

## OPTIMASI DAN UJI EFEKTIVITAS EKTRAK *Ganoderma lucidum* SEBAGAI ANTI-*Helicobacter pylori*

Intan Chairun Nisa<sup>1\*</sup>, Brilliant Margalin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Negeri Malang  
Jl. Semarang No.5, Kota Malang

<sup>2</sup>Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan,  
Universitas Maarif Hasyim Latif Sidoarjo

Jl. Raya Ngelom Megare No.30, Kabupaten Sidoarjo

\*Corresponding author: [intan.chairun.nisa.fmipa@um.ac.id](mailto:intan.chairun.nisa.fmipa@um.ac.id)

Naskah diterima: 1 April 2021; Direvisi: 11 Juni 2021; Disetujui: 25 Juli 2021

### ABSTRAK

*Helicobacter pylori* diketahui sebagai penyebab utama tukak lambung dengan melemahkan lapisan pelindung pada lambung dan duodenum. Sejumlah obat anti tukak lambung yang sering digunakan dapat menyebabkan resistensi pada *H. pylori*. *Ganoderma lucidum* diketahui dapat menghambat dan mendukung penyembuhan tukak lambung yang disebabkan oleh asam asetat. Akan tetapi, kemampuan *G. lucidum* dalam menghambat tukak lambung yang disebabkan *H. pylori* belum banyak diungkap. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak *G. lucidum* dalam menghambat pertumbuhan *H. pylori* penyebab tukak lambung. Penelitian merupakan ekperimental dua faktorial yaitu jenis pelarut fraksinasi dan konsentrasi ekstrak *G. lucidum*. Ekstrak *G. lucidum* difraksinasi menggunakan dua jenis pelarut yaitu etanol 60% dan akuades. Konsentrasi ekstrak *G. lucidum* yang digunakan adalah 1, 5, 10, 20, 30 mg/mL. Efektivitas ekstrak *G. lucidum* diuji dengan metode difusi cakram. Berdasarkan analisis statistik didapat bahwa jenis pelarut berpengaruh terhadap aktivitas daya hambat *H. pylori* dengan nilai pada pelarut etanol 60% signifikan lebih tinggi dibandingkan akuades. Konsentrasi ekstrak *G. lucidum* baik etanol maupun akuades berpengaruh signifikan terhadap aktivitas daya hambat. Aktivitas daya hambat tertinggi adalah pada perlakuan ekstrak etanol *G. lucidum* konsentrasi 20 mg/ml.

**Kata kunci:** akuades; difusi cakram; etanol; *Helicobacter pylori*; *Ganoderma lucidum*

### ABSTRACT

**Optimization and effectiveness assay of *Ganoderma lucidum* extract as Anti-*Helicobacter pylori*.** *Helicobacter pylori* is known to be the main cause of gastric ulcers by weakening the protective lining of the stomach and duodenal. A number of gastric anti-ulcer drugs can cause resistance to *H. pylori*. *Ganoderma lucidum* is known to inhibit and support the healing of gastric ulcers caused by acetic acid. *G. lucidum*'s ability to inhibit *H. pylori* growth has not been revealed much. This research aims to find out the effectiveness of *G. lucidum* extract in inhibiting the growth of *H. pylori* which causes gastric ulcers. This study is an experimental two factorial namely the type of fractionation solvent and the concentration of *G.*

*lucidum* extract. *Ganoderma lucidum* extract is diffracted using two types of solvents namely 60% ethanol and aquades. The concentration of *G. lucidum* extract used is 1, 5, 10, 20, 30 mg/mL. The effectiveness of *G. lucidum* is tested using the disc diffusion method. Based on statistical analysis found that the type of solvent affects the activity of *H. pylori*'s resistance with a value in ethanol solvents 60% significantly higher than aquades. On the other hand the concentration of *G. lucidum* extract in both ethanol and aquades has a significant effect on the activity of the slave. The highest inhibitory activity is in the treatment of ethanol extract *G. lucidum* concentration 20 mg / ml.

