

## Identifikasi dan Uji Toksisitas Ekstrak Jamur Blotong dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)

Siti Nur Azizah<sup>1</sup>, Lutfiya Cahyani<sup>2</sup>, Reni Budiarti<sup>3</sup>, Rudju Winarsa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Akademi Farmasi Jember

<sup>2,3</sup> Alumni mahasiswa Universitas Jember

<sup>3</sup>Universitas Jember

E-mail: [azizah.ariza@gmail.com](mailto:azizah.ariza@gmail.com)

### ABSTRACT

*Blotong mushroom is a fungus that thrives in waste of filter cake (a solid waste of sugar mill) from PG Semboro, Jember Regency. Commonly, blotong mushroom is often consumed by people but some were poisoned. The purpose of this study was to present a scientific data on blotong mushroom taxonomy and ensure the toxic content of blotong mushrooms based on the difference in age according to Brine Shrimp Lethality Test (BST) method. Identification carried to genus level by macroscopic and microscopic observations based on the book of Identify Mushrooms To Genus I and VI. While the toxicity test was conducted by BST following the extraction method using ethanol 99%, preparation test solutions, toxicity test of mushroom extract using the larvae of Artemia salina L and data analysis using a probit analysis then compared through variance T test with 95% confidence level. The identification showed that blotong mushroom belonged to genus Lepiota with specific features such as the cap had scales, the stem had a ring that appears in adulthood and the spore form of amyloid. The toxicity test of probit analysis showed that blotong mushroom is toxic on different ages such as mushroom with closed cap and opened cap had an average LC50 of 234.709 mg/ml and LC50 of 583.902 mg/ml, respectively, according to BST result. While T Test showed the significance value of  $0.273 > 0.05$ , it means that there is no significant difference between the toxic content on mushrooms blotong with age difference.*

**Keywords:** identification, blotong mushroom, toxic, Brine Shrimp Lethality Test

### PENDAHULUAN

Jamur merupakan organisme eukariotik yang tidak berklorofil, banyak dijumpai di alam dan sejak dahulu jamur merupakan salah satu bahan pangan yang lezat. Jenis jamur banyak ragamnya, tidak semua jenis jamur dapat dikonsumsi (*edible*). Banyak pula jenis jamur yang beracun (*poisonous*). Seperti halnya jamur yang tumbuh dengan subur pada media blotong (limbah pabrik gula) PG Semboro Kabupaten Jember. Selam ini masyarakat sekitar menyebutnya sebagai jamur blotong. Sejak lama beberapa jenis Jamur blotong dikonsumsi masyarakat

sebagai bahan pangan dan bahkan sudah diperjualbelikan di pasaran daerah Semboro. Akan tetapi tidak ada publikasi yang menjelaskan kajian secara ilmiah dan spek keamanannya sebagai bahan pangan.

Masyarakat menilai bahwa jamur blotong ini tergolong enak dikonsumsi. Berdasarkan observasi di lapang jamur blotong mudah didapat karena ditemukan hampir setiap hari pada tumpukan blotong sepanjang tahun. Hal ini menunjukkan bahwa jamur blotong tahan lingkungan dan memiliki daya tumbuh tinggi, padahal

umumnya jamur hanya akan tumbuh subur dimusim hujan. Namun begitu belum ada penelitian yang mengkaji potensinya sebagai jamur budidaya.

Jamur blotong mudah didapatkan karena substrat tumbuhnya tersedia dalam jumlah banyak. Pada setiap tempat penggilingan tebu seperti pabrik gula akan selalu dijumpai tumpukan bahkan gunung blotong dalam jumlah besar yang sampai saat ini belum dapat dimanfaatkan secara maksimal. Sedangkan di PG Semboro sendiri memiliki luas areal perusahaan tebu sekitar 9.000 ha. Tebu digiling mencapai 900.000 ton dan gula dihasilkan sebanyak 88.000 ton. Rata-rata blotong dihasilkan sekitar 1.3 juta ton blotong per tahun (Cahyadi, 2008).

Jamur aman atau tidaknya sebagai bahan pangan ditentukan oleh ada atau tidaknya kandungan toksik didalamnya. Analisis kandungan toksik secara ilmiah harus dilakukan. Banyak kasus keracunan terjadi pada masyarakat karena mengkonsumsi jamur tipe liar. Hal ini karena masyarakat awam berani mengkonsumsi jamur tipe liar berdasarkan coba-coba.

