



Antibacterial Activity of Extract and Fraction from Shiitake Mushroom (*Lentinula edodes*) against Acne Bacteria

Ika K. Sukmawati*, Ari Yuniarto, Widhya Alighita, Ade Z. Jamaludin

Bandung School of Pharmacy, Bandung, Indonesia

Submitted 7 December 2017; Revised 5 October 2018; Accepted 12 October 2018; Published 11 February 2019

*Corresponding author: Ika.kurnia @stfb.ac.id

Abstract

Acne is an inflammatory disease in the skin triggered by the bacteria. Acne treatment can be done by using natural materials such as shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*). The aims of this study were to determine the antibacterial activity of extracts and fractions of shiitake mushrooms with broth microdilution method, determine the value of equality of shiitake mushrooms with antibacterial comparator and determine the morphological changes of bacteria after test samples exposure with a Scanning Electron Microscope (SEM). The antibacterial activity conducted against *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* at concentrations of 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, and 512 ppm. The best MIC value obtained in fraction of ethyl acetate and n-hexane against the test bacterium at a concentration of 256 ppm. KBM value of the n-hexane fraction against *S. aureus* at a concentration of 512 ppm and ethyl acetate fraction against *S. aureus* and *S. epidermidis* at a concentration of 512 ppm. Value of equality is obtained 1 mg of ethyl acetate fraction of shiitake mushrooms equivalent with 5.346×10^{-2} mg of tetracycline. SEM test results showed the presence of antibacterial activity which is indicated by a change of cell morphology, their lumps and their cell wall frown on *P. acnes* were exposed to ethyl acetate fraction.

Keywords: Acne, antibacterial, *Lentinus edodes*, microdilution, SEM

Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak dan Fraksi Jamur Shitake (*Lentinula edodes*) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat

Abstrak

Jerawat merupakan penyakit peradangan pada kulit yang dipicu oleh bakteri. Pengobatan jerawat dapat dilakukan dengan menggunakan bahan alam yaitu jamur shitake (*Lentinus edodes*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi jamur shitake dengan metode *broth microdilution*, mengetahui nilai kesetaraan jamur shitake dengan antibakteri pembandingan dan mengetahui perubahan morfologi bakteri setelah terpapar sampel uji dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM). Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan terhadap *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, dan 512 ppm. Nilai KHM terbaik pada fraksi etil asetat dan n-heksan terhadap ketiga bakteri uji pada konsentrasi 256 ppm. Nilai KBM fraksi n-heksan terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 512 ppm dan fraksi etil asetat terhadap *S. aureus* dan *S. epidermidis* pada konsentrasi 512 ppm. Nilai kesetaraan diperoleh 1 mg fraksi etil asetat jamur shitake setara dengan $5,346 \times 10^{-2}$ mg tetrasiklin. Hasil uji SEM menunjukkan adanya aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan adanya perubahan morfologi sel, adanya benjolan dan adanya dinding sel yang mengkerut pada *P. acnes* yang terpapar fraksi etil asetat.

Kata Kunci: Antibakteri, jerawat, *Lentinus edodes*, mikrodilusi, SEM

1. Pendahuluan

Jerawat merupakan penyakit peradangan yang terjadi akibat adanya penyumbatan pada kelenjar polisebasea yang ditandai dengan adanya komedo, papul, pustul dan nodul. Penyebaran jerawat dapat terjadi pada area yang mengandung kelenjar sebaceous seperti wajah, leher, lengan atas, dada dan punggung. Jerawat merupakan penyakit kulit yang dikenal dengan *acne vulgaris*, hampir semua orang mengalami masalah jerawat. Jerawat sering dianggap sebagai kelainan kulit yang timbul secara fisiologis. Peradangan jerawat dipicu oleh bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*. Biasanya jerawat timbul pada kulit yang berminyak akibat produksi sebum berlebihan dengan glandula sebaceous yang banyak. Jerawat umumnya terjadi pada umur sekitar 14-17 tahun pada wanita, 16-19 tahun pada pria dan akan menghilang dengan sendirinya pada usia sekitar 20-30 tahun.¹

