

ANALISA KANDUNGAN BETA-GLUKAN LARUT AIR DAN LARUT ALKALI DARI TUBUH BUAH JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*) DAN SHIITAKE (*Lentinus edodes*)

¹Netty Widyastuti, ²Teguh Baruji, ³Reni Giarni, ⁴Henky Isnawan, ⁵Priyo Wahyudi, ⁶Donowati
Pusat Teknologi Bioindustri BPPT
Gedung II, Lantai 15, Jl.MH.Thamrin 8, Jakarta 10340
E-mail : nettysigit@hotmail.com

Abstract

*Beta glucan is a polysaccharide compound, generally not soluble in water and resistant to acid. Beta glucan is used as an immunomodulator (enhancing the immune system) in mammals is usually a beta-glucan soluble in water, easily absorbed and has a low molecular weight. Several examples of beta-glucan such as cellulose (β -1,4-glucan), lentinan (β -1,6-glucan) and (β -1,3-glucan), pleuran (β -1,6 and β -1,3-glucan) are isolated from species of fungi Basidiomycota include mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) and shiitake (*Lentinus edodes*). The purpose of this research activity is to obtain beta-glucan compound that can be dissolved in water and in alkali derived from fungi Basidiomycota, i.e., Oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus*) and shiitake (*Lentinus edodes*). The result of beta-glucan compared to characterize the resulting beta glucan that is molecular structure. The difference of beta glucan extraction is based on the differences in solubility of beta-glucan. Beta glucan could be water soluble and insoluble water.*

Kata kunci: beta-glucan, immunomodulatory, *Pleurotus ostreatus*, *Lentinus edodes*, extraction of water soluble and alkali soluble.

1. PENDAHULUAN

Beta glukon merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat diisolasi dari tanaman, kelompok cendawan dan mikroorganisme. Beta glukon merupakan homopolimer glukosa yang diikat melalui ikatan β -(1,3) dan β -(1,6)-glukosida dan banyak ditemukan pada dinding sel.

B-glukan merupakan komponen utama polisakarida yang terdapat pada dinding sel. Beberapa mikroorganisme, seperti ragi dan jamur/cendawan dan juga sereal seperti gandum dan jelai, mempunyai nilai ekonomi tinggi karena mengandung sejumlah besar β -glukan. Zat-zat yang terkandung dapat merangsang sistem kekebalan tubuh, modulasi imunitas humoral dan selular, dengan demikian memiliki efek menguntungkan

dalam memerangi infeksi bakteri, virus, jamur dan parasit. β -glukan juga menunjukkan sifat hipokolesterolemik dan sifat antikoagulan. Akhir – akhir ini telah terbukti sebagai senyawa anti-sitotoksik, antimutagenik dan anti-tumorogenik, sehingga dapat diharapkan sebagai promotor farmakologis kesehatan (Mantovani, 2007).

Kelompok cendawan yang menghasilkan ekstrak beta glukon diantaranya adalah jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan jamur shiitake (*Lentinus edodes*). Kedua cendawan sudah cukup dikenal luas di masyarakat Indonesia, harganya terjangkau, dan waktu budidayapun relatif tidak terlalu lama (Widyastuti, 2009).

Menurut Synytsya *et al* (2009), jamur tiram atau dikenal dengan genus *Pleurotus* merupakan sumber glukon biologis aktif. Secara parsial, β -

glukan dari *Pleurotus* sp. (pleuran) telah digunakan sebagai suplemen karena aktivitas immunosupresifnya. Seperti komponen serat makanan, polisakarida jamur tiram dapat merangsang pertumbuhan mikroorganisme usus (probiotik), yakni sebagai prebiotik. Glukan biasanya diisolasi dari bagian batang *Pleurotus ostreatus* dan *Pleurotus eryngii* dengan air mendidih yakni ekstraksi alkali. Kandungan chitin ditemukan dalam jumlah kecil sebagai komponen dinding sel kompleks kitin-glukan.

Surenjawa (2005), menyampaikan hasil penelitiannya bahwa beta – glukan yang berasal dari jamur shiitake (*Lentinus edodes*) mempunyai efek anti tumor.

Disebutkan oleh FDA, bahwa beta glukan termasuk kategori *Generally recognized as safe* serta tidak memiliki toksisitas atau efek samping. β -Glukan memiliki berbagai aktivitas biologis sebagai antitumor, antioksidan, antikolesterol, anti penuaan dini dan peningkat sistem imun atau peningkat sistem kekebalan tubuh yang dikenal sebagai imunomodulator. Selain itu, senyawa ini juga dapat dimanfaatkan sebagai zat aditif dalam industri makanan.

Produksi beta glukan dapat dilakukan dengan metode ekstraksi bertahap, yakni berdasarkan sifat kelarutan beta glukan dalam solven air dan alkali. Teknik ekstraksi ini merupakan modifikasi dari metode ekstraksi yang dilakukan oleh Mizuno (1999) dan Yap and Ng (2001) untuk isolasi *lentinan* dari jamur shiitake. Dengan ekstraksi bertahap diharapkan beta glukan yang dapat diekstrak dari tubuh jamur semakin optimal jumlah dan kadar beta glukannya.

