

UJI TOKSISITAS EKSTRAK METANOL LINGZHI (*Ganoderma Lucidum*) DENGAN METODE *BRINE SHRIMP* *LETHALITY TEST (BSLT)*

Prasetyo Handrianto dan Ratih Kusuma Wardani

Akademi Farmasi Surabaya

*e-mail: prasetyohandrianto@gmail.com

Abstract

Lingzhi Mushroom (*Ganoderma lucidum*) contains a variety of bioactive elements such as terpenoids, polysaccharides, steroids, phenols, and glycoproteins, as well as some researchers also report that Triterpen and polysaccharide are the main components actively Physiological. Compounds that have certain bioactivity are often toxic to shrimp larvae, therefore, it is necessary to do toxicity test, one of them using BSLT test (Brine Shrimp Lethality Test). In this circuit the larvae of shrimp are divided into 5 treatment groups i.e. each test group as many as 10 larva shrimp and Lingzhi mushroom extract with a concentration of 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm. This method is aimed at the mortality rate of the shrimp larva *Artemia salina* L, which is caused by test extracts. The results are calculated as the LC50 (Letal concentration) value of the test extract, i.e. the dosage amount or the concentration of test extracts that can lead to the death of shrimp larvae by 50% after the incubation period of 24 hours. Compounds with LC50 < 1000 µg/ml can be regarded as an active compound based on Meyer. Lingzhi Mushroom Extract (*Ganoderma lucidum*) using a methanol solvent has a toxic effect on the shrimp larva *Artemia salina* L with LC50 or toxic in the starting concentration of 76.52 ppm.

Kata kunci: *Ganoderma lucidum*, methanol, BSLT.

Abstrak

Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) mengandung berbagai unsur bioaktif seperti terpenoid, polisakarida, steroid, fenol, dan glikoprotein, serta beberapa peneliti juga melaporkan bahwa triterpen dan polisakarida adalah komponen utama yang aktif secara fisiologis. Senyawa-senyawa yang memiliki bioaktivitas tertentu sering kali bersifat toksik terhadap larva udang maka dari itu perlu dilakukan Uji toksisitas salah satunya dengan menggunakan uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Pada penelitian ini larva udang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu masing-masing kelompok uji sebanyak 10 larva udang dan ekstrak jamur lingzhi dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm. Metode ini ditujukan untuk mengukur tingkat mortalitas

larva udang *Artemia salina* L, yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC50 (letal concentration) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Senyawa dengan LC50 < 1000 µg/ml dapat dianggap sebagai suatu senyawa aktif berdasarkan Meyer. Ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut methanol memiliki efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina* L dengan LC50 atau bersifat toksik pada mulai konsentrasi 76,52 ppm.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, metanol, BSLT.

1. PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional yang berasal dari tanaman herbal masih menjadi pilihan utama yang digunakan sebagai pengobatan di beberapa belahan dunia termasuk Indonesia (Al-Rubiay, dkk., 2008). Di Indonesia ada kurang lebih 20.000 jenis tumbuhan obat yang tumbuh dan berkembang. Namun, baru sekitar 1000 jenis saja yang sudah didata dan sekitar 300 jenis yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional (Hariana, 2013). Salah satu tanaman yang telah banyak diketahui berkhasiat obat dan berpotensi sebagai antimikroba alami adalah dari spesies jamur. Negara-negara Asia Tenggara diketahui sebagai sumber yang kaya spesies jamur, seperti *Ganoderma lucidum*.

Ganoderma lucidum mengandung berbagai unsur bioaktif seperti terpenoid, polisakarida, steroid, fenol, dan glikoprotein, serta beberapa peneliti juga melaporkan bahwa triterpen dan polisakarida adalah komponen utama yang aktif secara fisiologis (Indrian, 2015). Adapun senyawa yang terkandung dalam jamur lingzhi dan bersifat sebagai antibakteri adalah triterpenoid. Terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram di pengaruhi karena

senyawa triterpenoid mempunyai mekanisme kerja terhadap bakteri. Senyawa triterpenoid bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Handrianto, 2017). Triterpenoid ini mempunyai efek antibakteri yang besar dan menjadi senyawa utama yang sering diekstrak dari *Ganoderma* (Surahmida, 2017). Oleh karena itu, jamur lingzhi dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit. Salah satunya adalah kemampuan tersebut menjadikan jamur lingzhi diindikasikan untuk pengobatan kanker (Rohmah, 2014).

Penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh (Rohmah, 2014) tentang Kajian Toksisitas Dari Tubuh Buah *Ganoderma lucidum* Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa ekstrak *Ganoderma lucidum* mampu mematikan larva udang *Artemia salina* L. Berdasarkan data

tersebut, maka perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui bagaimana uji toksisitas ekstrak *Ganoderma lucidum* menggunakan pelarut metanol yang diekstraksi dengan metode soxhlet untuk mendapatkan ekstrak dari jamur lingzhi. Hasil penelitian diharapkan memberikan informasi ilmiah tentang uji toksisitas dari ekstrak *Ganoderma lucidum*.