**Keywords:** *aquades; diffusion disc; ethanol; Helicobacter pylori; Ganoderma lucidum*

## PENDAHULUAN

*Helicobacter pylori* diketahui sebagai penyebab utama tukak lambung, disamping NSAID, alkohol, dan sindrom Zollinger Ellison (Feldman *et al.*, 2020). Kurang lebih 95% tukak duodenum dan 70% tukak lambung disebabkan oleh *H. pylori*. Bakteri tersebut banyak ditemukan pada mukosa lambung dan permukaan epitel di antrum lambung. Organisme ini mampu melemahkan lapisan pelindung pada lambung dan duodenum serta dapat meningkatkan asam lambung yang dapat berbahaya bagi lapisan lambung (Graham, 2014). Berdasarkan data dari Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (BPPK) Depkes pada tahun 2005-2008 tukak lambung menyebabkan kematian pada 2,7% penduduk laki-laki Indonesia dengan umur 45-54 tahun. Jumlah tersebut membuat Indonesia menempati peringkat ke-10 dengan kematian terbanyak yang disebabkan tukak lambung (Koto *et al.*, 2016).

Sejumlah obat anti tukak lambung seperti *H<sub>2</sub> receptor antagonist*, *proton pump inhibitor* dan *cytoprotectants* sering digunakan untuk mengatasi tukak lambung, akan tetapi efek samping muncul akibat mengkonsumsi obat-obat tersebut (Gao *et al.*, 2004). Pengobatan untuk mengatasi *H. pylori* umumnya menggunakan antibiotik akan tetapi *H. pylori* resisten terhadap beberapa perlakuan antibiotik (Mégraud, 2004). Alternatif penanganan tukak lambung dengan ekstrak bahan alam telah lama digunakan untuk mengobati dan mencegah tukak lambung. Komponen bahan alam seperti flavonoid (quercetin, naringin, and silymarin), saponins dari *Panax japonicus* dan *Kochia scoparia*, tannins (*Linderae umbellatae*), gums dan mucilage, licorice, aloe gel, capsicum (*chili*), dan beberapa

fraksi polisakarida (PS) dari berbagai bahan alami seperti danshen dan *Cistus laurifolius* diduga efektif mengatasi tukak lambung. Polisakarida dari *G. lucidum* (*Reishi mushroom*) dapat menghambat terbentuknya tukak lambung dan fraksinasi polisakarida *Ganoderma lucidum* mendukung penyembuhan tukak lambung pada mencit yang disebabkan oleh asam asetat dengan indikasi meningkatnya mucus lambung (Bi *et al.*, 2014). *Ganoderma lucidum* dapat secara signifikan melindungi mukosa lambung dari etanol asam yang menyebabkan tukak lambung akut (Paerk *et al.*, 2014). Penelitian lain membuktikan bahwa ekstrak etanol *G. lucidum* memiliki efek penghambatan pertumbuhan *H. pylori* (Shang *et al.*, 2013).

Aktivitas penghambatan *H. pylori* oleh *G.a lucidum* belum diungkap lebih dalam terutama mengenai efektivitas penghambatan dan efektivitas dalam mengatasi tukak lambung yang disebabkan oleh *H. pylori*. Urgensi dalam mengungkap efektivitas *G. lucidum* dalam mengatasi infeksi *H. pylori* di dukung oleh riset di Amerika dimana sekitar 6500 kematian penduduk disebabkan tukak lambung per tahunnya (Garrow and Delege, 2010). Alternatif pengobatan yang aman dan efektif sangat dibutuhkan mengingat jumlah penderita yang banyak. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas ekstrak *G. lucidum* dalam menghambat pertumbuhan *H. pylori* serta sebagai anti tukak lambung. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif baru yang efektif dalam mengatasi tukak lambung dengan aman melalui penggunaan bahan alami.

## **MATERIAL DAN METODE**

### ***Subyek Penelitian***

Subyek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur lingzhi (*G. lucidum*) dan bakteri *H. pylori* strain AATC.

### ***Tempat dan Waktu Penelitian***

Penelitian dilakukan di Laboratorium Hematologi Universitas Maarif Hasyim Latif Sidoarjo dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha Bandung pada bulan Juni hingga Agustus 2020.