Tujuan dari kegiatan penelitian ini adalah mendapatkan senyawa beta-glukan yang dapat larut dalam air dan dalam alkali yang berasal dari jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan jamur shiitake (*Lentinus edodes*) dengan hasil yang lebih optimal. Selain itu dari hasil beta glukan yang diperoleh dibandingkan untuk mengetahui karakteristik beta glukan diantaranya adalah gugus fungsinya.

2. BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah jamur tiram dan shiitake yang berasal dari kebun jamur di lokasi PT. Inti Jamur Raya, Pasar Ahad, Desa Cikole – Lembang. Bahan kimia yang diperlukan : solven air, etanol, NaOH, asam asetat, *Megazyme tools kit*.

Metode ekstraksi beta D-glukan yang dikembangkan yakni ekstraksi bertahap dari tepung tubuh buah jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan

jamur shiitake (*Lentinus edodes*) kering menggunakan solven air dan alkali. Pemilihan solven didasarkan pada sifat kelarutan beta-D-glukan yang memiliki sifat tidak larut dalam air (*insoluble water*) pada rantai panjangnya. Untuk senyawa berantai pendek diharapkan akan terekstrak pada tahap ekstraksi yang pertama dengan solvent air, sedangkan untuk beta-D-glukan rantai panjang diharapkan akan terekstrak di tahap kedua dengan solvent alkali.

Beta glukan hasil ekstrak dianalisa kandungan bahan aktifnya dengan *Megazyme tools kit*. Untuk mengetahui karakteristik berat molekul beta glukan yang dihasilkan. Rancangan penelitian meliputi persiapan tepung jamur, ekstraksi beta glukan dari tepung jamur larut air, ekstraksi beta glukan dari tepung jamur larut alkali, penimbangan dan pengukuran kadar Beta-D-glukan yang diperoleh, karakterisasi beta glukan yakni struktur molekul.

2.1. Penyiapan Tepung Jamur

Tubuh buah jamur tiram dan shiitake segar yang akan diekstraks dirajang, kemudian dikeringkan. Hasil rajangan jamur kering, kemudian ditepungkan dengan grinder. Tepung jamur siap untuk dilakukan ekstraksi.

2.2. Ekstraksi Beta Glukan

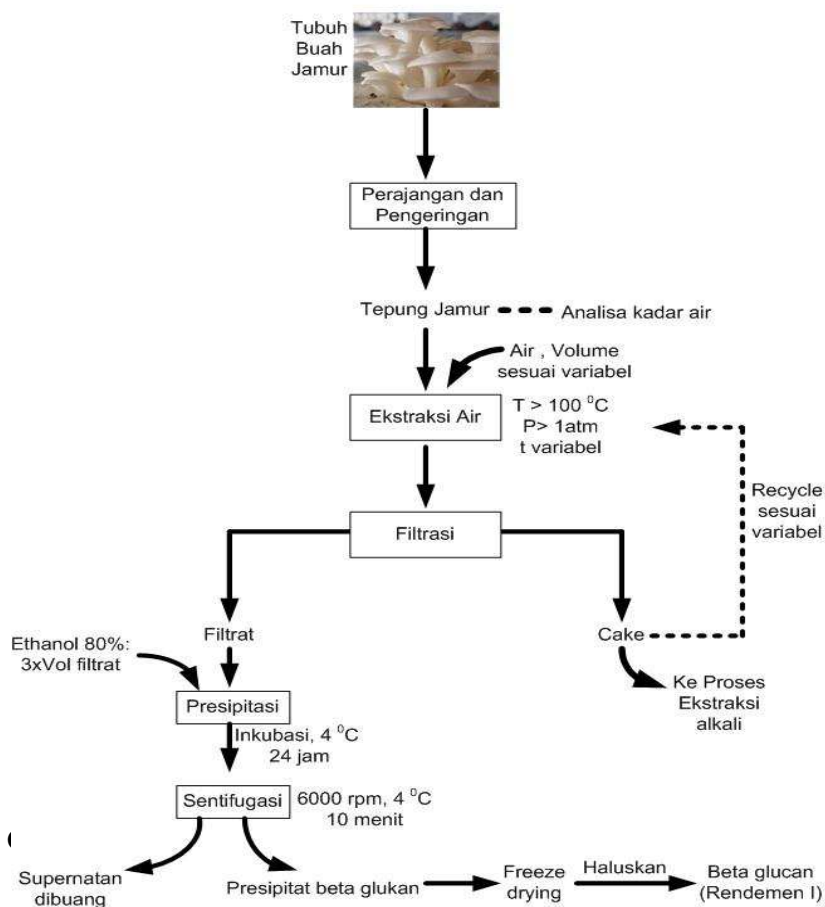
Beta glukan dapat diperoleh dari proses ekstraksi tubuh buah, miselium atau dari medium cair dalam proses fermentasi bawah permukaan. Metabolit primer seperti beta glukan, dapat diperoleh dari ekstraksi biomassa, terutama tubuh buah dengan menggunakan pelarut etanol atau air yang selanjutnya dimurnikan untuk mendapatkan ekstrak yang relatif murni sebagai bahan *neutraceutical*. Dari ekstrak tersebut dapat dibuat produk berupa kapsul, tablet atau minuman yang diformulasikan guna memperoleh rasa yang disukai.

