



TESIS - SK 142502

**SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
SERTA ANTIOKSIDAN DARI *GANODERMA LUCIDUM***

Fahmi Hidayat
01211650012013

Dosen Pembimbing:
Sri Fatmawati, M.Sc, Ph.D

PROGRAM MAGISTER
BIDANG KEAHLIAN KIMIA ORGANIK
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS SAINS
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2019



THESIS - SK 142502

**THE SECONDARY METABOLITE OF *GANODERMA LUCIDUM* AND ITS
ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES**

Fahmi Hidayat
01211650012013

SUPERVISOR:
Sri Fatmawati, M.Sc, Ph.D

MAGISTER PROGRAM
ORGANIC CHEMISTRY
CHEMISTRY DEPARTEMENT
FACULTY OF SCIENCE
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2019

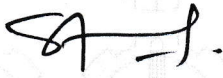
HALAMAN PENGESAHAN TESIS

**Telah disusun untuk memenuhi salah satu syarat gelar
Magister Sains (M.Si)
di
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya**

**Oleh
Fahmi Hidayat
NRP. 01211650012013**

**Tanggal Ujian : 6 Februari 2019
Periode Wisuda : Maret**

Disetujui oleh :



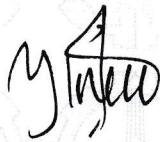
**1. Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D
NIP. 19801103 200212 2 001**

(Pembimbing)



**2. Prof. Mardi Santoso, Ph.D
NIP. 19650131 198910 1 001**

(Penguji)



**3. Yatim Lailun Ni'mah, M.Si., Ph.D
NIP. 19840524 200812 2 006**

(Penguji)



Dekan Fakultas Sains

**Prof. Dr. Agus Rubianto, M.Eng., Sc.
NIP. 19650619 198903 1 001**

**SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN AKTIVITAS
ANTIBAKTERI SERTA ANTIOKSIDAN DARI
*GANODERMA LUCIDUM***

Nama Mahasiswa : Fahmi Hidayat

NRP : 01211650012013

Pembimbing : Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D.

ABSTRAK

Ganoderma lucidum atau lebih dikenal dengan jamur lingzhi merupakan salah satu jamur obat yang telah banyak digunakan untuk menangani penyakit asma, diabetes, jantung dan kanker oleh masyarakat luas terutama di Asia. Namun, di Indonesia *G. lucidum* tidak banyak dimanfaatkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa pada *G. lucidum* yang berasal dari Indonesia dan menguji aktivitas antibakteri, antioksidan dan antidiabetes. Selanjutnya, senyawa hasil isolasi dikarakterisasi dengan IR, ¹H NMR dan ¹³C NMR untuk menentukan struktur senyawa tersebut. Hasil isolasi senyawa dari *G. lucidum* diperoleh ergosterol dan ergosterol peroksida. Berdasarkan hasil uji antibakteri dan antioksidan ekstrak metanol mempunyai aktivitas paling tinggi. Bahkan nilai MIC terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 156,25 µg/mL lebih baik dari kontrol positif (kloramfenikol) dengan MIC sebesar 312,5 µg/mL.

Kata kunci: *Ganoderma lucidum*, antibakteri, antioksidan, antidiabetes

**THE SECONDARY METABOLITE OF *GANODERMA*
LUCIDUM AND ITS ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT
ACTIVITIES**

By : Fahmi Hidayat
Student Identity Number : 01211650012013
Supervisor : Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D.

ABSTRACT

Ganoderma Lucidum, or known as lingzhi, is one of the medicinal mushrooms that has been widely used to treat various kinds of diseases like asthma, diabetes, heart disease and cancer by people in Asia. Unfortunately in Indonesia, *G. lucidum* are not widely used. This study aims to isolate compounds from *G. lucidum* originating growth in Indonesia and test the antibacterial, antioxidant and antidiabetic activity. Furthermore, the isolated compounds were characterized by IR, ¹H NMR and ¹³C NMR to determine the structure of the compound. The results of the isolation of *G. lucidum* compounds obtained two compounds: ergosterol and ergosterol peroxide. Based on the antibacterial and antioxidant activity, the methanol extract had the highest activity. Even the MIC value of *Pseudomonas aeruginosa* of 156.25 µg/mL was better than positive control (chloramphenicol) with MIC of 312.5 µg/mL.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, antibacterial, antioxidant, antidiabetic

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul “**Senyawa Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antibakteri serta Antioksidan dari *Ganoderma lucidum***” dapat diselesaikan.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan dalam penyusunan Tesis ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing dan dosen wali atas semua bimbingan, masukan, arahan dan nasehat yang berharga dalam penyusunan naskah Tesis ini.
2. Prof. Mardi Santoso, Ph.D., selaku Kaprodi Magister Kimia ITS.
3. Prof. Dr. Didik Prasetyo, M.Sc., selaku Ketua Departemen Kimia ITS.
4. Prof. Taslim Ersam, selaku Kepala Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam.
5. Seluruh Bapak Ibu Dosen di program Magister Kimia yang telah memberikan wawasan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menjalani pendidikan di ITS.
6. Para Laboran dan analis atas dedikasinya membantu penulis dalam penelitian dan analisa selama menyelesaikan penelitian Tesis.
7. Orang tua tercinta serta keluarga atas motivasi, dukungan serta do'a yang tiada henti selalu diberikan kepada penulis.
8. Seluruh anggota tim penelitian kimia organik bahan alam (NPSC) serta teman-teman kimia ITS.
9. Semua pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya naskah Tesis ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan naskah Tesis ini masih terdapat kekurangan, oleh karena itu segala saran dan kritik yang membangun sangat penulis

harapkan. Semoga naskah Tesis ini dapat memberi manfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan.

Surabaya, 6 Februari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	i
ABSTRAK.....	ii
ABSTRACT.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR PERSAMAAN	xii
BAB 1	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat.....	4
BAB 2	7
KAJIAN PUSTAKA.....	7
2.1 <i>Ganoderma lucidum</i>	7
2.2 Aktivitas Antibakteri	8
2.3 Radikal Bebas dan Antioksidan.....	10
2.4 Diabetes Melitus	12
2.5 Aktivitas Antidiabetes	14
2.6 Senyawa Hasil Isolasi <i>G. lucidum</i>	16
2.7 Kromatografi	19
2.7.1 Kromatografi Kolom.....	19
2.7.2 Kromatografi Lapis Tipis	20

2.8	Identifikasi Senyawa.....	22
2.8.1	Spektrometer NMR	23
2.8.2	Spektrofotometer IR	26
BAB 3		29
METODE PENELITIAN.....		29
3.1	Alat dan Bahan	29
3.1.1	Alat	29
3.1.2	Bahan.....	29
3.2	Prosedur Isolasi Senyawa	29
3.2.1	Ekstraksi	29
3.2.2	Isolasi Senyawa	30
3.3	Prosedur Uji Bioaktivitas	31
3.3.1	Uji Aktivitas Antibakteri	31
3.3.2	Uji Antioksidan: Penghambatan DPPH	31
3.3.3	Uji Antidiabetes: Penghambatan Enzim α -Glukosidase	31
BAB 4		33
HASIL DAN PEMBAHASAN.....		33
4.1	Uji Pendahuluan	33
4.2	Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder.....	35
4.2.1	Ekstraksi	35
4.2.2	Isolasi dan Identifikasi Senyawa 1	36
4.2.3	Isolasi Senyawa 2	40
4.3	Uji Bioaktivitas.....	45
4.3.1	Aktivitas Antioksidan.....	45
4.3.2	Aktivitas Antibakteri	47
4.3.3	Aktivitas Antidiabetes	50

BAB 5	53
KESIMPULAN.....	53
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Jamur Lingzhi (<i>G. lucidum</i>).....	7
Gambar 2.2 Struktur Radikal DPPH dan Reduksi dengan Antioksidan	12
Gambar 2.3 Rancangan Kromatografi Cair Vakum (A) dan Kromatografi Kolom Grafitasi (B)	21
Gambar 2.4 Pergeseran Kimia Beberapa Senyawa Organik pada ¹ H NMR	24
Gambar 2.5 Jenis-Jenis Multiplisitas pada ¹ H NMR.....	24
Gambar 4.1 Profil KLT Ekstrak <i>G. lucidum</i> dengan Pelarut Air(1), Metanol(2), Etil Asetat(3), Diklorometana(4) dan n-heksana(5).....	33
Gambar 4.2 Persen hambatan DPPH pada konsentrasi 319.46 µg/mL dari ekstrak 1 (air); 2 (metanol); 3 (etil asetat); 4 (diklorometana); 5 (n-heksana) dan; 6 (asam galat).	34
Gambar 4.3 Profil KLT Hasil Maserasi <i>G. lucidum</i> dengan Eluen Metanol : Diklorometana (1:1).....	35
Gambar 4.4 Monitoring dengan KLT Hasil KCV (A) Sampel 1 dan (B) Sampel 2 dengan Eluen Etil Asetat : n-heksana (3:7).....	36
Gambar 4.5 Hasil Monotiring KLT fraksi (A) F9.1 dan (B) F9.2.....	37
Gambar 4.6 Hasil KLT 3 eluen dan 2D Fraksi F9.1	37
Gambar 4.7 KLT Fraksi Gabungan Hasil KCV F9.1 dengan Eluen Etil Asetat : Diklorometana : n-heksana (1:3:6)	38
Gambar 4.8 Hasil KLT 3 Eluen dan 3D Senyawa 1	40
Gambar 4.9 KLT Fraksi Gabungan (G1-G23) Hasil KKG dengan Eluen Etil Asetat : n-heksana (3:7)	42
Gambar 4.10 Hasil monitoring KLT Fraksi H1-H12 (A); Fraksi I1-I5 (B); Uji KLT 3 eluen Fraksi I4 (C); dan Uji KLT 2D Fraksi I4 (D)	43
Gambar 4.11 Kurva Penghambatan Ekstrak Metanol Terhadap DPPH pada Konsentrasi 0; 63,89; 127,78; 191,67; 255,57 dan 319,46 µg/mL	46
Gambar 4.12 Hasil pengujian antibakteri (A) <i>E. coli</i> ; (B) <i>P. aeruginosa</i> dari Ekstrak 1 (n-heksana); 2 (diklorometana); 3 (etil asetat); 4 (metanol); 5 (air); + (kloramfenikol); - (DMSO).....	49

Gambar 4.13 Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase Terhadap *G. lucidum*
Ekstrak 1 (air); 2 (metanol); 3 (etil asetat); 4 (diklorometana); 5 (n-heksana); +
(Akarbosa)..... 51

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Jenis-Jenis Radikal dari Proses Biologis	11
Tabel 2.2 Beberapa Eluen Untuk Pemisahan KLT	22
Tabel 2.3 Pergeseran Kimia ^{13}C NMR Asam Ganoderat γ (30) dan δ (31)	25
Tabel 2.4 Pergeseran Kimia ^1H NMR Asam Ganoderat γ (30) dan δ (31)	25
Tabel 2.5 Nilai Bilangan Gelombang pada Gugus Fungsi Senyawa Organik	27
Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi <i>G. lucidum</i> dengan Berbagai Pelarut	33
Tabel 4.2 Data Pergeseran Kimia ^{13}C NMR Ergosterol dan Fraksi F9.1	39
Tabel 4.3 Data Pergeseran Kimia ^1H NMR Ergosterol dan Senyawa 1	41
Tabel 4.4 Data Pergeseran Kimia ^{13}C NMR dan ^1H NMR Ergosterol Peroksida dan Senyawa 2	44

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1 Persamaan Penentuan Persen Inhibisi DPPH	31
Persamaan 3.2 Persamaan Penentuan Persen Inhibisi α -Glukosidase	32

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ganoderma merupakan genus jamur yang telah digunakan sebagai obat selama ribuan tahun di Cina, Jepang dan Korea (Fu *et al.*, 2009). *Ganoderma lucidum* atau lebih dikenal dengan jamur lingzhi adalah salah satu jamur obat dari genus *Ganoderma* yang termasuk dalam *traditional chinese medicine* (TCM) (Russell dan Paterson, 2006). *G. lucidum* telah dikenal sebagai jamur obat oleh masyarakat diberbagai tempat. Masyarakat Korea dan Cina menyebutnya dengan lingzhi, sedangkan masyarakat Jepang menyebut dengan *reishi* atau *mannentake* sementara di Indonesia disebut dengan jamur lingshi atau lingzhi. Secara turun-temurun *G. lucidum* digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti, asma, diabetes, penyakit jantung, dan dipercaya dapat meningkatkan vitalitas tubuh (Fu *et al.*, 2009; Wasser, 2005).

G. lucidum kaya akan kandungan senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai obat. Komponen-komponen tersebut diantaranya berasal dari golongan senyawa fenolat, flavonoid, likofen, alkaloid, triterpenoid dan polisakarida (Cör *et al.*, 2018; Kumari *et al.*, 2016). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan *G. lucidum* mempunyai aktivitas sebagai kardioprotektif, anti-HIV, inhibitor AchE, antimutagenik, antifungal, antibakteri, neuroprotektif, antiinflamasi, antioksidan dan antidiabetes (Chu *et al.*, 2012; Chung *et al.*, 2017; El-Mekkawy *et al.*, 1998; Jiang *et al.*, 2017; Kamble *et al.*, 2011; Ma *et al.*, 2015; Wang dan Ng, 2006; Zhou *et al.*, 2012). Banyaknya komponen-komponen yang terkandung dalam *G. lucidum* dan bioaktivitas yang dimiliki menjadikan *G. lucidum* semakin diminati untuk diteliti. Ekstrak *G. lucidum* mempunyai aktivitas untuk menghambat berbagai jenis bakteri penyebab penyakit. Ekstrak metanol dari *G. lucidum* diketahui dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, seperti: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* dan *Enterobacter cloacae* (Glamoc *et al.*, 2013).

Mikroorganisme patogen termasuk diantaranya adalah virus, bakteri, jamur, protozoa dan metazoa. Bakteri merupakan salah satu faktor *exogenous* (luar) penyebab penyakit. Bakteri patogen sangat berbahaya karena dapat berkembang dengan sangat cepat. Kloramfenikol merupakan antibiotik yang diisolasi dari *Streptomyces venezuelae*. Senyawa ini bekerja dengan menghambat biosintesis protein pada bakteri. Namun, diketahui beberapa mikroorganisme telah mempunyai resistensi terhadap kloramfenikol. Penggunaan antibiotik sintesis untuk menangani bakteri tidak jarang menimbulkan efek samping berbahaya bagi penggunanya. Selain itu, munculnya strain bakteri baru yang resisten terhadap obat-obatan antibakteri mendorong untuk ditemukannya antibiotik baru (Dewick, 2002; Liu, 2011; Nascimento *et al.*, 2000).

Radikal bebas merupakan spesi bermuatan dengan elektron yang tidak berpasangan. Adanya elektron bebas ini dapat memicu terjadinya reaksi berantai yang dapat menyebabkan kerusakan dan ketidakstabilan pada spesi atau molekul lain (Devasagayam *et al.*, 2004). Tingginya tingkat radikal bebas pada tubuh dapat mengakibatkan kerusakan protein dalam sel, membran lipid, asam nukleat, hingga kematian sel. Radikal bebas dalam tubuh dapat dihasilkan dari proses oksidasi glukosa. Glukosa dalam bentuk enediol dapat dioksidasi untuk membentuk ketoaldehid dan radikal anion superoksida yang reaktif. Radikal anion superoksida dapat mengalami dismutasi sehingga menghasilkan hidrogen peroksida dan dengan adanya logam transisi menyebabkan terbentuknya radikal hidroksil yang sangat reaktif (Maritim *et al.*, 2003). Adanya radikal bebas dan stres oksidatif dapat mengakibatkan resistensi terhadap insulin dan komplikasi karena diabetes. Stres oksidatif dapat memicu diabetes dengan mengurangi sensitivitas insulin dan merusak sel-sel β pada pankreas. Radikal tersebut dapat menembus membran sel β dan membunuh sel-sel di dalamnya (Rahimi-Madiseh *et al.*, 2016).

Diabetes adalah kelainan metabolisme yang menyebabkan meningkatnya kadar glukosa dalam darah (*hyperglycemia*) dan berkurangnya kemampuan insulin

yang dihasilkan oleh pankreas atau bahkan ketidakmampuan tubuh untuk memproduksi insulin. Gejala diabetes selalu disertai dengan meningkatnya radikal bebas atau melemahnya pertahanan antioksidan dalam tubuh (American Diabetes Association, 2010; Maritim *et al.*, 2003). Penyakit ini dapat menyebabkan berkurangnya kemampuan jaringan untuk memproses metabolisme karbohidrat, lipid dan protein hingga dapat menyebabkan kerusakan pada sistem pembuluh pada jantung, ginjal, mata, kulit dan sistem saraf. Gejala umum yang dialami penderita diabetes adalah sering merasa haus, lapar, lemas dan emasiasi bahkan dapat mengakibatkan koma (Rahimi-Madiseh *et al.*, 2016).

Penyebab diabetes bervariasi sesuai dengan kondisi masing-masing orang. Secara umum penyakit diabetes disebabkan karena rusaknya pankreas yang mengakibatkan produksi insulin menurun (diabetes tipe 1), maupun karena ketidakefektifan kerja insulin (diabetes tipe 2). Faktor utama diabetes tipe 2 adalah karena gaya hidup dan faktor genetik. Kurangnya latihan fisik atau olahraga, kurang gerak, merokok dan konsumsi alkohol yang berlebih dapat memicu timbulnya penyakit diabetes tipe 2. Selain itu, orang yang obesitas berpeluang lebih besar terkena diabetes tipe 2. Sedangkan diabetes tipe 1 terjadi karena rusaknya sel-sel pankreas yang bertugas memproduksi insulin, sehingga produksi insulin menurun. Rusaknya sel pankreas ini bisa disebabkan oleh sistem imun tubuh itu sendiri atau disebut *autoimmune reaction* (Belle *et al.*, 2011; Olokoba *et al.*, 2012).

Obat untuk penyakit diabetes sudah banyak disintesis, namun obat-obatan ini tidak murah dan tidak sepenuhnya efektif. Selain itu, konsumsi obat sintesis juga memberikan efek samping baik dalam jangka panjang maupun secara langsung, seperti diare, mual-mual, muntah dan gejala asidosis laktat (Chao dan Henry, 2010; Tabatabaei-Malazy *et al.*, 2013). Sehingga diperlukan pengobatan alternatif yang lebih terjangkau dan mempunyai efek samping rendah untuk menangani penyakit diabetes. Salah satu cara pengobatan alternatif untuk mengatasi diabetes adalah dengan memanfaatkan obat yang bersumber dari alam. Obat-obatan yang berasal dari alam relatif lebih aman (rendah efek samping) dibandingkan obat sintesis. Sudah banyak penelitian dari bahan alam yang mempunyai aktivitas sebagai antidiabetes. *G. lucidum* dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk

diabetes. Beberapa konstituen penyusun *G. lucidum* seperti triterpenoid, polisakarida dan proteoglikan diketahui mempunyai efek hipoglikemik. Salah satu cara untuk menangani diabetes adalah dengan penghambatan terhadap enzim α -glukosidase. Inhibitor enzim α -glukosidase dapat memperlambat penyerapan glukosa pada sistem pencernaan sehingga dapat mengontrol kenaikan kadar glukosa pada penderita diabetes (Wallace, 1999). Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa fraksi kloroform mempunyai penghambat yang baik terhadap enzim α -glukosidase (Fatmawati *et al.*, 2011). Selain itu, beberapa senyawa hasil isolasi dari *G. lucidum*, seperti ganoderlakton B, ganomisin I dan ganoleukonin O juga aktif untuk menghambat enzim α -glukosidase (Chen *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2015).

1.2 Rumusan Masalah

G. lucidum dikenal sebagai jamur obat dan secara tradisional telah digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit. Banyak penelitian telah dilakukan untuk menguji aktivitas biologis *G. lucidum*. Namun, beberapa penelitian yang menggunakan *G. lucidum* dari Indonesia menunjukkan bioaktivitas yang rendah atau bahkan tidak menunjukkan efek positif terhadap pengujian (Furi dan Wahyuni, 2011; Hayati *et al.*, 2016; Kusumastuti, 2010; Ratnaningtyas *et al.*, 2018). Oleh sebab itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri, antioksidan dan antidiabetes dari *G. lucidum* yang berasal dari Kebumen, Jawa Tengah.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Ekstraksi dan isolasi senyawa yang terkandung dalam *G. lucidum* dari Kebumen, Jawa Tengah.
2. Mengetahui aktivitas antibakteri, antioksidan dan antidiabetes dari *G. lucidum* dari Kebumen, Jawa Tengah.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi aktivitas antibakteri, antioksidan dan antidiabetes ekstrak *G. lucidum* dan senyawa hasil

isolasi *G. lucidum* yang berasal dari pebudidaya jamur di Kebumen, Jawa Tengah. Berdasarkan informasi tersebut diharapkan dapat digunakan sebagai acuan aktivitas *G. lucidum* dari Indonesia. Selain itu, diharapkan *G. lucidum* dapat digunakan untuk pengembangan obat diabetes dan antibiotik.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 2

KAJIAN PUSTAKA

2.1 *Ganoderma lucidum*

Jamur lingzhi (*G. lucidum*) merupakan kelompok jamur kayu dengan ciri fisiologi batang dan badan buah mirip kipas, memiliki tekstur yang keras, tebal dan berwarna coklat kemerahan (Gambar 2.1) (Chen *et al.*, 2014). Taksonomi dari *G. lucidum* adalah sebagai berikut (Baby *et al.*, 2015):

Kingdom	: Fungi
Filum	: Basidiomycota
Kelas	: Basidiomycetes
Sub-Kelas	: Homobasidiomycetes
Ordo	: Polyporales
Famili	: Ganodermatacea
Genus	: <i>Ganoderma</i>
Spesies	: <i>Ganoderma lucidum</i>



Gambar 2.1 Morfologi Jamur Lingzhi (*G. lucidum*)

Genus *Ganoderma* mempunyai lebih dari 400 spesies yang hidup pada daerah tropis dan subtropis di dunia. *G. lucidum* tumbuh sepanjang tahun pada kayu atau pohon yang sudah mati, seperti pohon oak, *maple*, *elm*, *willow*, dan magnolia. Beberapa spesies dari genus *Ganoderma* umumnya dimanfaatkan sebagai obat, diantaranya: *G. lucidum*, *G. luteum* Steyaert, *G. atrum* Zhao, *G. tsugae* Murrill, *G. applanatum* Pat., *G. australe* Pat., *G. capense* Teng, *G. tropicum* Bres., *G. tenue* dan *G. sinense*. Spesies *G. lucidum* sudah dikenal di Cina sebagai jamur obat yang mujarab sejak ribuan tahun lalu (Baby *et al.*, 2015; Sanodiya *et al.*, 2009; Wasser, 2005). Secara turun-temurun *G. lucidum* telah digunakan oleh masyarakat di negara Cina, Jepang, Taiwan dan negara asia lainnya untuk mengobati berbagai penyakit, seperti: penyakit asma, diabetes, jantung, kanker dan penyakit kronis lainnya (Fu *et al.*, 2009).

