



DOI.

<https://doi.org/10.22219/fths.v3i1>

Received: Desember 2019

Accepted: Januari 2020

Available online: Februari 2020

Kajian Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*)

Vritta Amroini Wahyudi^{1*}, Laurent Octaviana², Sutrisno²

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang, Indonesia

²Program Studi Kimia, Universitas Negeri Malang

*Corresponding author email: vritta@umm.ac.id

Abstract. Processed products derived from mushrooms have been found and enjoyed by the community. One of the edible mushrooms used as traditional medicinal ingredients and also functional food is oyster mushrooms. Although oyster mushrooms have often been studied even using sophisticated instruments, some chemical laboratories that do not yet have sophisticated instruments still need literature data in the process of separation until pure isolates are obtained. This research was conducted to be the solution. The study uses descriptive methods by collecting data from the results of extraction, characterization, identification, and testing of antioxidant activity. Characterization includes retention factor (R_f) from elution of thin layer chromatography (TLC), determination of melting point (to determine the purity of isolates), and solubility test (to determine the nature of polarity). Identification of isolates was done by analyzing the results of Infrared and UV-Vis spectra. Phytochemical studies of white oyster mushrooms can be done based on secondary metabolite screening, separation by extraction and fractionation using organic solvents. Based on phytochemical screening, white oyster mushrooms are known to positively contain flavonoids, alkaloids, and terpenoids. The crude extract had an absorbance of 0.669 at 274 nm, the chloroform fraction had an absorbance of 0.827 at 267 nm, and pure isolates had an absorbance of 0.628 at 282 nm. A spectrum with a maximum wavelength > 210 nm indicates a conjugated system. The longer the conjugated system, the more inactive in the UV region of 200- 360 nm (UV) but more active in the 360-729 nm (Visible) region (Worsfold et al, 2019). UV-Vis spectrum of methanol extract, chloroform fraction, and pure isolate showed wave crests in the region > 210 nm so that all three were shown to have a conjugated system.

Keywords: antioxidant, phytochemistry, oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*

PENDAHULUAN

Produk olahan yang berasal dari jamur telah banyak ditemui dan dinikmati oleh masyarakat. Terdapat 14.000-22.000 spesies jamur yang telah diidentifikasi di antaranya 2000 spesies yang bersifat *edible* (bisa dimakan) dimana jamur tersebut bisa tumbuh dengan liar ataupun ditanam pada media khusus (Hawsworth, 2001). Salah satu jamur *edible* yang digunakan sebagai bahan pengobatan tradisional dan juga pangan fungsional adalah jamur tiram (Correa dkk, 2016; Deepalakshmi

& Mirunalini, 2014; Khan dan Tania, 2012; Stachowiak & Regula, 2012; Patel dkk, 2012).

Jamur tiram biasa ditemui di Wilayah Mediterania (Greuter, 2008) yaitu semua negara yang berbatasan dengan Laut Mediterania termasuk Portugal, Bulgaria, Ukrانيا, dan Yordania (Venturella & Gargano, 2017). Jamur tiram berasal dari genus *Pleurotus* dimana genus tersebut merupakan salah satu genus terbesar dan paling beragam di antara kelas *Basidiomycetes*. Secara taksonomi, jamur tiram berasal dari kingdom (kerajaan) jamur, filum Basidiomycota, subdivisi Agaricomycotina, kelas Agaricomycetes, subkelas Agaricomycetidae, dan keluarga Pleurotaceae Jamur tiram (*Pleurotus*) sendiri terdiri atas beberapa spesies yaitu *Pleurotus ostreatus*, *P. cornucopiae*, *P. pulmonarius*, *P. eryngii*, *P. citrinopileatus*, *P. sajor-caju*, *P. tuber-regium* (Kirk dkk, 2010).

Bagian tubuh jamur tiram dan miselia-nya diketahui memiliki manfaat kesehatan karena adanya kandungan metabolit sekundernya (Morris dkk, 2017). Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) diketahui memiliki aktivitas sebagai antimikroba, kekebalan tubuh manusia dari virus HIV, antivirus, antitumor, antimutagenik, antilipidemik, antioksidan, hipotensi, hiperglikemia, antiinflamasi, hepatoprotektif, hipokolesterolemia, imunomodulator, dan juga antiaging (Alam dkk, 2009; Jayakumar dkk, 2011; Patel dkk, 2012; Wacker dkk, 2014).

Produk olahan jamur tiram antara lain mie, roti, tortila, kue kering,ereal, nugget, bahkan penyedap rasa (Aishah & Wan Rosli, 2013; Wackchaure dkk, 2010; Carrasco dkk, 2017; Adebayo dkk, 2010). Produk olahan jamur tiram putih juga berbentuk minuman probiotik (Aida dkk, 2009; Syntysya dkk, 2009; Pelaes dkk, 2015). Produk olahan tersebut berbahan jamur tiram karena fitokimia yang terkandung di dalamnya (Morath dkk, 2012). Selain digunakan sebagai bahan pangan, jamur telah digunakan sejak lama untuk pengobatan tradisional di seluruh penjuru dunia (Wacker, 2011). Secara etnobotani, jamur digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk masyarakat di daerah Asia seperti Tiongkok dan India karena diketahui memiliki aktivitas antibakteri, antivirus, hipoglikemik, hipokolesterolemia, antiinflamasi, dan juga antioksidan (Guillamon dkk, 2010; Roman, 2010; Wacker, 2014). Penelitian tentang kandungan fitokimia ataupun metabolit sekunder tentang jamur terus menarik karena pola bakteri ataupun virus yang dapat resisten terhadap berbagai jenis obat (Hearst dkk, 2009; Davies dkk, 2010).