Prevalensi jerawat pada masa remaja cukup tinggi, yaitu berkisar antara 47-90%.² Prevalensi tertinggi pada umur 16-17 tahun, dimana pada wanita berkisar 83-85% dan pada pria berkisar 95-100%.³

Beberapa faktor penyebab jerawat yaitu faktor genetik, faktor makanan, seperti makanan yang banyak mengandung lemak, karbohidrat tinggi, faktor psikis (stress), kosmetik dan bahan kimia lainnya. Oleh sebab itu, untuk dapat mencegah timbulnya jerawat harus melakukan pola hidup sehat, seperti tidak banyak mengonsumsi makanan berlemak, pemakaian kosmetik yang secukupnya, dan tidak memakai kosmetik yang berbahan dasar minyak serta kimia berlebih. Banyaknya faktor penyebab jerawat menjadi suatu tantangan untuk mencari solusi dalam pengobatannya terutama mencari suatu zat yang dapat menghambat bahkan membunuh bakteri penyebab jerawat seperti *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*.⁴

Indonesia merupakan negara tropis yang terkenal akan keanekaragaman floranya, banyaknya tumbuhan yang dapat tumbuh subur sehingga ketersediaannya

berlimpah dan dapat digunakan sebagai bahan obat. Begitu pula dengan jamur/fungi, dibandingkan dengan tumbuhan tinggi waktu tumbuh jamur tidak mengenal musim sehingga dapat diperoleh kapan saja. Banyak jamur yang telah lama digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional dimana secara empiris jamur dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit, akan tetapi perlu dilakukan penelitian secara ilmiah untuk membuktikan khasiat yang terkandung dalam jamur tersebut. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Wardani, dkk pada tahun 2011 dibuktikan bahwa ekstrak etanol 70% dan n-heksan jamur shitake mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.⁵ Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk membuktikan aktivitas jamur shitake sebagai antibakteri dan diharapkan dapat menghambat bahkan membunuh bakteri pada konsentrasi yang rendah.

2. Metode

2.1. Alat

Well plate mikrodilusi (cmsi), autoklaf (All America), LAF, incubator (memert), botol, *rotary evaporator, chamber*, pipa kapiler, labu bulat, jangka sorong, corong pisah, cawan penguap, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, neraca analitik, beaker glass, gelas ukur, labu bulat, penangas, mikropipet (fisher brand), tip, sentrifugator, lampu UV, kurs silica, penjepit kurs, desikator, plat KLT GF254.

2.2. Bahan

Jamur shitake (*Lentinus edodes*), media *Mueller-Hinton Broth* (MHB) (Merck), *Mueller-Hinton Agar* (MHA) (Merck), *Nutrient Agar* (NA) (Merck), antibakteri pembanding tetrasiklin, etanol 96%, n-heksan, etil asetat, akuades, metanol, pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, pereaksi Lieberman Bouchardat, serbuk magnesium, H₂SO₄, FeCl₃, NaCl, BaCl, Natrium Hidroksida.

2.3. Persiapan Sampel

Pada penelitian uji aktivitas antibakteri

digunakan sampel jamur shitake (*Lentinus edodes*) yang didapat dari tempat budidaya jamur di daerah Cikole, Lembang, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Sebelum pengujian aktivitas antibakteri dilakukan beberapa tahapan terlebih dahulu, yaitu dimulai dari pengumpulan bahan dan pengolahan bahan dari jamur shitake (*Lentinus edodes*) segar menjadi simplisia kering dengan cara dijemur dibawah sinar matahari langsung selama tiga hari, dimana sebelumnya dilakukan determinasi tanaman di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor.

2.4. Ekstrak dan Fraksi

Setelah diperoleh simplisia jamur shitake (*Lentinus edodes*) kemudian dilakukan karakterisasi simplisia yang meliputi pengujian kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, dan kadar abu total. Selanjutnya dilakukan pembuatan ekstrak jamur shitake dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode ekstraksi maserasi. Kemudian dilanjutkan dengan pemekatan ekstrak dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental dengan bobot yang konstan. Setelah itu dilakukan skrining fitokimia pada ekstrak etanol jamur shitake (*Lentinus edodes*) untuk mengetahui golongan senyawa besar yang terkandung. Selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol-air sehingga akan di dapatkan tiga fraksi yaitu fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol-air, selanjutnya ketiga fraksi tersebut digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri.