Penelitian tentang senyawa yang terkandung dalam *G. lucidum* sudah banyak dilaporkan. Lebih dari 240 senyawa metabolit sekunder dari *G. lucidum* telah berhasil diisolasi dan banyak diantaranya mempunyai aktivitas farmakologis (Baby *et al.*, 2015). *G. lucidum* mengandung senyawa metabolit sekunder yang berasal dari golongan terpenoid, polisakarida, protein dan glikoprotein. Senyawa-senyawa tersebut diketahui mempunyai aktivitas sebagai antiinflamasi, antioksidan, antidiabetes, antihipertensi, antimikrobal, immunostimulan, antitumor, antiamnestik, neuroprotektif, inhibitor AChE, kardioprotektif, antiherpetik, antimutagenik, antifungal dan anti-HIV (Chu *et al.*, 2012; El-Mekkawy *et al.*, 1998; Jiang *et al.*, 2017; Kaur *et al.*, 2017; Lakshmi *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2004; Poucheret *et al.*, 2006; Hexiang *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2012).

2.2 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu komponen yang dalam jumlah atau konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Beberapa bakteri patogen dapat menghasilkan enzim yang dapat mendegradasi komponen matrik ekstraseluler sehingga merusak struktur jaringan inang. Enzim ini bersifat hidrolitik yang juga dapat digunakan bakteri untuk memperoleh sumber karbon dan energi dengan menghancurkan sel inang menjadi gula sederhana dan asam amino (Baehaki *et al.*, 2008). Salah satu mekanisme zat yang aktif sebagai

antibakteri adalah dengan merusak porin pada dinding sel permeabel luar bakteri. Rusaknya porin mengakibatkan berkurangnya kemampuan permeabilitas dinding sel bakteri. Tidak adanya permeabilitas pada dinding sel bakteri dapat mengganggu transfer nutrisi sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Handrianto, 2017). Zat sebagai antibakteri diharapkan dapat membunuh atau menghambat bakteri dan tidak bersifat toksik bagi penggunaannya. Secara umum mekanisme suatu antibakteri adalah dengan menghambat sintesis pembentukan dinding sel bakteri, menghambat sintesis protein, asam nukleat serta mengganggu proses metabolisme dan integritas membran sel bakteri (Alvesn *et al.*, 2012).

Kloramfenikol adalah antibiotik yang diisolasi dari kultur *Streptomyces venezuelae*. Kloramfenikol merupakan antibiotik pertama yang dikembangkan dan disintesis dalam jumlah besar. Antibiotik ini bekerja dengan menghambat proses biosintesis protein bakteri. Kloramfenikol dapat berikatan reversibel pada ribosom bakteri dan mengganggu kerja enzim peptidil transferase. Enzim ini berfungsi untuk mengkatalisis pembentukan ikatan polipeptida pada protein. Sehingga dengan dihambatnya enzim peptidil transferase proses biosintesis protein bakteri terhambat. Namun, karena mekanisme kerja antibiotik yang reversibel ini tidak membunuh sel bakteri, dimana bakteri masih memungkinkan untuk melakukan biosintesis protein. Menyebabkan beberapa bakteri dapat membentuk resistensi terhadap jenis antibiotik ini (Dewick, 2002).

Banyaknya strain bakteri baru yang menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik mendorong untuk ditemukannya antibiotik baru yang lebih efektif. Selain antibiotik sintesis, bahan alam merupakan sumber antibakteri yang potensial. Dinding sel berperan dalam bentuk dan kekakuan sel bakteri dan bertindak sebagai penghalang osmotik. Dinding sel bakteri umumnya tersusun dari 10 hingga 60% peptidoglikan. Sebagian antibakteri bekerja dengan cara merusak dinding sel. Banyak komponen-komponen bahan alam yang mempunyai aktivitas antibakteri. Beberapa senyawa golongan flavonoid dapat merusak membran sel bakteri dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang menyebabkan keluarnya senyawa-senyawa intraseluler bakteri (Alves *et al.*, 2012; Isnarianti *et al.*, 2013). Senyawa bahan alam lain, seperti tanin mempunyai

kemampuan bakteriostatik dan bakteriosida. Tanin dapat membunuh bakteri dengan menonaktifkan enzim dan mengganggu transfer protein pada lapisan dalam sel, sehingga pembentukan dinding sel tidak sempurna (Akiyama *et al.*, 2001). Senyawa dari golongan steroid dapat merusak membran sel bakteri dengan mengurangi permeabilitas membran sel. Hilangnya permeabilitas membran dapat menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri, sehingga bakteri mati (Madduluri *et al.*, 2013).

2.3 Radikal Bebas dan Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu molekul yang mampu memperlambat atau menghambat oksidasi molekul lainnya. Sedangkan oksidasi adalah suatu reaksi kimia yang melibatkan transfer elektron dari suatu spesi ke spesi pengoksidasi. Beberapa reaksi oksidasi dapat memicu terbentuknya radikal bebas berbahaya yang dapat menghasilkan reaksi berantai (Partap dan Pandey, 2011). Radikal bebas merupakan molekul bermuatan yang mempunyai elektron tidak berpasangan.

Adanya elektron tidak berpasangan ini menyebabkan spesi radikal bebas sangat reaktif dengan cara mengambil elektron spesi lain untuk menetralkan elektron radikal. Walaupun spesi radikal dapat dinetralkan, namun spesi radikal yang lain mulai terbentuk dan reaksi berantai ini dapat terjadi sampai ribuan kali dalam hitungan detik hingga semua radikal tersebut dinetralkan. Radikal bebas mempunyai waktu paruh sangat pendek dengan waktu hingga mili-, mikro- atau bahkan nanodetik. Radikal bebas dapat berasal dari unsur oksigen atau ROS (*reactive oxygen species*) dan nitrogen (*reactive nitrogen species*/RNS). Radikal bebas juga dapat dihasilkan dari proses metabolisme dalam tubuh, berbagai proses sistem endogen, kondisi psikokimia atau *pathophysiological* (Devasagayam *et al.*, 2004). Jenis-jenis radikal bebas dari ROS dan RNS di sajikan pada Tabel 2.1.

Pada organisme hidup reaksi berantai dari radikal bebas dapat merusak lipid, protein dan DNA, dan menimbulkan kerusakan pada sel sehingga fungsi sel menurun. Lipid sangat rentan kerusakan dari serangan radikal bebas. Rusaknya lipid karena radikal bebas dapat menghasilkan peroksida lipid yang berbahaya bagi tubuh. Kerusakan protein karena radikal bebas dapat menyebabkan berkurangnya

atau bahkan hilangnya aktivitas enzim. Kerusakan pada DNA yang disebabkan radikal bebas dapat menyebabkan mutagenesis dan karsinogenesis. Kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas ini dapat memicu timbulnya berbagai macam penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penurunan sistem imun dan diabetes (Devasagayam *et al.*, 2004; Percival, 1998; Rahimi-Madiseh *et al.*, 2016).

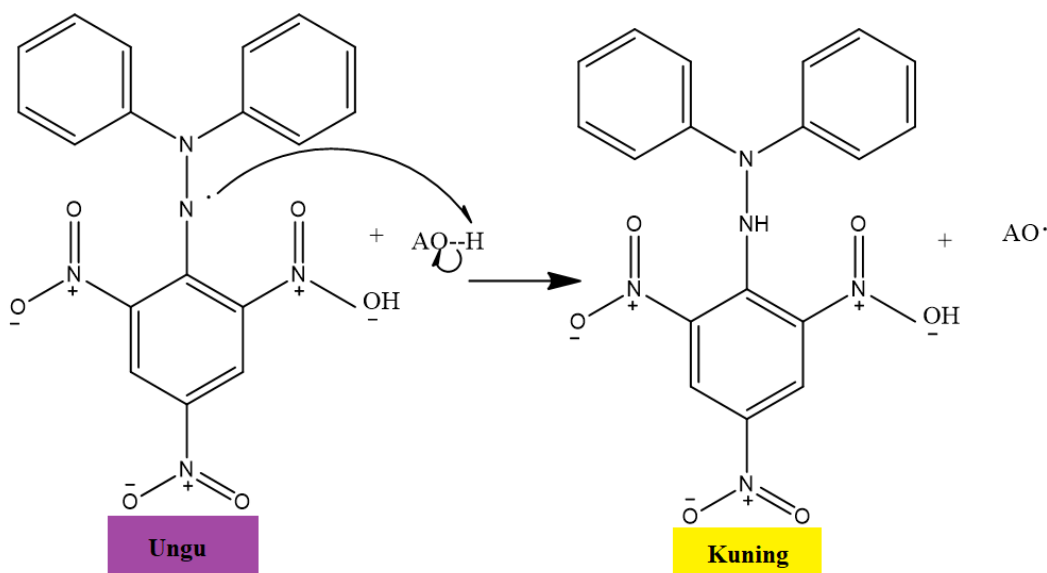
Tabel 2.1 Jenis-Jenis Radikal dari Proses Biologis

Jenis radikal	Simbol	Waktu paruh (detik)	Reaktivitas/Keterangan
<i>Reactive Oxygen Species (ROS)</i>			
Superoksida	$O_2^{\cdot-}$	10^{-6} s	Dihasilkan di mitokondria, sistem aliran darah (jantung),
Radikal hidroksil	$\cdot OH$	10^{-9} s	Sangat reaktif, terbentuk bila terjadi kelebihan besi dan oksidasi glukosa
Radikal peroksil	ROO^{\cdot}	-	Reaktif, dapat terbentuk dari lipid, protein, DNA, gula dan lain sebagainya.
<i>Reactive Nitrogen Species (RNS)</i>			
Oksida Nitrit	NO^{\cdot}	-	Neurotransmitter dan pengatur tekanan darah
Peroksinitrit	$ONOO^{\cdot}$	10^{-3} s	Terbentuk dari NO^{\cdot} dan superoksida, sangat reaktif. Merupakan protonasi dari $ONOO^-$

Tubuh makhluk hidup mempunyai sistem pertahanan khusus yang menghasilkan antioksidan untuk melawan radiakal bebas. Sistem endogen dapat menghasilkan antioksidan enzimatis seperti, glutaition reduktase, glutaition peroksidase, katalase dan superoksida dismutase. Bila tingkat radikal bebas dalam tubuh terlalu tinggi dan antioksidan pada sistem pertahanan tubuh tidak mampu untuk menetralkannya, maka tubuh memerlukan tambahan antioksidan dari luar. Tambahan antioksidan umumnya berasal dari makanan atau suplemen yang mengandung antioksidan nonenzimatis, seperti vitamin C, vitamin E, karotenoid, flavonoid dan lain sebagainya (Chen *et al.*, 2014; Partap dan Pandey, 2011).

Pada umumnya aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan suatu zat pengoksidasi sebagai sumber radikal bebas dan substrat sebagai zat uji antioksidan.

Salah satu sumber radikal dapat digunakan DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dengan delokalisasi elektron radikal pada molekulnya. Delokalisasi elektron ini mengakibatkan DPPH mempunyai warna ungu pada larutan dan mempunyai absorbansi di sekitar panjang gelombang 517 nm pada spektrofotometri UV-Vis. Pada uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH, zat yang aktif sebagai antioksidan mendonorkan protonnya untuk menstabilkan radikal DPPH dan mengubahnya menjadi DPPH-H (*nonradical diphenyl-picrylhydrazine*) yang berwarna kuning (Antolovich *et al.*, 2002; Lü *et al.*, 2010). Reaksi radikal DPPH dengan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.2 (Boligon *et al.*, 2014).



Gambar 2.2 Struktur Radikal DPPH dan Reduksi dengan Antioksidan

2.4 Diabetes Melitus

Diabetes adalah kelainan metabolisme yang dapat menyebabkan kenaikan kadar glukosa dalam darah atau *hyperglycemia*. Hal ini dapat disebabkan karena berkurangnya kerja insulin yang dihasilkan oleh pankreas atau ketidakmampuan pankreas untuk memproduksi insulin (Maritim *et al.*, 2003). Insulin merupakan protein atau hormon yang dihasilkan pada sel β dalam pankreas yang berfungsi untuk mengantur atau merespon berbagai rangsangan dari glukosa, sulfonilurea dan arginin. Oleh karena itu, apabila produksi atau kerja insulin terganggu dapat menyebabkan kelainan pada sistem metabolisme tubuh, terutama kenaikan kadar gula dalam darah. Tingginya kadar glukosa atau gula darah pada penderita diabetes

juga dapat mengakibatkan glikosuria (Asmat *et al.*, 2016; Rahimi-Madiseh *et al.*, 2016).

Secara umum penyakit diabetes dapat digolongkan menjadi dua tipe, yaitu diabetes tipe 1 dan tipe 2. Diabetes tipe 1 (*insulin-dependent*) disebabkan karena rusaknya sel-sel pankreas yang bertugas memproduksi insulin, sehingga produksi insulin menurun. Rusaknya sel pankreas ini bisa disebabkan oleh sistem imun tubuh itu sendiri atau disebut *autoimmune reaction* atau *autoimmune cause*. Gejala ini bisa dipicu karena adanya infeksi dari virus atau bakteri, keracunan bahan kimia berbahaya pada makanan atau karena kelainan pada genetik sehingga memicu reaksi *autoimmune*. Oleh karena itu, pada penderita diabetes tipe 1 harus menerima injeksi insulin untuk memenuhi kebutuhan insulin tiap harinya (Belle *et al.*, 2011).

Diabetes tipe 2 atau *non-insulin-dependent* merupakan diabetes yang terjadi karena ketidakefektifan kerja insulin. Diabetes tipe 2 dapat disebabkan karena gaya hidup yang tidak sehat dan faktor genetik. Gaya hidup malas-malasan dengan kurangnya latihan fisik atau olahraga, kurang gerak, merokok dan konsumsi alkohol yang berlebih dapat memicu timbulnya penyakit diabetes tipe 2. Selain itu, orang yang obesitas berpeluang lebih besar terkena diabetes tipe 2. Oleh karena itu, penderita diabetes tipe 2 perlu melakukan pengaturan gaya hidup dengan olahraga teratur, mengatur pola makan dan mengkonsumsi obat-obatan (Belle *et al.*, 2011; Olokoba *et al.*, 2012). Peningkatan radikal bebas atau oksidatif stres pada penderita diabetes tipe 1 dan tipe 2 menyebabkan penurunan tingkat antioksidan enzimatis dan nonenzimatis (vitamin). Hiperglikemia yang disebabkan diabetes dapat meningkatkan stres oksidatif pada tubuh. Pada terapi antioksidan untuk penanganan diabetes dapat memelihara fungsi sel β pada pankreas dengan menekan apoptosis sel β (Tabatabaei-Malazy *et al.*, 2013).

Diabetes dapat menyebabkan berkurangnya kemampuan jaringan untuk memproses metabolisme karbohidrat, lipid dan protein hingga dapat menyebabkan kerusakan pada sistem pembuluh pada jantung, ginjal, mata, kulit dan sistem saraf. Penderita diabetes dapat mengalami komplikasi yang disebabkan karena tingginya kadar glukosa pada pembuluh darah baik mikro ataupun makro. Komplikasi yang

mungkin terjadi karena rusaknya pembuluh makrovaskular adalah jantung koroner, stroke dan kerusakan pada pembuluh perifer. Sedangkan kerusakan pada pembuluh mikrovaskular yang disebabkan diabetes dapat mengakibatkan neuropati, retinopati dan nefropati. Bahkan pada kasus yang lebih parah dapat terjadi kerusakan pada kedua pembuluh makro ataupun mikro yang mengakibatkan diabetes kaki (Wallace, 1999).

2.5 Aktivitas Antidiabetes

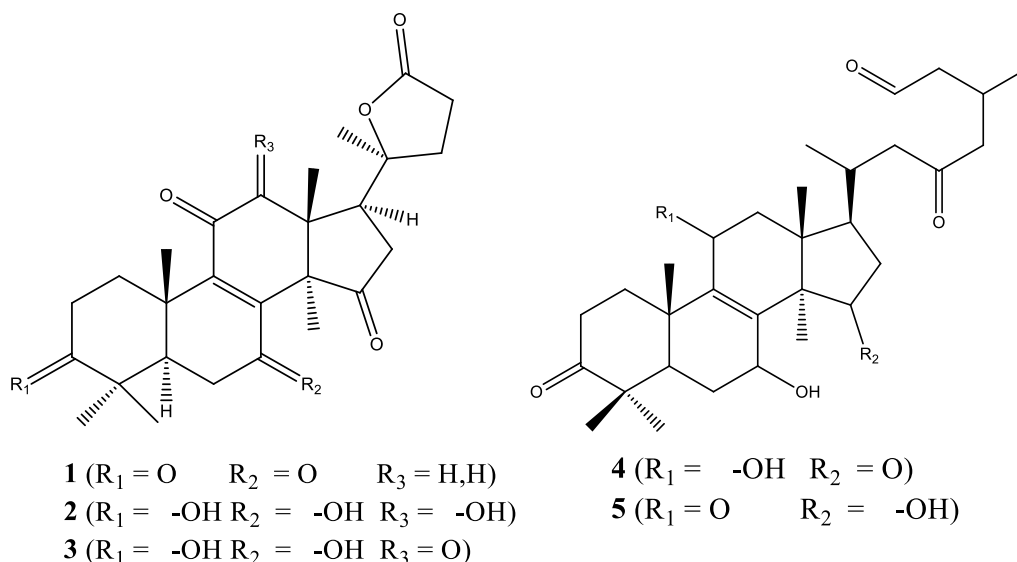
Efek hiperglikemia berkepanjangan dari penderita diabetes dapat mengakibatkan kerusakan sel β -pankreas dan semakin meningkatnya resistensi insulin. Tanpa penanganan yang tepat, diabetes dapat berakibat pada kematian. Penggunaan obat-obatan untuk mengatasi penyakit diabetes juga dapat memberikan efek samping baik dalam jangka panjang ataupun jangka pendek. Obat jenis metformin dapat menyebabkan gangguan pada gastrointestinal seperti diare, mual dan gejala asidosis laktat. Penggunaan metformin dalam jangka panjang dapat mengakibatkan defisiensi vitamin B12 pada penderita. Pemberian sulfonilurea, insulin dan tiazolidindion dapat menyebabkan hipoglikemia yang memberikan efek lebih berbahaya, sehingga diperlukan pengkajian tentang pengobatan diabetes yang lebih aman dan mempunyai efek samping minimum (Chao dan Henry, 2010).

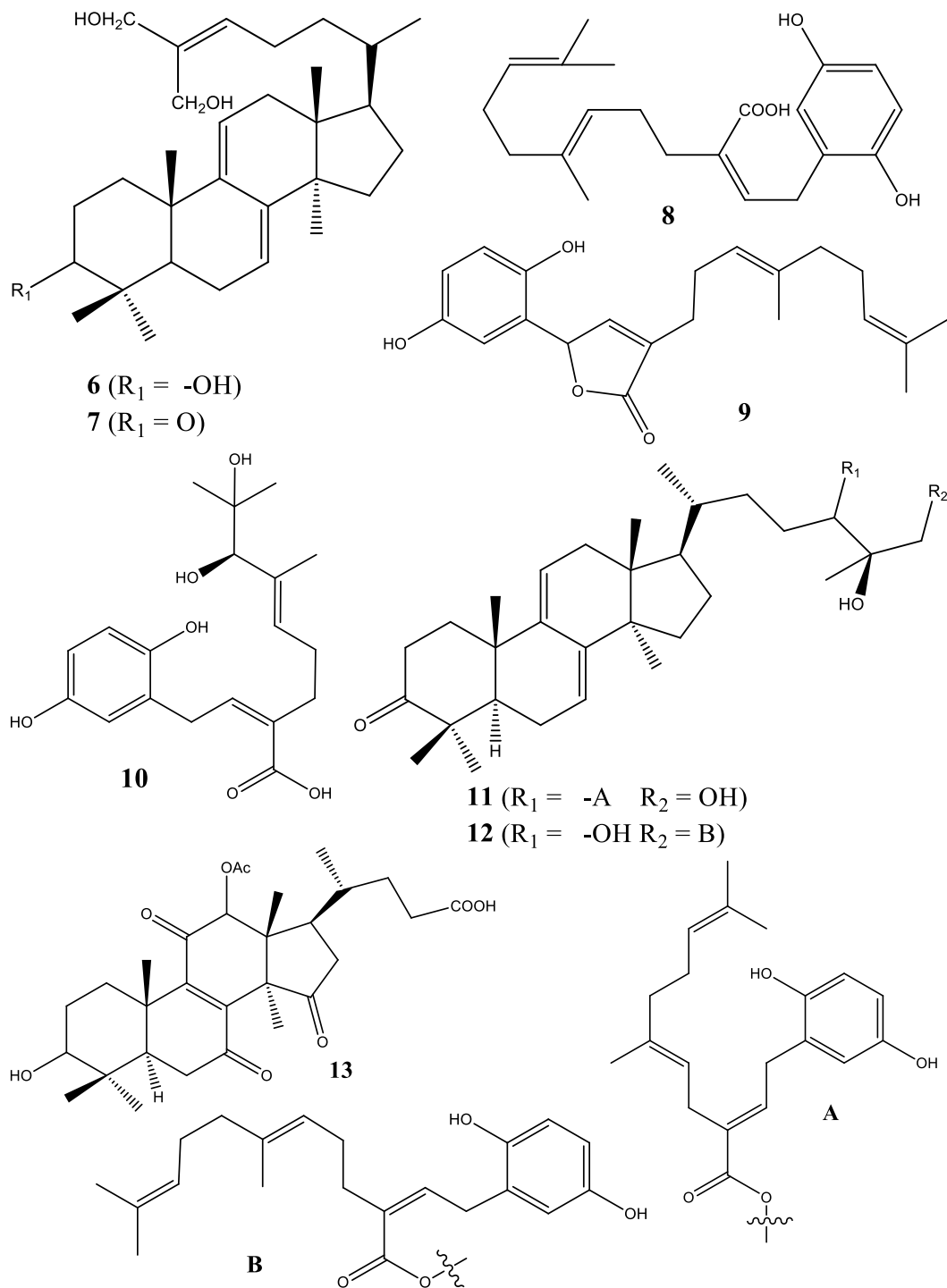
Salah satu pengobatan alternatif untuk menangani diabetes adalah dengan menggunakan obat-obatan yang berasal dari bahan alam. *G. lucidum* merupakan salah satu jamur obat yang termasuk dalam *traditional chinese medicine* (TCM). Selama ribuan tahun jamur ini telah dikenal sebagai jamur obat oleh masyarakat. Aktivitas farmakologis *G. lucidum* disebabkan karena jamur ini mengandung berbagai senyawa yang aktif secara biologis, seperti sterol, polisakarida, protein, asam lemak, glikoprotein dan triterpenoid (Qi *et al.*, 2010). Senyawa-senyawa aktif tersebut, terutama senyawa golongan triterpenoid, polisakarida dan glikoprotein berpotensi digunakan sebagai obat antidiabetes.