Fitokimia pada jamur tiram putih (*P. ostreatus*) dapat diidentifikasi berdasarkan bobot molekulnya untuk mempermudah kajian penelitian. Fitokimia dari jamur tiram putih dengan bobot molekul tinggi mencakup golongan polisakarida seperti β -glukan, peptida, dan protein. Fitokimia jamur tiram putih dengan bobot molekul rendah yaitu terpenoid, lipid dan turunan asam esternya, serta polifenol (Patel & Goyal, 2012). Metabolit primer jamur tiram antara lain polisakarida sebanyak 68,35%, protein sebanyak 20,82%, dan lipid sebanyak

0,56%. Jamur tirem putih juga diketahui memiliki sembilan asam amino essensial yaitu, histidin, leusin, isoleusin, lisin, metionin, fenilalanin, treonin, valin, dan triptofan (Chirinang & Intarapichet, 2009). Metabolit sekunder yang telah dikemas secara komersil dari jamur tiram adalah lovastin. Lovastin merupakan senyawa dari golongan terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antikolesterol (Venturella & Gargano, 2017).

Penelitian mengenai jamur tiram putih telah banyak dilakukan sampai sekarang. Beberapa variabel penelitian berhubungan dengan sumber asal jamur tiram putih seperti perbandingan antara jamur liar dan hasil budidaya, sumber media pertumbuhan jamur tiram, dan juga parameter aktivitas yang meliputi. Penelitian ini mencoba mengkaji fitokimia (metabolit sekunder) dari jamur tiram putih secara rinci mulai dari proses ekstraksi, isolasi, identifikasi, dan juga karakterisasi.

Kajian fitokimia diperlukan untuk para peneliti untuk mempelajari senyawa yang terkandung di dalamnya. Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada penelitian ini, berhubungan dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan adanya potensi jamur tiram putih untuk menghambat radikal bebas. Perbedaan geografis pada asal jamur tiram tentunya berhubungan dengan jenis dan juga jumlah fitokimia yang dimiliki. Maka pada penelitian ini, perhitungan rendemen dilakukan untuk menambah data jika dibutuhkan data *scale up* ke bidang industri. Pemisahan dan analisis dilakukan dengan berbagai metode mulai kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis, spektrofotometri UV-Vis, dan juga Inframerah. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

Meski jamur tiram sudah sering diteliti bahkan menggunakan instrumen yang canggih, beberapa laboratorium kimia yang belum memiliki instrumen canggih masih membutuhkan data literatur dalam proses pemisahan sampai diperoleh isolat murni. Penelitian ini dilakukan untuk menjadi solusi tersebut. Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu menjadi sumber refrensi metode para peneliti yang ingin mengeksplorasi fitokimia dari jamur tiram putih.

METODE PENELITIAN

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan baku jamur segar hasil budidaya Malang, Jawa Timur, Indonesia. Pelarut yang digunakan antara lain akuades, metanol teknis, etil asetat teknis, dan aseton (*p.a*). Bahan lain yaitu, plat KLT (*TLC Silica Gel 60 F254nm*), silika gel kolom gravitasi (*Merck Grade 7734*).

Alat

Penelitian ini menggunakan alat antara lain satu set alat distilasi, termometer, mortar, pastel, oven, lampu UV-Vis, pipa kapiler, botol vial berbagai ukuran, bejana untuk kromatografi (*chamber*), corong pisah, kolom kromatografi gravitasi, gelas kimia berbagai ukuran, erlenmeyer beberapa ukuran, labu ukur

beberapa ukuran, tabung reaksi, corong, spatula, batang pengaduk, *hot plate magnetic stirrer* NTS-1300, *Fisher-John melting point apparatus*, pipet *pasteur*, neraca analitik merk AND HF-300, *rotary evaporator* merk BUCHI, neraca manual merk BUCHI, spektrofotometer UV-Vis merk SHIMADZU, dan spektrofotometer Inframerah merk SHIMADZU.

Pembuatan Simplisia Jamur Tiram Putih

Simplisia dibuat dengan cara pengeringan dan penumbukan. Jamur tiram putih segar sebanyak 20 kg dikeringkan dengan oven listrik ($T = 50^\circ \text{ C}$, $t = 72$ jam). Jamur yang telah kering ditumbuh kemudian disaring dengan saringan mesh untuk diperoleh ukuran simplisia yang seragam.

Ekstraksi Jamur Tiram

Ekstraksi jamur tiram dilakukan dengan teknis maserasi mennggunakan pelarut metanol. Pelarut metanol teknis dimurnikan terlebih dahulu dengan cara distilasi. Simplisia jamur tiram putih dimaserasi dengan metanol hasil distilasi selama 24 am sebanyak 3 kali. Setiap 24 jam, pelarut diganti. Hasil maserasi disaring hingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* ($T < 30^\circ \text{ C}$). Proses pemekatan dihentikan saat tidak ada lagi pelarut yang menetes di labu penampungan *evaporator*. Hasil dari pemekatan dinamakan ekstrak kasar (*crude extract*).

Fraksinasi Ekstrak Pekat Jamur Tiram

Ekstrak kasar difraksinasi dengan pelarut air : metanol : kloroform (1 : 1 : 1) dengan corong pisah. Hasil pemisahan dengan corong pisah akan diperoleh fraksi polar (metanol-air) dan fraksi semipolar (kloroform). Fraksi kloroform kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan ditimbang. Fraksi kloroform yang sudah pekat dipisahkan dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (9:1). Hasil pemisahan ditampung di botol vial kemudian dianalisis dengan kromatografi lapis tipis.

Parameter Penelitian Skrinning Fitokimia

Ekstrak kasar yang diperoleh dari hasil pemisahan diuji skrinning fitokimia untuk mengetahui keberadaan senyawa dari golongan flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Uji dilakukan di UPT Materia Medica Batu, Jawa Timur, Indonesia.

Karakterisasi dan Identifikasi Penentuan Faktor Retensi (*R_f*)

Faktor retensi ditentukan dari hasil pemisahan kromatografi lapis tipis (KLT). Plat KLT dipotong dengan ukuran 5 cm dan lebar 1 cm. Pada bagian atas dan bawah diberi batasan 0,5 cm. Batas bawah adalah batas dimulainya elusi dan batas atas adalah batas berakhirnya elusi. Setelah elusi dilakukan, plat KLT

diamati di bawah lampu UV 254 nm. Noda yang tampak ditandai dan diukur panjang lintasannya dari batas bawah plat KLT. Nilai Rf dihitung dengan cara membandingkan panjang lintas noda (cm) dengan panjang lintas eluen (cm).

