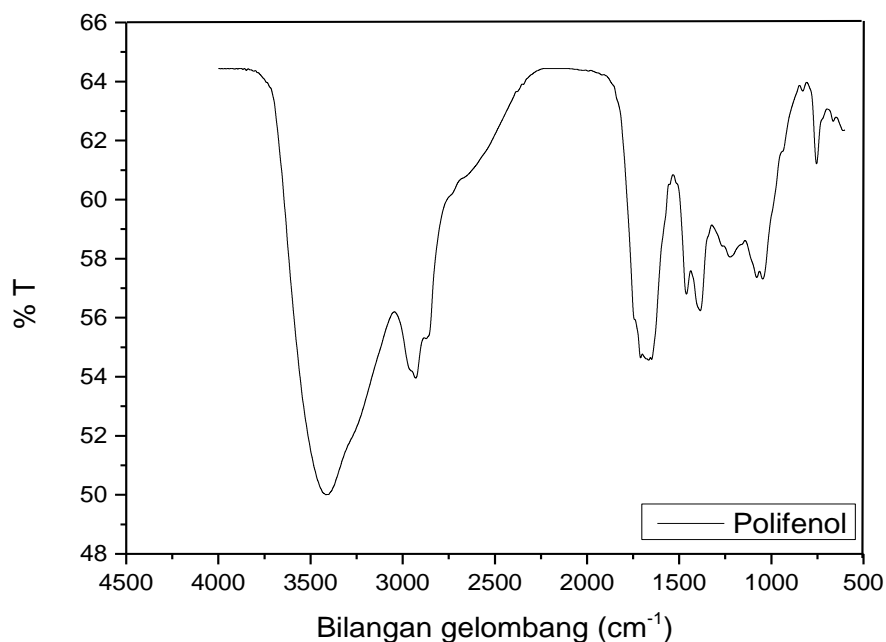
Aktivitas antibakteri yang dihasilkan dapat dimungkinkan karena adanya senyawa polisakarida yang dapat mengikat permukaan protein yang mengarah pada aktivasi bakteri. Selain itu terdapat senyawa flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin dalam ekstrak yang dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri.

4.4 Karakterisasi FTIR

Karakterisasi FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi pada fraksi kloroform *Ganoderma* sp. Berdasarkan hasil spektrum FTIR dihasilkan adanya bilangan gelombang dan serapan sehingga dapat ditentukan gugus yang terdapat pada fraksi. Berikut ini hasil data yang diperoleh dari spektrum FTIR.

Tabel 4.4 Identifikasi gugus fungsi fraksi kloroform *Ganoderma* sp.

Bilangan Gelombang(cm^{-1})	Gugus Fungsi
3416.54	OH
2929.52	CH alifaik
1666.03	C=O
1385.58	CH alifaik
1046.87	CO alkohol
754.88	CH aromatik



Gambar 4.5 Spektrum FT-IR fraksi kloroform *Ganoderma* sp.

Hasil spektrum inframerah Gambar 4.5 menunjukkan bahwa fraksi kloroform *Ganoderma* sp. mengandung gugus fungsi OH dari alkohol pada 3416.54 cm^{-1} yang terikat pada gugus alifatik dan aromatik. Hal ini diperkuat dengan vibrasi ulur CO alkohol pada 1046.87 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 754.88 cm^{-1} menunjukkan adanya ikatan CH aromatik. Serapan tajam juga terdapat pada bilangan gelombang 2929.52 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ikatan CH alifatik. Ikatan ini diperkuat dengan adanya serapan pada 1385.58 cm^{-1} . Serapan pada bilangan gelombang 1666.03 menunjukkan adanya ikatan C=O. Hasil analisis spektrum inframerah ekstrak kloroform *Ganoderma* sp. mengandung gugus-gugus fungsi OH, C-H alifatik, C=O, C-H aromatik, dan CO alkohol.

BAB 5

KESIMPULAN dan SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Kandungan total polifenol beberapa ekstrak *Ganoderma* sp. yaitu ekstrak kloroform sebesar 0,60 mg; ekstrak etil asetat 1,18 mg; dan ekstrak metanol 0,58 mg ekuivalen asam galat per gram masing-masing ekstrak *Ganoderma* sp.
2. Nilai IC₅₀ beberapa ekstrak *Ganoderma* sp. diantaranya adalah ekstrak kloroform 135,61 ppm; ekstrak etil asetat 98,94 ppm; dan ekstrak metanol 180,56 ppm.
3. Tidak dihasilkan zona hambat pada uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *S. typhi*, *P. aeruginosa*, maupun *E. coli*.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan identifikasi kandungan senyawa spesifik yang memiliki efek aktivitas antioksidan.
2. Perlu dilakukan optimasi uji antibakteri seperti peningkatan konsentrasi ekstrak, maupun metode uji yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Baby S., A.J. Johnson, and B. Govindan. 2015. Secondary Metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry Journal*, 114:66-101.
- Badarinath A.V., K. Mallikarjuna, C.M.S. Chetty, S. Ramkanth, T.V.S. Rajan, and K. Gnanaprakash. 2010. A Review on In-vitro Antioxidant Methods Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2):126-1285.
- Balouiri, M., M. Sadiki, and S.K. Ibsouda. 2016. Methods for In vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6:71-79
- Cayan, G.T., M. Ozturk, M.E. Duru, M.U. Rehman, A. Adhikari, A. Turkoglu, and M.I. Choudhary. 2015. Phytochemical investigation, antioxidant anticholinesterase activities of *Ganoderma adpersum*. *Industrial crop and products*, 76:749-754.
- Celal, B. 2019. Antioxidant and Antimicrobial Capacities of *Ganoderma lucidum*. *Journal of Bacteriology & Mycology*, (7):5-7.
- Celik G.Y., D. Onbasli, B. Altinsoy, and H. Alli. 2014. In vitro Antimicrobial and Antioxidant Properties of *Ganoderma lucidum* Extracts Grown in Turkey. *European Journal of Medicinal Plants*, 4(6):709-722.
- Cita, Y.P. 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan Demam Tioid. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 6(1):42-46
- Dantas, G., and M. Sommer. 2012. Context Matters-The Complex Interplay Between Resistome Genotypes and Resistance Phenotypes. *Current opinion in Microbiology*, 15:577-582.
- Darsih, C., A.W. Indrianingsih, W. Apriyana, S.N. Hayati, V.T. Rosyida, K. Nisa, D. Ratih, and N. Indirayati. 2019. Antioxidant Activity of Methanol Extract from *Ganoderma lucidum* Karst. Mycelia. IOP Conferences Series(251): Earth and Environmental Science.
- Deduke, C., B. Timsina, M.D. P. Normore. 2012. Effect of Environmental Change on Secondary Metabolite Production. *Interntional Perspective on Global Environmental Change*, 197-230
- Deleo, F.R., M. Otto, B.N. Kreiswirth, and H.F. Chambers. 2010. Community Assosiated Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *National Library of Medicine*, 375:1557-1568.