### ***Alat dan Bahan***

Peralatan yang digunakan yaitu: Oxoid® Anaerobic jar 3.5 L, *laminar air flow*, *autoclave*, mikroskop cahaya Olympus® CX 23, dan inkubator. Bahan-bahan

yang digunakan yaitu: akuades steril, jamur lingzhi (*G. lucidum*), bakteri *H. pylori* strain AATC, Campygen pack 3.5L, Ampicilin 10 $\mu$ g (Sigma<sup>®</sup>, misal), darah kuda, Brucella broth, Brucella agar base, dan alkohol 60%

### ***Desain Penelitian***

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap (RAL) 2 faktorial dengan variable bebas pelarut fraksinasi dan konsentrasi ekstrak. Jenis pelarut yang digunakan adalah akuades dan etanol 60%. Konsentrasi ekstrak *G. lucidum* yang digunakan adalah 10, 50, 100, 150, dan 200 mg/ml (**Tabel 1**).

**Tabel 1.** Perlakuan penelitian dengan variabel konsentrasi ekstrak *G. lucidum*

<b>Konsentrasi/Pelarut</b>	<b>Akuades</b>	<b>Etanol 60%</b>
10 mg/ml	P1	P6
50 mg/ml	P2	P7
100 mg/ml	P3	P8
150 mg/ml	P4	P9
200 mg/ml	P5	P10

Keterangan: Kontrol negatif menggunakan akuades dan etanol 60% sedangkan kontrol positif menggunakan ampicillin 100 ppm.

### ***Pembuatan ekstrak *G. lucidum****

Pembuatan ekstrak mengikuti metode Yulianingtyas dan Kusmartono (2016) yang dimodifikasi. Sebanyak 2 kg jamur segar *G. lucidum* dihaluskan dengan lumpang dan difilter menggunakan 40 mesh lalu dikeringkan selama 4 jam. Sebanyak 20 gram hasil pengeringan diekstraksi di dalam maserator dengan pelarut akuades selama 3 hari (72 jam), kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* dan dikeringkan dengan oven lalu ditimbang berat keringnya. Ekstrak *G. lucidum* difraksinasi menjadi beberapa konsentrasi yaitu 10, 50, 100, 150, dan 200 mg/mL dengan cara dilarutkan secara berurutan 0,1; 0,5; 1; 1,5; dan 2 gram ekstrak *G. lucidum* ke dalam etanol 60% dan akuades.

### ***Pembuatan media***

Sebanyak 45 gram *Brucella medium* agar base dilarutkan dalam 1 liter akuades kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 20 menit. Medium didinginkan hingga 40°C dan dimasukkan 10 % darah kuda steril lalu dihomegenkan dan sekitar 15 mL medium dituangkan dalam cawan petri steril secara aseptik lalu dibiarkan hingga memadat (Mobley *et al.*, 2001).

### ***Optimasi lama inkubasi bakteri *H. pylori****

Sebanyak 1 ose bakteri *H. pylori* dikultur pada media agar dalam petri selanjutnya petri dan *campygen pack* diinkubasi dalam *anaerob jar* 3,5 L yang kemudian dimasukkan ke inkubator pada suhu 37°C selama 3, 4, dan 5 hari. Setelah diinkubasi pada waktu 3-5 hari, masing-masing koloni diwarnai dengan pengecatan Gram lalu diamati di bawah mikroskop cahaya. Isolat yang memiliki keseragaman tinggi dan bentuk yang masih bacil dilanjutkan untuk digunakan pada uji antibakteri.

### ***Suspensi bakteri *H. pylori****

Kultur *H. pylori* pada cawan petri diambil dan disuspensikan dalam larutan garam fisiologis 0,8% hingga didapatkan kekeruhan yang sama dengan standar Mc. Farland bernilai 1 (Wiegand *et al.*, 2008)

### ***Uji aktivitas antibakteri dengan cakram disk***

Larutan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol dan akuades jamur lingzhi dengan fraksinasi pada beberapa konsentrasi (10, 50, 100, 150, dan 200 mg/mL); etanol 60% dan akuades sebagai kontrol negatif; serta ampicilin disc 10 µg sebagai kontrol positif. Cakram disk ditetesi masing-masing larutan uji dan kemudian disk tersebut diletakkan di medium agar pada petri. Kemudian cawan petri diinkubasi dalam *anaerobic jar* dengan *campygen pack* 3,5 L dan dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 72 jam.