Penentuan Titik Lebur

Penentuan titik lebur dilakukan dengan menggunakan *Fisher-john melting point apparatus*. Jika suatu senyawa memiliki titik lebur dengan rentang selisih $\pm 1^{\circ}\text{C}$ maka senyawa tersebut adalah murni.

Penentuan Kelarutan

Sampel dilarutkan ke dalam aseton, metanol, dan *n*-heksana dengan menggunakan tabung reaksi. Sampel yang telah ditambahkan pelarut, dikocok, lalu diamati kelarutannya.

Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Sampel diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200- 1000 nm. Konsentrasi sampel diatur sedemikianingga dihasilkan absorbansi 0,2-0,9. Blanko dan pelarut yang digunakan untuk mengencerkan sampel adalah metanol. Hasil spektrum UV- Vis kemudian diinterpretasikan.

Identifikasi dengan Spektrofotometer Inframerah (IR)

Identifikasi dilakukan dengan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) pada frekuensi 4000-400 cm^{-1} . Sampel dicampur terlebih dahulu dengan KBr (sampel : KBr = 1 : 3), ditumbuk halus hingga homogen, dan ditekan hingga menjadi pelet. Pelet dimasukkan ke dalam IR dan dianalisis. Spektrum IR kemudian diinterpretasikan.

Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan 0,034 g ke dalam 107 mL metanol (DPPH 0,004%). Larutan ditampung di dalam otol yang telah ditutup dengan kertas hitam kemudian disimpan di dalam lemari es. Uji DPPH bisa dilakukan dengan dua cara, uji kuantitatif dengan spektrifotometer UV-Vis dan uji kualitatif dengan menyempert DPPH ke plat KLT yang telah ditotolkan sampel uji.

Uji kuantitatif aktivitas antioksidan dengan DPPH pada penelitian dilakukan terhadap ekstrak kasar (metanol) dan isolat hasil pemisahan dengan kromatografi kolom gravitasi. Sampel disiapkan dengan konsentrasi 500, 750, 1000, 1250, dan 1500 ppm. Pembuatan konsentrasi tersebut dengan cara pengenceran dari larutan induk 2000 ppm. Blanko dibuat dengan mencampurkan 0,3 mL metanol dengan 2,7 mL larutan DPPH 0,004%. Larutan uji dibuat dengan mencampurkan 0,3 mL sampel dengan 2,7 mL larutan DPPH 0,004%. Blanko dan larutan uji ditampung pada botol vial yang telah ditutup dengan kertas hitam. Pada menit ke-30 dan menit ke-60, blanko dan larutan uji diukur absorbansinya

pada panjang gelombang 497 nm, 517 nm, dan 527 nm. Absorbansi dicatat dan dihitung persen redamannya.

$$\text{Absorbansi hitung blanko} = \frac{A_{497} - A_{537}}{2}$$
$$\text{Percentase redaman} = \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Setelah diperoleh data hitungam dibuat kurva regresi antara konsentrasi sampel dengan persentase redaman. Berdasarkan hasil kurva diperoleh persamaan regresi untuk mendapat nilai IC₅₀. Variabel x sebagai nilai IC₅₀ akan diketahui dengan cara memasukkan nilai 50 ke dalam variabel y. Setelah diperoleh keseluruhan data, hasil karakterisasi dan identifikasi dihubungkan dengan data aktivitas antoksidan untuk diinterpretasikan.

Rancangan Penelitian dan Analisa Data

Penelitian menggunakan metode deskriptif dengan mengumpulkan data dari hasil ekstraksi, karakterisasi, identifikasi, dan uji aktivitas antioksidan. Karakterisasi meliputi faktor retensi (R_f) dari elusi kromatografi lapis tipis (KLT), penentuan titik lebur (untuk menentukan kemurnian isolat), dan uji kelarutan (untuk menentukan sifat kepolaran). Identifikasi isolat dilakukan dengan analisis hasil spektrum Inframerah dan UV-Vis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Jamur Tiram Putih

Keberhasilan dari pemisahan menggunakan corong pisah adalah gojokan yang kontinyu sampai diperoleh fraksi yang sudah tidak berwarna (senyawa sudah tidak lagi larut ke pelarut). Bagian tubuh jamur tiram dan miselia-nya diketahui memiliki manfaat kesehatan karena adanya kandungan metabolit sekundernya (Morris dkk, 2017), maka pada penelitian ini dilakukan ekstraksi pada seluruh bagian dari jamur tiram. Penelitian ini menggunakan metode pemisahan corong pisah untuk memperoleh fraksi kloroform (Gambar 1). Hasil fraksinasi terbentuk dua lapisan, lapisan atas yaitu fraksi metanol-air (berat jenis metanol = 0,792 g/cm³) dan lapisan bawah adalah kloroform (berat jenis kloroform = 1,49 g/cm³). Fraksi kloroform yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* kemudian ditimbang. Pada pemisahan ini, fraksi kloroform diperoleh sebanyak 8,25 g.



Gambar 1. Hasil Fraksinasi dengan Kloroform (a) Penambahan kloroform pertama kali dan (b) penambahan kloroform terakhir kali

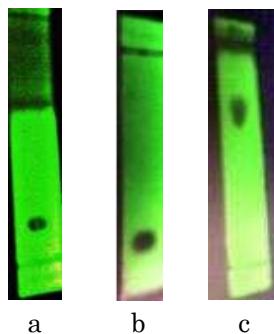
Fraksi kloroform kemudian dianalisis dengan kromatografi lapis tipis untuk memprediksi pola noda yang mewakili profil fitokimia dari jamur tiram putih. Elusi dilakukan untuk fraksi kloroform tersebut menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (4:1). Hasil identifikasi dapat dilihat di Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Identifikasi dengan KLT Fraksi Kloroform

Hasil identifikasi dengan KLT dari fraksi kloroform menunjukkan nodanoda yang tidak bergerombol. Artinya, jika pemisahan dilanjutkan, fraksi kloroform sangat cocok dengan sistem eluen *n*-heksana : etil asetat. Spot yang tidak bergerombol pada plat KLT menunjukkan substansi senyawa yang cenderung mendekati kemurnian.