2.5. Pembuatan Media

Muehler Hilton Broth (MHB) sebanyak 21 gram serta *Muehler Hilton Agar* (MHA) sebanyak 23 gram masing-masing dilarutkan dengan 1 liter akuades dan dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk hingga homogen, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer sebanyak 200 mL dan ditutup dengan kapas berlemak dan aluminium foil, kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 2 atm

selama 15 menit.⁶

2.6. Pembuatan Inokulum

Biakan murni bakteri diremajakan pada media agar miring yang telah padat. Kemudian diambil 1 ose koloni, lalu masukan ose pada tabung yang berisikan media *Muehler Hilton Broth* (MHB) kemudian tabung divortex agar homogen, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37° C.

2.7. Pembuatan Suspensi Bakteri

Ambil 1 mL dari hasil inokulum bakteri uji, disuspensikan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl fisiologis 0,9%, kemudian divortex sampai homogen, lakukan pengenceran hingga menghasilkan absorbansi sebesar 0,08 - 0,10 pada spektrofotometri visibel dengan panjang gelombang 625nm.⁷

2.8. Pembuatan Larutan Sampel Uji

Pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi jamur shitake ini dilakukan terhadap beberapa bakteri patogen yaitu *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak dan fraksi jamur shitake (*Lentinus edodes*) sebanyak 10,24 mg dilarutkan dengan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO) sebesar 5% sehingga didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1024 µg/mL. Selanjutnya dari larutan induk tersebut diambil sebanyak 100 µL dan dimasukkan kedalam *well plate* yang telah berisi media *Muehler Hilton Broth* (MHB) dan bakteri. Kemudian dilakukan pengenceran untuk masing-masing kolom sampai semua lubang terisi. Konsentrasi yang digunakan adalah 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, 32 ppm, 64 ppm, 128 ppm, 256 ppm, dan 512 ppm. Pada kolom pertama hanya berisi media *Muehler Hilton Broth* (MHB) sebagai kontrol negatif dan kolom kedua berisi media *Muehler Hilton Broth* (MHB) dan suspensi bakteri uji sebagai kontrol positif, serta antibakteri pembanding yang digunakan adalah tetrasiklin. Inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya setelah diperoleh hasil yang baik dilakukan pengujian kesetaraan dengan antibakteri, dengan konsentrasi sampel 100 ppm, 500

ppm, 5.000 ppm, 10.000 ppm, 50.000 ppm dan 100.000 ppm. Sedangkan konsentrasi tetrasiklin 10 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm, dan 500 ppm. Selanjutnya metode bioautografi dengan menggunakan hasil terbaik sebagai sampel, dikembangkan menggunakan pengembang yang sesuai kepolarnya. Setelah itu plat yang telah dikembangkan diletakkan pada cawan petri yang telah berisi media *Muehler Hilton Agar* (MHA) dan bakteri uji, diamkan selama 30 menit. Kemudian plat diangkat kembali dan cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pengujian dengan Scanning Electron Microscope (SEM), dimana dibuat terlebih dahulu inokulum bakteri sebanyak 5 cawan petri kemudian inokulum tersebut diambil dan dimasukkan dalam tabung ependrof, kemudian ditambahkan dengan sampel terbaik biarkan selama 3 jam kemudian disentrifugasi, sampel dikuras dan ditambah dengan formaldehid, diamkan dan kuras kembali saat akan dilakukan pengamatan dengan Scanning Electron Microscope (SEM).

3. Hasil

3.1. Hasil Determinasi Tanaman

Penelitian ini diawali dengan pencarian tanaman yang didapat dari tempat budidaya jamur di daerah Cikole, Lembang, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Sebelum dilakukan pengujian, terlebih dahulu dilakukan determinasi pada jamur shitake yang dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor dan berdasarkan hasil determinasi yang diperoleh, menunjukan tanaman yang digunakan adalah benar jamur shitake dengan spesies *Lentinula edodes*.