- Dubey, G.P., G.C. Minakshi, K. Vasanth, Tanupriya, K. Ilango, R. M. Kumar, A. Agrawal. 2015. Phytochemical Evaluation and Antioxidant Potential of *Garcinia indica* Fruits on H₂O₂ Induced Oxidative Stress in THP-1 Cell Line. *International Journal of Pharmacology*, 11(7): 672-680.
- Fu, L., B.T. Xu, R.Y. Gan, Y. Zhang, X.R. Xu, E.Q. Xia, and H.B. Li. 2011. Total Phenolic Contents and Antioxidant Capacities of Herbal and Tea Infusions. *International Journal Medicinal Science*, 12: 2112-2124.
- Ginovyan, M., M. Petrosyan, and A. Trchounian. 2017. Antimicrobial Activity of Some Plant Materials Used In American Traditional Medicine. *Complementary and Alternative Medicine*, 1-9
- Gowrie, U., G. Chathurdevi, and K. Rani. 2014. Evaluation of Bioactive Potential of Basidiocarp Extracts of *Ganoderma lucidum*. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, 3(1):36-46.
- Hammerum, A.M., and E.H. Ole. 2009. Human Health Hazards from Antimicrobial Resistant *Escherechia coli* of Animal Origin. *Food Safety Journal*, (48):916-921.
- Heredia, T.M., D.O. Adams, K.C. Fields, P.G. Held, and J.F. Harbertson. 2006. Evaluation of a Comprehensive Red Wine Phenolics Assay Using a Microplate Reader. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(4):497-502
- Hettiarachi, S., and P. Hettiarachi. 2015. Biotechnologies for Increasing Antioxidant Production From Plants, 156-168
- Irawan, A. 2019. Kalibrasi Spektrofotometer sebagai penjaminan mutu hasil pengukuran dalam kegiatan penelitian dan pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, (2):1-9
- Indis, N.A., and F. Kurniawan. 2016. Detemination of free radical scavenging activity from aqueous extract of *Curcuma mangga* by DPPH method. *Journal of Physics:Conference Series* 710.
- Jahan, F., R. Lawrence, V. Kumar and M. Junaid. 2011. Evaluation of Antimicrobial Activity of Plant Extracts on Antibiotic Susceptible and Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(4):780.
- Jonathan, S.G., and F.E. Awatona. 2010. Studies on Antimicrobial Potentials of Three *Ganoderma species*. *African Journal Biomedical Research*, (2):133-139

- Joseph, S., B. Sabulal, V. George, T.P. Smina, and K.K. Janardhanan. 2009. Antioxidative and Antiinflammatory Activities of the Chloroform Extract of *Ganoderma lucidum* Found in South India. *Science Pharmaceutical Journal*, 77:111-121.
- Joseph, S., B. Sabulal, V. George, K.R. Antony, and K.K. Janardhanan. 2011. Antitumor and Antiinflammatory Activities of Polysaccharides Isolated from *Ganoderma lucidum*. *Acta Pharmaceutica Sinica Journal*, 61:335-342.
- Juan, L., J.Z. Qin, P. Chen, X. Chen, Y.Z. Zhang, S.J. Zhao. 2012. Quality Difference Study of Six Varieties of *Ganoderma lucidum* with Different Origins. *Front Pharmacologies*, (3):1-5
- Kamble, R., S. Venkata and A.M. Gupte. 2011. Antimicrobial Activity of *Ganoderma lucidum* Mycelia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 5(2):1-5
- Kamra, A., and A.B. Bhatt. 2012. Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Ganoderma lucidum* Extract Againsts Human Pathogenic Bacteria. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(2):359-362
- Kedare, S.B., and R.P. Singh. 2011. Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *Journal Food Science Technology*, 48(4):412-422.
- Kramer, A., M. Akmatov, and M. Kretzschmar. 2010. Modern Infectious Disease Epidemiology: Principles of Infectious Disease Epidemiology. *Statistics for Biology and Health*, (5): 85-99.
- Ling, A.L.L., S.M. Yasir, P. Matanjun, and M.F.A. Bakar. 2013. Antioxidant Activity, Total phenolic and Flavonoid Contents of Selected Commercial Seaweeds in Sabah, Malaysia. *International Journal of Pharmaceutical and Phytological Research*, 3(3):234-238.
- Li, P., Y.P. Deng, X.X. Wei, and J.H. Xu. 2013. Triterpenoids from *Ganoderma lucidum* and their Cytotoxic Activities. *Natural Product Research*, 2(1):17-22.
- Liu, J.Q., C.F. Wang, Y. Li, H.R. Luo, and M.H. Qiu. 2012. Isolation and Bioactivity Evaluation of Terpenoids from the Medicinal Fungus *Ganoderma sinense*. *Planta Med*, 78:368-376.
- Lutpiatina, L. 2017. Cemaran *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada Steteskop di Rumah Sakit. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 6(2):61-66
- Mau, J.L., S.Y. Tsai, Y.H. Tseng, S.J. Huang. 2005. Antioxiant Properties of Methanolic Extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food Chemistry Journal*,

93:641-649.