Sistem eluen *n*-heksana : etil asetat dipilih untuk memisahkan fraksi kloroform dengan awalan perbandingan 9 : 1. Hasil pemisahan dengan kromatografi kolom menghasilkan pita-pita. Pita-pita yang serupa ditampung di botol vial kemudian dianalisis dengan KLT. Fraksi tampungan dengan pola noda yang sama, digabung kemudian dipisahkan kembali sampai diperoleh spot tunggal. Spot tunggal dengan tiga sistem eluen yang berbeda menunjukkan sifat kemurnian.



Gambar 3. Hasil Identifikasi Kemurnian Isolat (a) Elusi dengan *n*-heksana : etil asetat (9:1), (b) Elusi dengan kloroform, dan (c) Elusi dengan kloroform : etil asetat (4:1)

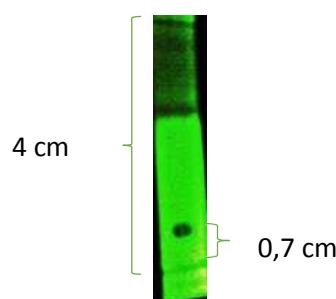
Hasil elusi dengan tiga sistem eluen yang berbeda tersebut menunjukkan spot tunggal sehingga hasil pemisahan pada penelitian ini kemurnian (Gambar 3). Isolat diperoleh berbentuk kristal (Gambar 4). Kristal yang terbentuk harus dicuci dengan *n*-heksana dingin untuk menghilangkan pengotor. Selanjutnya, identifikasi UV-Vis dan IR dilakukan untuk memprediksi jenis senyawa. Penentuan struktur kimia senyawa murni tersebut sesungguhnya akan lebih maksimal jika dilakukan dengan NMR (*Nucleic Magnetic Resonance*) namun keterbatasan kuantitas isolat menyebabkan analisis dengan NMR tidak dilakukan.



Gambar 4. Kristal Isolat Murni

Hasil Karakterisasi dan Identifikasi Penentuan Faktor Retensi (Rf)

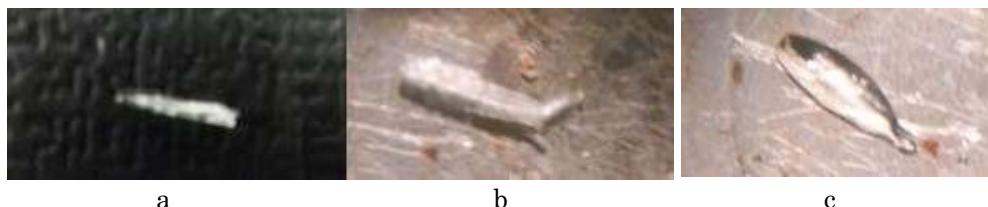
Isolat murni bisa diidentifikasi dengan senyawa yang diduga serupa dengan membandingkan nilai Rf nya. Pada penelitian ini, hasil isolat murni yang diidentifikasi Rf nya adalah dengan menggunakan sistem eluen *n*-heksana : etil asetat (9:1). Lintasan noda diketahui sebesar 0,7 cm sedangkan lintasan eluen sebesar 4 cm sehingga Rf isolat murni yang diperoleh adalah 0,175 dengan sistem eluen *n*-heksana : etil asetat (9:1) (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil Elusi Isolat Murni dengan *n*-heksana : etil asetat (9:1)

Hasil Penentuan Titik Lebur Isolat Murni

Titik lebur isolat yang diperoleh dilakukan untuk memastikan kemurnianya. Suatu senyawa dikatakan murni jika rentang selisih titik leburnya $< 2^\circ \text{ C}$. Isolat yang diperoleh diuji titik leburnya dan diperoleh angka $153^\circ\text{-}154^\circ\text{C}$ (Gambar 6). Rentang selisih isolat tersebut adalah 1° C sehingga data menguatkan bahwa isolat bersifat murni.



Gambar 6. Hasil Penentuan Titik Lebur Isolat (a) penampakan fisik kristal isolat, (b) sebelum melebur dan (c) setelah melebur

Uji Kelarutan Isolat Murni

Kristal isolat murni diuji kelarutannya. Hasilnya yaitu, isolat murni larut baik pada seton, sedikit larut pada metanol. dan tidak larut pada *n*-heksana.

Hasil Skrinning Fitokimia Jamur Tiram Putih

Skrinning fitokimia pada penelitian ini dilakukan pada ekstrak kasar. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 1. Uji skrinning fitokimia dilakukan dengan metode plat tetes.

Tabel 1. Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Jamur Tiram Putih

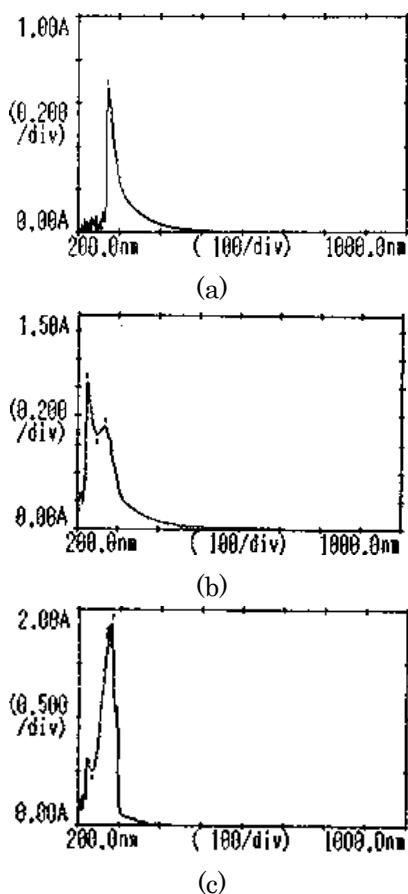
| Identifikasi Senyawa | Parameter | Kesimpulan |
|----------------------|----------------|-------------------|
| Flavonoid | Merah Bata | Positif Flavonoid |
| Alkaloid | Endapan coklat | Positif Alkaloid |
| Terpenoid | Jingga | Positif Terpenoid |