Berdasarkan hasil Komunikasi pribadi dengan Penjaga Loji-Kencong (2012) dan warga penjual jamur blotong (Ibu Samsul, 2011), beberapa masyarakat di sekitar PG Semboro dan Loji-Kencong menyebutkan jamur blotong ini banyak macamnya. Namun yang sering dikonsumsi dan diperjual belikan adalah jamur blotong yang tumbuh pada tumpukan blotong dan sampai saat ini belum ada kasus keracunan. Tetapi masyarakat juga pernah mengkonsumsi jamur blotong yang tumbuh pada limbah blotong yang digunakan sebagai mulsa atau pupuk pada tanaman tebu dan pengalaman mereka pernah ada yang keracunan.

Masyarakat daerah Badongan Kecamatan Jati, Kudus, yang tinggal disekitar PG Rendeng jugamengenal dan makan jamur liar yang tumbuh pada limbah

blotong/ledhok. Mereka menyebutnya sebagai jamur ledhok. Pengalaman warga Badongan dan sekitarnya yang mengkonsumsi jamur ledhok ini mengalami keracunan setelah memakannya walaupun pada tahun-tahun sebelumnya tidak pernah ada musibah seperti itu (Prayitno, 2002). Hal ini menimbulkan keraguan terhadap keamanan bagi kesehatan bila mengkonsumsi jamur tersebut. Namun demikian apakah kasus di daerah Kudus terkait dengan mengkonsumsi jenis jamur yang sama atau berbeda. Oleh karena itu petunjuk identifikasi jamur blotong ini harus sangat jelas secara ilmiah dan rinci menguraikannya, *edible* atau beracun.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perlu dilakukan identifikasi jamur blotong sebagai kajian ilmiah untuk mengetahui karakteristik biologinya. Selain itu untuk keamanan jamur blotong sebagai bahan pangan perlu dilakukan uji keberadaan kandungan toksik pada ekstrak jamur blotong yaitu menggunakan metode Brine Shrimb Lethality Test (BST). Uji toksisitas jamur blotong dipilih mengingat kurangnya informasi ilmiah mengenai kandungan toksik jamur blotong. Metode BST dipilih karena metode ini merupakan langkah pertama untuk uji toksisitas suatu ekstrak atau senyawa. Selain itu metode BST ini sederhana, cepat, murah dan dapat dipercaya. Jika hasil BST menunjukkan bahwa ekstrak jamur blotong tidak bersifat toksik maka jamur blotong dapat digunakan sebagai komoditas bahan pangan yang potensial sebagai jamur budidaya atau dikembangkan kepenelitian selanjutnya untuk meneliti khasiat-khasiat lainnya.

## **METODE PENELITIAN**

### **Pengambilan Sampel Jamur Blotong**

Jamur blotong diperoleh dari tumpukan blotong hasil penggilingan tebu dari PG Semboro di Loji-Kencong Jember yang sudah dijadikan mulsa atau pupuk pada tanaman tebu. Kriteria jamur yang diambil

adalah strukturnya lengkap tidak tampak cacat secara morfologi.

### Identifikasi Jamur blotong

#### Makroskopis

Karakteristik yang diamati yaitu tudung(ukuran, bentuk, warna, tepi, permukaan, ketebalan dan ada tidaknya getah), bilah (jarak, tebal, warna, tepi, permukaan, pemandangan dari tepi pada pilleus), batang (ukuran, bentuk, permukaan, warna, adanya tudung) dan habitat tumbuh (Largent, 1988a; Largent dan Timonthy,1988b).

#### Mikroskopis

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan melihat bentuk spora (Largent, 1988a; Largent and Timonthy, 1988b). Secara aseptis, bilah pada bagian bawah tudung diambil dan diletakkan pada objek gelas steril. Selanjutnya ditambahkan metilen blue dan ditutup dengan gelas penutup dan diamati bawah mikroskop.

### Uji Toksisitas Ekstrak Jamur Blotong

#### Persiapan Hewan Cobadan Ekstak *Jamur blotong*

Hewan coba yang digunakan adalah larva *Artemia saline* L yang berumur 48 jam, tidak tampak cacat secara anatomi dan tidak menunjukkan aktifitas pergerakan sebelum perlakuan (Hendrawati, 2009).