3.2. Hasil Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi pada simplisia dilakukan

untuk mengetahui dan menjamin mutu simplisia memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Hasil karakterisasi simplisia tertera pada Tabel 1.

3.3. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Pada proses ekstraksi, simplisia diekstraksi dengan menggunakan cara dingin yaitu metode maserasi. Pada proses maserasi ini simplisia kering yang di gunakan adalah sebanyak 2 Kg. Proses maserasi ini menggunakan pelarut etanol 96% dilakukan selama 3 hari, sehingga dengan waktu kontak yang lebih lama antara pelarut dan simplisia memungkinkan proses penarikan senyawa aktif lebih optimal. Setelah ekstrak hasil maserasi diperoleh selanjutnya dilakukan pemekatan ekstrak dengan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot yang konstan. Ekstrak pekat yang diperoleh adalah sebanyak 530,59 gram dengan rendemen 26,53 %.

Setelah proses ekstraksi, selanjutnya dilakukan proses fraksinasi dari ekstrak dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut non polar (n-heksan), pelarut semi polar (etil asetat) dan pelarut polar (metanol:air) yang bertujuan untuk memisahkan komponen senyawa-senyawa berdasarkan perbedaan kepolarnya. Berdasarkan hasil fraksinasi didapatkan rendemen fraksi n-heksan adalah 40,213%, rendemen fraksi etil asetat adalah 0,884%, dan rendemen fraksi methanol:air adalah 56,21%.

3.4. Hasil Skrining Fitokimia

Setelah diperoleh ekstrak kental dengan bobot yang konstan dari jamur shitake, kemudian dilakukan skrining fitokimia pada ekstrak jamur shitake. Hasil skrining fitokimia dapat disimpulkan bahwa pada simplisia dan

Tabel 1. Hasil Karakterisasi Simplisia Jamur Shitake

Parameter Uji	Simplisia (%)
Kadar air	10,5
Kadar abu total	10,04
Kadar sari larut air	62,33
Kadar sari larut etanol	69,83

Table 2. Hasil Penentuan Nilai KHM dan KBM Ekstrak dan Fraksi Jamur Shitake terhadap Bakteri Uji

Sampel Uji	<i>Propionibacterium acnes</i>		<i>Staphylococcus epidermidis</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	KHM (µg/mL)	KBM (µg/mL)	KHM (µg/mL)	KBM (µg/mL)	KHM (µg/mL)	KBM (µg/mL)
Ekstrak jamur shitake	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Fraksi metanol-air jamur shitake	>512	>512	>512	>512	>512	>512
Fraksi n-heksan jamur shitake	256	>512	256	>512	256	512
Fraksi etil asetat jamur shitake	256	>512	256	512	256	512
Tetrasiklin	1	>512	4	>512	8	>512

ekstrak etanol jamur shitake mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid dan tanin.

3.5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Mikrodilusi

Pengujian aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) / Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang dilakukan dengan menggunakan metode *broth microdilution*, bakteri uji yang digunakan adalah *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Staphylococcus aureus*. Hasil penentuan KHM dan KBM dari ekstrak dan fraksi jamur shitake dapat dilihat pada Tabel 2.

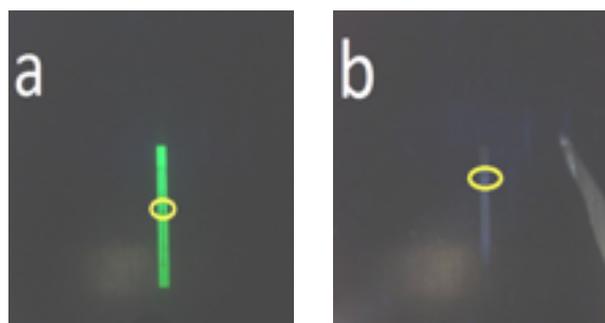
3.6. Hasil Pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Selanjutnya hasil terbaik dari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu fraksi etil asetat dilakukan pemantauan