Uji toksisitas yang biasa dilakukan adalah BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) karena senyawa-senyawa yang memiliki bioaktivitas tertentu sering kali bersifat toksik terhadap larva udang. Oleh karena itu, kemampuan untuk mematikan larva udang dapat digunakan sebagai uji pendahuluan yang cepat dan sederhana untuk mengetahui bioaktivitas senyawa secara *in vivo* (Kristanti, 2008).

Metode ini ditujukan terhadap tingkat mortalitas larva udang *Artemia salina* L, yang disebabkan oleh ekstrak uji. Hasil yang diperoleh dihitung sebagai nilai LC50 (*letal concentration*) ekstrak uji, yaitu jumlah dosis atau konsentrasi ekstrak uji yang dapat menyebabkan kematian larva udang sejumlah 50% setelah masa inkubasi 24 jam. Senyawa dengan LC50 < 1000 µg/ml dapat dianggap sebagai suatu senyawa aktif berdasarkan Meyer (Lisdawati dkk, 2006).

2. METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat penggiling bahan alam, alat soxhlet, botol vial, autoclave, dan cawan porselen. Bahan- bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*), larva udang *Artemia salina* L, metanol, es batu, aquadest, air laut.

Pelaksanaan Uji Toksisitas

Tahap pertama

Jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) diekstraksi menggunakan alat soxhlet dan cawan porselen. Bahan yang digunakan 10 gram serbuk jamur lingzhi dan 100 ml pelarut metanol. Sampel yang diperoleh dengan mengekstraksi 10 gram jamur lingzhi dengan pelarut metanol sebanyak 100ml, pelarut dipanaskan untuk mendapatkan uap yang akan dialirkan pada serbuk jamur lingzhi. Akan terjadi proses kondensasi dari fase gas ke cair. Hasil ekstraksi ditampung dalam botol vial steril.

Tahap kedua

Pada penelitian ini larva udang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu masing-masing kelompok uji sebanyak 10 larva udang dan ekstrak jamur lingzhi dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm.

Tahap Ketiga

Pada masing- masing vial diisi konsentrasi ekstrak jamur lingzhi dan masing-masing 10 ekor larva udang yang berumur 48 jam dan ditambahkan air laut sebanyak 10 ml. Vial-vial tersebut kemudian disimpan ditempat didekatkan sinar lampu. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan terhadap jumlah larva udang yang mati pada tiap-tiap vial. Untuk setiap sampel kontrol dilakukan pengulangan sebanyak 3 replikasi. Nilai LC50 dibawah 1000 µg/ml dinyatakan bersifat toksik dan diatas 1000 µg/ml dinyatakan tidak toksik.

Tahap keempat

Amati larva udang yang mati (tidak

bergerak) pada masing-masing tabung reaksi, catat dan dokumentasi, hasil dari penelitian dianalisa menggunakan statistik uji *anova one way*.

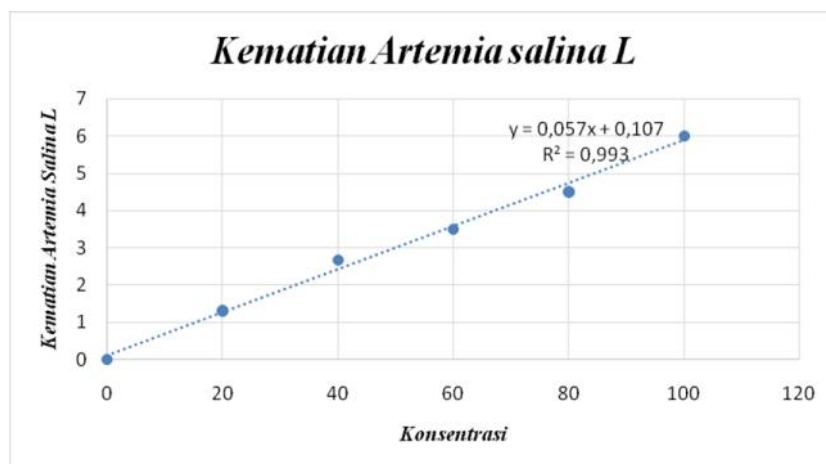
3. HASIL DAN DISKUSI

Pengujian toksisitas ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut metanol dengan metode BSLT dengan inkubasi selama 24 jam pada suhu 25-30 °C dan diulang sebanyak 6 kali pengulangan. Hasil uji toksisitas dilihat pada tabel 1.