### ***Pengamatan dan pengukuran diameter zona bening***

Setelah 72 jam masa inkubasi kemudian dilakukan pengamatan. Zona bening di sekitar cakram disk disebut menunjukkan sensitivitas bakteri terhadap bahan uji yang digunakan. Diameter zona bening tersebut disebut diameter zona hambat (Jorgensen *and* Turnidge, 2015). Diameter zona bening diukur menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan milimeter (mm). Daya hambat dihitung dengan cara mengurangi besar diameter keseluruhan dengan diameter kertas cakram. Kemudian daya hambat masing-masing perlakuan digolongkan kekuatan daya hambatnya berdasarkan standar penggolongan Finch (2010).

### ***Analisis Data***

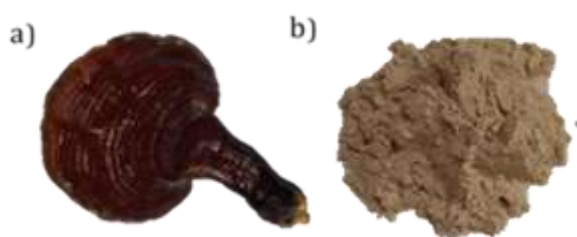
Data hasil pengujian aktivitas ekstrak etanol dan akuades jamur lingzhi (*G. lucidum*) terhadap diameter zona bening pertumbuhan bakteri *H. pylori* dianalisis

statistik menggunakan One Way ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% yang dilanjutkan dengan uji Duncan dan Mann Whitney.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

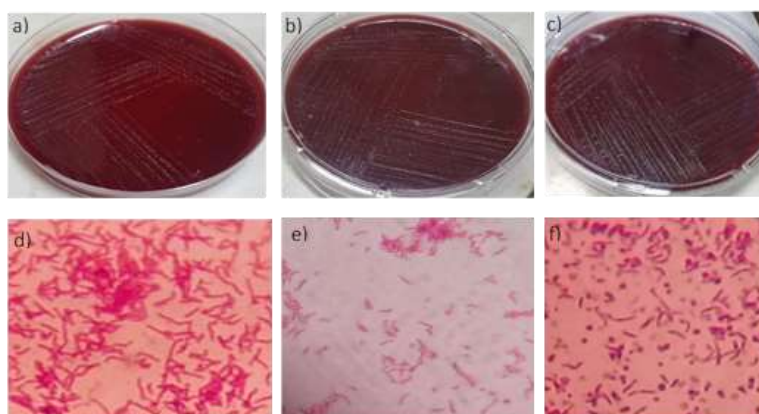
### *Preparasi Ekstrak G. lucidum*

Morfologi jamur lingzhi (*G. lucidum*) berbentuk seperti kipas, tekstur berkayu, berwarna coklat dan permukaan tidak rata (**Gambar 1a**). Pada penelitian, sebanyak 500 gram jamur lingzhi (*G. lucidum*) segar dapat menghasilkan 40 gram ekstrak dengan penyusutan mencapai 92 %. Hal ini disebabkan jamur tersusun atas 90% air dari total beratnya (Henricke *et al.*, 2016). Ekstrak jamur lingzhi (*G. lucidum*) difraksinasi dengan 2 macam pelarut yaitu etanol 60% dan akuades. Hasil ekstraksi berbentuk serbuk halus (**Gambar 1b**).



**Gambar 1.** a) Morfologi jamur lingzhi (*G. lucidum*); b) Hasil ekstrak jamur lingzhi (*G. lucidum*)

### *Optimasi Pertumbuhan H. pylori*



**Gambar 2.** Morfologi koloni saat inkubasi 3 hari (a), 4 hari (b) dan 5 hari (c). Hasil pewarnaan Gram inkubasi 3 hari (d), 4 hari (e) dan 5 hari (f).