α -Glukosidase merupakan enzim yang berperan untuk mengubah golongan karbohidrat yang tidak dapat diserap dalam usus menjadi monosakarida yang dapat diserap usus pada proses pencernaan. Pada penderita diabetes adanya aktivitas

enzim α -glukosidase dapat mengakibatkan peningkatan kadar gula darah karena penyerapan monoskarida (glukosa, galaktosa dan fruktosa) semakin tinggi. Inhibitor enzim α -glukosidase berperan untuk menghambat kerja enzim ini, sehingga dapat memperlambat penyerapan glukosa dan mengontrol kenaikan kadar glukosa dalam darah pada penderita diabetes, terutama setelah makan (Wallace, 1999).

Akarbosa merupakan salah satu obat yang mempunyai aktivitas sebagai inhibitor α -glukosidase. Namun, obat ini dapat menyebabkan diare, kembung dan efek samping lainnya (Olokoba *et al.*, 2012). Sebagai kandidat obat alternatif untuk diabetes, *G. lucidum* diketahui mempunyai aktivitas yang baik sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Beberapa senyawa yang berhasil diisolasi dari *G. lucidum* mempunyai aktivitas hambatan terhadap enzim α -glukosidase (nilai IC_{50}), yaitu : Ganoderlakton B ($81,8 \pm 3,38 \mu\text{M}$) (**1**), D ($91,3 \pm 7,94 \mu\text{M}$) (**2**) dan E ($41,7 \pm 5,17 \mu\text{M}$) (**3**), asam ganoderat Df ($218,8 \mu\text{M}$) (**4**) dan A ($527,6 \mu\text{M}$) (**5**), ganoderol B ($110,1 \mu\text{M}$) (**6**), ganoderiol F ($207,8 \mu\text{M}$) (**7**), ganomisin B ($46,5 \pm 5,1 \mu\text{M}$) (**8**), I ($0,6 \pm 0,12 \mu\text{M}$) (**9**) dan J ($18,1 \pm 2,3 \mu\text{M}$) (**10**), ganoleukonin O ($8,1 \pm 2,9 \mu\text{M}$) (**11**) dan M ($21,5 \pm 2,2 \mu\text{M}$) (**12**) serta asam lusidenik E ($32,5 \pm 3,1 \mu\text{M}$) (**13**) (Chen *et al.*, 2017; Fatmawati *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2015).





2.6 Senyawa Hasil Isolasi *G. lucidum*

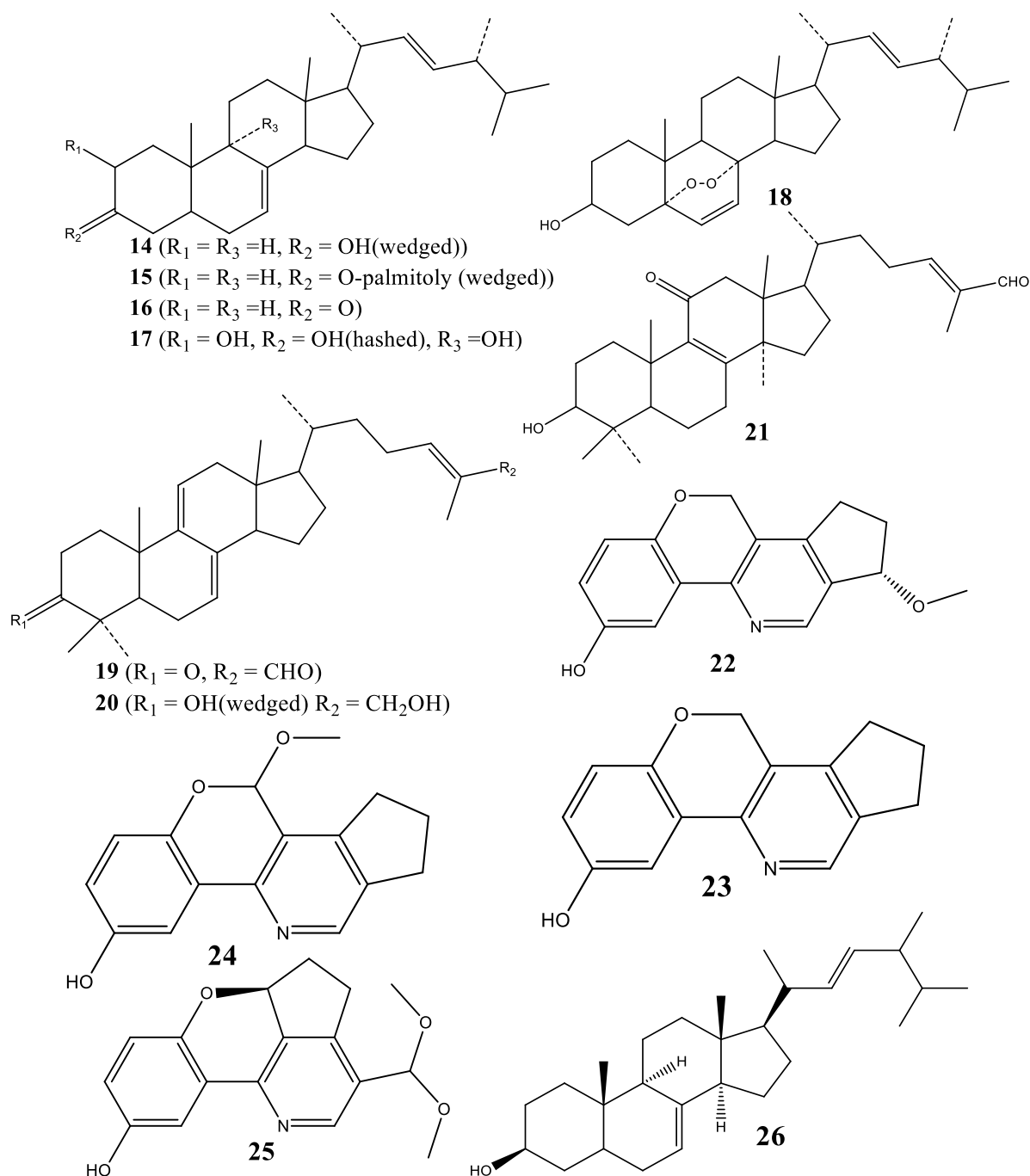
Isolasi senyawa dari bahan alam dimulai dengan proses ekstraksi. Pada proses ekstraksi dapat digunakan untuk mengekstrak jenis-jenis senyawa tertentu yang akan diisolasi dari bahan alam. Senyawa-senyawa dari golongan monosakarida, polisakarida, oligosakarida, fenol, flavonoid dan minyak atsiri dapat

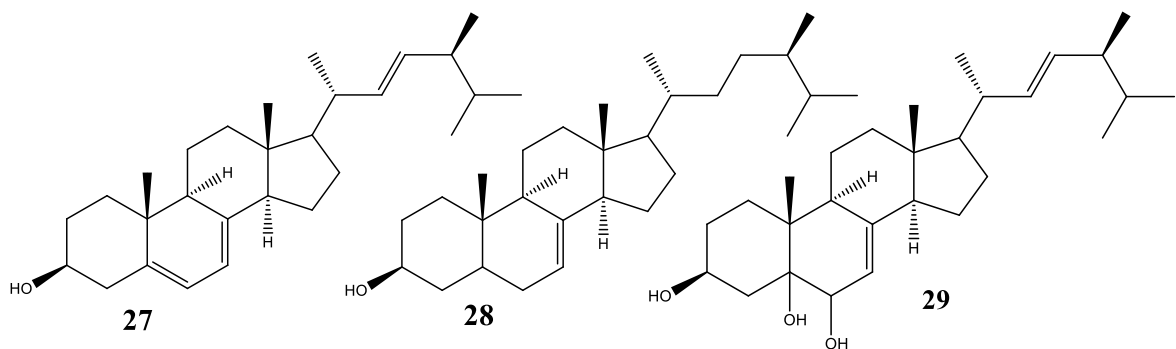
diekstrak dengan metode air subkritis (Zakaria dan Kamal, 2016). Sedangkan ekstraksi dengan metode maserasi dapat digunakan untuk mengekstrak komponen-komponen bahan alam yang lebih bervariasi sesuai dengan pelarut yang digunakan. Metanol dapat mengekstrak hampir semua jenis komponen dalam bahan alam (Cannell, 1998). Golongan senyawa seperti terpenoid, saponin, tanin, lakton, flavon, polifenol dan antosianin dapat diekstrak dengan metanol. Pelarut kloroform pada umumnya hanya dapat mengekstrak senyawa dari golongan terpenoid dan flavonoid. Aseton dapat mengekstrak golongan senyawa fenol dan flavonoid. Sedangkan golongan senyawa yang dapat terekstrak menggunakan pelarut eter adalah alkaloid, terpenoid, kumarin dan golongan asam lemak (Tiwari *et al.*, 2011).

Jamur lingzhi atau *G. lucidum* adalah salah satu spesies dari genus *Ganoderma* yang termasuk dalam golongan jamur obat. Jamur ini telah dipercaya sebagai obat di negara Cina, Jepang, Korea dan negara-negara Asia lainnya selama lebih dari 2000 tahun. Kemampuan *G. lucidum* sebagai obat dibuktikan dengan adanya aktivitas farmakologi dari ekstrak, fraksi maupu komponen penyusun *G. lucidum* seperti antiplasmodium, antiinflamasi, analgesik, antitumor, radioprotektif, antibakteri, antivirus (termasuk anti-HIV), antidiabetes, antioksidan, anti-aging, hipoglikemik dan *hepatoprotective* (Adams *et al.*, 2010; Ko *et al.*, 2008; Sanodiya *et al.*, 2009). Lebih dari 431 senyawa metabolit sekunder telah diisolasi dan diidentifikasi dari berbagai spesies dari genus *Ganoderma*. Senyawa-senyawa tersebut termasuk dalam golongan lanostana, triterpenoid, meroterpenoid, steroid, alkaloid, benzofuran dan turunan senyawa benzenoid (Baby *et al.*, 2015).

Riset mengenai isolasi senyawa-senyawa biokatif yang terkandung dalam *G. lucidum* sudah banyak dilaporkan. Senyawa golongan proteoglikan yang terdiri dari karbohidrat dan protein dengan perbandingan 11,5 : 1. Fraksi proteoglikan ini dinamakan GLIS yang dapat menstimulasi sel β pada limpa hewan uji untuk memproduksi insulin (Zhang *et al.*, 2002). Selain itu, Ko *et al.*, (2008) telah berhasil mengisolasi delapan senyawa (**14-21**) dari golongan triterpenoid dan steroid dari *G. lucidum*. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya ergosta-7,22-dien-3 β -ol (**14**), ergosta-7,22-dien-3 β -il palmiat (**15**), ergosta-7,22-dien-3-on (**16**), ergosta-7,22-dien-2 β ,3 α ,9 α -triol (**17**), 5 α ,8 α -epidioksiergosta-6,22-dien-3 β -ol (**18**), ganoderal A

(19), ganoderal B (20) dan ganoderik aldehyd A (21). Senyawa-senyawa dari golongan alkaloid juga telah berhasil diisolasi dari *G. lucidum*, yaitu lusidimin A-D (22-25) (Zhao *et al.*, 2015). Senyawa-senyawa steroid dari *G. lucidum* terdapat kurang lebih 0,37% dari ekstraknya. Senyawa dari golongan steroid tersebut 43% berupa ergosta-7,22-dien-3- β -ol (26), 36% ergosterol (27) dan sisanya senyawa ergos-7-en-3-ol (28) dan ergosta-7,22-dien-3 β -5 α -6 β -triol (29) (Li *et al.*, 2016).





2.7 Kromatografi

Kromatografi adalah metode pemisahan untuk memisahkan komponen-komponen dari suatu campuran. Pemisahan campuran dilakukan berdasarkan perbedaan distribusi dua fasa, yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam dan fasa gerak mempunyai sifat yang berbeda. Ketika fasa diam dilalui oleh fasa gerak, komponen campuran yang dipisahkan akan terdistribusi sesuai dengan interaksi antara fasa diam dan fasa geraknya. Bila interaksi komponen dalam campuran lebih kuat dengan fasa diam maka komponen tersebut akan cenderung tertahan pada fasa diam. Namun sebaliknya, bila interaksinya lebih kuat dengan fasa gerak, maka komponen tersebut akan terbawa oleh fasa gerak (Miller, 2005). Model pemisahan dengan kromatografi sudah berkembang dengan pesat dan banyak sekali modifikasi dari metode ini. Kromatografi bisa digolongkan berdasarkan jenis interaksinya, wujud fasa gerak-fasa diamnya, bidang yang digunakan dan jenis kromatografi khusus lainnya.

2.7.1 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah salah satu jenis kromatografi yang digunakan kolom sebagai bidang untuk pemisahannya. Pada pemisahan bahan alam menggunakan kromatografi kolom dapat digunakan silika sebagai fasa diam dan fasa gerak berupa cairan. Silika gel merupakan polimer tiga dimensi dengan bentuk tetrahedral dari silikon oksida ($\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Pada kromatografi kolom fasa normal silika yang digunakan bersifat polar dengan gugus hidroksil pada permukaannya. Oleh karena itu, komponen yang bersifat polar cenderung tertahan dalam kolom sedangkan komponen yang bersifat kurang polar akan terelusi terlebih dulu bersama dengan fasa geraknya. Berbeda dengan kromatografi kolom fasa normal.

Pada kromatografi kolom fasa terbalik atau *reverse phase* digunakan fasa diam yang bersifat kurang polar. Silika yang digunakan sebagai fasa diam sudah dimodifikasi dengan rantai karbon panjang pada permukaan silika, sehingga dapat mengurangi kepolaran fasa diam yang digunakan. Pada kromatografi kolom fasa terbalik komponen yang kurang polar akan tertahan lebih lama dalam kolom sedangkan komponen yang bersifat polar akan lebih mudah terelusi dengan pelarut (Cannell, 1998).

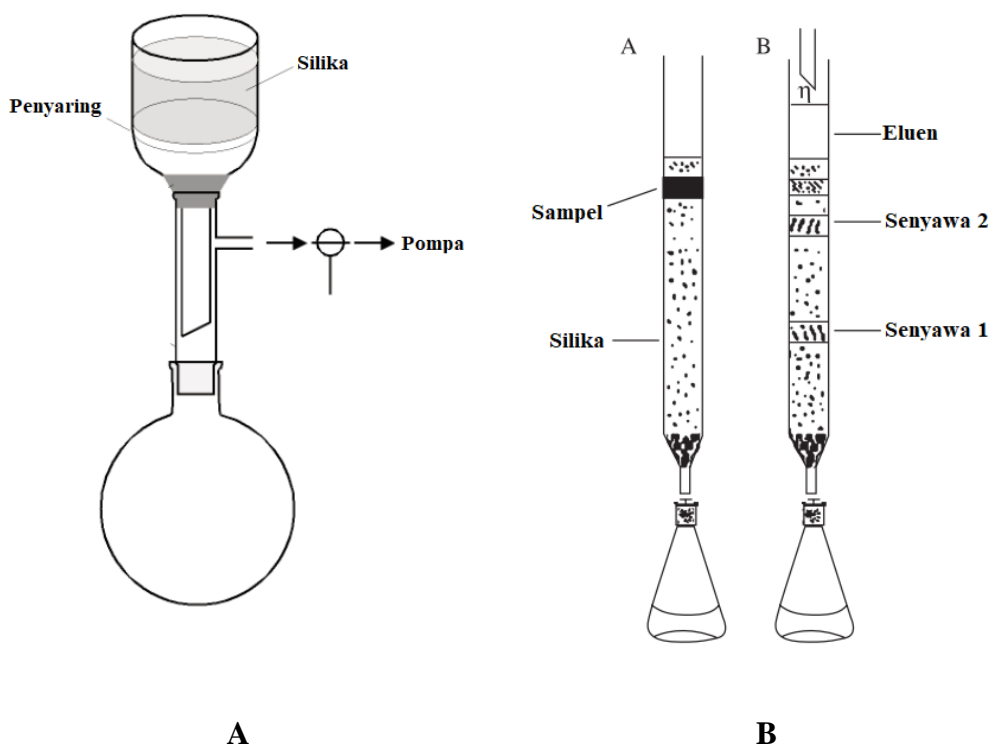
Salah satu jenis modifikasi dari kromatografi kolom adalah kromatografi cair vakum (KCV). Penggunaan silika gel dengan ukuran yang lebih kecil (kerapatan tinggi) dalam kromatografi kolom dapat memberikan resolusi pemisahan yang lebih baik. Namun, proses elusinya akan berjalan sangat lambat sehingga proses fraksinasi berjalan kurang baik. Sehingga pada KCV digunakan alat vakum untuk mempercepat proses elusi. Selain itu, metode ini dapat digunakan untuk memisahkan sampel dengan jumlah yang cukup banyak dengan waktu yang relatif singkat (Pedersen dan Rosenbohm, 2001). Desain alat KCV ditunjukkan pada Gambar 2.3(A) Kromatografi kolom grafitasi (KKG) adalah jenis lain dari kromatografi kolom. KKG memanfaatkan grafitasi untuk elusi senyawa yang akan dipisahkan, sehingga digunakan silika dengan ukuran yang lebih besar. Pada KKG fasa normal umumnya digunakan eluen dengan gradasi kepolaran untuk memisahkan komponen dalam sampel. Sedangkan laju alirnya dapat dikontrol dengan menyesuaikan pembukaan katup pada bagian bawah kolom (Gambar 2.3 (B)) (Cannell, 1998).

2.7.2 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu teknik kromatografi menggunakan lempeng tipis yang dilapisi dengan fasa diam. KLT menggunakan prinsip adsorpsi untuk pemisahannya. Senyawa yang berwarna dapat diamati dengan jelas pemisahannya dengan menggunakan KLT. Namun, pada beberapa senyawa lain yang tidak berwarna perlu digunakan sinar UV atau digunakan reagen penampak noda untuk mengamati pemisahan senyawa tersebut (Cannell, 1998).

Pada KLT umumnya silika digunakan sebagai fasa diam karena silika dapat digunakan untuk memisahkan berbagai jenis senyawa. Selain silika, beberapa KLT

juga digunakan aluminium oksida (memisahkan alkaloid, amina, steroid, terpenoid), selulosa (memisahkan karbohidrat, asam amino dan turunannya), poliamida (memisahkan fenol, flavonoid dan senyawa nitrogen). Pemisahan KLT dapat digunakan untuk menentukan kondisi kromatografi kolom yang sesuai. Terutama untuk menentukan pelarut yang akan digunakan pada kromatografi kolom. Pemisahan yang baik pada KLT memberikan gambaran profil pemisahan pada kromatografi kolom (Cannell, 1998; Wall, 2005). KLT dapat digunakan untuk memprediksi senyawa yang belum diketahui dengan membandingkan nilai R_f menggunakan senyawa standar atau yang sudah diketahui. Pemisahan senyawa dengan menggunakan KLT umumnya digunakan campuran pelarut agar terjadi pemisah yang baik. Pada Tabel 2.2 memberikan informasi dari beberapa campuran pelarut yang umum digunakan untuk memisahkan jenis-jenis senyawa tertentu (Liu, 2011).



Gambar 2.3 Rancangan Kromatografi Cair Vakum (A) dan Kromatografi Kolom Grafitasi (B)

Tabel 2.2 Beberapa Eluen Untuk Pemisahan KLT

Pelarut	Jenis Plat	Senyawa
<i>n</i> -heksana : Etil asetat	Silika gel	Golongan senyawa dengan kepolaran sedang dan rendah
Petroleum eter : Kloroform	Silika gel	Memisahkan senyawa kurang polar (asam sinamat dan turunannya, kumarin)
Kloroform : Aseton	Silika gel	Golongan senyawa polar
Benzena : Aseton	Silika gel	Memisahkan senyawa aromatic
Kloroform : Metanol	Silika gel	Memisahkan senyawa polar (glikosida dan senyawa fenolat)
Butanol : Asam asetat : Air	Silika gel	Memisahkan glikosida dan gula
Metanol : Asetonotril : Air	Silika gel (C ₁₈ /C ₈)	Pelarut KLT <i>reversed phased</i> (senyawa asam/basa)
Metanol : Etanol : Air	poliamida	Memisahkan poliamida
Metanol : Etanol : Air	Selulosa	Memisahkan senyawa sangat polar (glukosida, gula)

2.8 Identifikasi Senyawa

Penentuan struktur organik telah mengalami perkembangan yang pesat. Pendekatan untuk penentuan struktur senyawa organik dapat dilakukan dengan rekasi kimia dan analisis unsur, kombinasi data spektrometer NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*), IR, spektrofotometer UV-Vis dan MS (*Mass Spectroscopy*). Walaupun terkadang juga digunakan dari kristalografi sinar-X kristal tunggal, metode ini tidak selalu digunakan karena tidak selamanya senyawa organik dapat dikristalkan.

Metode spektroskopi mempunyai kelebihan dibandingkan analisis konvensional dengan reaksi kimia dan analisis unsur. Pada metode spektroskopi sampel yang dibutuhkan hanya sedikit, analisis dapat dilakukan dengan waktu singkat dan pada beberapa metode, sampel dapat diperoleh kembali setelah analisis. Selain itu, dari analisis senyawa dengan metode spektroskopi dapat diperoleh informasi tentang struktur senyawa yang lebih terperinci dibandingkan dengan metode laboratorium biasa.

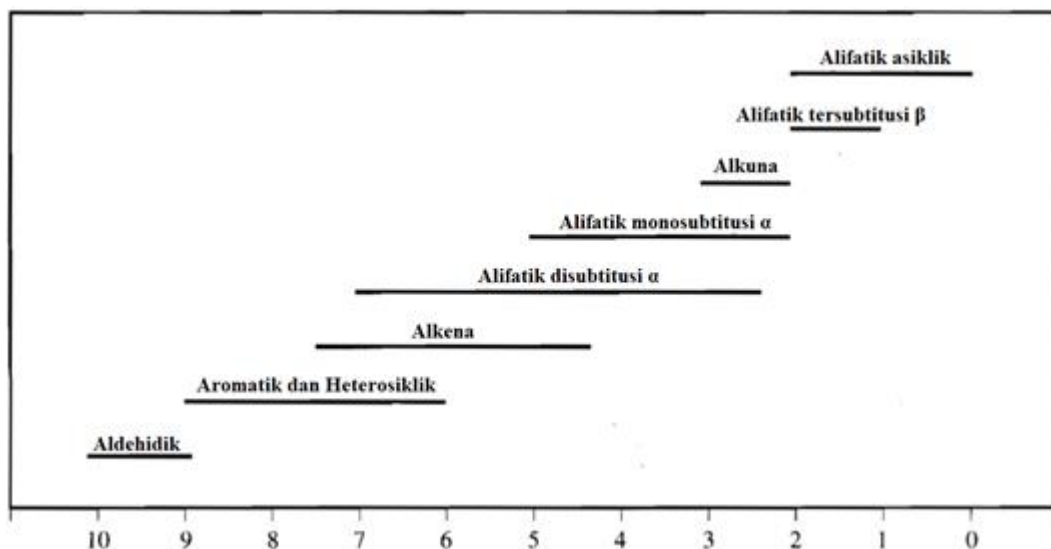
2.8.1 Spektroskopi NMR

Spektroskopi NMR atau resonansi magnetik inti merupakan metode pengukuran yang didasarkan pada penyerapan gelombang radio (foton) oleh inti atom suatu molekul yang dikenai medan magnet kuat. Spektroskopi NMR memberikan gambaran mengenai jenis atom, jumlah, maupun lingkungan atom hidrogen (^1H NMR) maupun karbon (^{13}C NMR). Radiasi sampel oleh sinar gelombang radio menyebabkan inti-inti atom pada sampel mengalami transisi atau resonansi magnetik antar berbagai tingkat keadaan. Inti-inti atom yang tereksitasi tersebut kemudian memancarkan sinyal magnetik, sehingga menghasilkan sinyal-sinyal NMR (Syah, 2016).