Salah satu metode untuk memproduksi senyawa aktif beta glukan dari jamur adalah dengan cara ekstraksi dilanjutkan dengan pemurnian beta glukan seperti yang dilakukan oleh Chao *et al.*(1989) dalam Aryantha (2005). Penelitian terbaru oleh Yap dan Ng (2001) telah menetapkan prosedur yang lebih efisien untuk melakukan ekstraksi beta glukan. Beta glukan diisolasi melalui presipitasi etanol dan freeze drying dalam nitrogen cair. Uji kemurnian menggunakan kolom analisis karbohidrat, hasilnya 87,5% kemurnian. Dari segi komersial, metode Yap and Ng (2001) lebih hemat waktu, efisien dan relatif

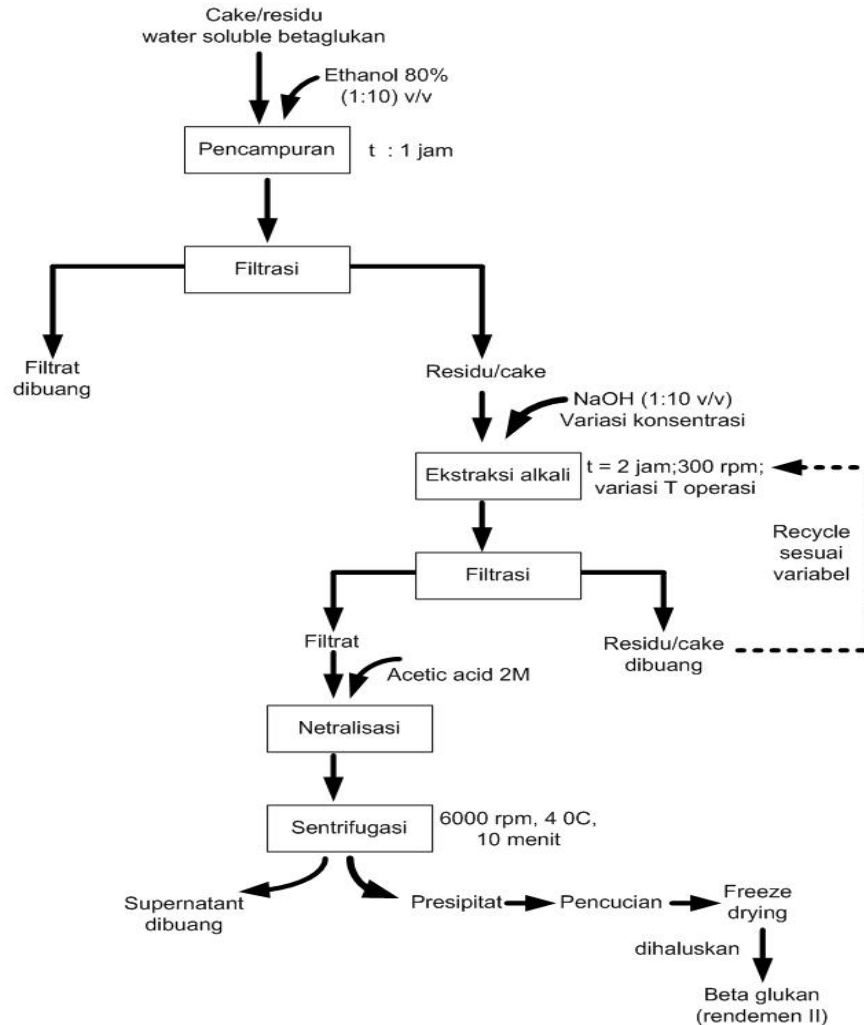
lebih rendah biaya dibanding metode asli Chihara *et al.*(1987) dan metode Mizuno (1999).

Berdasarkan kedua metode tersebut, maka disusunlah modifikasi desain produksi beta glukon dari jamur tiram dan shiitake dengan memperhatikan sifat kelarutan senyawa aktif tersebut dalam solven pengekstrak. Ekstrak senyawa aktif polisakarida beta glukon mempunyai sifat larut dalam air dan alkali (Widyastuti, 2011). Pada proses ekstraksi ini telah dilakukan modifikasi. Modifikasi yang dilakukan adalah dengan memecah proses ekstraksi menjadi dua tahap, yakni ekstraksi dengan solven air dilanjutkan alkali. Pada metode sebelumnya hanya 1 kali tahap ekstraksi, yaitu air saja atau alkali saja secara terpisah. Variabel-variabel yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi air dan alkali, berlandaskan hasil optimasi dengan menggunakan metode statistika penelitian sebelumnya.