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan tujuan untuk identifikasi secara kualitatif dari suatu sampel atau pemisahan bercak senyawa yang terkandung dalam sampel uji.⁵ Pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan perbandingan pengembang kloroform : metanol (8 : 2) diamati pada UV 254 nm dan 366 nm (Gambar 1), kemudian dibandingkan dengan bercak aktif pada pengujian bioautografi.⁸

3.7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Bioautografi

Pengujian bioautografi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemungkinan senyawa-senyawa terkandung dalam sampel yang memiliki aktivitas antibakteri secara langsung. Metode bioautografi yang digunakan adalah bioautografi kontak. Pada metode ini menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), kromatogram hasil elusi fraksi etil asetat tersebut ditempelkan diatas permukaan media yang telah dicampur dengan suspensi bakteri dan telah memadat



Gambar 1. Hasil Pemantauan KLT pada (a) UV 254 nm, (b) UV 366 nm



Gambar 2. Hasil Bioautografi

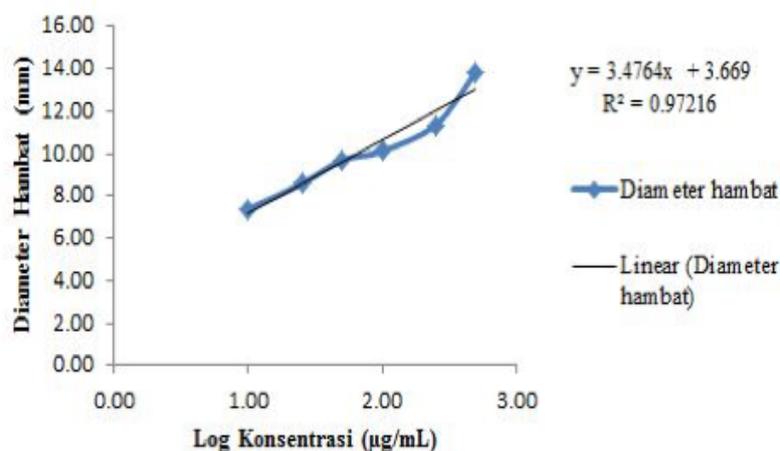
selama 30 menit, supaya senyawa antibakteri dalam plat kromatogram berdifusi ke dalam media agar, pengamatannya dilakukan dengan melihat letak bercak yang terbentuk sebagai daerah terang atau zona bening yang tidak ditumbuhi bakteri dan menghitung nilai Rf, kemudian dibandingkan dengan lempeng hasil pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sebelumnya. Pada pemantauan ini di dapatkan satu bercak dengan nilai Rf 0,56, bercak tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji (Gambar 2).

3.8. Hasil Kesetaraan dengan Antibakteri Pemanding

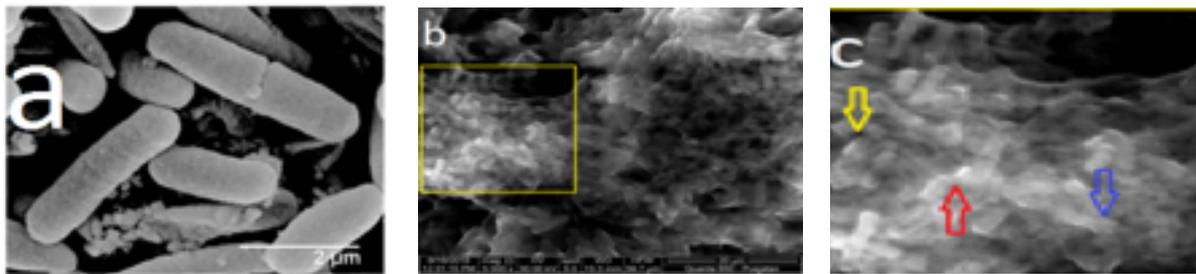
Pengujian selanjutnya adalah kesetaraan antara fraksi terbaik yaitu fraksi etil asetat dengan antibakteri pembanding tetrasiklin terhadap *Propionibacterium acnes*. Pengujian ini dilakukan dengan metode cakram kertas untuk melihat kemampuan dari fraksi etil asetat jamur shitake dalam menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*, dengan melihat zona hambatnya dan dibandingkan dengan kemampuan

tetrasiklin sebagai antibakteri pembanding yang digunakan. Sehingga akan diperoleh perbandingan penggunaan fraksi yang dibutuhkan untuk menghasilkan efek terapi yang setara dengan antibakteri pembanding tetrasiklin. Pada pengujian kesetaraan ini dibuat seri konsentrasi dari nilai KHM terbaik yang diperoleh dari uji mikrodilusi.