- Mashuni, N.A Yanti, M. Jahiding, and M. Edihar. 2017. Validation of Uv Vis Spectrophotometric Method for Determination of Bio oil total phenolic content from pyrolysis of cashew nut sell. *Research journal of Phamaceutical, Biological and Chamical Sciences*, 8(3):1745-1752.
- Miguel, Ruben San. 2017. *Phenolic Compounds-Biological Activity: Phenolic Antioxidant Capacity- a Review of the State of the Art*. Licensee InTech
- Moharram, H.A., and M.M. Youssef. 2014. Methods for Determining the Antioxidant Activity. *Journal Food Science Technology*, 11(1):31-42.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical *diphenylpicryl- hydrazyl* (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal Science Technology*, 26(2):212–219.
- Nagaraj, K., N. Malikkarjun, R. Naika, and T.M. Venugopal 2014. Antioxidative Activities of Wild Macro Fungi *Ganoderma applanatum* (Pers). *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, (2):166-171.
- Olivares, J., A. Bernardini, G.G. Leon, F. Corona, M.B. Sanchez, and J.L. Martinez. 2013. The Intrinsic Resistome of Bacteria Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, (4)103:1-15
- Oliveira, R.N., M.C. Mancini, F.C.S. Oliveira, T.M. Passos, B. Quilty, R.M.S.M. Thire, and G.B. Guinness. 2016. FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing. *Revissa Materia Journal*, 767-779.
- Oviasogie, F., E. Akpaja, E.O. Gbona, and E.A. Akonoafua. 2015. Antimicrobial Properties of *Ganoderma applanatum* (Pers.) PAT from Benin city, Niferia. *Nigerian Journal of Agriculture*, 11(3):65-69
- Padayatty S., K. Arie, and W.E. Yaohui. 2003. Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of its Roles in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*, 22(1):18–35.
- Paterson, R.R.M. 2006. *Ganoderma-A Therapeutic Fungal Biofactory*. *Phytochemistry Journal*, (67):1985-2001.
- Pereira, D.M., P. Valenth, J.A. Pereira and P.B. Andrade. 2009. Phenollics: From Chemistry to Biology. *Molecules Journal*, (14):2202-2211
- Phillips, M., R.N. Cataneo, J. Greenberg, R. Grodman, R. Gunawardena, and A. Naidu. 2003. Effect of Oxygen on Breath Markers of Oxidative Stress. *European Respiratory Journal*, (21):48-51

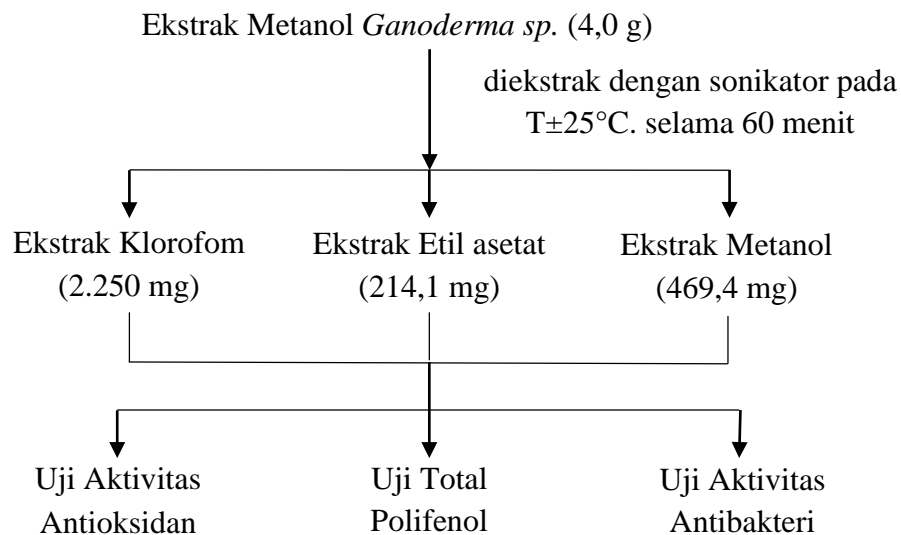
- Pratiwi R., dan N. Techniamuti. 2018. Review: Metode Analisis Kadar Vitamin C. *Jurnal Farmaka*, 16(2):309-315.
- Prior, R.L., X. Wu, and K. Schiach. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 53:4290-4302.
- Salas, P.G., S.M. Soto, A.S. Carretero, and A.F Gutierrez. 2010. Phenolic Compound Extraction System for Fruit and Vegetables Samples. *Molecules Journal*, 5(12):8813-8826
- Sande, I., D.L. Baraza, S. Ooko, N.P. Kuloba, and L. Shiyenzi. 2019. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Kenyan Mushroom *Ganoderma lucidum*. *Asian Journal of Chemical Sciences*, 6(2):2455-7795.
- Shamaki, B.U., Y.A. Geidam, F. Abdulrahma, A.O. Ogbe, and U.K. Sandabe. 2012. Evaluation of phytochemical constituents and in vitro antibacterial activity of organic solvent fractions of *Ganoderma lucidum* methanolic extract. *International Journal of Medicinal Plant Research*, 1(3):026-031
- Sanodiya, B.S., G.S Thakur, R.K. Baghel, G. Prasad and P.S. Bisen. 2009. *Ganoderma lucidum*: A Potent Pharmacological Macrofungus. *Current Pharmaceutical Biotechnology Journal*, 10:717-742.
- Singh, D., M.S. M. Rawat, A. Semalty, and M. Semalty. 2011. Gallic acid phospolipid complex: Drug Incorporation and Physicochemical Characterization. *Letters in Drug design and Discovery*, 8:284-291.
- Sisein. E.A. 2014. Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences*, 2(2):110-118.
- Sivaci, A., and S. Duman. 2014. Evaluation of Seasonal Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds in stem and leaves of Some Almond (*Prunus amygdalus* L.) Varieties. *Biological Research Journal*, 47(9):1-5.
- Siwulski, M., K. Sobieralski, I. Siwulska, S. Sokol, and A. Sekara. 2015. *Ganoderma lucidum* (Curt.:Fr.) Karst.-Health Promoting Properties: A review. *Herba Polonica Journal*, (61):105-118.
- Sugiyono. 2010. *Statistika untuk Penelitian*. Bandung: Alfabeta.
- Tiwari, P., B. Kumar, M. Kaur, G. Kaur, and H. Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A review. *International Pharmaceutical Science*