Flowchart Proses Ekstraksi *Water Soluble Betaglucan* dari Jamur Basidiomycota



Flowchart Proses Ekstraksi Alkali *Soluble Betaglucan* dari Jamur Basidiomycota



Gambar 2. Diagram alur proses ekstraksi beta-glukan larut alkali

2.3. Pengukuran Hasil

Kelebihan modifikasi proses ekstraksi ini adalah didapatkan ekstrak *crude* beta glukon lebih banyak dengan jumlah berat bahan yang sama. Karena produk ekstrak diambil dua kali pada tahap ekstraksi air dan alkali yakni rantai pendek dan panjang.

Modifikasi yg dilakukan adalah dengan memecah proses ekstraksi menjadi dua tahap, yakni ekstraksi dengan solven air dilanjutkan alkali. Pada metode sebelumnya hanya 1 kali tahap

ekstraksi, yaitu air saja atau alkali saja secara terpisah

Beta glukon hasil ekstraksi ditimbang rendemennya untuk evaluasi *yield* yang diperoleh dari proses ekstraksi yang dilakukan, rumus yang digunakan adalah:

Rendemen =

$$\frac{\text{berat beta glukon}}{\text{berat jamur basis kering}} \times 100\%$$

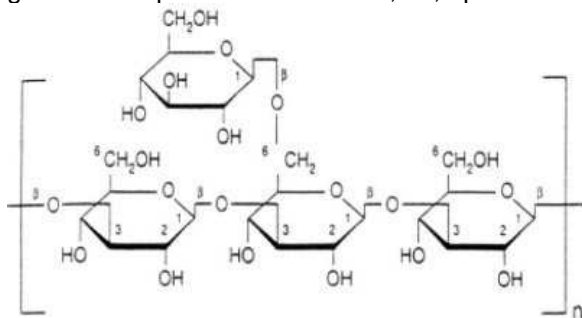
Kadar beta glukon diukur dengan metode *Megazyme* menggunakan *Megazyme tools kit*.

2.4. Purifikasi Hasil Ekstraksi

Beta glukon hasil ekstrak memiliki rata-rata kadar bahan aktif 25-35%. Hal ini dikarenakan bahan aktif masih bercampur dengan sisa protein, sisa bahan solven NaOH dan sisa-sisa senyawa gula sederhana. Proses purifikasi bertujuan untuk menghilangkan bahan pengotor seperti sisa protein, sisa NaOH dan senyawa gula sehingga didapatkan senyawa bahan aktif beta glukon relatif lebih murni, sehingga memenuhi spesifikasi sebagai bahan farmasi untuk *immunomodulator*.

2.5. Karakterisasi hasil ekstrak beta glukon

Beta glukon hasil ekstraksi dilakukan karakterisasi untuk membandingkan karakterisasi beta glukon dari sumber jamur yang berbeda dari jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan shiitake (*Lentinus edodes*). Uji karakterisasi meliputi uji FTIR untuk mengetahui gugus fungsi beta glukon,. Pada gambar 3 dapat dilihat struktur 1,3/1,6 β -Glukan.



Gambar 3. Struktur 1,3/1,6 β -Glukan

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebagaimana prosedur ekstraksi beta D-glukan (Gambar 1 dan gambar 2) dari jamur tiram dan jamur shitake telah dilakukan ekstraksi dengan menggunakan air dan alkali, dan sudah sampai pada tahap pengeringan ekstrak menggunakan teknik kering beku (*freeze drying*). Setelah ekstrak beta D-glukan kering selanjutnya akan dilakukan penentuan berat keringnya.

Hasil analisis kadar beta glukon dengan menggunakan K-YBGL 04-2008 Mushroom and Beta-Glucan Assay Procedure dari Megazyme dan setelah melalui perhitungan megakalkulasi diperoleh bahwa kadar beta glukon dari jamur shitake menunjukkan 43,87% yang larut dalam air dan 23,28% yang larut dalam alkali (NaOH) (Tabel 1)

Hasil analisis kadar beta glukon dengan menggunakan K-YBGL 04-2008 Mushroom and Beta-Glucan Assay Procedure dari Megazyme dan setelah melalui perhitungan megakalkulasi diperoleh bahwa kadar beta glukon dari jamur tiram menunjukkan 36,76% beta glukon larut dalam air dan 32,76% beta glukon larut dalam alkali (NaOH) (Tabel 2).