Hasil skrinning fitokimia ekstrak jamur tiram pada penelitian ini positif mengandung flavonoid, alkaloid, dan juga terpenoid. Metabolit sekunder yang telah dikemas secara komersil dari jamur tiram adalah lovastin. Lovastin merupakan senyawa dari golongan terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antikolesterol (Venturella & Gargano, 2017). Jamur tiram putih juga diketahui memiliki beberapa senyawa alkaloid kelompok indol (Homer & Sperry, 2017). Flavonoid juga ditemukan di jamur tiram bersamaan dengan senyawa fenolik lainnya (Imran dkk, 2011).

Identifikasi dengan Spektroskopi UV-Vis

Pada penelitian ini, ekstrak kasar, fraksi kloroform, dan hasil isolat murni dari pemisahan kromatografi kolom menggunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (9:1) diidentifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis. Identifikasi dilakukan dengan

cara pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 200-1000 nm. Spektrum UV-Vis ketiga sampel tersebut dapat dilihat pada Gambar 7.

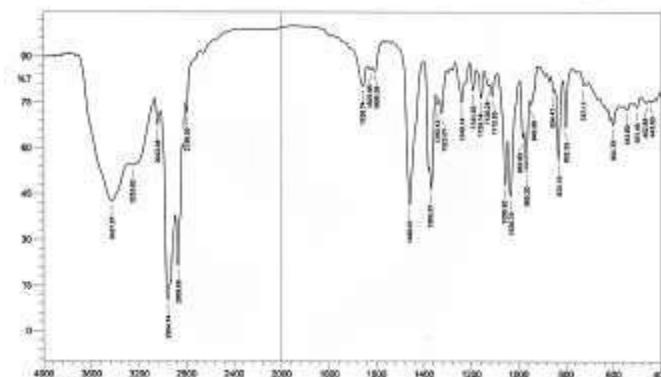


Gambar 7. Spektrum UV-Vis (a) Ekstrak kasar (b) F. Kloroform (c) Isolat murni

Berdasarkan spektrum UV-Vis (Gambar 7), ekstrak kasar memiliki absorbansi sebesar 0,669 pada 274 nm, fraksi kloroform memiliki absorbansi sebesar 0,827 pada 267 nm, dan isolat murni memiliki absorbansi sebesar 0,628 pada 282 nm. Suatu spektrum dengan panjang gelombang maksimal > 210 nm menunjukkan adanya sistem terkonjugasi. Makin panjang sistem terkonjugasi, maka tidak aktif pada daerah UV 200-360 nm (UV) namun makin aktif pada daerah 360-729 nm (*Vissible*) (Worsfold dkk, 2019). Spektrum UV-Vis ekstrak metanol, fraksi kloroform, dan isolat murni menunjukkan puncak gelombang di daerah > 210 nm sehingga ketiganya terbukti memiliki sistem terkonjugasi. Puncak panjang gelombang maksimal muncul di daerah UV sehingga menunjukkan bahwa sistem terkonjugasi tidaklah panjang.

Identifikasi dengan Spektrofotometri Inframerah (FTIR)

Identifikasi spektrofotometri IR pada penelitian ini hanya dilakukan untuk isolat murni. Identifikasi dilakukan pada frekuensi 4000-400 cm⁻¹.



Gambar 8. Spektrum IR Isolat Murni

Spektrum isolat murni (Gambar 8) menunjukkan adanya pita khas pada daerah 342,27 dan 3255,62 cm⁻¹. Daerah 3600-2500 cm⁻¹ merupakan daerah vibrasi gugus hidroksil (-OH) sedangkan 3500-3300 cm⁻¹ merupakan daerah vibrasi gugus amina (-NH). Vibrasi gugus hidroksil dan amina dapat dibedakan dengan munculnya pita khas pada daerah 1600-1550 cm⁻¹. Pada spektrum isolat murni (Gambar 8), tidak muncul pita khas tajam pada daerah 1600-1550 cm⁻¹ sehingga pita khas pada daerah 3427,27 cm⁻¹ dan 3255,62 cm⁻¹ menginterpretasikan adanya gugus hidroksil.

Pita khas lain muncul pada daerah 2954,74 dan 2859,88 cm⁻¹ menunjukkan adanya karbon alifatik (-CH). Pada daerah 1850-1500 cm⁻¹ muncul pita khas yang lemah pada 1658,74 cm⁻¹, 1623,95 cm⁻¹, dan 1605,50 cm⁻¹ sehingga tidak menunjukkan adanya gugus karbonil (-C=O), ataupun ikatan rangkap aromatik (-C=C). Artinya, ikatan rangkap yang dimiliki oleh isolat murni pada penelitian ini adalah ikatan rangkap non aromatik. Fitokimia dari jamur tiram putih antara lain β-glukan, peptida, protein, terpenoid, lipid dan turunan asam esernya, serta polifenol (Patel & Goyal, 2012).

Uji Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

Uji Kuantitatif dengan Spektrosfotometri

Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) diketahui memiliki aktivitas sebagai antimikroba, kekebalan tubuh manusia dari virus HIV, antivirus, antitumor, antimutagenik, antilipidemik, antioksidan, hipotensi, hiperglikemia, antiinflamasi, hepatoprotektif, hipokolesterolemia, imunomodulator, dan juga antiaging (Alam dkk, 2009; Jayakumar dkk, 2011; Patel dkk, 2012; Wacker dkk, 2014). Pada penelitian ini, uji antioksidan (kuantitatif) dilakukan pada ekstrak kasar dan

fraksi kloroform. Pengujian dilakukan pada saat 30 menit dan 60 menit. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kasar dan fraksi kloroform pada menit ke 30 dan 60 menit.