- Tsao, R. 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients Journal*, (2):1231-1246
- Tsubaki S., M. Sakamoto, J. Azuma, 2000. Microwave-assisted extraction of Phenolic Compounds from Tea residues under autohydrolic Conditions. *Food Chemistry Journal*, 123:1255-1258.
- Vipra, A., S.N. Desai, R.P. Junjappa, P. Roy, N. Poonacha, P. Ravinder, and B. Sriram 2013. Determining the Minimum Inhibitory Concentration of Bacteriophag: Potential Advantages. *Scientific Research*, 3:181-190.
- Wahyudin, Agus. 2015. Metodologi Penelitian “Penelitian Bisnis dan Pendidikan”. Semarang: Unnes Press.
- Williams, O.J., G.S.V. Raghavan, V. Orsat, J. Dai. 2004. Microwave assisted extraction of carotenoids from capsicum frit. *Journal Food Biochemistry*, 28:113-122.
- Wong, P.Y.Y., and D.D. Kitts. 2006. Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry Journal*, 95:505-515.
- Wunas, Yeany, dan Susanti. 2011. *Analisa Farmasi Kimia Kuantitatif*. 2 ed. Makasar.
- Zengin G., C. Sarikurkcü, E. Gunes, A. Uysal, R. Ceylan, S. Uysal, H. Gungor, A. Aktumsek. 2015. Two Ganoderma species: Profiling of Phenolic Compounds by HPLC-DAD, Antioxidant, Antimicrobial, and Inhibitory Activities on Key Enzymes linked to Diabetes mellitus, Alzheimer disease and skin disorders. *Journal of Food Function*:1-27.
- Zhao Z.Z., H.P. Chen, Y. Huang, Z.H. Li, T., Feng and J.K. Liu. 2015. Lanostane Triterpenoids from Fruiting Bodies of *Ganoderma leucocontextum*. *Natural Product Bioprospect*.
- Zou, Y., Y. Lu, and D. Wei. 2004. Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. In vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:5032-5039.

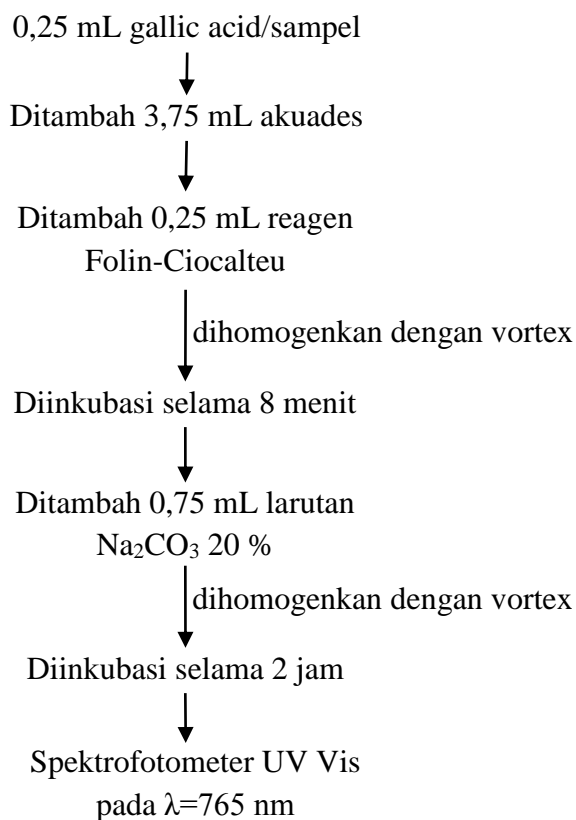
LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Penelitian

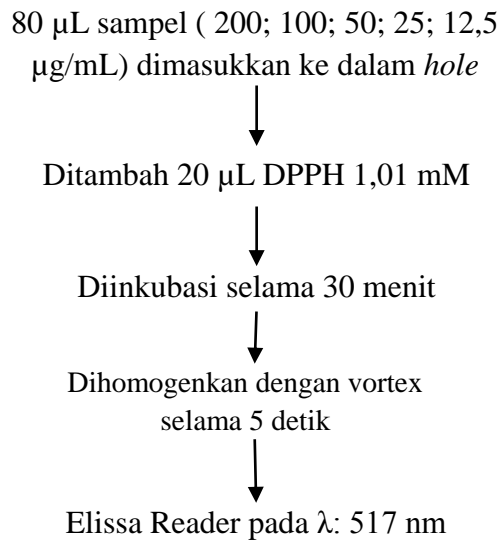
Fraksinasi



Uji Total Polifenol (Darsih *et al.*, 2019)

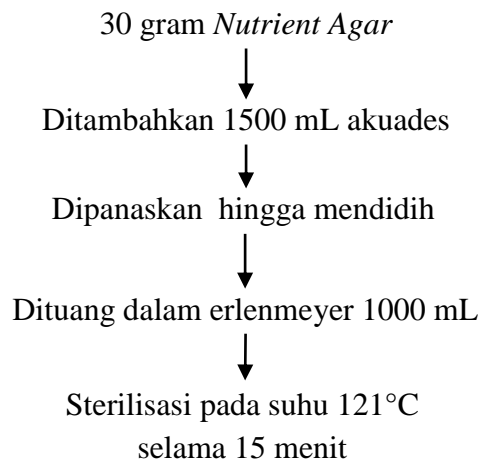


Uji Aktivitas Antioksidan (Darsih *et al.*, 2019)

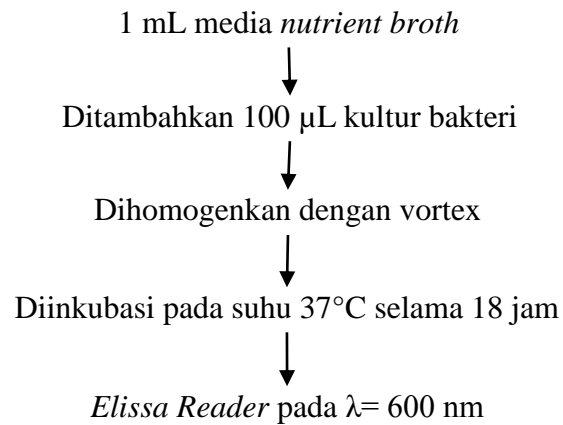


Uji Aktivitas Antibakteri (Jonathan, 2010)

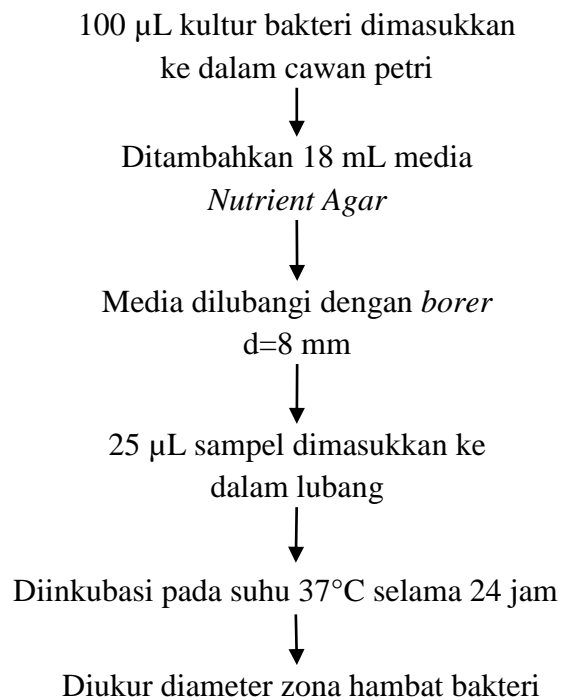
Media NA (*Nutrient Agar*)