Untuk mendapatkan nilai kesetaraan diambil satu data konsentrasi dan diameter hambat dari fraksi etil asetat. Data yang diambil adalah data dari diameter hambat fraksi etil asetat dengan konsentrasi 500 µg/mL yang mempunyai diameter hambat rata-rata sebesar 8,63 mm, adapun pemilihan data ini dikarenakan fraksi etil asetat 500 µg/mL ini memiliki rata-rata daya hambat yang mendekati rata-rata daya hambat dari antibakteri tetrasiklin sebagai pembanding 10 µg/mL yang mempunyai diameter hambat rata-rata sebesar 8,58 mm. Dari konsentrasi tersebut kemudian dibuat persamaan regresi linier antara log konsentrasi sebagai sumbu x dan diameter hambat sebagai sumbu y, maka akan didapat persamaan



Gambar 3. Grafik Kesetaraan Fraksi Etil Asetat dengan Tetrasiklin terhadap *Propionibacterium acnes*



Gambar 4. Hasil Pengujian SEM

Keterangan:

- (a) *P. acnes* tanpa perlakuan/normal
- (b) *P. acnes* terpapar fraksi etil asetat
- (c) *P. acnes* dengan perlakuan diperbesar
- ← Menunjukkan bentuk bakteri tidak utuh
- ← Menunjukkan dinding sel mengkerut
- ← Menunjukkan benjolan

$y=bx+a$. Berdasarkan hasil diameter hambatan antibakteri perbandingan diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 3,6690x + 3,4764$ dan $R = 0,97216$. Zona hambatan dari fraksi etil asetat jamur shiitake adalah sebesar 8,63 mm disubstitusikan kedalam persamaan $y = 3,6690x + 3,4764$ sebagai nilai y , sehingga dihasilkan nilai kesetaraan fraksi etil asetat dengan antibakteri perbandingan sebesar 1 mg/mL fraksi etil asetat setara dengan 0,05346 mg/mL tetrasiklin.

3.9. Hasil Pengujian Metode *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Tahap terakhir pengujian yaitu dilakukan pengujian metode *Scanning Electron Microscope* (SEM) yang dilakukan di Laboratorium Balai Bahan dan Pekerjaan Jalan, Pusat Jalan dan Jembatan, Pekerjaan Umum, Bandung. Hasil pengujian SEM dapat dilihat di Gambar 4.

4. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi jamur shiitake terhadap bakteri penyebab jerawat diawali dengan pencarian tanaman yang didapat dari tempat budidaya jamur di daerah Cikole, Lembang Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Selanjutnya sebelum dilakukan pengujian terlebih dahulu dilakukan determinasi pada jamur shiitake yang bertujuan untuk memastikan kebenaran dari bahan yang digunakan.

Proses pengolahan dilakukan dengan cara sortasi basah dan sortasi kering. Sortasi basah dilakukan bertujuan untuk memisahkan jamur shiitake segar dari pasir, krikil dan pengotor lainnya. Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tumbuhan yang tidak diinginkan dan pengotor-pengotor lain yang masih ada pada simplisia kering.

Pengujian karakterisasi terhadap jamur shiitake (*Lentinus edodes*) dilakukan untuk mengetahui mutu dari bahan yang digunakan. Kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air dalam simplisia. Kadar abu total dilakukan untuk mengetahui gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal (tanaman alami) maupun kontaminan sampai terbentuknya ekstrak. Penetapan kadar sari larut air untuk mengetahui kemampuan dari simplisia apakah tersari dalam pelarut air dan penetapan kadar sari larut etanol dilakukan untuk mengetahui apakah simplisia dapat larut dalam pelarut organik.