#### Ekstraksi Jamur.

Sebanyak 50 gram tubuh buah diekstraksi dengan 30 ml aquades, dipanaskan selama 3 jam pada suhu 100°C dan disaring. Filtrat ditambah etanol 99% sebanyak 4 kali volume filtrat, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Endapan dicuci dengan etanol 99%, kemudian aseton, dan etil eter masing-masing 2,5 ml. Endapan dikeringkan kemudian ditimbang.

#### Pembuatan Larutan Induk dan Larutan Uji

Larutan induk dibuat dengan menimbang 20 mg ekstrak kering kemudian ditambah 2,0 ml aquades dan

dihomogenkan. Larutan uji dibuat dengan mengencerkan larutan induk menjadi 10, 100 dan 1000 ppm. Masing-masing konsentrasi direplikasi tiga kali dan satu uji kontrol. Kemudian pelarut masing-masing larutan dibiarkan menguap dalam oven padasuhu 50°C selama lebih kurang duahari.

#### Penetasan Kista *Artemia salina* L.

Sebanyak 5 gram kista artemia dihidrasi menggunakan air tawar selama 1-2 jam lalu disaring dan dicuci bersih. Selanjutnya kista dicampur 7,5 ml larutan kaporit dan diaduk hingga warna menjadi merah bata. Lalu kista disaring dan dibilas sehingga siap untuk ditetaskan. Kista akan menetas setelah 24 jam. Kista yang sudah menetas disebut *nauplii*. *Nauplii* berumur 48 jam digunakan untuk penelitian.

#### Uji Toksisitas

Sebanyak 5 ml air laut dan 10 ekor larva *A. salina* L. Dimasukkan ke dalam masing-masing botol larutan uji dengan beberapa konsentrasi. Ekstrak yang sukar larut dalam air laut, terlebih dahulu ditambahkan 0,05 ml DMSO. Larutan control terdiri dari 5 ml air laut yang berisi 10 ekor larva *A.salina*L..Setelah 24 jam, jumlah larva *A. salina* L. yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi dihitung dan dicatat.

#### Analisis Data

Efek toksik dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian. Persen kematian dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah larva uji}} \times 100\%$$

Apabila pada kontrol ada larva yang mati, maka % kematian ditentukan dengan rumus Abbot (Meyer *et al.*, 1982), yaitu :

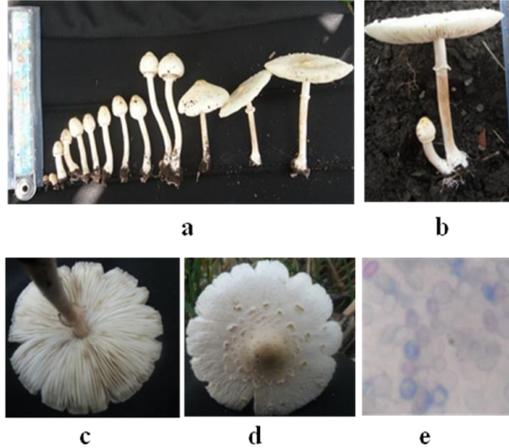
$$\frac{(\text{jumlah larva mati-jumlah kontrol mati})}{\text{Jumlah larva yang mati}} \times 100\%$$

Data diolah dengan analisis probit menggunakan program SPSS 16 untuk menentukan harga LC<sub>50</sub>. Harga LC<sub>50</sub> antara

jamur yang memiliki variasi umur berbeda selanjutnya dibandingkan melalui variansi atau uji T. dengan derajat kepercayaan 95%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi Jamur Blotong



Gambar 1. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis: a) pertumbuhan jamur blotong; b) batang/stipe; c) bilah/lamellae; d) tudung/cup; e) spora/basidiospora.

Berdasarkan hasil pengamatan diketahui bahwa jamur blotong yang tumbuh pada tumpukan blotong hasil penggilingan tebu dari PG Semboro di Loji-Kencong Jember yang sudah dijadikan mulsa pada tanaman tebu memiliki karakteristik makroskopis dan mikroskopis yang spesifik. Secara makroskopis jamur blotong memiliki bagian tubuh seperti tudung, batang, dan akar semu. Tudung memiliki ukuran antara 1-10 cm, berbentuk bulat, berwarna putih susu, permukaan kasar karena memiliki *scales* atau sisik yang berwarna coklat dan tidak bergetah. Bilah berwarna putih, jarak antar bilah saling lepas dan berjumlah banyak, serta berbentuk *adneted*. Batang memiliki ukuran antara 0,5- 13 cm, dan bentuk *subclavate*, permukaan halus dan kesat, berwarna putih, dan memiliki cincin yang nampak jika jamur sudah dewasa atau saat tudung sudah mekar. Jamur blotong tumbuh pada bahan organik berupa limbah padat hasil penggilingan tebu Secara

mikroskopis jamur blotong memiliki spora bebentuk amiloid (Gambar 1).