Peremajaan Inokulum Bakteri



Uji Aktivitas Antibakteri



Lampiran 2. Perhitungan Penelitian

A. Rendemen Ekstrak

- Bobot ekstrak metanol *Ganoderma* sp. yang digunakan : 4,12 gram
- Rendemen ekstrak kloroform = $\frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot ekstrak metanol}} \times 100 \%$
 $= \frac{2,25 \text{ g}}{3,66 \text{ g}} \times 100 \%$
 $= 61,47 \%$
- Rendemen ekstrak etil asetat = $\frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot sebelum ekstraksi}} \times 100 \%$
 $= \frac{0,21 \text{ g}}{3,66 \text{ g}} \times 100 \%$
 $= 5,73 \%$
- Rendemen ekstrak metanol = $\frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot sebelum ekstraksi}} \times 100 \%$
 $= \frac{0,46 \text{ g}}{3,66 \text{ g}} \times 100 \%$
 $= 12,56 \%$

B. Perhitungan Uji Total Polifenol

1. Membuat larutan Na_2CO_3 20% sebanyak 50 mL

$$\frac{20}{100} \times 50 = 10 \text{ g}$$

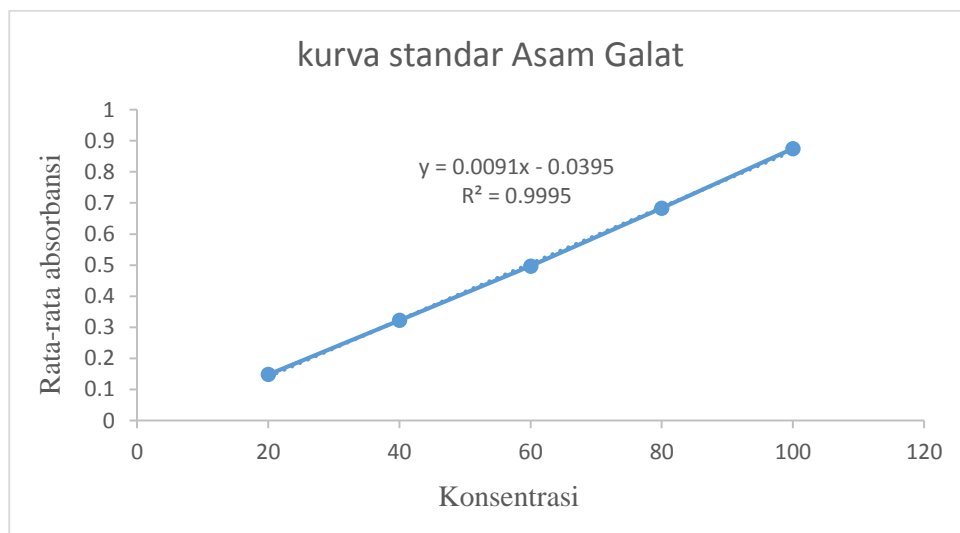
2. Standar Asam Galat (larutan induk 1000 ppm)

- 0 ppm 2 mL Metanol
- 20 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 20 \text{ ppm} \times 2000 \mu\text{L}$
 $V = 40 \mu\text{L}$
- 40 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 40 \text{ ppm} \times 2000 \mu\text{L}$
 $V = 80 \mu\text{L}$
- 60 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 60 \text{ ppm} \times 2000 \mu\text{L}$
 $V = 120 \mu\text{L}$
- 80 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 80 \text{ ppm} \times 2000 \mu\text{L}$
 $V = 160 \mu\text{L}$
- 100 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 100 \text{ ppm} \times 2000 \mu\text{L}$
 $V = 200 \mu\text{L}$

3. Absorbansi Asam Galat

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Rata-rata absorbansi(A)	A-(abs 0 ppm)
1	blanko	0,019	0,021	0
2		0,022		
3		0,023		
4	20	0,207	0,169	0,148
5		0,170		
6		0,130		
7	40	0,321	0,343	0,322
8		0,345		
9		0,364		
10	60	0,490	0,519	0,497
11		0,525		
12		0,541		
13	80	0,668	0,705	0,683
14		0,715		
15		0,731		
16	100	0,834	0,896	0,875
17		0,917		
18		0,938		

4. Kurva standar Asam Galat



5. Kandungan Total Polifenol

Data Absorbansi Ekstrak *Ganoderma* sp.

No	Sampel (1000 ppm)	Absorbansi
1	Ekstrak Kloroform	0,276
2		0,231
3		0,230
4	Ekstrak Etil asetat	0,461
5		0,502
6		0,539
7	Ekstrak Metanol	0,225
8		0,252
9		0,254

a. Kandungan polifenol ekstrak kloroform

- $y = 0,0091x - 0,0395$
 $0,276 = 0,0091x - 0,0395$
 $x = 693,40 \mu\text{g/mL}$
- $y = 0,0091x - 0,0395$
 $0,231 = 0,0091x - 0,0395$
 $x = 594,50 \mu\text{g/mL}$
- $y = 0,0091x - 0,0395$
 $0,230 = 0,0091x - 0,0395$
 $x = 592,30 \mu\text{g/mL}$

b. Kandungan polifenol ekstrak etil asetat

- $y = 0,0091x - 0,0395$
 $0,461 = 0,0091x - 0,0395$
 $x = 1100,00 \mu\text{g/mL}$
- $y = 0,0091x - 0,0395$
 $0,502 = 0,0091x - 0,0395$
 $x = 1190,11 \mu\text{g/mL}$
- $y = 0,0091x - 0,0395$
 $0,539 = 0,0091x - 0,0395$

$$x = 1271,42 \mu\text{g/mL}$$

c. Kandungan polifenol ekstrak metanol

- $y = 0,0091x - 0,0395$
 $0,225 = 0,0091x - 0,0395$
 $x = 581,31 \mu\text{g/mL}$
- $y = 0,0091x - 0,0395$
 $0,252 = 0,0091x - 0,0395$
 $x = 640,65 \mu\text{g/mL}$
- $y = 0,0091x - 0,0395$
 $0,254 = 0,0091x - 0,0395$
 $x = 645,05 \mu\text{g/mL}$

C. Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan

1. Membuat larutan DPPH 1 mM sebanyak 10 mL

$$V \cdot M = n$$

$$10 \times 10^{-3} \text{ L} \cdot 1 \times 10^{-3} \text{ M} = n$$

$$10 \times 10^{-6} \text{ mol} = n$$

$$n \cdot Mr = \text{gram}$$

$$10 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot 394,32 \text{ g/mol} = \text{gram}$$

$$0,00394 = \text{gram}$$

2. Asam Askorbat (Larutan stok 1000 ppm)

- 80 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 100 \text{ ppm} \times 3000 \mu\text{L}$
 $V = 300 \mu\text{L}$
 $100 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$
 $M = 80 \text{ ppm}$
- 40 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 50 \text{ ppm} \times 3000 \mu\text{L}$
 $V = 150 \mu\text{L}$
 $50 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$
 $M = 40 \text{ ppm}$
- 20 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 25 \text{ ppm} \times 3000 \mu\text{L}$

$$V = 75 \mu\text{L}$$

$$25 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$$

$$M = 20 \text{ ppm}$$

- 10 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 12,5 \text{ ppm} \times 3000 \mu\text{L}$

$$V = 37,5 \mu\text{L}$$

$$12,5 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$$

$$M = 10 \text{ ppm}$$

- 5 ppm $1000 \text{ ppm} \times V = 6,25 \text{ ppm} \times 3000 \mu\text{L}$

$$V = 18,75 \mu\text{L}$$

$$6,25 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$$

$$M = 5 \text{ ppm}$$

3. Konsentrasi Sampel (Larutan stok 1000 ppm)

- 200 ppm $500 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 160 \mu\text{L}$

$$250 \text{ ppm} = M$$

$$250 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$$

$$200 \text{ ppm} = M$$

- 100 ppm $250 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 160 \mu\text{L}$

$$125 \text{ ppm} = M$$

$$125 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$$

$$100 \text{ ppm} = M$$

- 50 ppm $125 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 160 \mu\text{L}$

$$62,5 \text{ ppm} = M$$

$$62,5 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$$

$$50 \text{ ppm} = M$$

- 25 ppm $62,5 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 160 \mu\text{L}$

$$31,25 \text{ ppm} = M$$

$$31,25 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$$

$$25 \text{ ppm} = M$$

- 12,5 ppm $31,25 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 160 \mu\text{L}$

$$15,625 \text{ ppm} = M$$

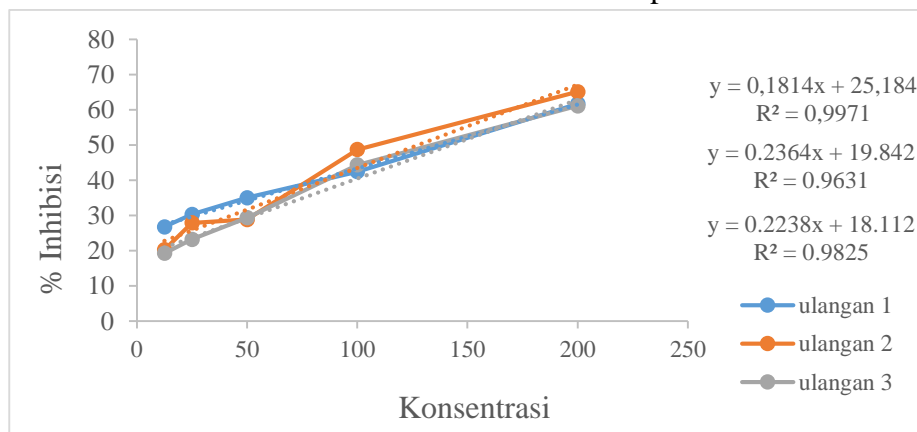
$$15,625 \text{ ppm} \times 80 \mu\text{L} = M \times 100 \mu\text{L}$$

$$12,5 \text{ ppm} = M$$

4. Absorbansi Ekstrak Kloroform *Ganoderma* sp.

No	Konsentrasi sampel	Absorbansi (A ₁)	(A ₁ - A ₀) (A)	{(A-) - A} (B)	%inhibition
					{(B)/(A-)}*100
1	200	0,3545	0,2617	0,4213	61,6849
2		0,3311	0,2383	0,4447	65,1113
3		0,3584	0,2656	0,4174	61,1138
4	100	0,4859	0,3931	0,2899	42,4444
5		0,4433	0,3505	0,3325	48,6822
6		0,4730	0,3802	0,3028	44,3333
7	50	0,5366	0,4438	0,2392	35,0205
8		0,5786	0,4858	0,1972	28,8706
9		0,5754	0,4826	0,2004	29,3391
10	25	0,5688	0,4760	0,2070	30,3055
11		0,5854	0,4926	0,1904	27,8749
12		0,6171	0,5243	0,1587	23,2331
13	12,5	0,5930	0,5002	0,1828	26,7620
14		0,6373	0,5445	0,1385	20,2753
15		0,6441	0,5513	0,1317	19,2796
16	Kontrol Negatif(A-)	0,6647	0,6829		
17		0,6946			
18		0,6895			
19	Blanko(A ₀)	0,0932	0,0928		
20		0,0901			
21		0,0952			

5. Kurva inhibisi ekstrak kloroform *Ganoderma* sp.



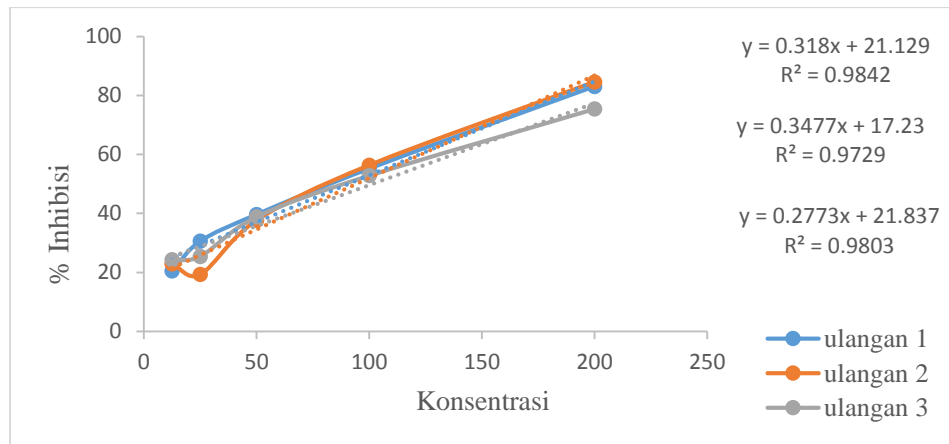
6. IC₅₀ ekstrak kloroform *Ganoderma* sp.