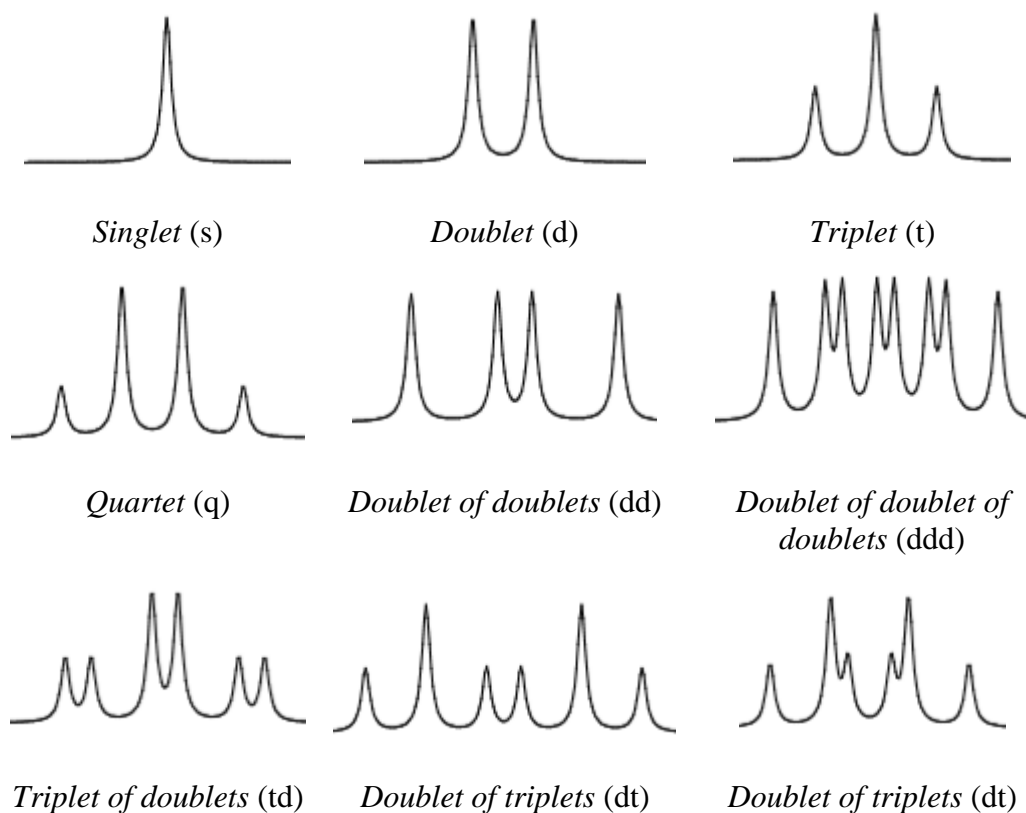
Hasil spektra NMR pada umumnya menampilkan frekuensi atau pergeseran kimia pada sumbu horisontal dan intensitas atau integritas puncak pada sumbu vertikal. Pergeseran kimia pada spektra ^1H NMR umumnya mempunyai rentang 0-15 ppm sedangkan pada ^{13}C NMR mempunyai rentang yang lebih luas yaitu berkisar 0-220 ppm. Berdasarkan data spektrum ^1H NMR dapat digunakan untuk mengetahui jenis-jenis proton pada sampel, perbandingan relatif proton-proton dan banyaknya proton tetangga dari data banyaknya pemisahan tiap sinyal proton yang memberikan sinyal. Gugus fungsi atau lingkungan inti atom pada senyawa dari sampel yang dianalisis diprediksi dari besarnya pergeseran kimia yang khas dari masing-masing gugus fungsi (Gambar 2.4). Pada ^1H NMR adanya pengaruh momen magnet suatu proton dengan inti proton lain dapat menghasilkan multiplisitas pada sinyal ^1H NMR. Multiplisitas atau splitting yang dihasilkan dari kopling spin-spin pada ^1H NMR bervariasi sesuai dengan besarnya kopling konstan (J) dan banyaknya pengaruh proton-proton lain dari lingkungan dalam struktur molekul. Beberapa jenis multiplisitas pada ^1H NMR disajikan pada Gambar 2.5 (Field *et al.*, 2008; Reich, 2010).

Pada spektra ^{13}C NMR, tiap puncak dari spektra ini menunjukkan sinyal tiap karbon yang terdapat pada sampel (Silverstein *et al.*, 2005). Senyawa-senyawa yang mempunyai kerangka dasar yang sama cenderung mempunyai pergeseran kimia pada spektra NMR yang sama. Seperti pada senyawa asam ganoderat γ (**30**) dan δ (**31**) mempunyai kemiripan data pergeseran pada ^1H NMR dan ^{13}C NMR

dengan sedikit perbedaan karena adanya perbedaan konfrontasi gugus hidroksi pada C-7. Pergeseran kimia spektra ^1H NMR dan ^{13}C NMR dari senyawa asam ganoderat γ dan δ disajikan pada Tabel 2.1 dan Tabel 2.2 (Min *et al.*, 2000).



Gambar 2.4 Pergeseran Kimia Beberapa Senyawa Organik pada ^1H NMR



Gambar 2.5 Jenis-Jenis Multiplisitas pada ^1H NMR

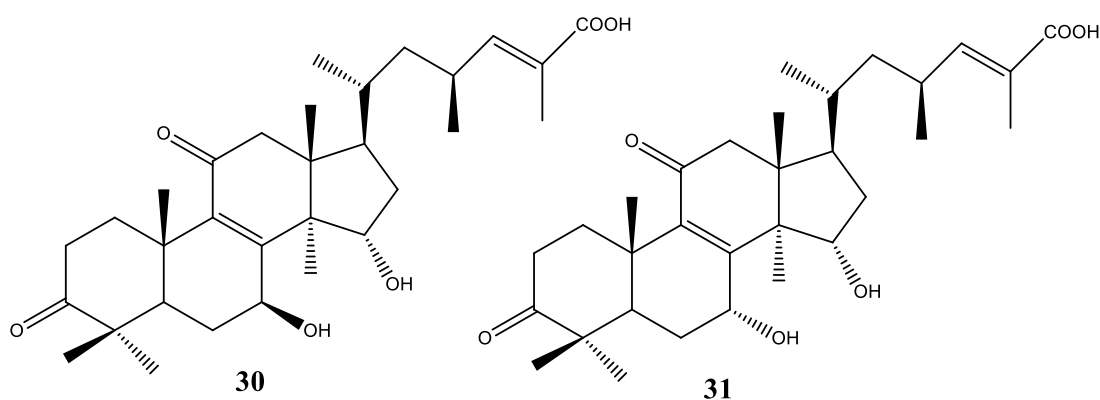
Tabel 2.3 Pergeseran Kimia ^1H NMR Asam Ganoderat γ (**30**) dan δ (**31**)

Posisi ^1H	Senyawa 30 (ppm, Hz)	Senyawa 31 (ppm, Hz)	Posisi ^1H	Senyawa 30 (ppm, Hz)	Senyawa 31 (ppm, Hz)
1-H (α)	1,53 dt (13,5;7,0)	1,7 td (13,9;4,6)	17-H	1,87 m	1,92 m
1-H (β)	2,81 ddd (13,5;8,3;5,9)	2,94 ddd (13,9;8,2;5,9)	18-H ₃	0,94 s	0,82 s
2-H (α)	2,45 dd (15,5;7,0)	2,45 m	19-H ₃	1,26 s	1,02 s
2-H (β)	2,53 ddd (15,5;9,2;5,9)	2,62 ddd (15,5;9,6;5,9)	20-H	1,26 m	1,31 m
5-H	1,72 m	2,09 dd (12,8;2,4)	21-H ₃	0,96 d (6,3)	0,91 d (6,5)
6-H (α)	2,03 m	1,74 m	22-H	1,45 m	1,48 m
6-H (β)	1,71 m	-	22-H	1,62 m	1,58 br t (11,1)
7-H (α)	4,59 dd (9,8;6,6)	-	23-H	4,53 td (9,2;5,1)	4,51 m
7-H (β)	-	4,56 br d (3,4)	24-H	6,61 dd (9,2;1,5)	6,53 br d (8,7)
12-H (α)	2,79 d (15,7)	2,77 d (17,9)	27-H ₃	1,88 d (1,5)	1,87 bt s
12-H (β)	2,49 d (15,7)	2,40 d (17,9)	28-H ₃	1,13 s	1,16 s
15-H (β)	4,70 dd (9,2;6,3)	4,53 br t (5,1)	29-H ₃	1,11 s	1,08 s
16-H (α)	1,77 m	1,90 m	30-H ₃	1,26 s	1,28 s

Keterangan: s = singlet; t = triplet; m = multiplet; dd = duplet of duplet; ddd = duplet of duplet of duplet; dt = duplet of triplet; td = triplet of duplet.

Tabel 2.4 Pergeseran Kimia ^{13}C NMR Asam Ganoderat γ (**30**) dan δ (**31**)

Posisi C	Senyawa 30 (ppm)	Senyawa 31 (ppm)	Posisi C	Senyawa 30 (ppm)	Senyawa 31 (ppm)
1	35,2	34,9	16	35,6	37,5
2	33,9	34,3	17	48,5	49,7
3	218,6	219,5	18	16,6	17,3
4	46,4	46,6	19	18,9	17,5
5	48,3	45,3	20	33,1	33,5
6	28,1	27,7	21	19,0	19,2
7	68,2	66,6	22	42,9	43,3
8	160,4	160,9	23	65,9	66,4
9	139,6	139,7	24	143,2	142,2
10	37,6	37,9	25	128,4	130,2
11	200,3	200,1	26	170,2	172,0
12	51,5	52,0	27	12,3	13,1
13	46,3	47,0	28	27,0	27,5
14	53,7	53,4	29	20,1	20,5
15	71,6	71,7	30	19,0	21,0



2.8.2 Spektrofotometer IR

Inframerah merupakan bagian dari spektrum elektromagnetik dengan rentang bilangan gelombang antara 10000 dan 100 cm^{-1} yang terletak antara spektrum visibel dan *microwave*. Pada penentuan senyawa organik dengan menggunakan spektrofotometer IR (*infrared*), senyawa organik akan menyerap

radiasi IR dan merubahnya menjadi energi vibrasi molekul. Senyawa organik dengan gugus fungsi tertentu akan menyerap pada panjang gelombang yang khas, sehingga pada spektrofotometer IR dapat digunakan untuk memprediksi gugus fungsi yang terdapat pada senyawa organik. Posisi pita pada IR dinyatakan dengan bilangan gelombang (cm^{-1}) yang ditunjukkan dengan puncak-puncak persen transmitansi. Beberapa gugus fungsi pada senyawa organik dengan nilai bilangan gelombang dari spektrofotometer IR ditampilkan pada Tabel 2.3 (Machmudah *et al.*, 2015; Silverstein *et al.*, 2005).

Tabel 2.5 Nilai Bilangan Gelombang pada Gugus Fungsi Senyawa Organik

Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi	Senyawa
3600-3000	O-H <i>stretching</i>	Asam, metanol
2860-2970	C-H _n <i>stretching</i>	Alkil, alifatik, aromatik
1700-1730, 1510-1560	C=O <i>stretching</i>	Keton dan karbonil
1632	C=C	<i>Stretching</i> cincin benzena
1613, 1450	C=C <i>stretching</i>	Kerangka aromatik
1470-1430	O-CH ₃	Metoksil-O-CH ₃
1440-1400	O-H <i>Bending</i>	Asam
1402	C-H <i>Bending</i>	-
1232	C-O-C <i>stretching</i>	Ikatan aril-alkil eter
1215	C-O <i>Stretching</i>	Fenol
1170, 1082	C-O-C <i>Straching Vibration</i>	Kerangka cincin piranosa
1108	O-H <i>Association</i>	C-OH
1060	C-O <i>stretching</i> dan C-O <i>deformation</i>	C-OH (etanol)
700-900	C-H	Hidrogen aromatik
700-650	C-C <i>Straching</i>	-

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi gelas kimia, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, kaca arloji, pipet ukur, pipet volum, pipet mikro, pipet tetes, pipet kapiler, corong pisah, botol vial, *chamber*, labu alas bulat, kolom kromatografi, gelas pengaduk, oven, kertas saring, neraca analitik, penggiling, pinset, plastik wrap, aluminium foil, lampu UV, plat KLT dengan silika gel 60 GF₂₅₄ Merck, kuvet UV-Vis, *rotary vacuum evaporator*, spektrofotometer UV-Vis Genesys 10S Thermo Scientific, *microwell plate reader*, *Vortex*, spektrofotometer IR, Spektrometer NMR JEOL *Resonance* ¹H dan ¹³C NMR, alat uji titik leleh *fisher john* dan inkubator.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah jamur lingzhi (*G. lucidum*), *aqua bidestilation*, pelarut teknis *n*-heksana, etil asetat, metanol dan diklorometana dari Jasarendra Jawisesa, PT. Pelarut *pro analyst* kloroform (Merck), DMSO (Merck), etanol (Merck), metanol (Merck). Silika gel 60 GF₂₅₄ (Merck) untuk KKG, silika gel 60 GF₂₅₄ (Merck) untuk KCV, penampak noda serum sulfat, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma Aldrich), *Glucose kit* (Human), α -glukosidase (*intestinal acetone powders from rat*) (Sigma Aldrich), akarbosa (Sigma Aldrich), sukrosa, kloramfenikol (Sigma Aldrich), *buffer* natrium fosfat, media NB dan resazurin *sodium salt* Sigma Aldrich.

3.2 Prosedur Isolasi Senyawa

3.2.1 Ekstraksi

Proses ekstraksi *G. lucidum* dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Fatmawati *et al.*, (2009) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 800 gram serbuk kering *G. lucidum* dimaserasi dengan 12 liter metanol dalam bejana maserasi selama 3x24 jam. Hasil maserasi berupa cairan berwarna coklat kemudian

dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan dihasilkan 32,9 gram ekstrak pekat *G. lucidum* berwarna coklat kehitaman.

3.2.2 Isolasi Senyawa

Sebanyak 25 gram ekstrak *G. lucidum* difraksinasi menggunakan metode KCV dengan peningkatan kepolaran pelarut : *n*-heksana, diklorometana, etil asetat dan metanol. Pada tiap-tiap fraksi yang diperoleh dimonitoring dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Fraksi-fraksi dari hasil KLT dengan R_f (*Retardation factor*) yang relatif sama digabungkan dan diperoleh 16 fraksi gabungan (F1-F16). Pada fraksi F9 dengan massa 1,94 gram dipisahkan padatan berwarna putih dan cairan berwarna kuning. Padatan putih dilakukan rekristalisasi dan diperoleh padatan kristal putih dengan massa 0,25 gram. Setelah direkristalisasi masih belum diperoleh senyawa murni, sehingga pemisahan dilanjutkan dengan kolom kromatografi. Pada fraksi 4 dari hasil KKG menggunakan eluen etil asetat : diklorometana : *n*-heksana (1:3:6) diperoleh noda tunggal. Setelah dilakukan rekristalisasi diperoleh padatan kristal dengan massa 73,2 mg.

Hasil pemisahan fraksi F9 dinamai subfraksi F9.2 mempunyai massa 1,03 gram. Selanjutnya, fraksi F2.2, F3 dan subfraksi F9.2 digabung dan dilakukan kolom kromatografi grafitasi (KKG) menggunakan silika gel 60 dengan gradien peningkatan kepolaran eluen *n*-heksana : etil asetat (100:0 → 0:100) dan metanol. Fraksi-fraksi hasil KKG dimonitoring dengan KLT dan fraksi dengan R_f yang relatif sama digabung sehingga diperoleh 23 fraksi gabungan (G1-G23). Kemudian Subfraksi G12 difraksinasi lebih lanjut dengan KKG menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (100:0 → 0:100) untuk menyederhanakan senyawanya dan diperoleh 12 fraksi gabungan (H1-H12). Hasil KLT fraksi H8 dengan massa 0,15 gram mempunyai pola noda yang sederhana. Berdasarkan hasil monitoring dengan KLT fraksi H8 dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan KKG menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (7:3). KKG fraksi H8 dihasilkan 5 fraksi gabungan (I1-I5) dan diperoleh noda tunggal pada subfraksi I4 dengan massa 15,5 mg (senyawa 2).

Senyawa yang telah murni ditandai dengan adanya noda tunggal pada plat KLT. Kemudian dilakukan uji kemurnian berupa uji KLT dengan tiga eluen

berbeda, KLT dua dimensi dan titik leleh. Senyawa murni yang dihasilkan kemudian dianalisis menggunakan spektrometer ^1H NMR, ^{13}C NMR dan IR untuk diketahui struktur senyawanya (Syah, 2016).

3.3 Prosedur Uji Bioaktivitas

3.3.1 Uji Aktivitas Antibakteri

Proses uji antibakteri dimulai dengan pembuatan larutan uji dengan cara melarutkan 10 mg sampel uji ke dalam 1 mL DMSO. Selanjutnya, sampel diencerkan menggunakan larutan normal saline menjadi beberapa konsentrasi pada *96-microwell plate* sebanyak 50 μL pada masing-masing *well-plate*. Kemudian ditambahkan 30 μL medium NB, 10 μL larutan resazurin dan 10 μL suspensi bakteri 10^4 CFU/mL pada tiap-tiap *well-plate* yang sebelumnya telah diisi dengan larutan uji. Sampel uji diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C . Kontrol positif digunakan kloramfenikol sedangkan kontrol negatif digunakan DMSO. (Sarker *et al.*, 2007).

3.3.2 Uji Antioksidan: Penghambatan DPPH

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode penghambatan DPPH berdasarkan metode yang dilakukan oleh Hidayati *et al.*, (2017). Masing-masing sampel uji sebanyak 10 mg dilarutkan kedalam 1 mL metanol. Selanjutnya, sebanyak 33 μL larutan sampel ditambahkan kedalam 1 mL larutan uji DPPH (6×10^{-5} M) dan diinkubasi selama 20 menit. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Tingkat penghambatan sampel dihitung dengan Persamaan 3.1:

$$\text{Inhibisi (\%)} = ((A_1 - A_2) / A_1) \times 100\% \dots \dots \dots (3.1)$$

Ket. A_1 = absorbansi blanko; A_2 = absorbansi sampel

3.3.3 Uji Antidiabetes: Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Paengujian aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dimulai dengan membuat 4 jenis larutan reaksi uji. (1) Larutan reaksi enzim blank dibuat dengan menambahkan 10 μL DMSO, 80 μL *glucose kit*, 50 μM buffer fosfat dan 20 μM larutan α -glukosidase. Larutan (2) dibuat seperti larutan (1) dengan menambahkan 20 μM substrat maltosa dan 30 μM buffer fosfat. (3) Larutan reaksi sampel blank

dibuat dengan mencampurkan 10 μL larutan sampel, 80 μL *glucose kit*, 50 μM buffer fosfat dan 20 μM larutan α -glukosidase. Larutan (4) dibuat dengan 10 μL larutan sampel, 80 μL *glucose kit*, 30 μM buffer fosfat, 20 μM substrat maltosa dan 20 μM larutan α -glukosidase. Masing-masing larutan tersebut dimasukkan pada *96-microwell plate*. Selanjutnya, campuran larutan diinkubasi selama 10 menit pada temperatur 37°C dan diukur absorbansinya pada 490 nm dengan *96-microwell plate reader*. Untuk menentukan aktivitas penghambatan α -glukosidase digunakan Persamaan 3.2 (Natural Product Research Unit, 2018):

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{(C_k - C_s)}{C_k} \times 100\% \dots\dots\dots (3.2)$$

Dimana C_k merupakan absorbansi larutan (2) – absorbansi larutan (1) dan C_s merupakan absorbansi larutan (4) – absorbansi larutan (3).

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Pendahuluan

Sebanyak 20 gram serbuk kering *G. lucidum* diekstraksi dengan metode maserasi dengan menggunakan berbagai macam pelarut : *n*-heksana, diklorometana, etil asetat, metanol dan air. Maserasi dilakukan selama 1x24 jam menggunakan 300 mL masing-masing pelarut dengan sesekali dilakukan pengadukan. Ekstrak hasil maserasi dikeringkan dari pelarutnya dan diperoleh persen rendemen dari masing-masing ekstrak. Ekstrak hasil maserasi *G. lucidum* disajikan pada Tabel 4.1. Profil komponen dari masing-masing ekstrak dipantau dengan KLT menggunakan eluen etil asetat : diklorometana : *n*-heksana (1:1:1) disajikan pada Gambar 4.1.

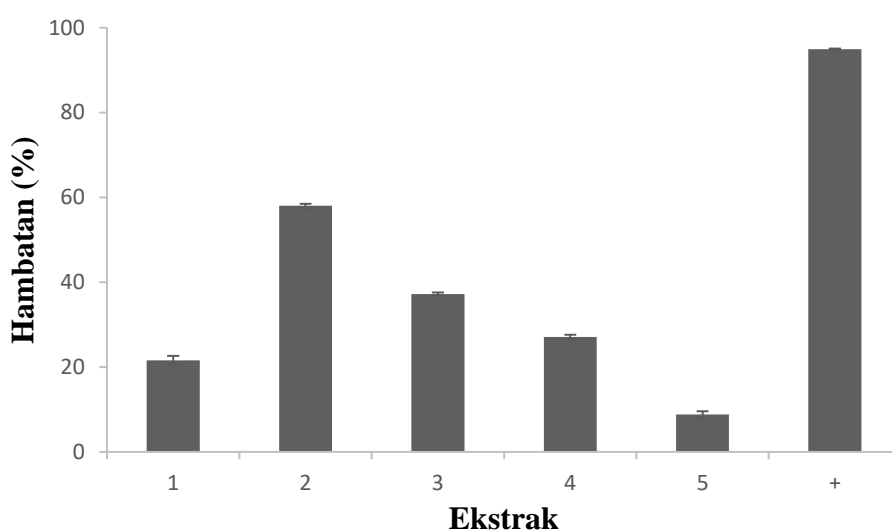
Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi *G. lucidum* dengan Berbagai Pelarut

No.	Ekstrak	Rendemen	Keterangan
1	<i>n</i> -heksana	0,67%	Padatan, kekuningan
2	Diklorometana	1,40%	Padatan, berwarna kuning
3	Etil asetat	1,71%	Padatan, merah kecoklatan
4	Metanol	3,19%	Padatan, coklat kehitaman
5	Air	3,02%	Serbuk, coklat tua



Gambar 4.1 Profil KLT Ekstrak *G. lucidum* dengan Pelarut Air(1), Metanol(2), Etil Asetat(3), Diklorometana(4) dan *n*-heksana(5)

Masing-masing ekstrak dari hasil maserasi juga diuji aktivitas antioksidannya dengan metode hambatan terhadap radikal DPPH. Uji aktivitas sebagai antioksidan dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Hidayati *et al.*, (2017). Hasil pengujian ekstrak *G. lucidum* sebagai antioksidan terhadap DPPH menunjukkan bahwa ekstrak metanol mempunyai aktivitas paling tinggi dalam menghambat radikal DPPH. Hal ini ditunjukkan dengan nilai persen hambatan dari masing-masing ekstrak secara berurutan 56,12% (metanol), 37,19% (etil asetat), 27,10% (diklorometana), 21,58% (air) dan 8,77% (*n*-heksana) (Gambar 4.2).