Setiap jamur memiliki karakteristik yang berbeda hal ini dapat terjadi karena kualitas jamur itu sendiri dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya adalah jenis tanah, ketinggian, suhu udara, pH tanah, bahan organik yang terkandung dalam tanah, semua hal tersebut dapat menyebabkan perbedaan karakteristik jamur di masing-masing daerah.

Pada proses ekstraksi, simplisia diekstraksi dengan menggunakan cara dingin

yaitu metode maserasi. Ekstrak pekat yang diperoleh adalah sebanyak 530,59 gram dengan rendemen 26,53 %. Selanjutnya untuk membedakan kepolaran dari senyawa yang terlarut dilakukan fraksinasi dengan metode Ekstraksi Cair-cair, berikut rendemen dari fraksi metanol-air, n-heksan dan fraksi etil asetat berturut-turut adalah 56,2%; 40,2% dan 0,88%. Fraksi etil asetat memiliki rendemen yang sangat kecil dibandingkan fraksi yang lain artinya senyawa semipolar yang tertarik oleh pelarut etil asetat lebih sedikit dibandingkan senyawa yang bersifat polar ataupun non polar.

Pengujian aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC)/ Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Berdasarkan hasil penelitian maka dapat diketahui pengujian sampel uji fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terbaik terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* yaitu keduanya pada konsentrasi 256 ppm. Kemudian untuk penentuan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sampel yang menunjukkan adanya kemampuan untuk membunuh bakteri adalah fraksi n-heksan dengan konsentrasi 512 ppm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan fraksi etil asetat dengan konsentrasi 512 ppm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* hal ini dapat terlihat dari pengambilan cuplikan hasil Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) yang ditumbuhkan di media *Muehler Hilton Agar* (MHA) dan pada konsentrasi tersebut tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri hal tersebut menunjukkan pada konsentrasi tersebut memiliki aktivitas untuk membunuh bakteri, maka dari hasil yang didapatkan dapat disimpulkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas terbaik untuk menghambat dan membunuh bakteri. Selanjutnya hasil terbaik dari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu fraksi etil asetat dilakukan pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan

tujuan untuk identifikasi secara kualitatif dari suatu sampel atau pemisahan bercak senyawa yang terkandung dalam sampel uji. dari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu fraksi etil asetat dilakukan pemantauan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan tujuan untuk identifikasi secara kualitatif dari suatu sampel atau pemisahan bercak senyawa yang terkandung dalam sampel uji.

Pengujian bioautografi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemungkinan senyawa-senyawa terkandung dalam sampel yang memiliki aktivitas antibakteri secara langsung. Metode bioautografi yang digunakan adalah bioautografi kontak. Pada pemantauan ini di dapatkan satu bercak dengan nilai Rf 0,56, bercak tersebut terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Ditinjau dari hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan, bercak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut diperkirakan bercak yang berisi aktivitas antibakteri dari senyawa aktif jamur shitake golongan alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid dan tanin.

Pengujian selanjutnya adalah kesetaraan antara fraksi terbaik yaitu fraksi etil asetat dengan antibakteri pembanding tetrasiklin terhadap *Propionibacterium acnes*. Pengujian ini dilakukan dengan metode cakram kertas untuk melihat kemampuan dari fraksi etil asetat jamur shitake dalam menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*, dengan melihat zona hambatnya dan dibandingkan dengan kemampuan tetrasiklin sebagai antibakteri pembanding yang digunakan. Sehingga akan diperoleh perbandingan penggunaan fraksi yang dibutuhkan untuk menghasilkan efek terapi yang setara dengan antibakteri pembanding tetrasiklin. Pada pengujian kesetaraan ini dibuat seri konsentrasi dari nilai KHM terbaik yang diperoleh dari uji mikrodilusi, dihasilkan nilai kesetaraan fraksi etil asetat dengan antibakteri pembanding sebesar 1 mg/mL fraksi etil asetat setara dengan 0,05346 mg/mL tetrasiklin.