- $y = 0,1814x + 5,18$
 $IC_{50} = (50 - 25,18) / 0,1814$
 $= 136,80 \text{ ppm}$
- $y = 0,2364x + 19,84$
 $IC_{50} = (50 - 19,84) / 0,2364$
 $= 127,57 \text{ ppm}$
- $y = 0,2238x + 18,11$
 $IC_{50} = (50 - 18,11) / 0,2238$
 $= 142,57 \text{ ppm}$

7. Absorbansi Ekstrak Etil Asetat *Ganoderma* sp.

No	Konsentrasi sampel	Absorbansi (A ₁)	(A ₁ - A ₀) (A)	{(A-) - A} (B)	%inhibition
					{(B)/(A)}*100
1	200	0,2269	0,1166	0,5721	83,0704
2		0,2166	0,1063	0,5824	84,5659
3		0,2797	0,1694	0,5193	75,4041
4	100	0,4191	0,3088	0,3799	55,1641
5		0,4109	0,3006	0,3881	56,3547
6		0,4354	0,3251	0,3636	52,7974
7	50	0,5263	0,4160	0,2727	39,5993
8		0,5394	0,4291	0,2596	37,6972
9		0,5318	0,4215	0,2672	38,8007
10	25	0,5887	0,4784	0,2103	30,5392
11		0,6658	0,5555	0,1332	19,3447
12		0,6240	0,5137	0,1750	25,4138
13	12,5	0,6579	0,5476	0,1411	20,4917
14		0,6411	0,5308	0,1579	22,9310
15		0,6321	0,5218	0,1669	24,2377
16	Kontrol Negatif(A-)	0,6430	0,6887		
17		0,7590			
18		0,6642			
19	Blanko(A ₀)	0,1279	0,1103		
20		0,0906			
21		0,1124			

8. Kurva Ekstrak Etil asetat *Ganoderma* sp.



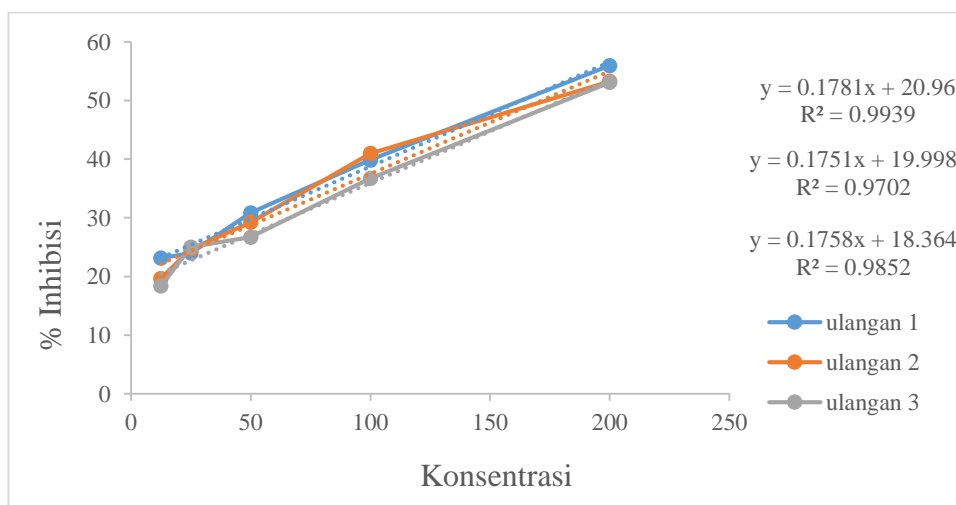
9. IC₅₀ ekstrak etil asetat *Ganoderma* sp.

- $y = 0,318x + 21,12$
 $IC_{50} = (50 - 21,12) / 0,318$
 $= 90,78 \text{ ppm}$
- $y = 0,3477x + 17,23$
 $IC_{50} = (50 - 17,23) / 0,3477$
 $= 94,24 \text{ ppm}$
- $y = 0,2773x + 21,83$
 $IC_{50} = (50 - 21,83) / 0,2773$
 $= 101,56 \text{ ppm}$

10. Absorbansi Ekstrak Metanol *Ganoderma* sp.

No	Konsentrasi sampel	Absorbansi (A ₁)	(A ₁ - A ₀) (A)	{(A-) - A} (B)	%inhibition
					{(B)/(A-)}*100
1	200	0,3935	0,3007	0,3823	55,9742
2		0,4120	0,3192	0,3638	53,2653
3		0,4131	0,3203	0,3627	53,1043
4	100	0,5035	0,4107	0,2723	39,8672
5		0,4958	0,4030	0,2800	40,9947
6		0,5249	0,4321	0,2509	36,7337
7	50	0,5651	0,4723	0,2107	30,8473
8		0,5761	0,4833	0,1997	29,2366
9		0,5933	0,5005	0,1825	26,7181
10	25	0,6118	0,5190	0,1640	24,0092
11		0,6074	0,5146	0,1684	24,6535
12		0,6049	0,5121	0,1709	25,0195
13	12,5	0,6178	0,5250	0,1580	23,1306
14		0,6414	0,5486	0,1344	19,6749
15		0,6502	0,5574	0,1256	18,3864
16	Kontrol Negatif(A-)	0,6647	0,6829		
17		0,6946			
18		0,6895			
19	Blanko(A ₀)	0,0932	0,0928		
20		0,0901			
21		0,0952			

11. Kurva ekstrak metanol *Ganoderma* sp.



12. IC₅₀ ekstrak metanol *Ganoderma* sp.

- $y = 0,1781x + 20,96$
 $IC_{50} = (50 - 20,96) / 0,1781$
 $= 163,05 \text{ ppm}$
- $y = 0,1751x + 19,99$
 $IC_{50} = (50 - 19,99) / 0,1751$
 $= 198,68 \text{ ppm}$
- $y = 0,1758x + 18,36$
 $IC_{50} = (50 - 18,36) / 0,1758$
 $= 179,05 \text{ ppm}$

D. Perhitungan Uji aktivitas Antibakteri

1. Pembuatan larutan seri konsentrasi

Konsentrasi : 250, 500, 750, 1000, dan 1250 ppm

Larutan stok 1250 ppm (5 mg sampel dalam 4 mL DMSO)