Berdasarkan tabel tersebut terlihat bahwa ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut metanol pada konsentrasi berbeda dan masing-masing dilakukan 6 kali replikasi menghasilkan kematian pada *Artemia salina L* yang berbeda-beda. Menurut pada Anderson (1991) 20 µg/ml, 40 µg/ml, 60 µg/ml, 80 µg/ml, 100 µg/ml menghasilkan rata-rata presentase kematian pada *Artemia salina L* dapat dilihat menggunakan persamaan garis linier pada gambar 1.

Tabel 1. Hasil Uji Toksisitas Ekstrak Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan Pelarut Metanol dengan Metode BSLT

Replikasi	Kontrol negatif	Kematian Larva Udang pada Konsentrasi (µg/ml)				
		20	40	60	80	100
1	0	1	3	4	5	6
2	0	1	2	3	4	7
3	0	2	3	2	5	6
4	0	1	2	4	5	6
5	0	1	3	4	4	5
6	0	2	3	4	4	6
Rata-rata	0	0,1	0,3	0,4	0,5	0,6



Gambar 1. Kurva uji pengaruh konsentrasi ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*)

Menurut (Rohmah, 2014) kandungan senyawa aktif dari jamur lingzhi yang berpotensi menyebabkan efek toksik yaitu terpenoid dan alkaloid. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa adanya efek toksik terhadap *Artemia salina L.* Hal ini dapat dilihat dari grafik kenaikan kurva dan hasil prosentase kematian pada larva udang yang terjadi.

Pada masing-masing konsentrasi

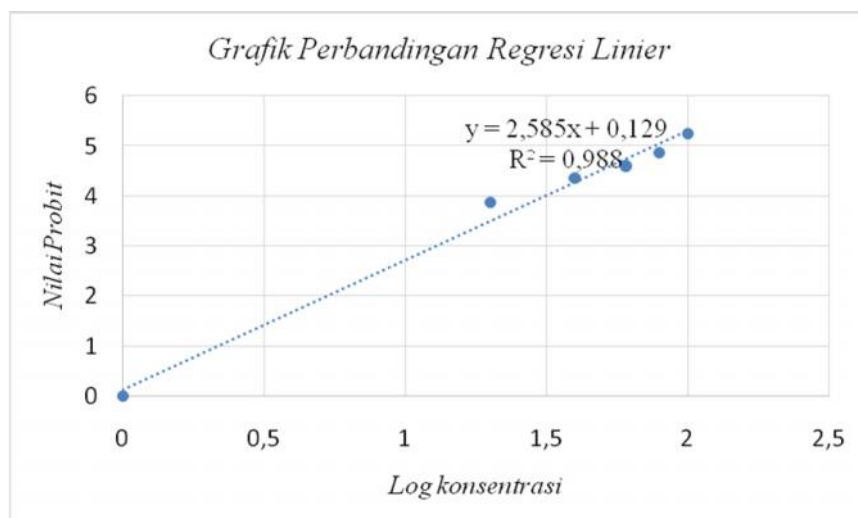
menghasilkan kematian larva udang yang berbeda-beda. Untuk hasil analisis uji LC_{50} (*Lethal Concentration*) toksisitas ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut metanol dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan hewan uji larva udang *Artemia salina L.* yang berumur 24 jam dengan uji BSLT terdapat pada tabel 2.

Table 3. Nilai probit LC_{50}

Log Konsentrasi (X)	Nilai Probit (Y)
0	0
1,3	3,87
1,6	4,36
1,78	4,61
1,9	4,87
2	5,25

Uji LC_{50} dilakukan untuk mengetahui kepadatan konsentrasi yang dapat mematikan 50% larva udang. Semakin tinggi LC_{50} yang dihasilkan, maka semakin rendahnya toksisitas, dan semakin rendah LC_{50} mencerminkan tingginya tingkat toksisitas. Tingkat toksisitas tersebut

dapat diartikan sebagai potensi aktivitasnya antikanker, karena semakin rendah LC_{50} maka senyawa tersebut semakin toksik dan semakin berpotensi sebagai antikanker. Untuk hasil grafik perbandingan regresi linier nilai probit dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Kurva grafik perbandingan regresi linier nilai probit LC_{50}

$$y = bx + a$$

$$y = 2,5854x + 0,1296$$

$$5 = 2,5854x + 0,1296$$

$$5 - 0,1296 = 2,5854x$$

$$4,8704 = 2,5854x$$

$$x = 1,88$$

Maka antilog (x) = 76,52 ppm

Selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan statistika SPSS 23 dengan menggunakan uji *annova One Way* untuk mengetahui tingkat signifikansi pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap *Artemia salina L.* Hasil uji *annova one way* dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji *Annova One Way* ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	140.333	5	28.067	87.103	.000
Within Groups	9.667	30	.322		
Total	150.000	35			

Setelah dilakukan uji ANNOVA dan menunjukkan hasil yang signifikan, dengan statistika SPSS 23 untuk melihat ada atau tidak Hasil yang diperoleh berdasarkan uji *annova* yaitu nilai signifikansi 000, jika nilai signifikansi <0,05 maka H0 ditolak dan H1 diterima dan dapat diartikan bahwa terdapat pengaruh toksisitas terhadap konsentrasi ekstrak

jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut metanol dengan metode BSLT.