3.1. Hasil Karakterisasi Beta Glukan Menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*)

Pengamatan gugus fungsi senyawa standar beta glukon dari barley serta sampel ekstrak jamur tiram larut air dan larut alkali dilakukan pada spektrum serapan infra merah dengan *Fourier Transform Infra Red* Spektrofotometri (FTIR). Menurut Thontowi *et al.* (2007), spektrum infra merah senyawa beta glukon ditandai dengan adanya puncak serapan pada bilangan gelombang 3750-3000 cm^{-1} (gugus -OH atau alkohol), 3000-2700 cm^{-1} (gugus -CH), dan 1260-1050 cm^{-1} (gugus -C-O-C-). Berikut hasil analisis gugus fungsi β -glukan menggunakan FTIR :

Tabel 1. Analisis Gugus Fungsi β -1,3 glukon menggunakan FTIR

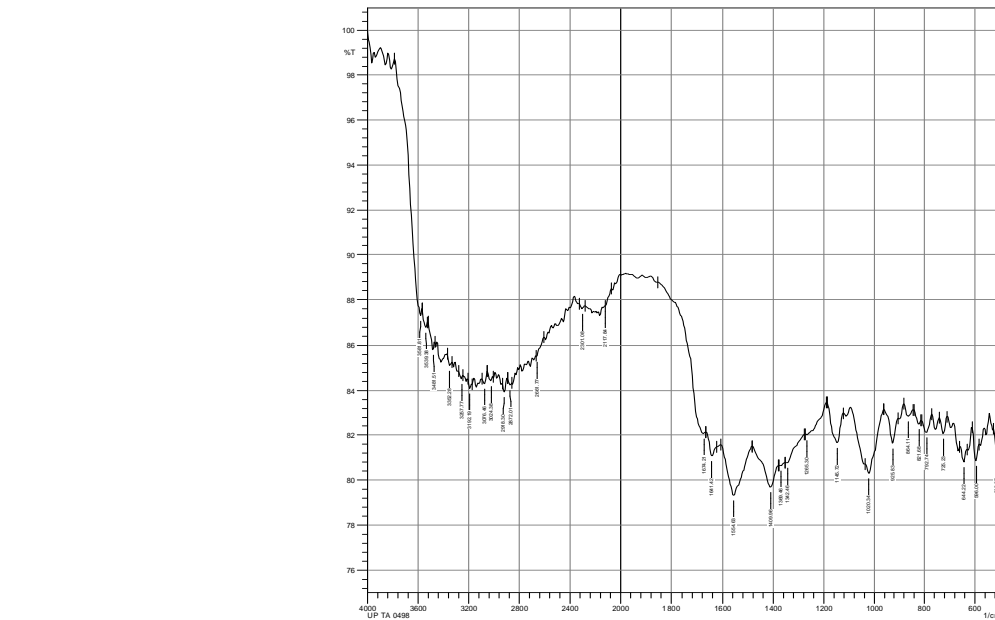
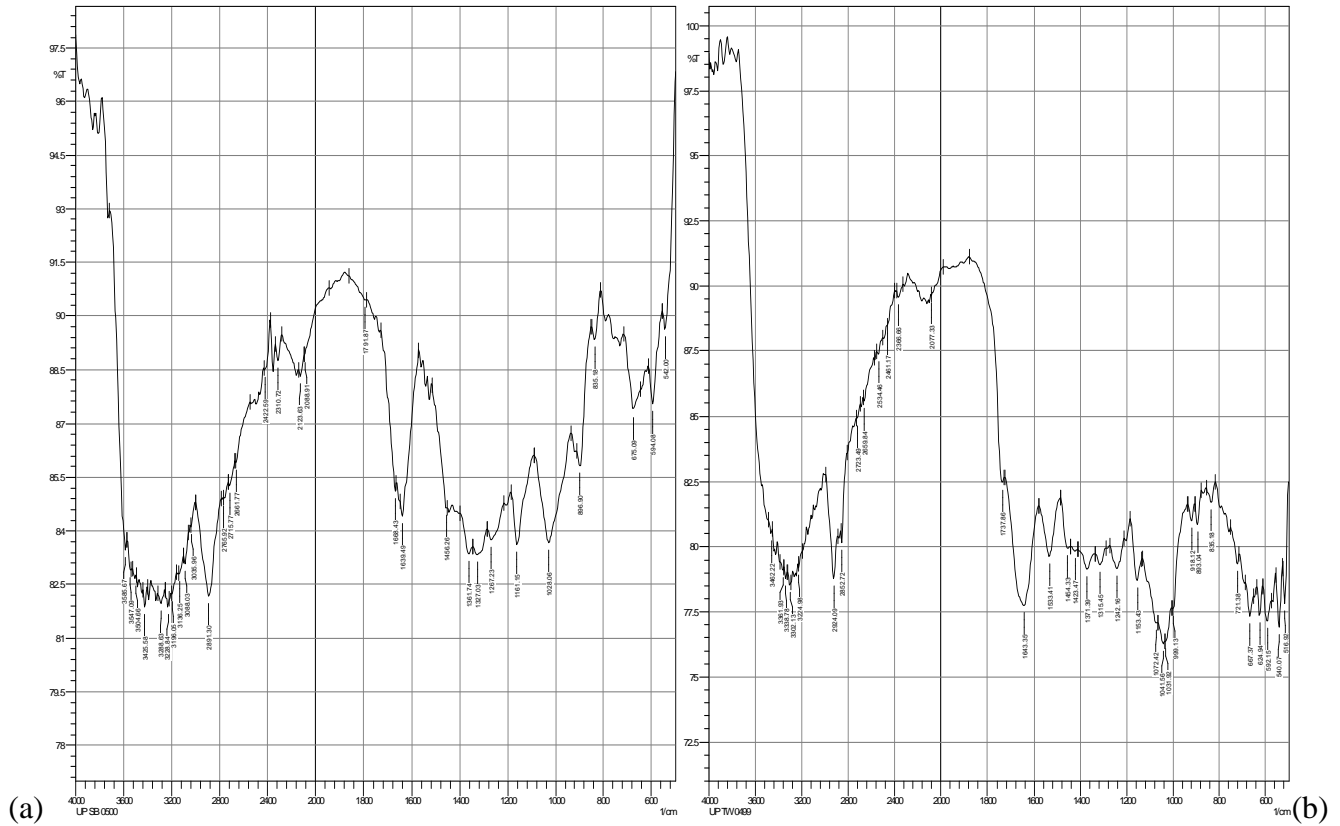
Bilangan Gelombang (cm^{-1})			Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi
Standar dari Barley	Ekstrak larut Air	Ekstrak Larut Alkali		
3425,58	3302,13	3192,19	3750-3000	Alkohol dan hidroksil (OH)
2891,30	2924,09	2918,30	3000-2700	CH alkana
1161,15	1153,43	1145,72	1260-1050	-C-O-C- (eter)

Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil β -glukan mempunyai spektrum infra merah yang sangat mirip bila dibandingkan dengan standar beta glukan dari Barley (Sigma). Dalam Saifudin, *dkk* (2006) dinyatakan bahwa, ikatan glikosida adalah ikatan eter di antara hidroksil gula dengan alkohol (Wilbraham and Matta,1992). Dengan adanya gugus eter, dan alkohol dapat dijadikan sebagai petunjuk adanya ikatan glikosida.

Menurut Khopkar (1990), pada daerah sidik jari ($1500-700\text{ cm}^{-1}$) sedikit saja perbedaan dalam struktur dan susunan molekul, akan menyebabkan distribusi puncak absorpsi berubah. Dalam daerah ini, untuk memastikan suatu senyawa organik adalah dengan cara membandingkan dengan pembandingnya. Menurut Sarangi *et al.* (2006),

adanya ikatan beta glikosida ditunjukkan dengan adanya spektra IR pada bilangan gelombang 1024 dan 867 cm^{-1} .

Menurut Hozova *et al.* (2007), adanya ikatan β -1,3-D-glukan ditunjukkan oleh pita serapan pada 895 cm^{-1} . Pada spektra FTIR standar beta glukan dari Barley, ekstrak tiram larut air dan larut alkali terdapat pita serapan ikatan β -1,3 glukan yang ditunjukkan masing-masing dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang $896,90\text{ cm}^{-1}$, $893,04\text{ cm}^{-1}$ dan $864,11\text{ cm}^{-1}$. Berdasarkan data spektra FTIR tersebut, maka ekstrak jamur tiram baik larut air ataupun larut alkali menunjukkan adanya beta glukan. Namun demikian, belum diketahui adanya rantai cabang β -1,6 glukan.



Gambar 4. Spektra FTIR Standar Beta D-glukan dari Barley (Sigma) (a), beta glukun jamur tiram larut air (b), beta glukun jamur tiram larut alkali (c)

Pada Tabel 2. menunjukkan bahwa hasil β -glukan jamur shiitake mempunyai spektrum infra merah yang sangat mirip bila dibandingkan dengan standar beta glukan dari Barley (Sigma).