Berdasarkan hasil identifikasi menurut petunjuk Largent (1988a) dan Largent and Timonhy (1988b) dalam bukunya *How To Identify Mushrooms To Genus I and IV*, jamur blotong yang tumbuh pada limbah padat blotong yang sudah dijadikan mulsa dari PG Semboro di Loji-Kencong teridentifikasi secara ilmiah menunjukkan ciri-ciri genus *Leopita*. Klasifikasi jamur blotong sebagai berikut:

Kindom	: Fungi
Divisi	: Basidiomycota
Kelas	: Agaricomycetes
Ordo	: Agaricales
Famili	: Agaricaceae
Genus	: <i>Leopita</i>

Beberapa spesies *Lepiota* adalah *edible* atau dapat dimakan, tetapi ada spesies lain yang menyebabkan gangguan lambung pada manusia dan sebagian kecil adalah beracun (Fergus dan Fergus, 2003). Sedangkan jamur blotong yang tumbuh pada tumpukan limbah padat blotong dari PG.Semboro yang telah dijadikan mulsa atau pupuk pada tanaman tebu di Loji-Kencong, menyebabkan keracunan pada warga.Warga mengalami keracunan setelah mengkonsumsijamur blotong dengan cara dimasak dengan keluhanmual dan muntah-muntah hingadirawat di Rumah Sakit. Hal ini menunjukkan bahwa jamur blotong tersebut yang telah teridentifikasi sebagai Genus *Leopita* diduga merupakan salah satu spesies yang bersifat *poisonous* atau beracun.

### Uji Toksisitas Ekstrak Jamur Blotong

Ekstrak kering jamur blotong berdasarkan perbedaan umur (tudung kuncup dan mekar) yang didapat kemudian dibuat larutan uji dengan beberapa konsentrasi. Setelah dipastikan pelarut menguap yang bertujuan agar pembuatan larutan uji dapat lebih tepat konsentrasinya,

Tabel 1. Hasil Pengamatan Uji Toksisitas Jamur Blotong

Jenis	Konsentrasi (ppm)	Replikasi	∑ Larva yang diuji	∑ Larva yang Mati setelah Perlakuan
Jamur blotong tudung kuncup	10	I	10	3
		II	10	6
		III	10	5
	100	I	10	5
		II	10	3
		III	10	5
	1000	I	10	7
		II	10	7
		III	10	7
Jamur blotong tudung mekar	10	I	10	3
		II	10	3
		III	10	2
	100	I	10	4
		II	10	5
		III	10	5
	1000	I	10	4
		II	10	7
		III	10	7
Kontrol	0	I	10	2
		II	10	2
		III	10	1

lalu ditambahkan DMSO. Menurut Kurniawati (2008), penggunaan DMSO bertujuan untuk meningkatkan kelarutan ekstrak yang mempunyai tingkat kepolaran rendah. Batas penggunaan DMSO adalah 50 µg tiap 5 ml air laut sebelum menimbulkan efek toksik. Penggunaan DMSO terhadap kematian larva *A. saliana* L. dapat dilihat dari kontrol. Kontrol juga berfungsi untuk menghilangkan pengaruh-pengaruh lain diluar ekstrak uji yang menyebabkan larva *A. saliana* L., misalnya suhu percobaan, pH dan sebagainya sehingga dapat dibuktikan bahwa kematian larva hanya disebabkan oleh bahan uji.

Uji toksisitas dilakukan dengan metode perhitungan langsung jumlah larva *A. salina* L. yang mati. Kriteria mati untuk larva *A. salina* adalah jika larva tidak menunjukkan gerakan sama sekali selama pengamatan dan berada pada bagian bawah vial. Larva dianggap hidup meskipun gerakannya hanya sedikit. Hasil pengamatan uji toksisitas jamur blotong berdasarkan