- 1000 ppm $1250 \times V = 1000 \times 1 \text{ mL}$
 $V = 0,8 \text{ mL}$
- 750 ppm $1250 \times V = 750 \times 1 \text{ mL}$
 $V = 0,6 \text{ mL}$
- 500 ppm $1250 \times V = 500 \times 1 \text{ mL}$
 $V = 0,4 \text{ mL}$
- 250 ppm $1250 \times V = 250 \times 1 \text{ mL}$
 $V = 0,2 \text{ mL}$

Lampiran 3. Analisis Data SPSS

a. Analisis SPSS Antioksidan

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
1	3	62,6367	2,16204	1,24825	57,2659	68,0075
2	3	82,0719	1,68783	,97447	77,8791	86,2647
3	3	54,1146	1,61247	,93096	50,1090	58,1202
Total	9	66,2744	12,51105	4,17035	56,6575	75,8912

Descriptives

IC₅₀

	Minimum	Maximum
1	61,11	65,11
2	80,12	83,09
3	53,10	55,97
Total	53,10	83,09

Test of Homogeneity of Variances

IC₅₀

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,367	2	6	,707

ANOVA

IC₅₀

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1231,965	2	615,982	182,545	,000
Within Groups	20,246	6	3,374		
Total	1252,211	8			

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

IC₅₀

Duncan^a

Fraksi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
3	3	54,1146		
1	3		62,6367	
2	3			82,0719
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

b. Analisis SPSS Polifenol

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean
					Lower Bound
fr. kloroform	3	601,0607	59,71402	34,47591	452,7228
fr. etil asetat	3	1180,606	88,67483	51,19644	960,3255
fr. metanol	3	596,5153	36,81076	21,25270	505,0723
Total	9	792,7273	296,35777	98,78592	564,9266

Descriptives

totalpolifenol

	95% Confidence Interval for Mean	Minimum	Maximum
	Upper Bound		
fr. kloroform	749,3985	565,46	670,00
fr. etil asetat	1400,8865	1090,46	1267,73
fr. metanol	687,9583	554,09	620,00
Total	1020,5281	554,09	1267,73

Test of Homogeneity of Variances

totalpolifenol

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,763	2	6	,507

ANOVA

totalpolifenol

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	677055,360	2	338527,680	79,442	,000
Within Groups	25568,045	6	4261,341		
Total	702623,406	8			

Oneway

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

totalpolifenol

Duncan^a

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ekstrak metanol	3	596,5153	
ekstrak kloroform	3	601,0607	
ekstrak etil asetat	3		1180,6060
Sig.		,935	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 4. Hasil Karakterisasi FT-IR

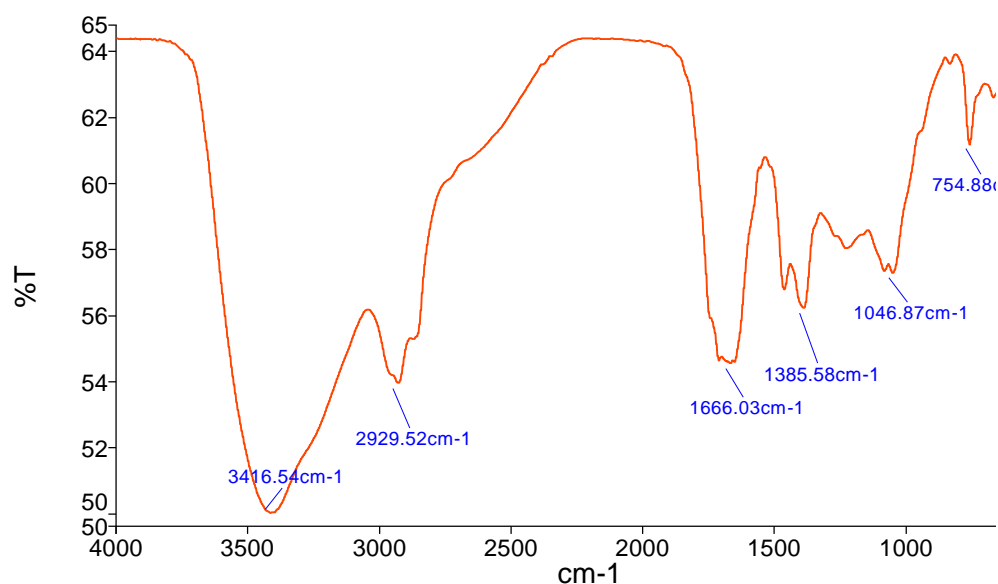
Report Details

Report Location C:\pel_data\reports\Samples View 3_JANNAH 2_1_1_1.rtf
 Report Creator labkim
 Report Date Thursday, January 30, 2020 5:11 PM

Sample Details

Sample Name JANNAH 2_1_1
 Sample Description Fraksi kloroform
 Analyst labkim
 Creation Date 1/30/2020 5:09:20 PM
 X-Axis Units cm-1
 Y-Axis Units %T

Spectrum



Name	Description
JANNAH 2_1_1	Fraksi kloroform

Peak Area/Height Results

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Start	End	Base1
1	3416.54	50	-6985.14	4000	3044.26	4000
2	2929.52	53.96	4180.69	3044.26	2116.09	3044.26
3	1666.03	54.56	-2051.81	2116.09	1533.72	2116.09
4	1385.58	56.24	-573.87	1533.72	1322.9	1533.72
5	1046.87	57.31	335.66	1322.9	808.04	1322.9
6	754.88	61.21	-422.23	808.04	400	808.04

Lampiran 5. Gambar Prosedur dan Alat Penelitian



Penimbangan Ekstrak



Ekstraksi Sonikasi



Penyaringan Ekstrak



Hasil Ekstraksi



Pengeringan Ekstrak



Elissa Reader



Uji Aktivitas Antioksidan



Hasil Uji Aktivitas Antioksidan



Vortex



Spektrofotometer Uv Vis



Mikropipet



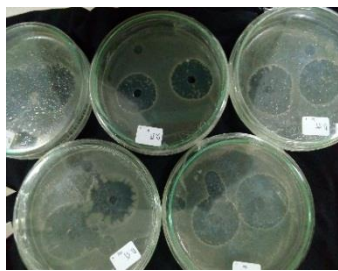
Pembuatan media NA



Autoklaf



Uji aktivitas antioksidan



Hasil uji aktivitas antibakteri



LAF