Gambar 4.2 % hambatan DPPH pada konsentrasi 319,46 $\mu\text{g/mL}$ dari ekstrak 1 (air); 2 (metanol); 3 (etil asetat); 4 (diklorometana); 5 (*n*-heksana) dan; Kontrol (+) (asam galat).

Pada hasil uji pendahuluan ekstrak metanol mempunyai rendemen ekstrak paling tinggi yaitu sebesar 3,19% diikuti oleh ekstrak air, etil asetat, diklorometana dan *n*-heksana berturut-turut sebesar 3,02%, 1,71%, 1,40% dan 0,67%. Besarnya hasil ekstrak metanol dikarenakan metanol dapat melarutkan sebagian besar komponen pada bahan alam dibandingkan dengan pelarut etil asetat, diklorometana dan *n*-heksana (Cannell, 1998). Selain itu, dari hasil pengamatan menggunakan KLT dari masing-masing ekstrak hasil maserasi pada Gambar 4.1 ekstrak metanol mempunyai kemiripan pola noda KLT dengan ekstrak etil asetat, diklorometana dan *n*-heksana. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol juga mempunyai kemiripan komponen yang terkandung pada ekstrak dengan pelarut lain. Selain itu,

hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol mempunyai kemampuan inhibisi terhadap radikal DPPH paling tinggi dibandingkan ekstrak lainnya (Gambar 4.2). Sehingga pada penelitian ini digunakan metanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi dan isolasi senyawa metabolit sekunder dari *G. lucidum*.

4.2 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

4.2.1 Ekstraksi

G. lucidum yang digunakan pada penelitian ini berasal dari pebudidaya jamur di daerah Kebumen, Jawa Tengah. Jamur tersebut dideterminasi di Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya-LIPI untuk memastikan suku, genus dan spesiesnya (Lampiran 1).

G. lucidum dikering anginkan untuk mengurangi kadar air. Jamur yang sudah kering selanjutnya dipotong kecil-kecil dan dihaluskan menggunakan mesin penggiling. Sebanyak 800 gram serbuk kering *G. lucidum* dimasukkan bejana maserasi lalu ditambahkan 12 liter pelarut metanol untuk proses maserasi. Proses ekstraksi dilakukan selama 24 jam selama 3 hari dengan pemantauan hasil maserasi menggunakan KLT. Pada Gambar 4.3 hasil pemantauan menggunakan KLT menunjukkan bahwa hasil ekstraksi ketiga mempunyai noda KLT yang semakin memudar dan sudah tidak efektif lagi untuk dilakukan proses ekstraksi.

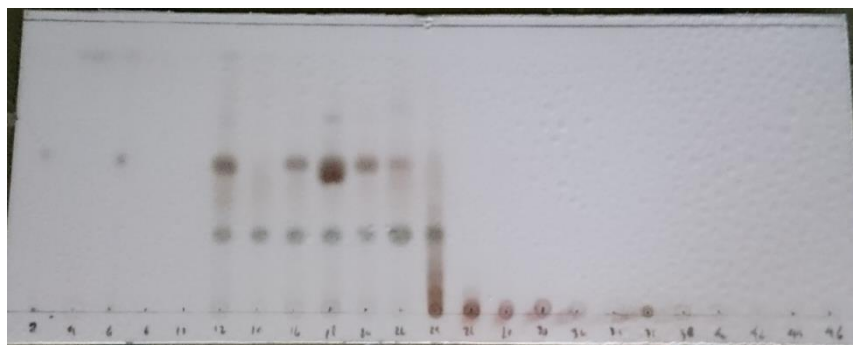


Gambar 4.3 Profil KLT Hasil Maserasi *G. lucidum* dengan Eluen Metanol : Diklorometana (1:1)

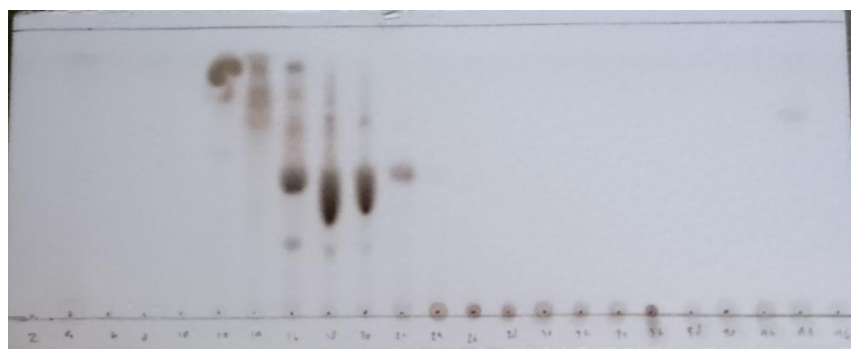
Hasil maserasi berupa cairan berwarna coklat kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh 32,9 gram ekstrak pekat *G. lucidum* berupa pasta berwarna coklat kehitaman dengan rendemen sebesar 4,11%.

4.2.2 Isolasi dan Identifikasi Senyawa 1

Isolasi senyawa 1 dari *G. lucidum* dilakukan dengan proses kromatografi menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV). Pertama dilakukan impreksinasi sampel untuk proses KCV. Sebanyak 25 gram ekstrak pekat *G. lucidum* dilarutkan dengan sedikit pelarut metanol hingga terbentuk larutan kental. Selanjutnya, larutan ekstrak pekat ditambahkan dalam 50 gram silika gel. Campuran silika gel dan ekstrak pekat dicampur hingga homogen dan didiamkan sampai kering. Sampel imprek dibagi menjadi 2 bagian dan dimasukkan kedalam kolom KCV berdiameter 9 cm dengan tinggi kolom 6 cm (massa silika 140 gram). Proses fraksinasi dilakukan dengan peningkatan kepolaran pelarut menggunakan eluen *n*-heksana, diklorometana, etil asetat dan metanol.



A



B

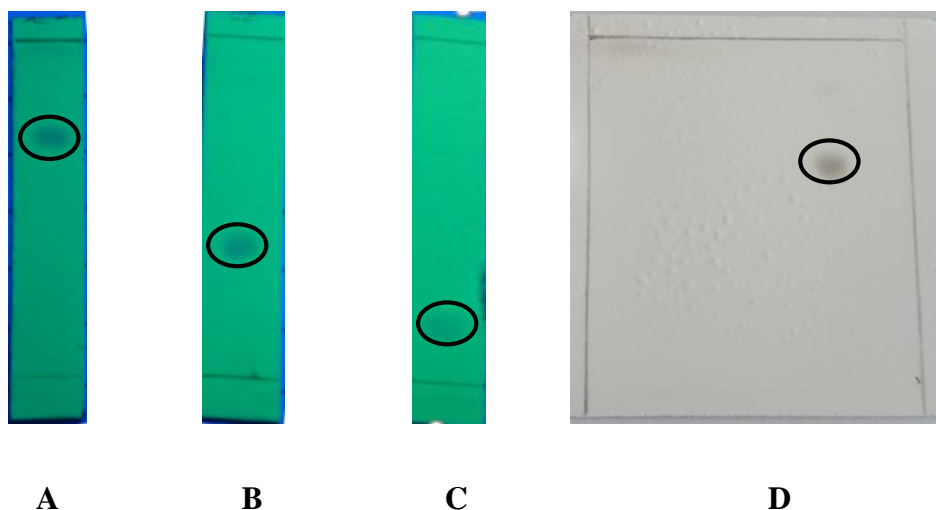
Gambar 4.4 Monitoring dengan KLT Hasil KCV (A) Sampel 1 dan (B) Sampel 2 dengan Eluen Etil Asetat : *n*-heksana (3:7)

Masing-masing fraksi hasil KCV dimonitoring menggunakan KLT menggunakan eluen etil asetat : *n*-heksana (3:7) (Gambar 4.4). Fraksi-fraksi dari hasil monitoring KLT yang mempunyai kesamaan noda relatif sama digabungkan dan diperoleh 16 frakasi gabungan F1 – F16.

Fraksi F9 (1,94 gram) terdapat senyawa dengan kelarutan rendah pada metanol. Fraksi F9 berupa cairan berwarna kuning. Saat pelarut pada fraksi F9 berkurang mulai terbentuk kristal berwarna putih. Selanjutnya, dipisahkan antara padatan kristal berwarna putih (F9.1) dan cairan berwarna kuning (F9.2) kemudian dilakukan monitoring dengan KLT menggunakan eluen etil asetat : *n*-heksana (3:7) (Gambar 4.5). Pada hasil KLT menunjukkan fraksi F9.2 masih mempunyai banyak campuran senyawa.



Gambar 4.5 Hasil Monotiring KLT fraksi (A) F9.1 dan (B) F9.2



Eluen:

A = Etil asetat : diklorometana (1:9) **D** = (1) Diklorometana : *n*-heksana (9:1)
B = Etil asetat : *n*-heksana (2:8) (2) Etil asetat : diklorometana (1:9)
C = Diklorometana : *n*-heksana (6:4)

Gambar 4.6 Hasil KLT 3 eluen dan 2D Fraksi F9.1

Pada Gambar 4.5 hasil KLT dari fraksi F9.1 sudah menunjukkan noda yang sederhana. Untuk menghilangkan pengotor yang terdapat pada fraksi F9.1 dilakukan rekristalisasi. Hasil rekristalisasi berupa padatan kristal putih dengan massa 0,25 gram. Uji kemurnian fraksi F9.1 dilakukan dengan KLT menggunakan 3 eluen, KLT 2D dan uji titik leleh (Gambar 4.6).

Berdasarkan hasil uji KLT 3 eluen dan KLT 2D yang menunjukkan satu noda diduga fraksi F9.1 sudah murni. Pada uji titik leleh, fraksi F9.1 mulai meleleh pada temperatur 136°C dan meleleh sempurna pada temperatur 137°C. Fraksi F9.1 kemudian diidentifikasi strukturnya dengan menggunakan ^{13}C NMR. Hasil perbandingan nilai pergeseran kimia ^{13}C NMR Fraksi F9.1 dengan senyawa ergosterol (**27**) yang berhasil diisolasi oleh Alexandre *et al.*, (2017) mempunyai kemiripan nilai pergeseran kimia (Tabel 4.2). Berdasarkan data pergeseran kimia ^{13}C NMR antara 119 – 141 menunjukkan adanya karbon dengan ikatan tak jenuh. Nilai tersebut berasal dari C-5 (139,9), C-6 (119,7), C-7 (116,4), C-8 (141,5), C-22 (135,7) dan C-23 (132,0). Puncak dengan pergeseran kimia yang cukup besar (70,6) menunjukkan adanya karbon yang mengikat gugus hidroksi pada posisi C-3. Beberapa puncak yang menunjukkan adanya pergeseran kimia dari gugus metil pada C-18 (12,2), C-19 (16,4), C-21 (21,2), C-26 (20,0), C-27 (19,8) dan C-28 (17,7). Sehingga fraksi F9.1 diduga adalah senyawa ergosterol (**27**). Namun, pada spektra ^{13}C NMR masih terdapat puncak-puncak pengotor yang menunjukkan adanya senyawa selain ergosterol (Lampiran 3). Sehingga dilanjutkan proses pemurnian pada fraksi F9.1 dengan KKG.



Gambar 4.7 KLT Fraksi Gabungan Hasil KCV F9.1 dengan Eluen Etil Asetat : Diklorometana : n-heksana (1:3:6)

Tabel 4.2 Data Pergeseran Kimia ^{13}C NMR Ergosterol dan Fraksi F9.1

Posisi C	^{13}C NMR (ppm)		Posisi C	^{13}C NMR (ppm)	
	Ergosterol	F9.1		Ergosterol	F9.1
1	38,4	38,5	15	22,9	23,0
2	31,9	32,1	16	28,3	28,4
3	70,5	70,6	17	55,7	55,8
4	40,8	40,9	18	12,1	12,2
5	139,8	139,9	19	16,3	16,4
6	119,6	119,7	20	40,3	40,3
7	116,3	116,4	21	21,1	21,2
8	141,4	141,5	22	135,6	135,7
9	46,2	46,3	23	131,9	132,0
10	37,1	37,1	24	42,9	43,0
11	21,1	21,2	25	33,1	33,2
12	39,1	39,2	26	19,9	20,0
13	42,9	43,0	27	19,7	19,8
14	54,6	54,6	28	17,6	17,7

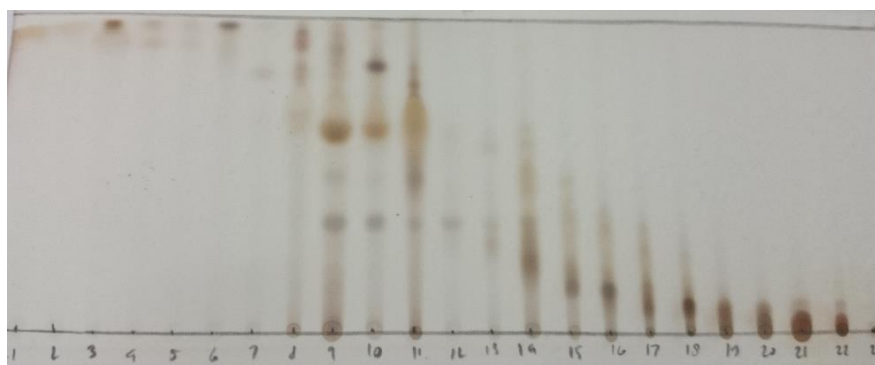
Pemisahan fraksi F9.1 dengan KKG menggunakan fasa diam silika gel dengan eluen etil asetat : diklorometana : *n*-heksana (1:3:6). Hasil fraksi-fraksi dari pemisahan tersebut dimonitoring dengan KLT. Fraksi yang mempunyai Rf yang hampir sama digabung, sehingga diperoleh 6 fraksi gabungan (Gambar 4.7).

Fraksi 4 (0,16 gram) direkristalisasi dan diperoleh padatan kristal dengan massa 73,2 mg. Padatan hasil rekristalisasi diuji kemurnian dengan KLT 3 eluen dan 2D (Gambar 4.8). Selanjutnya, senyawa 1 hasil rekristalisasi dilakukan uji ^1H NMR dan analisis gugus fungsi dengan IR (Lampiran 5). Hasil analisis senyawa 1 dengan IR menunjukkan adanya gugus hidroksida (-OH) dengan adanya serapan pada daerah $3421,83\text{ cm}^{-1}$. Gugus metilen (-CH₂) dan metin (-CH) dari kerangka ergosterol ditunjukkan dengan adanya pita serapan kuat pada daerah $3100\text{-}2990\text{ cm}^{-1}$. Absorbansi pada daerah dekat $1649,19\text{ cm}^{-1}$ merupakan daerah serapan gugus karbon berikatan rangkap. Data pergeseran ^1H NMR pada daerah 3,64 ppm

5 cm. Proses fraksinasi digunakan eluen diklorometana : *n*-heksan (0:100→10:90), etil asetat : *n*-heksana (3:97→100:0) dan metanol. Fraksi-fraksi hasil KKG dimonitoring dengan KLT, kemudian fraksi dengan pola noda yang mirip digabung dan dihasilkan 23 fraksi gabungan (G1-G23). KLT fraksi gabungan disajikan pada Gambar 4.9.

Tabel 4.3 Data Pergeseran Kimia ¹H NMR Ergosterol dan Senyawa 1

Posisi C	¹ H NMR (ppm)		Posisi C	¹ H NMR (ppm)	
	Ergosterol	Senyawa 1		Ergosterol	Senyawa 1
1			15		
2			16		
3	3,64m (1H)	3,64m (1H)	17		
4			18	0,95s (3H)	0,94s (3H)
5			19	0,65s (3H)	0,63s (3H)
6	5,58dd (J= 5,5; 3,0 Hz, 1H)	5,57dd (J= 5,6; 2,4 Hz, 1H)	20		
7	5,38dd (J= 5,4; 2,9 Hz, 1H)	5,38dd (J= 5,6; 2,4 Hz, 1H)	21	1,04d (J= 6,6 Hz, 3H)	1,03d (J= 6,8 Hz, 3H)
8			22	5,20m (1H)	5,18m (1H)
9			23	5,21m (1H)	5,20m (1H)
10			24		
11			25		
12			26	0,84d (J= 6,7 Hz, 3H)	0,84d (J= 6,8 Hz, 3H)
13			27	0,82d (J= 6,7 Hz, 3H)	0,81d (J= 6,8 Hz, 3H)
14			28	0,92d (J= 6,6 Hz, 3H)	0,90d (J= 6,8 Hz, 3H)



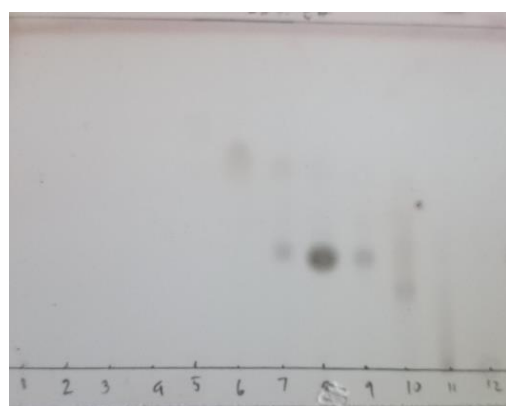
Gambar 4.9 KLT Fraksi Gabungan (G1-G23) Hasil KKG dengan Eluen Etil Asetat : *n*-heksana (3:7)

Fraksi G12 (0,36 gram) mempunyai pola noda yang sederhana. Sehingga fraksi G12 dipilih untuk proses pemisahan lanjutan dengan KKG. Fraksi G12 di impregnasi dengan 0,7 gram silika gel. Kemudian dimasukkan dalam kolom KKG dengan tinggi kolom 12 cm. Proses elusi digunakan campuran eluen etil asetat : *n*-heksana (0:100→40:60) dan dihasilkan 12 fraksi gabungan H1-H12 (Gambar 4.10 (A)).

Pada fraksi H8 (0,15 gram) sudah menunjukkan noda sederhana, namun masih terdapat sedikit pengotor di bagian atas. Maka fraksi H8 dilakukan proses pemisahan dengan KKG dengan eluen etil asetat : *n*-heksana (3:7). Setelah fraksi H8 diimpregnasi dalam 0,3 gram silika gel. Kemudian disubjekkan dalam kolom KKG dan dihasilkan 32 fraksi. Tiap fraksi hasil KKG dimonitoring menggunakan KLT dan fraksi-fraksi dengan pola noda yang mirip digabung, sehingga diperoleh fraksi I1-I5 (Gambar 4.10 (B)) (EA3). Berdasarkan hasil KLT fraksi I4 sudah menunjukkan noda tunggal. Selanjutnya, fraksi I4 dilakukan uji kemurnian dengan KLT 3 eluen dan KLT 2D (Gambar 4.10 (C) dan (D)). Hasil KLT 3 eluen dan 2D menunjukkan adanya noda tunggal yang diduga fraksi I4 (15,5 mg) sudah murni. Senyawa murni dari fraksi I4 (senyawa 2) dilakukan elusidasi struktur dengan menggunakan ^{13}C NMR dan ^1H NMR (Tabel 4.4).

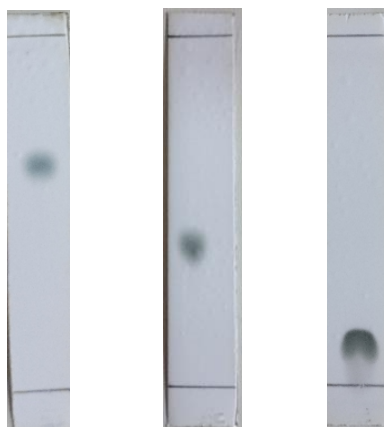
Berdasarkan Tabel 4.4 data pergeseran kimia hasil analisis ^{13}C NMR dan ^1H NMR senyawa 2 mempunyai kesamaan dengan pergeseran kimia senyawa ergosterol peroksida (**18**) (Bridon *et al.*, 1997; Yu *et al.*, 1994). Pergeseran kimia ^{13}C NMR dari senyawa senyawa 2 pada C-6, C-7, C-22 dan C-23 berturut-turut

sebesar 130,8; 135,5; 135,2 dan 132,3 ppm menunjukkan nilai pergeseran yang besar karena adanya karbon dengan ikatan tak jenuh. Puncak 66,5 ppm menunjukkan adanya kerangka karbon yang mengikat gugus hidroksil pada senyawa 2. Kemudian pergeseran kimia yang cukup besar pada puncak 79,5 dan 82,2 ppm berasal dari karbon 5 dan 8 yang mengikat gugus peroksida. Data-data tersebut didukung dengan nilai pergeseran kimia dari literatur pada Tabel 4.4. Selanjutnya, analisis spektra ^1H NMR pada pergeseran kimia sekitar 0,6 hingga 2,4 ppm menunjukkan kekhasan dari kerangka steroid.