Setelah itu dilakukan pengujian selanjutnya yaitu pengujian BNT (Beda Nyata) untuk mengetahui perbedaan secara nyata dengan uji Duncan. Hasil uji duncan dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Duncan

K	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
0	6	.0000					
20	6		1.3333				
40	6			2.6667			
60	6				3.5000		
80	6					4.5000	
100	6						6.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Berdasarkan uji Duncan menunjukkan bahwa untuk semua konsentrasi memiliki perbedaan nyata pada 6 konsentrasi ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*). Dari data tersebut

bahwa konsentrasi 0 ppm (0µg/ml) memiliki perbedaan nyata terhadap konsentrasi 20 ppm (20µg/ml). Konsentrasi 40 ppm (40µg/ml) juga memiliki perbedaan nyata terhadap

konsentrasi 60 ppm (60µg/ml). Konsentrasi 60 ppm (60µg/ml) juga memiliki perbedaan nyata terhadap konsentrasi 80 ppm (80µg/ml). Konsentrasi 80 ppm (80µg/ml) juga memiliki perbedaan nyata terhadap konsentrasi 100 ppm (100µg/ml). Hal ini menunjukkan kenaikan konsentrasi ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) akan meningkatkan kematian pada *Artemia salina L*. Konsentrasi rendah akan menghasilkan kematian pada *Artemia salina L* lebih sedikit, sebaliknya konsentrasi tinggi akan menghasilkan kematian pada *Artemia salina L* lebih banyak.

Berdasarkan perhitungan kurva uji pengaruh konsentrasi ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menunjukkan bahwa presentase kematian *Artemia salina L* pada perlakuan ekstrak metanol semakin tinggi pada konsentrasi yang tinggi pula yaitu konsentrasi 100 ppm. Hal ini dapat dikatakan bahwa rata-rata presentase mortalitas akan meningkat sesuai dengan meningkatnya konsentrasi setiap sampel dan hampir semua komponen bioaktif bersifat toksik pada dosis tinggi.

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diartikan bahwa pemilihan metanol sebagai pelarut yang digunakan untuk melarutkan zat aktif ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) dapat menimbulkan kematian pada larva udang *Artemia salina L*. Namun, jika dilihat dari factor kekuatan ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut metanol, perlu adanya penelitian selanjutnya dengan menggunakan cara ekstraksi lain.

4. KESIMPULAN

Ekstrak jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) menggunakan pelarut methanol memiliki efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina L* dengan LC₅₀ atau bersifat toksik pada konsentrasi 76,52 ppm.

REFERENCES

- Al-Rubiay, K.K., Jaber, N.N., Al-Mhaawe B.H. & Alrubaiy, L.K. 2008. Antimicrobial Efficacy of Henna Extracts, *Oman Medical Journal*, 23 (4), 253-256.
- Handrianto, P. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Lingzhi (*Ganoderma lucidum*) Menggunakan Pelarut Etanol terhadap *Escherichia coli*. *Journal of Pharmacy and Science*, 2(1), 33-35.
- Hariana, A. H. 2013. 262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Jakarta : Penerbit SwadayaSurahmida, S., Sudarwati, T. P. L., & Junairiah, J. (2019). Analisis GCMS terhadap Senyawa Fitokimia Ekstrak Metanol *Ganoderma lucidum*. *Jurnal Kimia Riset*, 3(2), 147-155.
- Indriyani, Eka Datik. 2015. Aktivitas Antioksidan Dan Sifat Organoleptik Teh Daun Kelor Dengan Variasi Lama Pengeringan Dan Penambahan Kayu Manis Serta Cengkeh Sebagai Perasa Alami. Skripsi. Surakarta : universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., & Kurniadi, B. 2008. *Buku ajar fitokimia*. Surabaya (ID): Airlangga University Pr, 3-161.

- Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S., & Kardono, L. B. S. 2006. *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* dari berbagai fraksi ekstrak daging buah dan kulit biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Buletin Penelitian Kesehatan*, 34(3 Sept).
- Rohmah, R. N., Ratnaningtyas, N. I., & Asnani, A. 2014. Kajian Toksisitas dari Tubuh Buah Ganoderma *Lucidum* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Scripta Biologica*, 1(1), 32-34.