Tabel 2. Hasil Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar

| Ekstrak kasar | Absorbansi Hitung Persentase Redaman | | | |
|---------------|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| | 30 menit | 60 menit | 30 menit | 60 menit |
| blanko | 0,1335 | 0,1450 | | |
| 500 ppm | 0,1140 | 0,1140 | 14,61% | 21,38% |
| 750 ppm | 0,1130 | 0,1110 | 15,36% | 23,45% |
| 1000 ppm | 0,1065 | 0,1095 | 20,23% | 24,48% |
| 1250 ppm | 0,1060 | 0,1065 | 20,60% | 26,56% |
| 1500 ppm | 0,0895 | 0,0940 | 33,00% | 35,17% |

Tabel 3. Hasil Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform

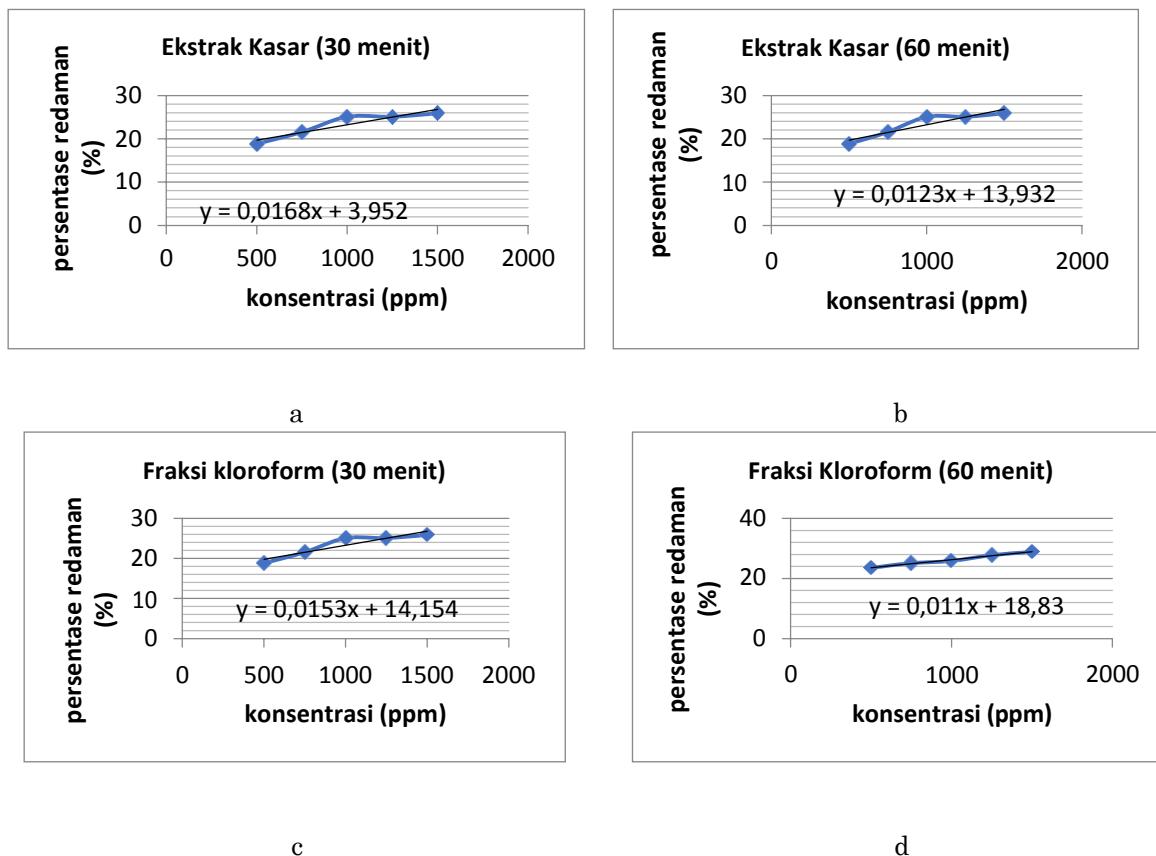
| Fraksi Kloroform | Absorbansi Hitung | | Percentase Redaman | |
|------------------|-------------------|-------------|--------------------|-------------|
| | 30 menit | 60 menit | 30 menit | 60 menit |
| blanko | 0,1265 | 0,1275 | | |
| 500 ppm | 0,0990 | 0,0960 | 21,74% | 24,71% |
| 750 ppm | 0,0935 | 0,0930 | 26,09% | 27,06% |
| 1000 ppm | 0,0910 | 0,0915 | 28,06% | 28,24% |
| 1250 ppm | 0,0820 | 0,0840 | 35,18% | 34,12% |
| 1500 ppm | 0,0805 | 0,0830 | 36,36% | 34,90% |

Hasil aktivitas antioksidan pada ekstrak metanol dan fraksi kloroform jamur tiram putih tidak terlalu baik karena pada konsentrasi 2000 ppm, persen rendamana belum mencapai 50%. Menurut Blois (1958), suatu senyawa dikatakan kurang memiliki aktivitas antioksidan jika IC50 yang dimiliki > 1000 ppm. Kurang aktifnya ekstrak kasar dan fraksi kloroform yang dimiliki jamur tiram kemungkinan disebabkan senyawa yang dimiliki tidak memiliki ikatan rangkap terkonjugasi ataupun ikatan rangkap aromatik yang banyak. Hal ini sesuai dengan hasil uji identifikasi dengan UV-Vis dan juga IR.

Nilai IC50 dapat dihitung dengan menggunakan kurva regresi hasil absorbansi sampel. Persamaan regresi untuk ekstrak kasar dan fraksi kloroform pada menit ke 30 dan 60 menit dapat dilihat pada Gambar 9. Tabel 4 menunjukkan perhitungan IC50 berdasarkan persamaan regresi. Perhitungan IC50 dengan memasukkan nilai 50 pada y sehingga diperoleh nilai x sebagai konsentrasi (ppm).