A

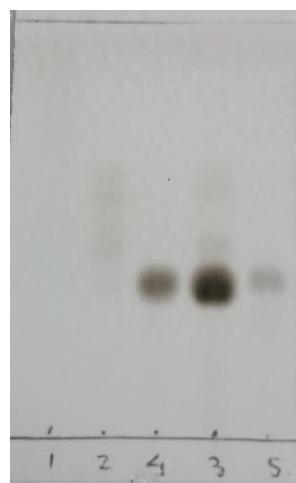
Eluen : Etil asetat : *n*-heksana (3:7)



(1) (2) (3)

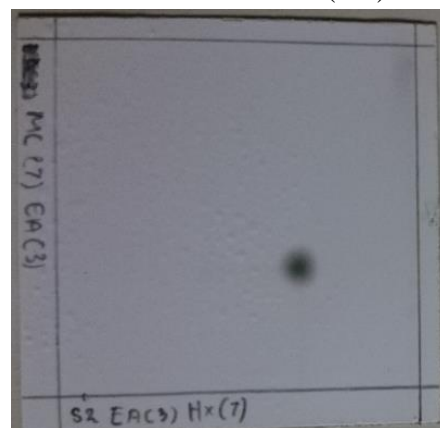
C

Eluen : (1) Etil asetat : Diklorometana (2:8); (2) Etil asetat : *n*-heksana (3:7); (3) Diklorometana : *n*-heksana (9:1)



B

Eluen : Etil asetat : *n*-heksana (3:7)



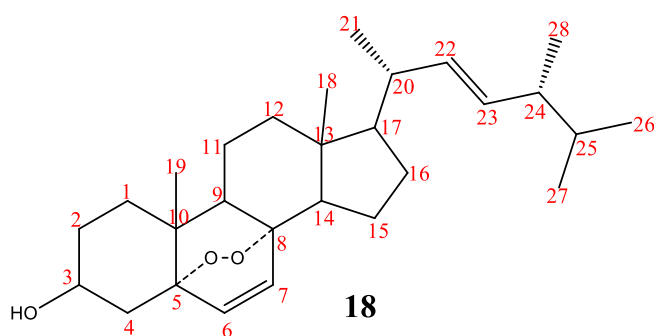
D

Eluen : (1) Etil asetat : *n*-heksana (3:7); (2) Etil asetat : Diklorometana (3:7)

Gambar 4.10 Hasil monitoring KLT Fraksi H1-H12 (A); Fraksi I1-I5 (B); Uji KLT 3 eluen Fraksi I4 (C); dan Uji KLT 2D Fraksi I4 (D)

Tabel 4.4 Data Pergeseran Kimia ^{13}C NMR dan ^1H NMR Ergosterol Peroksida dan Senyawa 2

Posisi C	^{13}C NMR (ppm)		^1H NMR (ppm)	
	Ergosterol peroksida	Senyawa 2	Ergosterol peroksida	Senyawa 2
1	34,7	34,7		
2	30,2	30,2		
3	66,5	66,5	3,97m (1H)	3,96m (1H)
4	37,0	37,0		
5	79,5	79,5		
6	130,8	130,8	6,24d (8,4 Hz, 1H)	6,23d (8,4 Hz, 1H)
7	135,5	135,5	6,50d (8,4 Hz, 1H)	6,49d (8,4 Hz, 1H)
8	82,2	82,2		
9	51,7	51,7		
10	37,0	37,0		
11	20,7	20,7		
12	39,4	39,4		
13	44,6	44,6		
14	51,1	51,1		
15	23,4	23,4		
16	28,7	28,7		
17	56,2	56,2		
18	12,9	12,9	0,82s (3H)	0,83s (3H)
19	18,2	18,2	0,88s (3H)	0,88s (3H)
20	39,8	39,8		
21	20,9	20,9	1,00d (6,6 Hz, 3H)	0,99d (6,4 Hz, 3H)
22	135,2	135,2	5,23dd (15,3; 7,0 Hz, 1H)	5,21dd (15,2; 7,2 Hz, 1H)
23	132,3	132,3	5,14dd (15,3; 7,8 Hz, 1H)	5,13dd (15,2; 8 Hz, 1H)
24	42,8	42,8		
25	33,1	33,1		
26	19,7	19,7	0,82d (6,3 Hz, 3H)	0,81d (3,2 Hz, 3H)
27	20,0	20,0	0,83d (6,5 Hz, 3H)	0,82d (3,6 Hz, 3H)
28	17,6	17,6	0,91d (6,8 Hz, 3H)	0,90d (6,4 Hz, 3H)



Pergeseran kimia satu proton yang terikat pada C-6 dan C-7 tak jenuh masing-masing mempunyai nilai 6,23 dan 6,49 ppm dengan multiplisitas duplet(d) karena saling mengkopling satu dengan yang lain. Kemudian sinyal proton karena pengaruh adanya C tersier (mengikat satu proton) mempunyai multiplisitas duplet(d) juga terdapat pada proton pada kerangka C-21, C-26, C-27 dan C-28 dengan nilai pergeseran kimia 0,99; 0,81; 0,82 dan 0,90 ppm. Proton dengan puncak multiplet(m) yang khas terlihat pada pergeseran 3,96 ppm pada C-3 karena mengikat gugus hidroksil.

Analisis gugus fungsi dari senyawa 2 dilakukan dengan menggunakan spektrometer IR (Lampiran 4). Adanya pita serapan yang kuat pada daerah 3100-2990 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus metilen dan metin dari kerangka steroid. Gugus hidroksil pada senyawa 2 ditunjukkan dengan adanya serapan yang kuat dan lebar pada daerah 3313,82 cm^{-1} . Selanjutnya, pita serapan pada daerah 1658,84 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus alkena yang terdapat pada kerangka C-6, C-7, C-22 dan C-23 senyawa ergosterol peroksida.

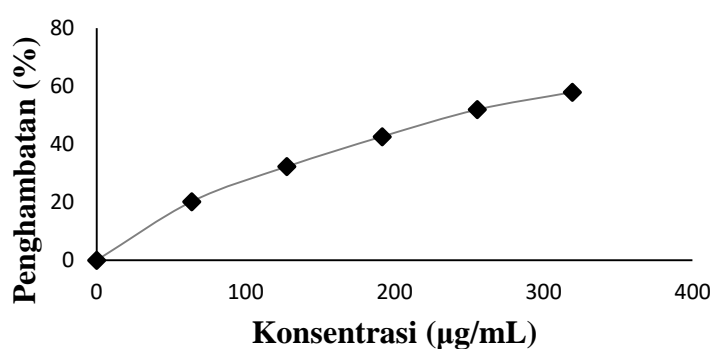
4.3 Uji Bioaktivitas

4.3.1 Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan mengukur penghambatan sampel uji terhadap radikal DPPH yang berwarna ungu. Penghambatan terhadap DPPH melalui mekanisme pendonoran proton oleh sampel uji untuk menstabilkan radikal DPPH menjadi menjadi DPPH-H yang berwarna kuning (Boligon *et al.*, 2014). Berdasarkan pada uji pendahuluan ekstrak uji metanol mempunyai aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan ekstrak-ekstrak lain dengan hambatan

sebesar 57,98%. Ekstrak metanol kemudian ditentukan nilai IC_{50} dengan mengukur nilai hambatan terhadap DPPH pada beberapa konsentrasi yang berbeda (Gambar 4.11). Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai IC_{50} ekstrak metanol sebesar 251,95 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan *G. lucidum* dari ekstrak metanol mempunyai perbedaan dengan beberapa penelitian terdahulu. Pada penelitian Modi *et al.*, (2014) yang melakukan pengujian antioksidan *G. lucidum* menunjukkan bahwa ekstrak metanol mempunyai aktivitas paling baik dibandingkan ekstrak-ekstrak yang lain dalam menghambat radikal DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar 142,84 $\mu\text{g/mL}$.

Besarnya aktivitas antioksidan dari ekstrak *G. lucidum* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Ekstraksi dengan pelarut metanol mempunyai aktivitas paling baik dibandingkan dengan pelarut yang lain. Metanol diketahui dapat melarutkan berbagai senyawa dari bahan alam, seperti fenol, flavonoid, triterpenoid dan glikosida. Komponen-komponen inilah yang diduga dapat mempengaruhi besarnya aktivitas antioksidan pada ekstrak *G. lucidum* (Modi *et al.*, 2014). Terbukti pada penelitian ini metanol (57,98%) mempunyai aktivitas hambatan terhadap DPPH paling baik dibandingkan dengan ekstrak air (21,58%), etil asetat (37,19%), diklorometana (27,10%) dan *n*-heksana (8,77%). Hanya ekstrak metanol yang mampu menghambat lebih dari 50% DPPH pada konsentrasi 319,46 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 4.11 Kurva Penghambatan Ekstrak Metanol Terhadap DPPH pada Konsentrasi 0; 63,89; 127,78; 191,67; 255,57 dan 319,46 $\mu\text{g/mL}$

Selain pelarut yang digunakan, metode ekstraksi dan tempat tumbuh *G. lucidum* juga dapat mempengaruhi besarnya aktivitas antioksidan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Modi *et al.*, (2014), menggunakan *G. lucidum* dari Gujarat,

India. Pada penelitian ini ekstrak metanol menghasilkan nilai IC_{50} lebih baik (142,84 $\mu\text{g/mL}$). Selain itu, beberapa ekstrak lain seperti kloroform (197,02 $\mu\text{g/mL}$) dan etil asetat (285,81 $\mu\text{g/mL}$) juga menunjukkan hambatan yang baik terhadap DPPH. Hal ini diduga karena metode refluks digunakan temperatur yang cukup tinggi, sehingga dapat mengekstrak lebih banyak komponen bioaktif yang terdapat pada *G. lucidum*. Tempat tumbuh *G. lucidum* juga dapat mempengaruhi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan alam. Besarnya intensitas cahaya, temperatur dan kelembaban mempengaruhi konsentrasi komponen-komponen yang dihasilkan bahan alam. *G. lucidum* yang tumbuh di tempat dengan ketinggian dan kelembaban yang lebih tinggi serta temperatur lebih rendah mempunyai aktivitas hambatan terhadap DPPH lebih baik (Darsih *et al.*, 2017). Beberapa hasil aktivitas antioksidan DPPH *G. lucidum* dari Indonesia menunjukkan hasil IC_{50} yang relatif lebih tinggi (aktivitas rendah). Miselia *G. lucidum* yang diperoleh dari Banyumas, Jawa Tengah yang diekstrak dengan etil asetat memiliki hambatan DPPH (IC_{50} 581,80 $\mu\text{g/mL}$) lebih baik dibandingkan ekstrak metanolnya (IC_{50} 1285,67 $\mu\text{g/mL}$) (Ratnaningtyas *et al.*, 2018).

Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh komponen-komponen dalam ekstrak *G. lucidum*. Kandungan senyawa golongan polisakarida berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan *G. lucidum*. Semakin banyak kandungan polisakarida dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Darsih *et al.*, 2017). Selain kandungan polisakarida aktivitas antioksidan dari *G. lucidum* juga dipengaruhi adanya senyawa golongan terpenoid. Bahkan adanya senyawa-senyawa triterpena seperti asam ganoderat, asam lusidenik dan ganodermanontriol pada ekstrak *G. lucidum* dapat memberikan efek antioksidan lebih baik dibandingkan dengan senyawa dari golongan polisakarida (Zhu *et al.*, 1999).

4.3.2 Aktivitas Antibakteri

Uji aktiviatas antibakteri dilakukan dengan metode *Colorimetric Resazurin Microtiter Assay* (REMA). Metode ini memanfaatkan sel bakteri untuk mereduksi resazurin yang berwarna biru keunguan menjadi senyawa resofurin yang berwarna merah muda. Sehingga tidak adanya perubahan warna pada resazurin menunjukkan kematian sel bakteri uji dan ditandai sebagai nilai konsentrasi MIC antibakteri. Pada

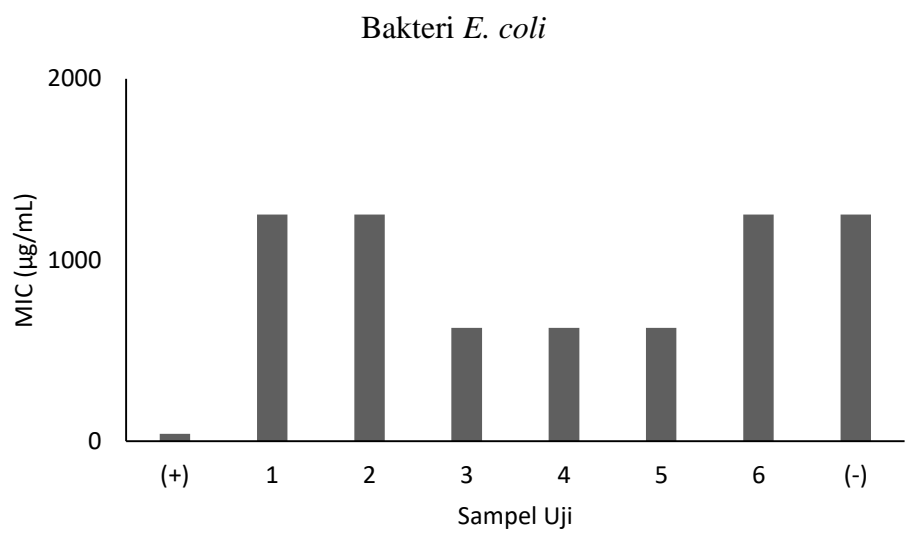
pengujian ini digunakan bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* yang keduanya merupakan bakteri gram negatif. Aktivitas antibakteri dihitung dari perubahan warna pada *96-microwell plate* campuran sampel dan bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam. Hasil pengujian antibakteri sampel uji terhadap bakteri uji tunjukkan pada Gambar 4.12.

Berdasarkan hasil pengujian penghambatan bakteri dengan menggunakan ekstrak dan senyawa dari *G. lucidum* pada Gambar 4.12, ekstrak etil asetat, metanol dan air mempunyai aktivitas antibakteri yang cukup baik dengan nilai MIC di bawah 625 $\mu\text{g/mL}$ terhadap bakteri *E. coli*. Namun, bila dibandingkan dengan kontrol positif kloramfenikol dengan MIC di bawah 39,06 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etil asetat, metanol dan air masih kurang efektif. Sedangkan ekstrak *n*-heksana dan diklorometana tidak menunjukkan aktivitas antibakteri karena mempunyai nilai MIC sama dengan kontrol negatif DMSO sebesar 1250 $\mu\text{g/mL}$. Begitu juga senyawa 1 mempunyai MIC lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif yang digunakan.

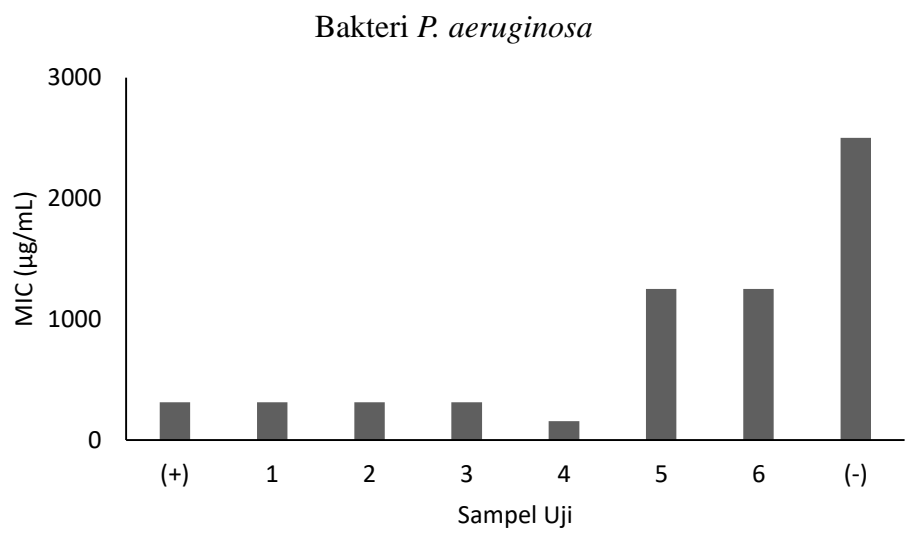
Aktivitas antibakteri pada *P. aeruginosa*, ekstrak *n*-heksana, diklorometana dan etil asetat menunjukkan aktivitas yang baik sebagai antibakteri karena mempunyai nilai MIC setara dengan kontrol positif (kloramfenikol) di bawah 312,5 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak metanol mempunyai aktivitas paling baik sebagai antibakteri dengan nilai MIC di bawah 156,25 $\mu\text{g/mL}$ lebih baik dibandingkan kontrol positif. Namun, ekstrak air tidak menunjukkan aktivitas antibakteri dengan nilai MIC sama dengan kontrol negatif (2500 $\mu\text{g/mL}$). Sedangkan senyawa 1, walaupun menunjukkan aktivitas antibakteri dengan MIC 1250 $\mu\text{g/mL}$ tapi masih kurang efektif dibandingkan kontrol positif kloramfenikol.

Pada penelitian Tao *et al.* (2013), yang melakukan uji antibakteri terhadap beberapa senyawa hasil isolasi dari daun *Ginkgo biloba L.*, ergosterol menunjukkan hasil positif pada bakteri *S. enterica* dan *S. aureus* dengan nilai MIC masing-masing 125 dan 62,5 $\mu\text{g/mL}$. Ergosterol termasuk dalam golongan senyawa steroid. Senyawa-senyawa dari golongan steroid mempunyai kemampuan untuk berinteraksi dengan membran fosfolipid pada dinding sel bakteri. Interaksi ini menyebabkan

menurunnya integritas membran dan terjadi perubahan morfologi membran sel yang mengakibatkan sel menjadi rapuh dan mengalami lisis (Madduluri *et al.*, 2013). Bila dibandingkan dengan nilai MIC ergosterol terhadap bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* pada penelitian ini, ergosterol lebih efektif untuk menghambat bakteri *S. enterica* dan *S. aureus*.



A



B

Gambar 4.12 Hasil pengujian antibakteri (A) *E. coli*; (B) *P. aeruginosa* dari Ekstrak 1 (*n*-heksana); 2 (diklorometana); 3 (etil asetat); 4 (metanol); 5 (air); + (kloramfenikol); - (DMSO).

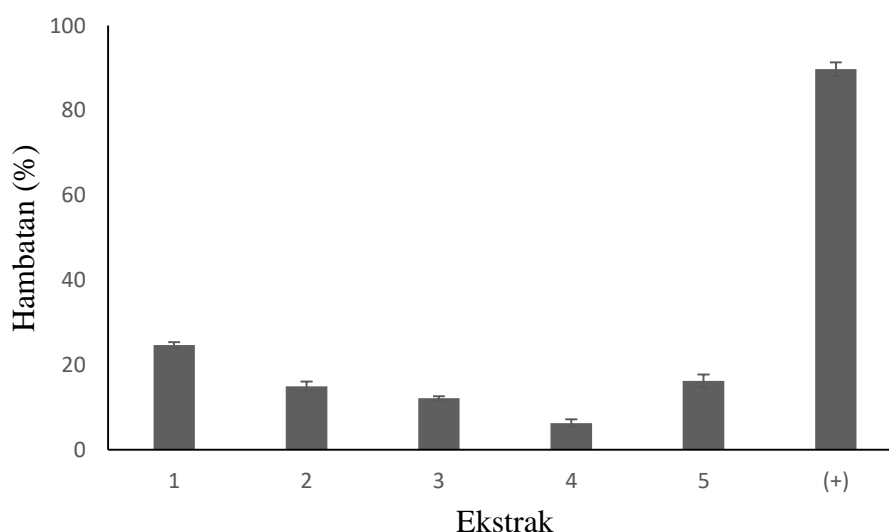
Ekstrak *G. lucidum* dengan pelarut metanol dan aseton mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan ekstrak *G. lucidum* dengan pelarut lainnya (Djide *et al.*, 2014; Kamble *et al.*, 2011; Quereshi *et al.*, 2010). Ekstrak metanol efektif untuk menghambat bakteri *S. aureus* (MIC 25 µg/mL) dan *Bacillus cereus* (MIC 12,5 µg/mL). Sedangkan ekstrak aseton mempunyai hambatan yang tinggi hampir pada semua bakteri uji (Glamoc *et al.*, 2013; Quereshi *et al.*, 2010). Pelarut metanol dan aseton dapat melarutkan berbagai komponen dalam bahan alam. Hal inilah yang menyebabkan tingginya aktivitas antibakteri dari kedua ekstrak tersebut. Semakin banyak komponen bioaktif yang dapat terekstrak dapat meningkatkan nilai hambatan pada bakteri uji. Ekstrak metanol *G. lucidum* mempunyai kandungan fenolat paling tinggi dibanding dengan pelarut etil asetat, kloroform dan campuran pelarut metanol dan etil asetat (Modi *et al.*, 2014). Senyawa fenolat dapat mendenaturasi sel bakteri dengan membentuk ikatan hidrogen pada protein sehingga mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma bakteri. Terganggunya permeabilitas tersebut dapat menyebabkan lisis pada sel bakteri.

4.3.3 Aktivitas Antidiabetes

Aktivitas antidiabetes ditentukan dengan menghitung besarnya persen hambatan sampel uji terhadap enzim α -glukosidase. α -Glukosidase merupakan enzim yang berperan untuk mendegradasi glukosa dalam sistem pencernaan menjadi gula sederhana atau monosakarida sehingga dapat diserap dalam tubuh. Pada seseorang dengan kondisi tertentu banyaknya gula yang diserap dalam tubuh dapat menyebabkan gejala diabetes. Maka diperlukan zat yang dapat menghambat proses perubahan glukosa menjadi gula sederhana untuk mengontrol penyakit diabetes. Pengujian antidiabetes sebagai hambatan enzim α -glukosidase pada beberapa ekstrak *G. lucidum* menunjukkan hasil yang kurang efektif. Pada konsentrasi 625 µg/mL tidak ada ekstrak yang mampu menghambat 50% dari aktivitas enzim α -glukosidase (Gambar 4.13).

Kemampuan suatu bahan alam yang mempunyai bioaktivitas yang baik sangat dipengaruhi oleh komponen-komponen didalamnya. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang melakukan uji aktivitas hambatan terhadap enzim α -glukosidase

menunjukkan bahwa beberapa senyawa yang terkandung dalam *G. lucidum* mempunyai aktivitas hambatan yang baik. Beberapa senyawa tersebut seperti: Ganoderlakton B ($81,8 \pm 3,38 \mu\text{M}$), Ganoderlakton E ($41,7 \pm 5,17 \mu\text{M}$), ganoderol B ($110,1 \mu\text{M}$), ganomisin B ($46,5 \pm 5,1 \mu\text{M}$), ganomisin I ($0,6 \pm 0,12 \mu\text{M}$), ganomisin J ($18,1 \pm 2,3 \mu\text{M}$), ganoleukonin O ($8,1 \pm 2,9 \mu\text{M}$) dan asam lusidenik E ($32,5 \pm 3,1 \mu\text{M}$) (Chen *et al.*, 2017; Fatmawati *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2015). Pada penelitian ini ekstrak-ekstrak yang diujikan ternyata tidak memberikan hambatan yang baik terhadap enzim α -glukosidase. Hal ini dimungkinkan karena terlalu sedikitnya kandungan komponen yang aktif untuk menghambat enzim α -glukosidase di dalam ekstrak yang diujikan. Sehingga mempengaruhi aktivitas ekstrak yang dihasilkan.



Gambar 4.13 Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase Terhadap *G. lucidum* Ekstrak 1 (air); 2 (metanol); 3 (etil asetat); 4 (diklorometana); 5 (*n*-heksana); + (Akarbosa)

Pada penelitian ini senyawa hasil isolasi dari ekstrak metanol adalah ergosterol dan ergosterol peroksida. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Fatmawati *et al.* (2011), senyawa ergosterol hasil isolasi dari *G. lucidum* tidak aktif untuk menghambat enzim α -glukosidase ($\text{IC}_{50} > 333 \mu\text{g/mL}$). Selain itu, berdasarkan hubungan struktur molekul dan aktivitas suatu senyawa sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Senyawa yang mempunyai aktivitas baik untuk menghambat enzim α -glukosidase harus mempunyai gugus hidroksil pada posisi C-

11 struktur triterpenoid. Adanya ikatan rangkap pada posisi C-20 dan C-22 serta gugus hidroksil pada C-3 dapat meningkatkan penghambatan enzim α -glukosidase (Fatmawati *et al.*, 2013). Sehingga dapat disimpulkan senyawa ergosterol dan ergosterol peroksida kurang berperan dalam aktivitasnya sebagai penghambat enzim α -glukosidase yang menyebabkan kurang aktifnya ekstrak *G. lucidum* sebagai antidiabetes.