*Helicobacter pylori* strain ATCC ditumbuhkan pada media *Brucella agar base* yang ditambahkan 7 % darah kuda dan diinkubasi pada kondisi mikroaerofilik dengan menggunakan *anaerobic jar* yang dilengkapi dengan *Campygen pack* 3,5 L selama 3-5 hari.

Pertumbuhan *H. pylori* (**Gambar 2**) terbaik didapatkan pada waktu inkubasi pada hari ke-3 dimana pertumbuhan koloni sudah mulai padat dan sel seragam berbentuk batang. Keseragaman bentuk bertujuan menseragamkan perlakuan. *Helicobacter pylori* memiliki karakter mudah berubah bentuk sel pada umur tertentu. Heterogenitas bentuk sel *H. pylori* sangat tinggi, telah dilaporkan Sycuro LK *et al.* (2010) bahwa *H. pylori* dapat berbentuk batang, spiral, dan kokus. Martinez *et al.* (2016) menyebutkan bahwa bentuk sel yang bervariasi dapat membantu bakteri untuk berkolonisasi dan beradaptasi pada kondisi berbeda seperti pada bentuk spiral *H. pylori* yang dapat meningkatkan motilitas. Berdasarkan pengamatan makroskopis, *H. pylori* memiliki koloni yang cenderung kecil, transparan dan permukaan rata. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ruiz-Rico *et al.* (2020) bahwa koloni *H. pylori* berukuran 0.5 sampai 1.5 mm, berwarna transparan hingga kekuningan, berbentuk bulat dan convex pada media agar dengan 10 % darah kuda.

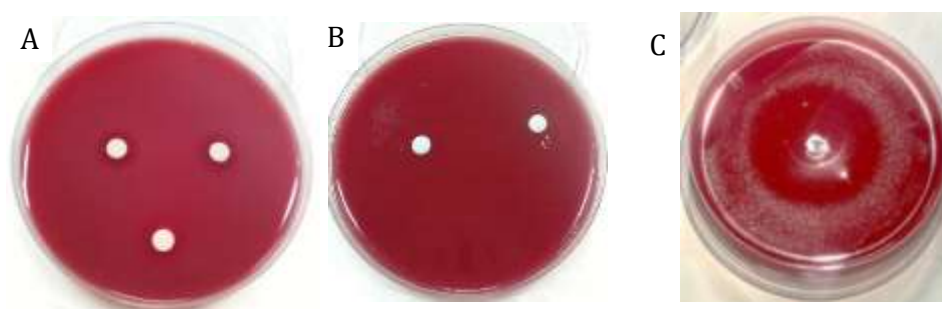
#### ***Uji Penghambatan H. pylori oleh G. lucidum***

Zona hambat merupakan keseluruhan zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Zona bening yang nampak memiliki ukuran yang berbeda-beda pada perlakuan yang berbeda (**Gambar 3**). Zona bening ini menunjukkan kemampuan ekstrak *G. lucidum* dalam menghambat pertumbuhan *H. pylori*. Daya hambat merupakan rata-rata dari hasil pengurangan diameter zona hambat dengan diameter cakram disk. Ekstrak *G. lucidum* memiliki kemampuan menghambat *H. pylori* dengan sangat kuat berdasarkan ukuran diameter zona bening yang terbentuk (**Tabel 2**). Klasifikasi daya hambat pertumbuhan bakteri mengikuti Finch (2010) yaitu diameter zona bening >20 mm berarti kuat, 16–20 mm berarti sedang, 10–15 mm berarti lemah, dan <10 mm berarti tidak ada penghambatan.

Perbedaan perlakuan konsentrasi ekstrak *G. lucidum* mempengaruhi daya hambat. Larutan fraksinasi berpengaruh signifikan terhadap daya hambat pertumbuhan *H. pylori*. Etanol 60% dapat memfraksinasi *G. lucidum* lebih baik

## Nisa & Margalin, Optimasi dan uji efektivitas ekstrak *Ganoderma lucidum* ...

dibandingkan dengan akuades. Daya hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 20 mg/ml dengan kategori penggolongan daya hambat sedang. Pada perlakuan tidak ditemukan perlakuan dengan kategori daya hambat kuat. Daya hambat sedang nampak pada perlakuan dengan fraksinasi etanol 60% dengan konsentrasi 10, 20 dan 30 mg/ml. Sedangkan, pada fraksinasi akuades, seluruh perlakuan tergolong tidak menunjukkan adanya daya hambat.