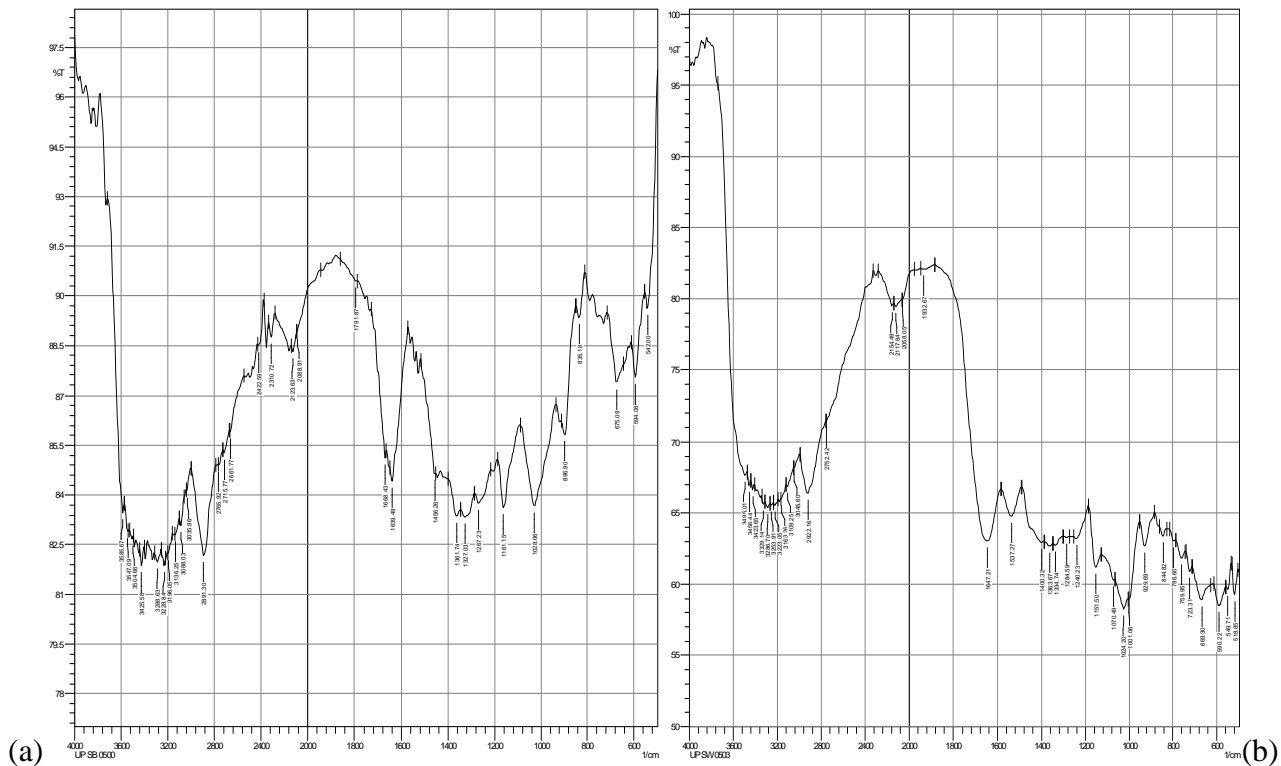
Dalam Saifudin *et al.* (2006) dinyatakan bahwa, ikatan glikosida adalah ikatan eter di antara hidroksil gula dengan alkohol (Wilbraham and Matta,1992). Jadi dengan adanya gugus eter, dan alkohol dapat dijadikan sebagai petunjuk adanya ikatan glikosida.

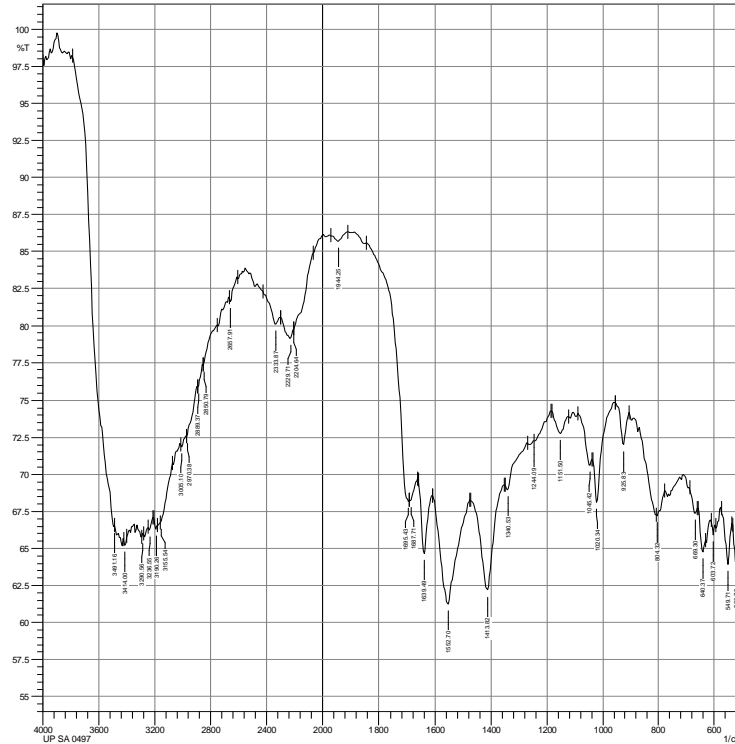
Tabel 2. Analisis Gugus Fungsi β -1,3 glukan Shiitake menggunakan FTIR

Bilangan Gelombang (cm^{-1})			Bilangan Gelomban (cm^{-1})	Gugus Fungsi
Standar dari Barley	Ekstrak larut Air	Ekstrak Larut Alkali		
3425,58	3286,70	3414,00	3750-3000	Alkohol dan hidroksil (OH)
2891,30	2922,16	2970,38	3000-2700	CH alkana
1161,15	1151,50	1151,50	1260-1050	-C-O-C- (eter)

Berdasarkan data spektra FTIR tersebut, maka ekstrak jamur shiitake baik larut air ataupun larut alkali menunjukkan adanya beta glukan, yang ditun-

jukkan oleh adanya ikatan glikosida. Namun demikian, belum diketahui adanya rantai utama β -1,3 dan rantai cabang β -1,6 glukan.