Tabel 4. Perhitungan IC₅₀ Ekstrak Kasar dan Fraksi Metanol

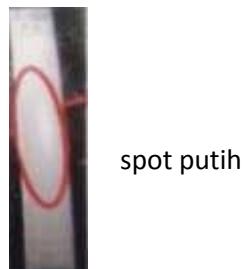
| Sampel | Persamaan Regresi | IC ₅₀ |
|---------------------------------|------------------------|------------------|
| Ekstrak kasar (t = 30 menit) | $y = 0,0168x + 3,952$ | 2740 ppm |
| Ekstrak kasar (t = 60 menit) | $y = 0,0123x + 13,932$ | 2932 ppm |
| Fraksi kloroform (t = 30 menit) | $y = 0,0153x + 14,154$ | 2342 ppm |
| Fraksi kloroform (t = 60 menit) | $y = 0,011x + 18,83$ | 2833 ppm |



Gambar 9. Kurva Regresi Aktivitas Antioksidan (a) Ekstrak kasar pada t = 30 menit, (b) Ekstrak kasar pada t = 60 menit, (c) Ekstrak kasar pada t = 30 menit, dan (d) Ekstrak kasar pada t = 60 menit.

Uji Kualitatif Antioksidan dengan KLT

Isolat murni yang dihasilkan pada penelitian ini tidak memiliki jumlah yang cukup untuk dilakukan uji kuantitatif sehingga uji dilakukan dengan penyemprotan DPPH 0,004% pada plat KLT. Hasil positif uji antioksidan dengan DPPH secara kualitatif ditandai dengan munculnya noda putih kekuningan (Anantharaman dkk, 2010).



Gambar 10. Hasil Uji Kualitatif Antioksidan Isolat Murni

Berdasarkan penampakan noda yang dihasilkan, isolat murni positif antioksidan. Identifikasi spektrofotometri UV-Vis dan IR menunjukkan adanya gugus hidroksil (-OH) dan ikatan rangkap terkonjugasi (non aromatik) sehingga kemungkinan aktivitas tersebut berasal dari struktur tersebut.

KESIMPULAN

Kajian fitokimia jamur tiram putih bisa dilakukan berdasarkan skrining jenis metaolit sekunder, pemisahan dengan ekstraksi dan fraksinasi menggunakan pelarut organik. Berdasarkan skrining fitokimia, jamur tiram putih diketahui positif mengandung flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Ekstrak kasar memiliki absorbansi sebesar 0,669 pada 274 nm, fraksi kloroform memiliki absorbansi sebesar 0,827 pada 267 nm, dan isolat murni memiliki absorbansi sebesar 0,628 pada 282 nm. Suatu spektrum dengan panjang gelombang maksimal > 210 nm menunjukkan adanya sistem terkonjugasi. Makin panjang sistem terkonjugasi, makin tidak aktif pada daerah UV 200-360 nm (UV) namun makin aktif pada daerah 360-729 nm (*Vissible*) (Worsfold dkk, 2019). Spektrum UV-Vis ekstrak metanol, fraksi kloroform, dan isolat murni menunjukkan puncak gelombang di daerah > 210 nm sehingga ketiganya terbukti memiliki sistem terkonjugasi.

REFERENSI

- Adebayo, O. A., Olatidoye, O., Ogundipe, O., Balagun, I., Aro, F. 2010. *Quality Characteristics of Cookies Produced from Composite Flours of Wheat and Mushrooms*. International Multidisciplinary Research Journal, 2 (25-31)
- Aida, F.M.N.A., Shuhaimi, M., Yazid, M., Maaruf, A.G. 2009. *Mushrooms as a potential source of prebiotics : a review*. Trends in Food Science & Technology, 20 (11-12) : 557-575. DOI: 10.1016/j.tifs.2009.07.007.

- Aishah, M.S., Wan Rosli, W.I 2013. *The Effect of Addition of oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) on nutrient composition and sensory acceptation of selected wheat-and rice-based*. International Food Research Journal, 20 (1) : 183-188.
- Alam, N., Amin, R., Khan, A., Ara, I., Shim, M.J., Lee, M.W., 2009. *Comparative effects of oyster mushroom on lipid profile, liver and kidney function in hypercholesterolemic rats*. Mycobiology, 37 (1) :37-42. DOI: 10.4489/MYCO.2009.37.1.037.
- Anantharaman, P. Arumugam, R., Kannan, R.R.R., Meenakshi, S. 2010. *Thin Layer Chromatography Analysis of Antioxidant Constituents from Seagrasses of Hulf of Mannar Bipsphere Reserve, South India*. International Journal of Chemtech Researcrh, 2(3) : 1526- 1530
- Blois, M.S. 1958. *Antioxidant Determination by The Use of a Stable Free Radical*. Nature. 181 (1) : 1191-1200.
- Carrasco-Gonzalez, J.A.C., Serna-Saldivar, S.O., Gutierrez-Uribe, J.A., 2017. *Nutritional composition and nutraceutical properties of the Pleurotus fruiting bodies : Potential use as food ingredient*. Journal of Food Composistion and Analysis, 58 : 69-81. DOI: 10.1016/j.jfca.2017.01.016.
- Chirinang, P. & Intarapichet, K.O. 2009. *Amino Acids and Antioxidant Properties of The Oyster Mushrooms, Pleurotus ostreatus, and, Pleurotus sajor-caju*. Science Asia, 35 : 326–331. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2009.35.32.
- Correa, R.G.G., Brugnari, T., Bracht, A., Peralta, R.M., Ferreira, I.C.F.R. 2016. *Biotechnological, Nutritional and Therapeutic Uses of Pleurotus spp (Oyster mushrooms) related with its chemical composition: A review on the past decade findings*. Trends in Food Science & Technology, 50 : 103-117. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.01.012.
- Davies, J. & Davies, D. 2010. *Origins and Evolution of Antibiotic Resistance*. Microbiology Molecule Biology Review, 74(3) :417–433. DOI: 10.1128/MMBR.00016-10.
- Deepalakshmi, K. & Mirunalini, S. 2014. *Pleurotus ostreatus : an Oyster Mushroom with Nutritional and Medicinal Properties*. Journal Biochemistry Technology, 5(2) : 718-726.
- Guillamon, E., Garcia-Lafuente, A., Lozano, M., D'Arrigo, M., Rostagno, M.A., Villares A., et al., 2010. *Edible Mushrooms : Role in The Prevention of Cardiovascular Diseases*. Fitoterapia, 81 (7), 715-723. DOI: 10.1016/j.fitote.2010.06.005.
- Hawksworth, D.L., 2001. *Mushrooms : The Extent of The Unexplored Potential*. International Journal of Medicinal Mushrooms, 3 : 333-340. DOI: 10.1615/IntJMedMushr.v3.i2-3.60.
- Hearst R, Nelson D, McCollum G, Millar BC, Maeda Y, Goldsmith CE, Rooney PJ, Loughrey A, Rao JR, Moore JE. 2009. *An examination of antibacterial and*