**Gambar 3.** Penampakan contoh zona hambat yang terbentuk. A = Salah satu perlakuan; B = Kontrol negatif; dan C = Kontrol positif.

**Tabel 2.** Daya hambat berbagai konsentrasi ekstrak *G. lucidum* pada pertumbuhan *H. pylori*

Pelarut	Konsentrasi <i>G.lucidum</i> (mg/mL)	Daya Hambat ± SD (mm)	Penggolongan Daya Hambat
Etanol 60%	KP	42.45 ± 0.15 <sup>a</sup>	Kuat
	KN	0 <sup>f</sup>	Tidak ada
	1	7.5 ± 0.3 <sup>e</sup>	Tidak ada
	5	8.83 ± 0.32 <sup>d</sup>	Tidak ada
	10	10.49 ± 0.2 <sup>c</sup>	Sedang
	20	11.53 ± 0.99 <sup>b</sup>	Sedang
	30	10.3 ± 0.025 <sup>bc</sup>	Sedang
Akuades	KP	42.45 ± 0.15	Kuat
	KN	0	Tidak ada
	1	6.5 ± 0.1	Tidak ada
	5	6.83 ± 0.07	Tidak ada
	10	6.88 ± 0.04	Tidak ada
	20	6.89 ± 0.03	Tidak ada
	30	6.71 ± 0.075	Tidak ada

Keterangan:

a. Huruf subscript yang berbeda dalam satu satu kolom menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0.05$ ) dengan menggunakan uji Duncan.

b. SD= Standard Deviasi; KP= Kontrol Positif; KN= Kontrol Negatif

Berdasarkan analisis statistik Duncan, pada fraksinasi etanol, perlakuan ekstrak *G. lucidum* dengan konsentrasi 20 dan 30 mg/ml tidak berbeda nyata, dan



perlakuan pada konsentrasi 30 mg/ml juga tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 20 mg/ml namun berbeda nyata dengan konsentrasi 1 dan 5 mg/ml. Sementara itu, pada fraksinasi dengan akuades, data tidak berdistribusi normal sehingga pada analisis statistik menggunakan Mann Whitney. Berdasarkan analisis statistik, perlakuan konsentrasi berpengaruh nyata terhadap daya hambat pertumbuhan *H. pylori*. Hasil penelitian menunjukkan daya hambat tertinggi pada kategori sedang sedangkan Handrianto (2017) melaporkan bahwa ekstrak etanol *G. lucidum* aktif sebagai antibakteri untuk *E. coli* pada konsentrasi 60 µg/ml.

Li *et al.* (2017) menyatakan bahwa terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas daya hambat mikroba antara lain kondisi bakteri (resisten, toleran, atau persisten), ukuran inokulum bakteri, konsentrasi zat antimikroba, dan jenis inang. Salah satu faktor yang diduga mempengaruhi hasil penelitian ini adalah konsentrasi zat antimikroba yang sangat bergantung pada jenis pelarut dalam ekstraksi *G. lucidum* yang digunakan. Suatu pelarut akan melarutkan senyawa dengan tingkat kepolaran yang sama. Kemampuan anti *H. pylori* oleh ekstrak *G. lucidum* disebabkan oleh adanya senyawa antibakteri yang terkandung yaitu triterpen dan asam ganoderat yang merupakan turunan dari triterpen. Triterpen dapat merusak struktur lipid membran pada sitoplasma, sehingga proses pembentukan membran dan atau dinding sel terhambat (Liantari, 2014). Etanol memiliki kepolaran yang sama dengan triterpen, sehingga diduga triterpen terekstraksi dengan menggunakan etanol. Akan tetapi daya hambat pertumbuhan bakteri *H. pylori* pada penelitian ini tergolong sedang (**Tabel 2**). Hal tersebut diduga karena kurangnya optimasi dari larutan ekstraksi yang mengikat senyawa triterpen.