Hasil pengujian metode *Scanning Electron Microscope* (SEM) menunjukkan

adanya perubahan morfologi sel bakteri pada *Propionibacterium acnes* yang telah dipapar oleh fraksi etil asetat dengan konsentrasi 256 ppm, ditandai dengan adanya bentuk bakteri yang rusak atau tidak utuh, adanya dinding sel bakteri yang mengkerut dan adanya benjolan pada dinding sel bakteri. Perubahan morfologi *Propionibacterium acnes* tersebut dapat disebabkan oleh kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid dan tanin, yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Alkaloid mempunyai mekanisme sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Selain itu, alkaloid bekerja dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan dan menghambat enzim topoisomerase yang mempunyai peran sangat penting dalam proses replikasi, transkripsi dan rekombinasi DNA dengan cara memotong dan menyambungkan untai tunggal atau untai ganda DNA.¹⁰ Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler.¹¹ Mekanisme kerja senyawa triterpenoid belum diketahui secara pasti, akan tetapi diduga terlibat dalam kerusakan membran oleh gugus lipofiliknya. Tanin merupakan poliflavonoid yang biasanya digunakan sebagai bahan penyegar, mempunyai sifat antimikroba terhadap khamir, bakteri dan kapang. Kemampuan tannin sebagai bahan antimikroba diduga karena tanin akan berikatan dengan dinding sel bakteri, sehingga akan menginaktivasi kemampuan menempel bakteri dalam menginaktivasi adhesi mikroba, menghambat pertumbuhan, aktivitas enzim protease, transpor pembungkus sel, dan dapat membentuk ikatan kompleks dengan polisakarida.¹² Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri adalah berhubungan dengan membran lipid bakteri dan dapat menyebabkan kerusakan pada liposom.¹³

5. Simpulan

Ekstrak dan fraksi jamur shitake telah diuji aktivitas antibakterinya. Berdasarkan hasil uji aktivitas, fraksi jamur shitake memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan KHM terbaik diperoleh dari fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan.

Daftar Pustaka

1. Harper JC. Acne Vulgaris. Birmingham: Departemen of Dermatology, University of Alabama; 2007.
2. Cunliffe WJ, Gollnick HPM. Acne diagnosis and management. London: Martin Dunitz; 2011.
3. Goodman G. Acne and Acne Scarring Why We Should Treat, The Medical Journal of Australia. 1999; 62-63.
4. Choi JS, Bae HJ, Kim SJ. .Invitro Anti bacterial and anti inflammatory Properties of Seaweed Extract Against Acne including Bacteria *Propionibacterium acnes*. Journal Environ Biol. 2011;32:313-318.
5. Wardani E, Wahyudi P, Tantari D, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% dan n-heksan Jamur Shitake (*Lentinula edodes*(Berk) Pegler) Terhadap E. coli & S. Aureus. Farmasains, Fakultas Farmasi, UHAMKA Jakarta. 2011;1(3).
6. NCCLS. Methods for Antimicrobial Susceptibility Test For Bacteria That Grow Aerobically; 2009.
7. CLSI. Methos for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Approved standard-eight edition M07-A8 ed.s.l.:National Committee for Clinical Laboratory Standards 29; 2009.
8. Kusumaningtyas E, Astuti E, Darmono. Sensitivitas Metode Bioautografi Kontak dan Agar Overlay dalam Penentuan Senyawa Antikapang. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2008;6(2):75-76.
9. Fendi YN, Hertiani T. Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Sarang Semut (*Mymecodia tuberosa* Jack.) Terhadap *Candida Albicans*, *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. Traditional Medicine Journal. Yogyakarta:

- Universitas Gadjah Mada; 2013.
10. Campbell NA., Jane BR, Lisa AU, Michael BC, Steven AW, Peter VM, and Robert BJ. Biologi Jilid 1, Edisi 8. Erlangga, Jakarta; 2010.
 11. Ngajow M, Abidjulu J, Kamu VS. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. Jurnal MIPA Unstrat Online. 2013;2(2):128-132.
 12. Cowan MM. Plant Product as Antimicrobial Agent, Clinical Microbiology Reviews. Departement of Microbiology, Miami University Oxford, Ohio. 1999;12(4):564-582.
 13. Kursia S, Lebang JS, Taebe B, Burhan A, Rahim Wa OR, Nursamsiar. IJPST, Vol 3. 2016; 7.