(c)

Gambar 5. Spektra FTIR Standar Beta D-glukan dari Barley (Sigma) (a), betaglukan jamur shiitake larut air (b), beta glukan jamur shiitake larut alkali (c)

4. KESIMPULAN

- Tubuh buah jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan jamur shiitake (*Lentinus edodes*) mengandung beta-glukan.
- Hasil analisis kadar beta glukan dengan menggunakan K-YBGL 04-2008 Mushroom and Beta-Glucan Assay Procedure dari Megazyme dan setelah melalui perhitungan megakalkulasi diperoleh bahwa kadar beta glukan dari jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) menunjukkan 36,76% beta glukan larut dalam air dan 32,76% beta glukan larut dalam alkali (NaOH).
- Hasil analisis kadar beta glukan dengan menggunakan K-YBGL 04-2008 Mushroom and Beta-Glucan Assay Procedure dari Megazyme dan setelah melalui perhitungan megakalkulasi diperoleh bahwa kadar beta glukan dari jamur shiitake (*Lentinus edodes*) menunjukkan 43,87% yang larut dalam air dan 23,28% yang larut dalam alkali (NaOH).

- Berdasarkan data spektra FTIR, ekstrak jamur tiram baik larut air ataupun larut alkali menunjukkan adanya beta glukan.
- Berdasarkan data spektra FTIR, ekstrak jamur shiitake baik larut air ataupun larut alkali menunjukkan adanya beta glukan, yang ditunjukkan oleh adanya ikatan glikosida.
- Perlu analisa lanjutan untuk mengetahui struktur molekulnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous . 2000. New Pharmaceutical, nutraceutical & Industrial Products. Wondu Holdings Pty Limited. RIRDC Publication No. 00/173 rirdc Project no.WHP-4A.
- Aryantha, I. Nyoman. 2005. Pengembangan Produk Kesehatan dari Shiitake. Makalah Lokakarya Pengembangan Produk dan Industri Jamur Pangan, BPPT Jakarta, 1-2 Agustus 2005.

- Chao PY., Wu ZD., Wang RC . 1989. The Extraction purification and Analysis of Polysaccharide PA3DE from the Fruit Body of *Flammulina velutipes* (Curt. Ex Fr) sing. Acta Biochemica and Biophysica Sinica, 21: 152-156.
- Chihara G., Hamuro J., Maeda Y., 1987. Antitumor and Metastasis-inhibitory Activities of Lentinan as An immunomodulator: An Overview. Cancer Detect Prev. 1987; 1:423-443.
- Hozová, Bernadetta - Kuniak, Ľudovít - Moravíková, Petra - Gajdošová, Alena. 2007. Determination of water-insoluble beta-D-glucan in the whole-grain cereals and pseudocereals In: Czech Journal of Food Sciences. ISSN 1212-1800. - 25-6 (2007), s. 316-324
- Khopkar, SM. 1990. Konsep Dasar Kimia Analitik. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- M.S.Mantovani, M.F. Bellini, J.P.F. Angeli, R.J. Oliveira, A.F. Silva, L.R. Ribeiro. 2007. β -Glucans in promoting health: Prevention against mutation and cancer. Mutat. Res: MUTATREV-7847.p8. doi:10.1016/j.mirev. 2007. 07.002.
- Mizuno, T. 1999. The extraction and development of antitumor-active polysaccharides from medicinal mushrooms in Japan. International Journal of Medicinal Mushrooms 1, 9-29.
- Ng ML., Yap AT. 2002. Inhibition of Human colon carcinoma development by Lentinan from Shiitake mushroom (*Lentinus edodes*). J. Altern Complement Med. 8(5): 581-9.
- Sarangi, Itisam., D. Ghosh., SK Bhutia., SK Mallick., TK Maiti. 2006. Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. International Immunopharmacology 6 : 1287-1297.
- Synytsya, A., Kateřina M., Alla S., Ivan J., Jiří S., Vladimír E., Eliška K., Jana Č. 2009. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity Carb Polymers, Vol 76, Issue 4, 16 May 2009: p.548-556
- Thontowi, Kusmiati dan Nuswantara. 2007. Produksi β -Glukan *Saccharomyces cerevisiae* dalam Media dengan Sumber Nitrogen Berbeda pada Air-Lift Fermentor. Biodiversitas Vol. 8, No. 4 : 253-256.
- Widyastuti, N., Wahyudi, P., Isnawan, H., Tjokrokusumo, D., Barudji, T., Giarni, R. 2011. Produksi Senyawa Polisakarida Beta-Glukan Larut Air dan Larut Alkali dari Tubuh Buah Basidiomycota . Proposal Insentif Ristek 2011
- Widyastuti, N. 2009. Pengembangan Teknologi Bioproses Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan Jamur Shiitake (*Lentinus edodes*) sebagai Sumber Gizi dan Bahan Pangan Fungsional. Orasi Pengukuhan Profesor Riset Bidang Bioteknologi Umum. BPPT-2 Desember 2009.