Menurut Fernández-Agulló *et al.* (2015), beberapa faktor dapat mempengaruhi optimasi proses ekstraksi yaitu jenis dan konsentrasi larutan ekstraksi, waktu dan suhu ekstraksi. Penggunaan senyawa pelarut lain pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan untuk mengoptimasi kemampuan ekstrak *G. lucidum* dalam menghambat pertumbuhan *H. pylori*. Quereshi *et al.* (2010) membandingkan beberapa pelarut organik seperti metanol, aseton, etanol dan akuades untuk ekstraksi *G. lucidum* sebagai antimikroba dengan hasil yaitu ekstraksi aseton meningkatkan kemampuan *G. lucidum* dalam menghambat

pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypii*, *Escherichia coli*, *Klebsiela pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini menunjukkan beberapa optimasi baik dari jenis dan konsentrasi pelarut organik serta kondisi ekstraksi perlu dilakukan pada penelitian selanjutnya untuk meningkatkan daya hambat ekstrak *G. lucidum* terhadap *H. pylori*.

### **KESIMPULAN**

Lama inkubasi *H. pylori* terbaik adalah pada hari ke-3. Pelarut fraksinasi dan konsentrasi ekstrak *G. lucidum* berpengaruh nyata terhadap daya hambat ekstrak pada pertumbuhan bakteri *H. pylori*. Ekstrak etanol *G. lucidum* dengan konsentrasi 20 mg/mL dapat menghambat pertumbuhan bakteri *H. pylori* pada kategori sedang.

### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Terima kasih diucapkan kepada Direktorat Jenderal Bidang Penguatan Riset dan Pengembang, Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi yang mendanai penelitian ini melalui program PDP (Penelitian Dosen Pemula) tahun anggaran 2019 serta kepada seluruh pihak yang terlibat dalam membantu hingga terselesaikannya penelitian ini.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Bi, W. P., Man, H. B., & Man, M. Q. (2014). Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review. *World Journal of Gastroenterology*, 20(45), 17020. <http://doi.org/10.3748/wjg.v20.i45.17020>
- Feldman, M., Friedman, L. S., & Brandt, L. J. (Eds.). (2020). Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease. E-book: Pathophysiology, Piagnosis, Management. Elsevier.
- Fernández-Agulló, A., Freire, M. S., & González-Álvarez, J. (2015). Effect of the extraction technique on the recovery of bioactive compounds from eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) wood industrial wastes. *Industrial Crops and Products*, 64, 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.031>
- Finch, R. G., Greenwood, D., Whitley, R. J., & Norrby, S. R. (2010). Antibiotic and chemotherapy e-book. Elsevier Health Sciences.

- Gao Yihuai, Wenbo Tang, He Gao, Eli Chan, Jin Lan, and Shufeng Zhou. (2004). *Ganoderma lucidum* polysaccharide fractions accelerate healing of acetic acid-induced ulcers in rats. *Journal of Medicinal Food*, 7(4), 417–421. <https://doi.org/10.1089/jmf.2004.7.417>
- Garrow, D., & Delege, M. H. (2010). Risk factors for gastrointestinal ulcer disease in the US population. *Digestive Diseases and Sciences*, 55(1), 66. <https://doi.org/10.1007/s10620-008-0708-x>
- Graham, D. Y. (2014). History of *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 20(18), 5191. <http://doi.org/10.3748/wjg.v20.i18.5191>
- Handrianto, P. (2017). Aktivitas antibakteri ekstrak jamur lingzhi (*Gano lucidum*) menggunakan pelarut etanol terhadap *Escherichia coli*. *Journal of Pharmacy and Science*, 2(1), 33-35. <http://ejournal.akfarsurabaya.ac.id/index.php/jps/article/view/64>
- Hennicke, F., Cheikh-Ali, Z., Liebisch, T., Maciá-Vicente, J. G., Bode, H. B., & Piepenbring, M. (2016). Distinguishing commercially grown *Ganoderma lucidum* from *Ganoderma lingzhi* from Europe and East Asia on the basis of morphology, molecular phylogeny, and triterpenic acid profiles. *Phytochemistry*, 127, 29-37. <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.03.012>
- Jorgensen, J. H., & Turnidge, J. D. (2015). Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *Manual of Clinical Microbiology*, 71, 1253-1273. <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch71>
- Koto, K., Asrul, A., & Muradi, A. (2016). Characteristic of gastric perforation type and the histopathology at Haji Adam Malik general hospital Medan-Indonesia. *Bali Medical Journal*, 5(1), 186-8. <https://doi.org/10.15562/bmj.v5i1.325>
- Li, J., Xie, S., Ahmed, S., Wang, F., Gu, Y., Zhang, C., Chai, X., Wu, Y., Cai, J., & Cheng, G. (2017). Antimicrobial activity and resistance: Influencing factors. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 364. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00364>
- Liantari, D. S. (2014). Effect of wuluh starfruit leaf extract for *Streptococcus mutans* growth. *Jurnal Majority*, 3(7), 27-33. <http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/473>
- Martínez, L. E., Hardcastle, J. M., Wang, J., Pincus, Z., Tsang, J., Hoover, T. Bansil, R., & Salama, N. R. (2016). *Helicobacter pylori* strains vary cell shape and flagellum number to maintain robust motility in viscous environments. *Molecular Microbiology*, 99(1), 88-110. <https://doi.org/10.1111/mmi.13218>