BAB 5

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Ekstrak *G. lucidum* hasil maserasi dengan pelarut metanol diperoleh rendemen sebesar 4,11%. Hasil isolasi senyawa dari 25 gram ekstrak metanol *G. lucidum* diperoleh ergosterol sebanyak 73,2 mg dan ergosterol peroksida sebanyak 15,5 mg. Ekstrak metanol dari *G. lucidum* mempunyai aktivitas paling baik dibandingkan ekstrak *n*-heksana, diklorometana, etil asetat dan air, sebagai antioksidan dengan nilai hambatan terhadap DPPH sebesar 57,98% pada konsentrasi 319,46 µg/mL dan nilai IC₅₀ 251,95 µg/mL. Selain itu, pada uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol efektif sebagai antibakteri dengan nilai MIC 625 µg/mL terhadap *E. coli* dan 156,25 µg/mL terhadap *P. aeruginosa*. Ekstrak metanol mempunyai aktivitas lebih baik dibandingkan kontrol positif (kloramfenikol) terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Ergosterol kurang efektif sebagai antibakteri terhadap *E. coli* dan *P. aeruginosa*. Berdasarkan hasil uji antidiabetes ekstrak *G. lucidum* kurang aktif sebagai antidiabetes karena mempunyai hambatan yang kecil terhadap enzim α -glukosidase.

5.2 Saran

Perlu kajian lebih lanjut tentang *G. lucidum* yang dibudidayakan di Indonesia. Terutama kandungan fitokimia dan aktivitasnya sebagai obat. Perlu dilakukan uji aktivitas biologis pada fraksi-fraksi dari ekstrak metanol dan isolasi lebih lanjut untuk senyawa-senyawa yang terkandung dalam *G. lucidum*.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M., Christen, M., Plitzko, I., Zimmermann, S., Brun, R., Kaiser, M., & Hamburger, M. (2010). Antiplasmodial Lanostanes from the *Ganoderma lucidum* Mushroom. *J. Nat. Prod.*, **73**, 897–900.
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., & Iwatsuki, K. (2001). JAC Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.*, **48**, 487–491.
- Alexandre, T. R., Lima, M. L., Galuppo, M. K., Mesquita, J. T., Ana, M., Leonardo, A., Tempone, A. G. (2017). Ergosterol isolated from the basidiomycete *Pleurotus salmoneostramineus* affects *Trypanosoma cruzi* plasma membrane and mitochondria. *J. Venomous Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.*, **2017**, 1–10.
- Alves, M. J., Ferreira, I. C. F. R., Dias, J., Martins, A., & Pintado, M. (2012). A Review on Antimicrobial Activity of Mushroom (Basidiomycetes) Extracts and Isolated Compounds. *Plant. Med.*, **78**, 1707–1718.
- American Diabetes Association. (2010). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, **33**(SUPPL. 1), S62–S69.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*, **127**, 183–198.
- Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharm. J.*, **24**, 547–553.
- Baby, S., Johnson, A. J., & Govindan, B. (2015). Secondary metabolites from *Ganoderma*. *Phytochemistry*, **114**, 66–101.
- Baehaki, A., Suhartono, M. T., Sri, N., & Nurhayati, T. (2008). Purifikasi dan Karakterisasi Protease dari Bakteri Patogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal. Teknol. Dan Industri Pangan*, **19**, 80–87.
- Belle, T. L. V., Coppieters, K. en T., & Herrath, M. G. V. (2011). Type 1 Diabetes : Etiology, Immunology, and Therapeutic Strategies. *Am. Physiol. Soc.*, **91**, 79–118.

- Boligon, A. A., Machado, M. M., & Athayde, M. L. (2014). Technical Evaluation of Antioxidant Activity. *Med. Chem.*, **4**, 517–522.
- Bridon, D., Jorge, A., Carlos, I. Z., Silva, L., Angluster, J., & Alviano, C. S. (1997). Isolation of ergosterol peroxide and its reversion to ergosterol in the pathogenic fungus *Sporothrix schenckii*. *Mycopathologia*, **139**, 9–14.
- Cannell, R. J. P. (1998). *Natural Products Isolation*. Totowa: Humana Press Inc.
- Chao, E. C., & Henry, R. R. (2010). SGLT2 inhibition-A novel strategy for diabetes treatment. *Nat. Rev. Drug Discovery*, **9**, 551–559.
- Chen, B., Tian, J., Zhang, J., Wang, K., Liu, L., Yang, B., Liu, H. (2017). Triterpenes and meroterpenes from *Ganoderma lucidum* with inhibitory activity against HMGs reductase, aldose reductase and α -glucosidase. *Fitoterapia*, **120**, 6–16.
- Chen, T., Wu, Y., Wu, J., Dong, Z., & Wu, J. (2014). Efficient extraction technology of antioxidant crude polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (Lingzhi), ultrasonic-circulating extraction integrating with Superfine-pulverization. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, **45**, 57–62.
- Chu, T. T. W., Benzie, I. F. F., Lam, C. W. K., Fok, B. S. P., Lee, K. K. C., & Tomlinson, B. (2012). Study of potential cardioprotective effects of *Ganoderma lucidum* (Lingzhi): results of a controlled human intervention trial. *Br. J. Nutr.*, **107**, 1017–1027.
- Chung, D. J., Yang, M. Y., Li, Y. R., Chen, W. J., Hung, C. Y., & Wang, C. J. (2017). *Ganoderma lucidum* repress injury of ethanol-induced steatohepatitis via anti-inflammation, anti-oxidation and reducing hepatic lipid in C57BL/6J mice. *J. Funct. Foods*, **33**, 314–322.
- Cör, D., Knez, Ž., & Hrnčič, M. K. (2018). Antitumor, Antimicrobial, Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Effect of *Ganoderma Lucidum* Terpenoids and Polysaccharides : A Review. *Molecules*, **23**, 1–21.
- Darsih, C., Apriyana, W., Hayati, S. N., Rosyida, V. T., Hermawan, &

- Poeloengasih, C. D. (2017). The Elevation Effect on Water-Soluble Polysaccharides and DPPH Free Radical Scavenging Activity of *Ganoderma lucidum* K. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, **172**, 1–4.
- Devasagayam, T. P. A., Tilak, J. C., Bloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. *Japi*, **52**, 794–804.
- Dewick, P. M. (2002). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach* (2nd ed.). West Sussex: John Wiley & Sons Inc.
- Djide, M. N., Rahman, L., & Hasyim, N. (2014). Antibacterial Activity Of Various Extracts From The Fruiting Bodies Of *Ganoderma lucidum* Growing At Samanea Saman (Jacq .) Merr) Trunk. *Int. J. Sci. Eng. Technol.*, **3**, 15–16.
- El-Mekawy, S., Meselhy, M. R., Nakamura, N., Tezuka, Y., Hattori, M., Kakiuchi, N., Otake, T. (1998). Anti-HIV-1 And Anti-HIV-1-Protease Substances From *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, **49**, 1651–1657.
- Fatmawati, S., Kondo, R., & Shimizu, K. (2013). Structure-activity relationships of lanostane-type triterpenoids from *Ganoderma lingzhi* as α -glucosidase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**, 5900–5903.
- Fatmawati, S., Kurashiki, K., Takeno, S., Kim, Y., Shimizu, K., Sato, M., Kondo, R. (2009). The Inhibitory Effect on Aldose Reductase by an Extract of *Ganoderma lucidum*. *Phytother. Res.*, **32**, 28–32.
- Fatmawati, S., Shimizu, K., & Kondo, R. (2011). Ganoderol B: A Potent α -glucosidase Inhibitor Isolated from The Fruiting Body of *Ganoderma lucidum*. *Phytomedicine*, **18**, 1053–1055.
- Fu, Y., Liu, W., Zu, Y., Shi, X., Liu, Z., Schwarz, G., & Efferth, T. (2009). Breaking the spores of the fungus *Ganoderma lucidum* by supercritical CO₂. *Food Chem.*, **112**, 71–76.
- Furi, P. R., & Wahyuni, A. S. (2011). Pengaruh Ekstrak Etanol Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) Terhadap Kadar HDL (High Density Lipoprotein) pada

Tikus Dislipidemia. *Pharmacon*, **12**, 1–8.

Glamoc, J., Heleno, S. A., Ferreira, I. C. F. R., Esteves, A. P., Ana, C., Queiroz, M. J. R. P., Sokovic, M. (2013). Antimicrobial and Demelanizing Activity of Ganoderma lucidum Extract , p -hydroxybenzoic and cinnamic acids and Their Synthetic Acetylated glucuronide methyl esters. *Food Chem. Toxicol.*, **58**, 95–100.

Handrianto, P. (2017). Aktivitas antibakteri ekstrak jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut etanol terhadap Escherichia coli. *J. Pharm. Sci.*, **2**, 33–35.

Hayati, S. N., Rosyida, V. T., Apriyana, W., Darsih, C., Poeloengasih, C., & Hernawati. (2016). Effects of different drying techniques on the water-soluble polysaccharides content and antioxidant activities of Ganoderma lucidum Karst. *AIP Conf. Proceed.*, **130004**, 1–5.

Hidayati, M. D., Ersam, T., Shimizu, K., & Fatmawati, S. (2017). Antioxidant Activity of Syzygium polynthum Extracts. *Indones. J. Chem.*, **17**, 49–53.

Isnarianti, R., Wahyudi, I. A., & Puspita, R. M. (2013). Muntingia calabura L Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of Streptococcus mutans. *Journal of Dentistry Indonesia*, **20**, 59–63.

Jiang, Y., Gao, H., & Turdu, G. (2017). Bioorganic Chemistry Traditional Chinese medicinal herbs as potential AChE inhibitors for anti-Alzheimer ' s disease : A review. *Bioorg. Chem.*, **75**, 50–61.

Kamble, R., Venkata, S., & Gupte, A. M. (2011). Antimicrobial Activity of Ganoderma lucidum Mycelia. *J. Pur. App. Mic.*, **5**, 1–3.

Kaur, R., Singh, V., & Shri, R. (2017). Anti-amnesic effects of Ganoderma species : A possible cholinergic and antioxidant mechanism. *Biomed. et Pharm. Pharmacol.*, **92**, 1055–1061.

Ko, H., Hung, C., Wang, J., & Lin, C. (2008). Antiinflammatory triterpenoids and steroids from Ganoderma lucidum and G . tsugae, **69**, 234–239.

- Kumari, K., Prakash, V., Rana, S., & Sagar, A. (2016). In Vitro antioxidant activity of methanolic extract of *Ganoderma lucidum* (Curt.) P. Karst. *Int. J. of Adv. Sc. and Res.*, *1*, 51–54.
- Kusumastuti, R. R. (2010). Skripsi: *Pengaruh Pemberian Berbagai Dosis Ekstrak Jamur Lingzhi (Ganoderma lucidum) terhadap Kadar Kolesterol Total Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Lakshmi, B., Ajith, T. A., Jose, N., & Janardhanan, K. K. (2006). Antimutagenic activity of methanolic extract of *Ganoderma lucidum* and its effect on hepatic damage caused by benzo [α] pyrene. *J. Ethnopharmacol.*, *107*, 297–303.
- Li, J., Zhang, X., & Liu, Y. (2016). Supercritical carbon dioxide extraction of *Ganoderma lucidum* spore lipids. *LWT - F. Sci. Tech.*, *70*, 16–23.
- Liu, J., Yang, F., Ye, L., Yang, X., Timani, K. A., Zheng, Y., & Wang, Y. (2004). Possible mode of action of antiherpetic activities of a proteoglycan isolated from the mycelia of *Ganoderma lucidum* in vitro. *J. Ethnopharmacol.*, *95*, 265–272.
- Liu, W. J. (2011). *Traditional Herbal Medicine Research Methods*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.
- Lü, J., Lin, P. H., Yao, Q., & Chen, C. (2010). Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J. Cell. Mol. Med.*, *14*, 840–860.
- Ma, H., Hsieh, J., & Chen, S. (2015). Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, *114*, 109–113.
- Machmudah, S., Shiddiqi, Q. Y. A., Kharisma, A. D., Widiyastuti, Wahyudiono, Kanda, H., Goto, M. (2015). Subcritical Water Extraction of Xanthone from Mangosteen (*Garcinia Mangostana* Linn) Pericarp. *J. Adv. Chem. Eng.*, *05*, 1–6.
- Madduluri, S., Rao, K. B., & Sitaram, B. (2013). In Vitro Evaluation Of

- Antibacterial Activity Of Five Indigenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens Of Human. *International J. Pharmac. Pharm. Sci.*, **5**, 679–684.
- Maritim, A. C., Sanders, R. A., & Watkins, J. B. (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **17**, 24–38.
- Miller, J. M. (2005). *Chromatography : Concepts and Contrasts* (2nd ed.). Canada: John Wiley & Sons Inc.
- Min, B.-S., Gao, J.-J., Nakamura, N., & Hattori, M. (2000). Triterpenes from the Spores of *Ganoderma lucidum* and Their Cytotoxicity Against Meth-A and LLC Tumor Cells. *Chem. Pharm. Bull.*, **48**, 1026–1033.
- Modi, H. A., Shah, P., Shukla, M. D., & Lahiri, S. K. (2014). Determination of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Ganoderma lucidum* Collected from Dang District of Gujarat, India. *NPAIJ*, **10**, 75–83.
- Nascimento, G. G. F., Locatelli, J., Freitas, P. C., & Silva, G. L. (2000). Antibacterial Activity Of Plant Extracts and Phytochemicals on Antibiotic-Resistant Bacteria. *Braz. J. Microbiol.*, **31**, 247–256.
- Natural Product Research Unit (2018). Rat Intestinal α -glukosidase Inhibitory activity procedure. Bangkok: Chulalongkorn University.
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., & Olokoba, L. B. (2012). Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Med. J.*, **27**, 269–273.
- Partap, S., & Pandey, S. (2011). A review on herbal Antioxidants. *J. Pharmacogn. Phytochem.*, **1**, 26–37.
- Pedersen, D., & Rosenbohm, C. (2001). Dry Column Vacuum Chromatography. *Synthesis*, **2001**, 2431–2434.
- Percival, M. (1998). Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*, **31**, 1–4.
- Poucheret, P., Fons, F., & Rapior, S. (2006). Biological and Pharmacological Activity of Higher Fungi: 20-Year Retrospective Analysis.

Cryptogamie, Mycologie, **27**, 311–333.

- Quereshi, S., Pandey, A. K., & Sandhu, S. S. (2010). Evaluation of Antibacterial Activity of Different *Ganoderma lucidum* Extracts. *People's Journal Od Scientific Research*, **3**, 9–13.
- Rahimi-Madiseh, M., Malekpour-Tehrani, A., Bahmani, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). The research and development on the antioxidants in prevention of diabetic complications. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, **9**, 825–831.
- Ratnaningtyas, N. I., Purwati, E. S., Septiana, A. T., Ekowati, N., & Supriyadi, A. (2018). Antioxidant Potential of Ethanol and Ethyl Acetat Extract of *Ganoderma* sp. Mycelium. *Biosaintifika*, **10**, 87–94.
- Reich, H. J. (2010). *Spin-Spin Splitting J-Coupling*. University of Wisconsin, 1-17. Retrieved from <http://folk.ntnu.no/audunfor/7.semester/SpektroVK/NMR/Nyttige artikler/notes-5-hmr-3-coupling.pdf>
- Russell, R., & Paterson, M. (2006). *Ganoderma - A therapeutic fungal biofactory*. *Phytochemistry*, **67**, 1985–2001.
- Sanodiya, B. S., Thakur, G. S., Baghel, R. K., Prasad, G. B. K. S., & Bisen, P. S. (2009). *Ganoderma lucidum*: A Potent Pharmacological Macrofungus. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **10**, 717–742.
- Sarker, S. D., Nahar, L., & Kumarasamy, Y. (2007). Microtitre Plate-Based Antibacterial Assay Incorporating Resazurin as an Indicator of Cell Growth , and Its Application in the In Vitro Antibacterial Screening of Phytochemicals. *Methods*, **42**, 321–324.
- Silverstein, R. M., Francis, X. W., & David, J. K. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compound* (7th ed.). New York: John Wiley & Sons Inc.
- Syah, Y. M. (2016). *Dasar-Dasar Penentuan Struktur Molekul Berdasarkan Data Spektrum ¹H NMR & ¹³C NMR* (1st ed.). Bandung: Laboratorium Spektroskopi Massa dan NMR Fakultas MIPA, ITB.

- Tabatabaei-Malazy, O., Larijani, B., & Abdollahi, M. (2013). A novel management of diabetes by means of strong antioxidants' combination. *Iran. J. Med. Hypotheses Ideas*, *7*, 25–30.
- Tao, R., Wang, C., & Kong, Z. (2013). Antibacterial/Antifungal Activity and Synergistic Interactions between Polyprenols and Other Lipids Isolated from Ginkgo Biloba L. Leaves. *Molecules*, *18*, 2166–2182.
- Tiwari, P., Kumar, B., Mandeep, K., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical Phscreening and Extraction: A Review. *Int. Pharm. Sci.*, *1*, 98–106.
- Wall, P. E. (2005). *Thin-layer Chromatography : A Modern Practical Approach*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Wallace, J. I. (1999). Management of diabetes in the elderly. *Clinical Diabetes*, *17*, 62–75.
- Wang, H., & Ng, T. B. (2006). Ganodermin , an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom Ganoderma lucidum. *Peptides*, *27*, 27–30.
- Wasser, S. P. (2005). Reishi or Ling Zhi (Ganoderma lucidum). In *Encyclopedia of Dietary Supplements* (pp. 603–622). Marcel Dekker, Inc.
- Yu, S. M., Kim, H. J., Woo, E. R., & Park, H. (1994). Some Sesquiterpenoids and 5 α ,8 α -epidoxysterols from Solanum lyratum. *Arch. Pharm. Res*, *17*, 1–4.
- Zakaria, S. M., & Kamal, S. M. M. (2016). Subcritical Water Extraction of Bioactive Compounds from Plants and Algae: Applications in Pharmaceutical and Food Ingredients. *F. Eng. Rev.*, *8*, 23–34.
- Zhang, J., Tang, Q., & Zimmerman-kordmann, M. (2002). Activation of B lymphocytes by GLIS, a bioactive proteoglycan from Ganoderma lucidum, *71*, 623–638.
- Zhao, X., Huo, X., Dong, P., Wang, C., Huang, S., Zhang, B., Liu, K. (2015). Inhibitory Effects of Highly Oxygenated Lanostane Derivatives from the Fungus Ganoderma lucidum on P - Glycoprotein and α - Glucosidase. *J. Nat. Prod.*, A-I.

- Zhao, Z., Chen, H., Feng, T., Li, Z., Dong, Z., & Liu, J.-K. (2015). Lucidimine A-D, four new alkaloids from the fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*. *J. Asian Nat. Prod. Res.*, **6020**, 1–6.
- Zhou, Y., Qu, Z., Zeng, Y., Lin, Y., Li, Y., Chung, P., Hägg, U. (2012). Experimental and Toxicologic Pathology Neuroprotective effect of preadministration with *Ganoderma lucidum* spore on rat hippocampus. *Exp. Toxicol. Pathol.*, **64**, 673–680.
- Zhu, M., Chang, Q., Wong, L. K., Chong, F. S., & Li, R. C. (1999). Triterpene Antioxidants from *Ganoderma lucidum*. *Phyto. Res.*, **531**, 529–531.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN

Lampiran 1: Determinasi *G. lucidum*



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA
(Center for Plant Conservation Botanic Gardens)

Jalan Ir. H. Juanda No. 13, P.O.BOX 309 Bogor 16003, Indonesia
Telepon (0251) 8322187 – 8321657 – 8322220 – 8311362, 8352519, Fax. (0251) 8322187, 8311362
Website: www.krbogor.lipi.go.id, www.bogorbotanicgardens.org, E-mail: kribli@indosat.net.id



Nomor : B- 3010 /IPH.3./KS/VIII/2018
Sifat : -
Lamp. : -
Perihal : Identifikasi tanaman

Bogor, 30 Agustus 2018

Yth. Dr. Yuly Kusumawati, M.Si.
Sekertaris Program Studi Pascasarjana
Fak. Ilmu Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
Kampus ITS Sukolilo – Surabaya 60111

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi berupa herbarium ranting, daun dan jamur yang dibawa ke Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya – LIPI oleh :

Nama : Johanis Wairata
N R P : 01211760010005
Prodi : S3 Kimia

adalah dari jenis :

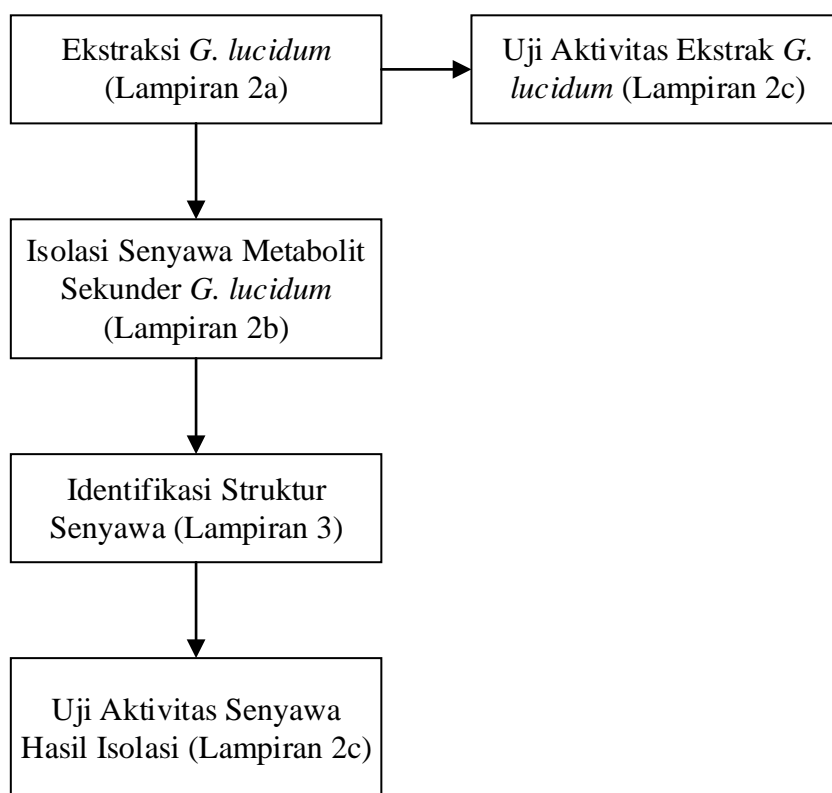
No.	Kode	Nama	Suku	Nama lokal
1.	Jamur	<i>Ganoderma lucidum</i> (W. Curt.) P. Karst.	Ganodermataceae	jamur lingshi
2.	4. manggis G.K. terang	<i>Garcinia celebica</i> L.	Clusiaceae	Bruas, baros
3.	Manggis getah kuning pucat	<i>Garcinia forbesii</i> King	Clusiaceae	mundar
4.	Manggis getah bening	<i>Garcinia latissima</i> Miq.	Clusiaceae	-
5.	2. manggis G.M	<i>Garcinia macrantha</i> A.C.Sm.	Clusiaceae	-

Demikian surat keterangan ini kami sampaikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

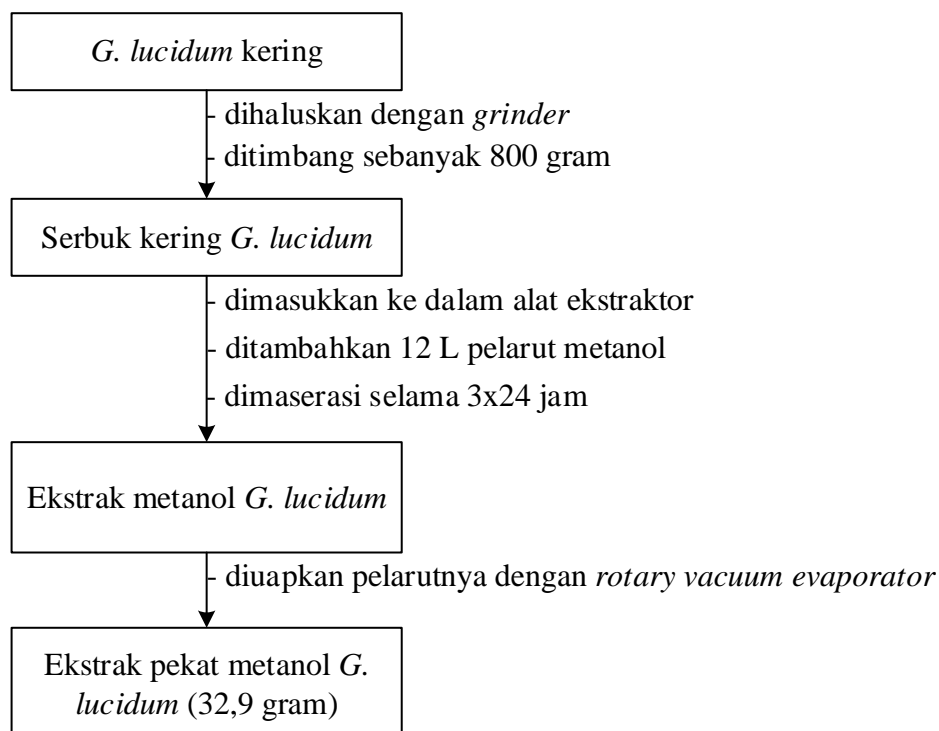
Plh. Kepala,

Suyanto, S.E., MM.