- antifungal properties of constituents of Shiitake (*Lentinula edodes*) and Oyster (*Pleurotus ostreatus*) mushrooms.* Complement Therapies in Clinical Practice, 15(1) :5–7. DOI: 10.1016/j.ctcp.2008.10.002.
- Homer, J. A. & Sperry, J. 2017. *Mushroom-Derived Indole Alkaloids*. Journal of Natural Products. 8(7) : 2178-2187. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00390.
- Imran, M. M., Raja, M. M., Basith, A. J., Asarudeen, A. 2011. *Determination of Total Phenol, Flavonoid and Antioxidant Activity of Edible Mushrooms Pleurotus florida and Pleurotus eous*. International Food Research Journal. 28 (2) : 579-582.
- Jayakumar, T., Thomas, P.A., Sheu, J.R., Geraldine, P. 2011. *In-vitro and in-vivo antioxidant effects of the oyster mushrooms P. ostreatus*. Food Research International. 44 (4) : 851-861. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.03.015.
- Khan, M.A., Tania, M., 2012. *Nutritional and Medicinal Importance of Pleurotus mushrooms : an Overview*. Food Review International, 28 : 313-329. DOI: 10.1080/87559129.2011.637267.
- Kirk, P. M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J. A. 2010. *Dictionary of The Fungi, 10th (Ed.)*. CABI, Wallingford.
- Morath, S.U., Hung, R., Bennett, J.W. 2012. *Fungal Volatile Organic Compounds: a Review with Emphasis on Their Biotechnological Potential*. Fungal Biology Reviews, 26(2–3) : 73–83. DOI: 10.1016/j.fbr.2012.07.001.
- Morris, H. J., Beltran, Y., Llaurado, G., Batista, P. L., Perraud-Gaime, I., Garcia, N., Moukha, S., Bermudez, R. C., Cos, P., Hernandez, E., Diez, J. C. 2017. *Mycelia from Pleurotus sp. (Oyster Mushroom): a New Wave of Antimicrobials, Anticancer and Antioxidant Bio- ingredients*. International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients, 4(1) : 3, DOI: 10.15171/ijpni.2017.14.
- Patel, S. & Goyal, A. 2012. *Recent Developments in Mushrooms as Anticancer Therapeutics : a Review*. 3 Biotech. 2 (1) : 1-15. DOI: 10.1007/s13205-011-0036-2.
- Patel, Y., Naraian, R., Singh, V.K., 2012. *Medicinal Properties of Pleurotus species (Oyster Mushrooms) : a Review*. World Journal Fungal and Plant Biology, 3(1) : 1-12. DOI: 10.5829/idosi.wjfpb.2012.3.1.303.
- Roman, M.D. 2011. *The Contribution of Wild Fungi to Diet, Income and Health: a World Review*. In book : Progress in Mycology. DOI: 10.1007/978-90-481-3713-8_12.
- Stachowiak, B. & Reguła, J. 2012. *Health-Promoting Potential of Edible Macromycetes Under Special Consideration of Polysaccharides: a Review*. European Food Research and Technology, 234 (3) : 369-380. DOI: 10.1007/s00217-011-1656-9.
- Synytsya, A., Mickova, K., Jablonsky, I., Slukova, M., Copikova, J. 2008.

- Mushrooms of Genus Pleurotus as a Source of Dietary Fibres and Glucans for Food Supplements.* Czech Journal of Food Science. 26(6), 441-446.
- Venturella, G & Gargano, M.L. 2017. *Medicinal Plants and Fungi: Recent Advances in Research and Development.* Medicinal and Aromatic Plants of the World 4, https://doi.org/10.1007/978-981-10-5978-0_2. Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2017
- Vital, A. C. P., Goto, P. A., Hanai, L. N., Gomes-da-Costa, S. M., Filho, B. A. A. Nakamura, C. V., Matumoto-Pintro, P. T. 2015. *Microbiological, Functional, and Rheological Properties of Low Fat Yoghurt Supplemented with Pleurotus ostreatus aqueous extract.* LWT-Food Science and Technology, 64 (2) : 1028-2035. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.07.003.
- Wasser S.P., 2011. *Current Finding, Future Trends, and Unsolved Problems in Studies of Medicinal Mushrooms.* Applied Microbiology and Biotechnology. 89 (5) : 1323- 1332. DOI: 10.1007/s00253-010-3067-4.
- Wasser, S.P. 2014. *Medicinal Mushroom Science: Current Perspectives, Advances, Evidences and Challenges.* Biomedical Journal. 37, 345-356. DOI: 10.4103/2319-4170.138318.
- Wakchaure, G.C., Shirur, M., Manikandan, K., Rana, L. 2010. *Development and evaluation of oyster mushroom value added products.* Mushroom Res. 19(1), 40-44.
- Worsfold, P., Townshend, A., Poole, C., Miro, M. 2019. *Encyclopedia of Analytical Science (3rd Ed.).* Elsevier. Amsterdam, Belanda.