- Mégraud, F. (2004). *H. pylori* antibiotic resistance: Prevalence, importance, and advances in testing. *Gut*, 53(9), 1374-1384. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2003.022111>
- Mobley, H. L., Mendz, G. L., & Hazell, S. L. (2001). *Helicobacter pylori*: Physiology and genetics. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21290711/>
- Park, J. H., Jang, K. J., Kim, C-H., Lee, Y. H., Lee, S. J., Kim, B. H., & Yoon, H. M. (2014). *Ganoderma lucidum* pharmacopuncture for the treatment of acute gastric ulcers in rats. *Journal of Pharmacopuncture*, 17(3), 40-49. <http://doi.org/10.3831/KPI.2014.17.025>
- Quereshi, S., Pandey, A. K., & Sandhu, S. S. (2010). Evaluation of antibacterial activity of different *Ganoderma lucidum* extracts. *Journal of Scientific Research*, 3(1), 9-13. [https://www.researchgate.net/profile/Sardul-Sandhu/publication/267240166\\_Evaluation\\_of\\_antibacterial\\_activity\\_of\\_different\\_Ganoderma\\_lucidum\\_extracts/links/55ed94da08ae65b6389f5ea7/Evaluation-of-antibacterial-activity-of-different-Ganoderma-lucidum-extracts.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Sardul-Sandhu/publication/267240166_Evaluation_of_antibacterial_activity_of_different_Ganoderma_lucidum_extracts/links/55ed94da08ae65b6389f5ea7/Evaluation-of-antibacterial-activity-of-different-Ganoderma-lucidum-extracts.pdf)
- Ruiz-Rico, M., Moreno, Y., & Barat, J. M. (2020). In vitro antimicrobial activity of immobilised essential oil components against *Helicobacter pylori*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(1), 1-9. <http://doi.org/10.1007/s11274-019-2782-y>
- Shang, X., Tan, Q., Liu, R., Yu, K., Li, P., & Zhao, G. P. (2013). In vitro anti-*Helicobacter pylori* effects of medicinal mushroom extracts, with special emphasis on the Lion's Mane mushroom, *Hericium erinaceus* (higher Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 15(2), 165-174. <http://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v15.i2.50>
- Sycuro, L. K., Pincus, Z., Gutierrez, K. D., Biboy, J., Stern, C. A., Vollmer, W., & Salama, N. R. (2010). Peptidoglycan crosslinking relaxation promotes *Helicobacter pylori*'s helical shape and stomach colonization, *Cell*, 141(5), 822-833. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.046>
- Wiegand, I., Hilpert, K., & Hancock, R. E. (2008). Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, 3(2), 163-175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>
- Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. (2016). Optimasi volume pelarut dan waktu maserasi pengambilan flavonoid daun belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.). *Jurnal Teknik Kimia*, 10(2), 61-67. <https://media.neliti.com/media/publications/142082-ID-optimasi-volume-pelarut-dan-waktu-masera.pdf>