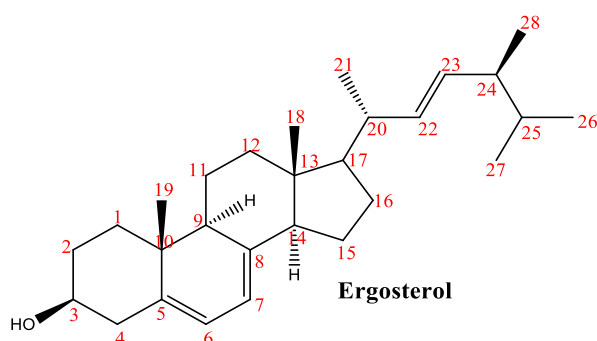
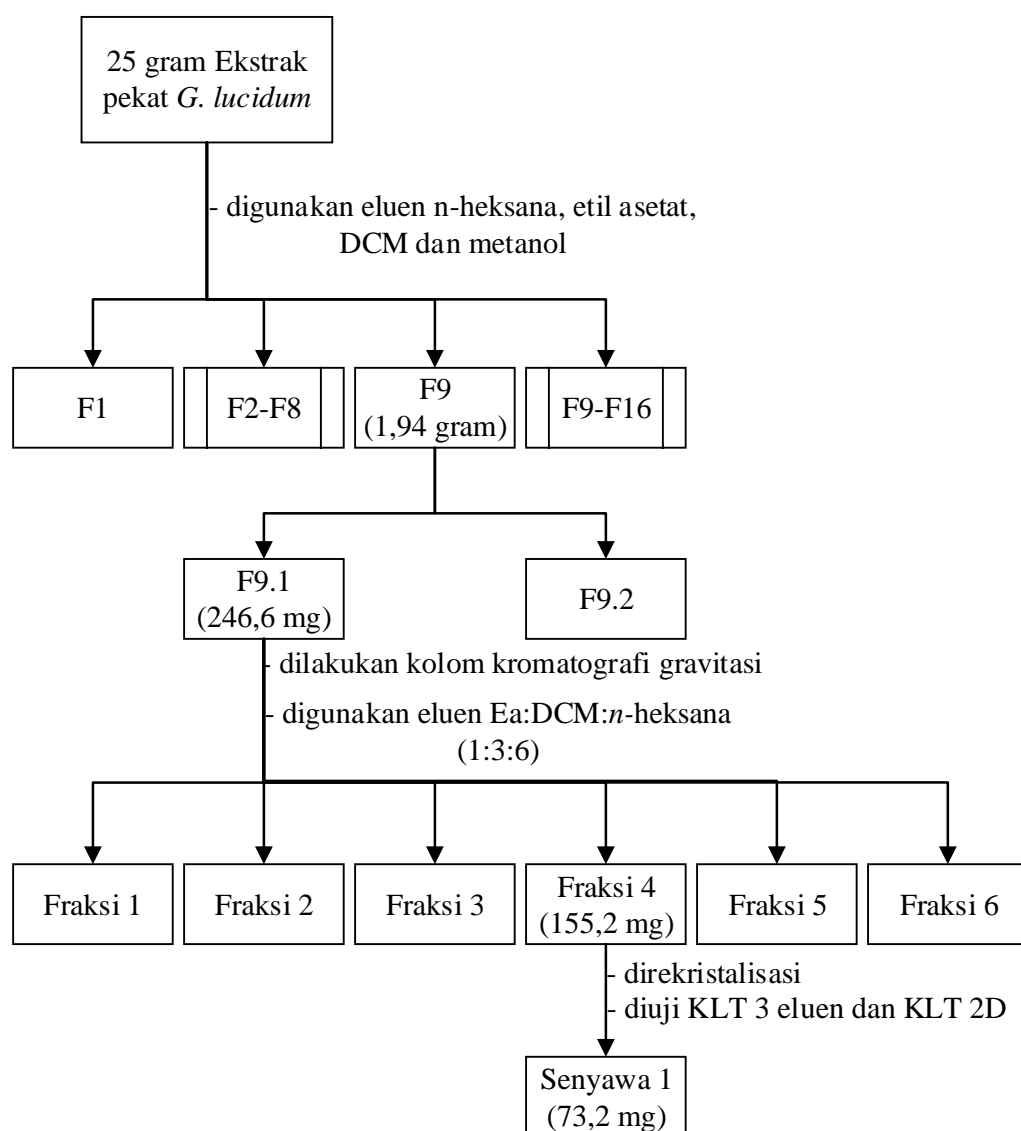
Lampiran 2: Skema Kerja



Lampiran 2a: Ekstraksi *G. lucidum*

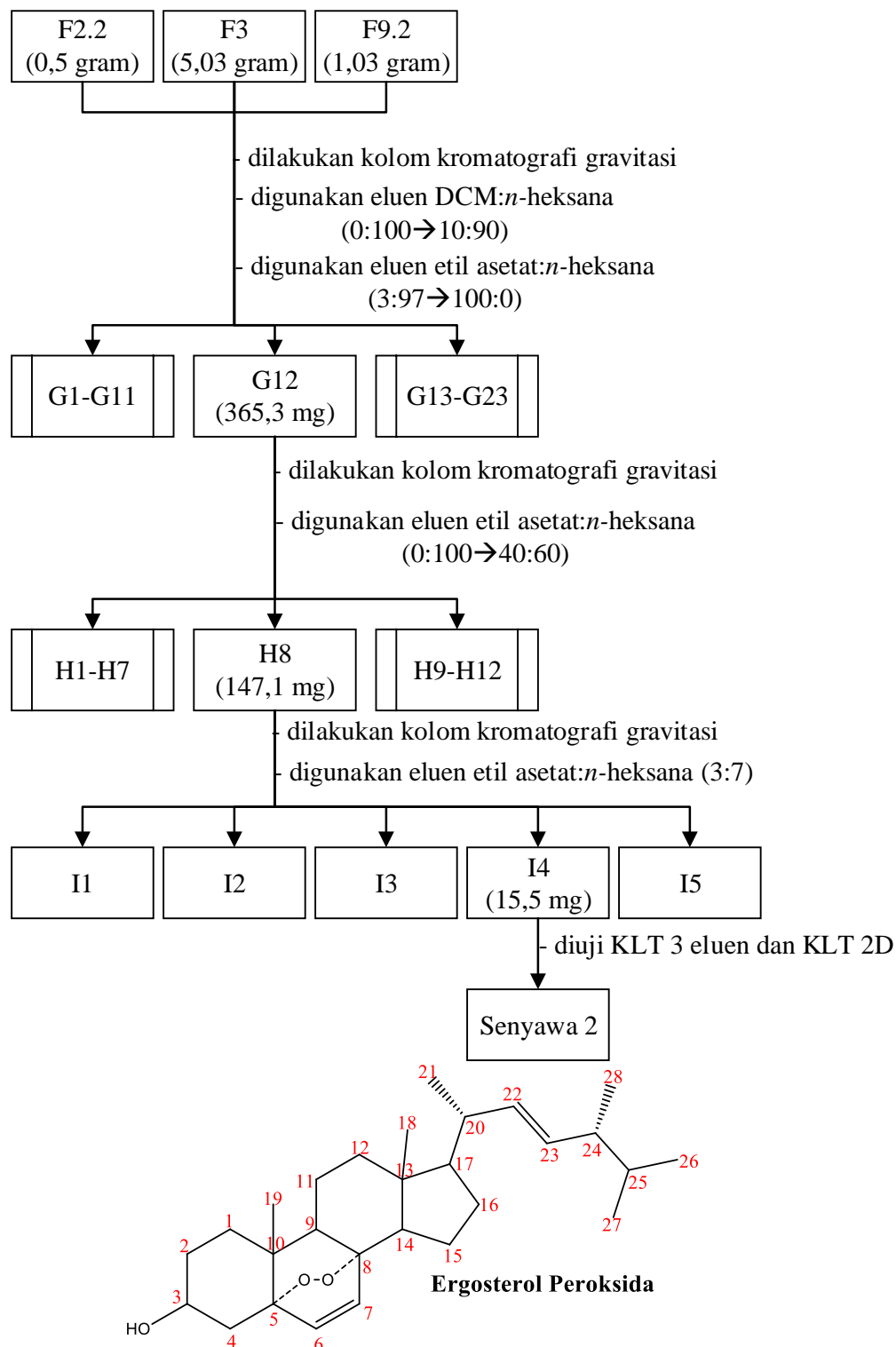


Lampiran 2b.1: Isolasi Senyawa 1



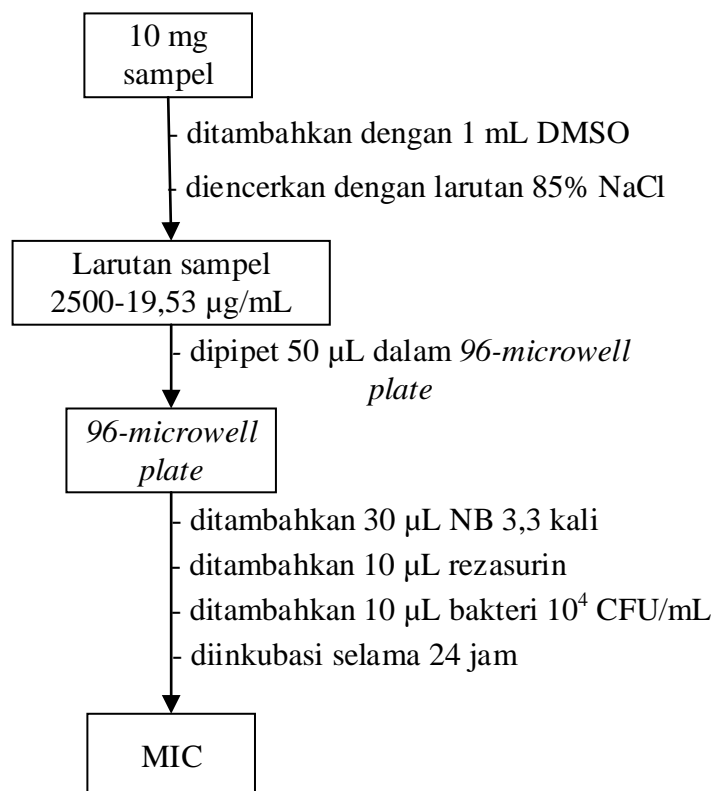
Hasil penentuan struktur senyawa 1 dengan ^1H NMR, ^{13}C NMR dan IR

Lampiran 2b.2: Isolasi Senyawa 2

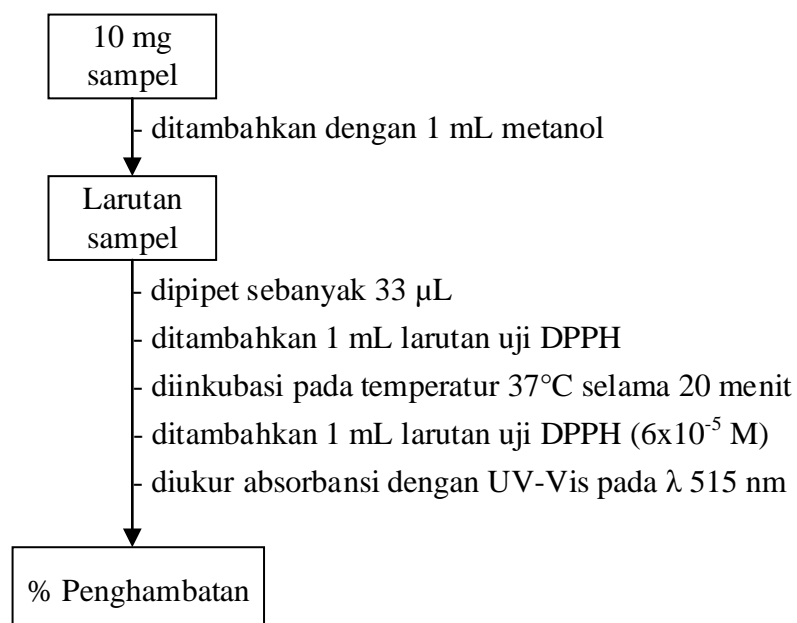


Hasil penentuan struktur senyawa 2 dengan ^1H NMR, ^{13}C NMR dan IR.

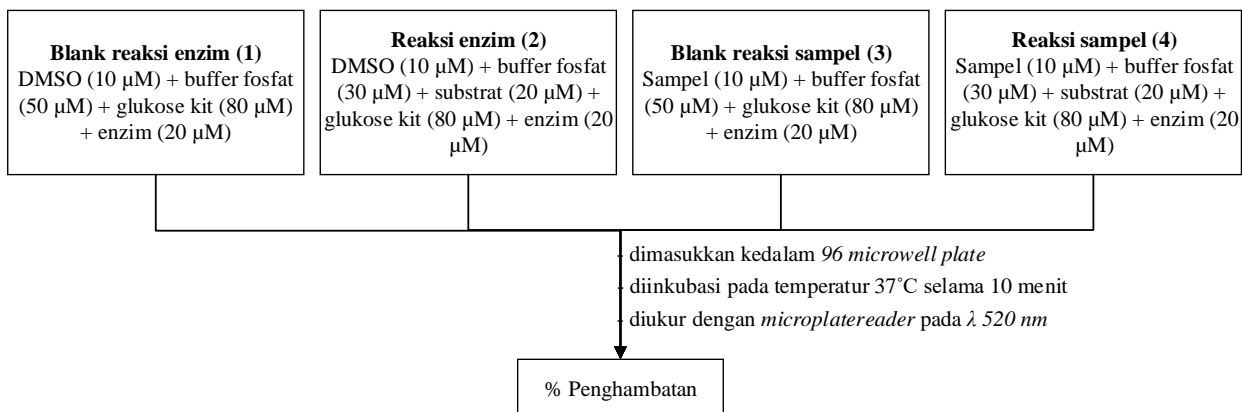
Lampiran 2c.1: Uji Aktivitas: Antibakteri



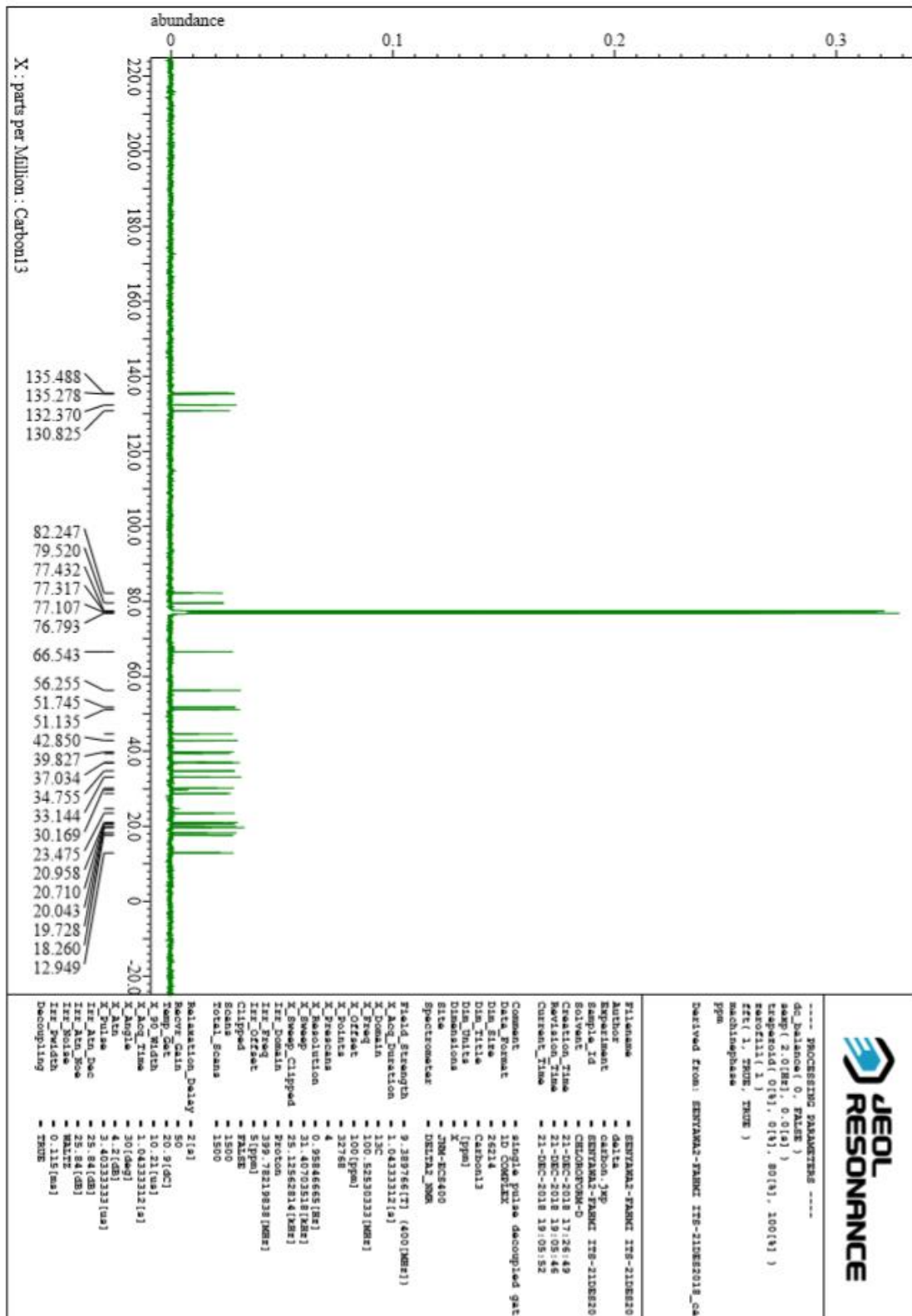
Lampiran 2c.2: Uji Aktivitas: Hambatan DPPH



Lampiran 2c.3: Uji Aktivitas: Hambatan Terhadap α -Glukosidase

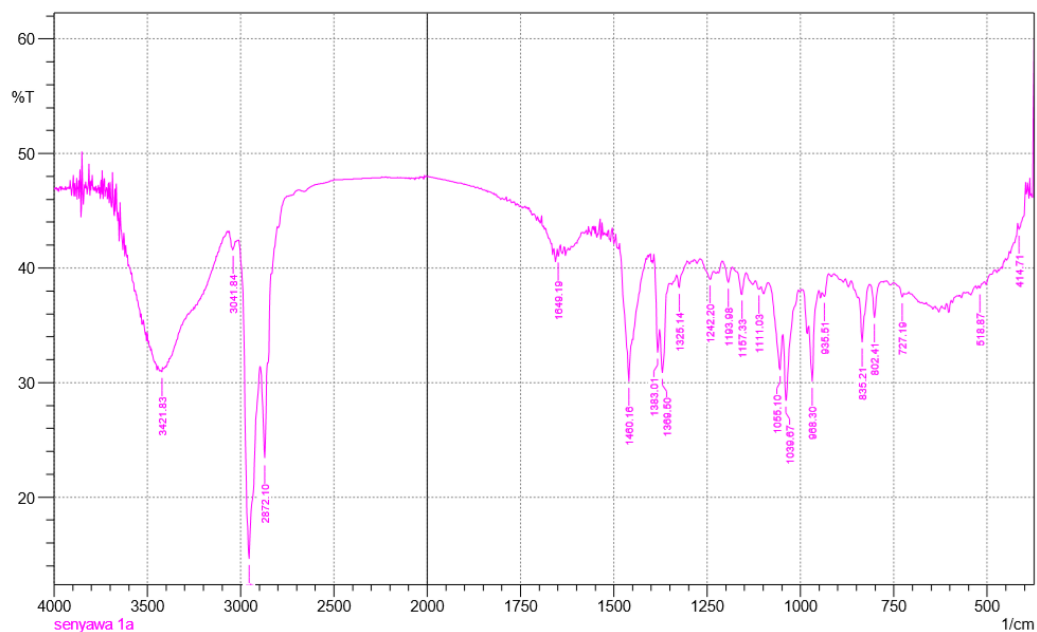


3. Spektrum ^{13}C NMR Senyawa 2



Lampiran 4: Spektra IR

1. Spektrum IR Senyawa 1



2. Spektrum IR Senyawa 2