perbedaan umur dilihat dari tudung kuncup dan mekar dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan pengamatan diketahui bahwa pada kontrol terdapat kematian hewan uji meskipun kematian 50% larva *A. salina* L. yang mengkolerasikan jumlah larva yang mati dengan konsentrasi larutan uji ekstrak uji. Hasil  $LC_{50}$  ekstrak jamur blotong berdasarkan perbedaan umur dilihat jumlahnya kecil. Hal ini diduga karena penggunaan DMSO masih dalam konsentrasi cukup tinggi yaitu 10%. Meskipun menurut Rowe *et al* (2003) dalam Permatasari (2008) batas penggunaan DMSO sebagai *solubilisier* adalah 1-10%. Sedangkan beberapa faktor lingkungan yang mempengaruhi keberhasilan pertumbuhan larva *A. saliana* L. selama percobaan sudah sesuai. Faktor lingkungan yang terukur selama percobaan antara lain suhu 29 °C dan pH 7,9. Menurut Ismansetyodan Kurniastuty (1995) larva *A. Salina* L. tumbuh baik pada pH air sekitar 7,5-8,5 dan suhu 25-30 °C. Hasil pengamatan uji toksisitas ekstrak jamur (jamur tudung kuncup dan mekar)

yang diperoleh, dianalisis dengan analisis probit menggunakan program SPSS (*Statistic Program for Social Science*) 16 for windows untuk menentukan harga  $LC_{50}$ . Data harga  $LC_{50}$  merupakan respon dari tudung kuncup dan mekar ditunjukkan pada Tabel 2. Menurut Erna *et al* (2003) ekstrak bersifat toksik apabila mempunyai nilai  $LC_{50}$

(konsentrasi yang dapat mematikan 50 % larva udang laut < 1000 mg/ml). Berdasarkan Tabel 5.1 menunjukkan bahwa kedua macam ekstrak jamur blotong yang diujikan terhadap *A. saliana* mempunyai nilai  $LC_{50}$  kurang dari 1000 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak tersebut memiliki efek toksik dengan metode BST.

Tabel 2. Nilai Rata-rata  $LC_{50}$  Ekstrak Jamur Blotong

Jenis	Rata-rata Harga $LC_{50}$ (ppm)	Kategori
Jamur blotong tudung kuncup	234.709	Toksik
Jamur blotong tudung mekar	583.902	Toksik

Data nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh dari masing-masing ekstrak selanjutnya dibandingkan melalui analisis variansi atau uji T pada tingkat kepercayaan 95% menggunakan program SPSS 16 for windows. Dari analisis tersebut diperoleh hasil nilai signifikansi adalah  $0,273 > 0,05$ . Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara nilai  $LC_{50}$  atau toksisitas jamur blotong yang memiliki perbedaan umur dari tudung kuncup dan tudung mekar.

Uji toksisitas menggunakan metode BST ini ternyata dapat diasosiasikan sebagai prasyarat adanya senyawa antikanker. Namun uji BST tidak spesifik untuk antikanker, akan tetapi dapat memberikan gambaran awal mengenai aktivitas terapi ekstrak yang di uji (Meyer *et al.*, 1982). Sehingga metode BST ini sering digunakan untuk skrining awal pencarian senyawa-senyawa aktif antitumor atau antikanker (McLaughlin *et al.*, 1998). Namun selama ini masih belum diketahui adanya penelitian yang menyebutkan bahwa uji toksisitas menggunakan metode BST dapat memastikan tingkat keamanan pangan berdasarkan keberadaan toksik pada jamur yang bersifat *poisonous* atau beracun pada manusia. Sehingga dengan diketahuinya keberadaan toksik dari ekstrak jamur blotong dengan metode BST ini dapat dijadikan sebagai penelitian awal dan

pendukung ilmiah bahwa ekstrak jamur blotong dapat sebagai obat antikanker.

## PENUTUP

### Kesimpulan

Jamur blotong yang tumbuh pada tumpukan limbah padat blotong dari PG. Semboro yang telah dijadikan mulsa atau pupuk pada tanaman tebu di Loji-Kencong teridentifikasi dari Genus *Leopita*. Jamur blotong mengandung toksik menurut metode BST dan tidak ada perbedaan kandungan toksisitas jamur blotong berdasarkan perbedaan umur. Keamanan jamur blotong sebagai bahan pangan untuk dikonsumsi masyarakat masih belum diketahui menurut metode BST.

### Saran

Diperlukan melakukan identifikasi pada jenis jamur blotong yang lainnya, yaitu yang tumbuh langsung ditumbukan blotong di Loji-Kencong PG. Semboro sebelum dijadikan mulsa serta menguji toksisitasnya. Selain itu, diperlukan adanya uji lanjut terhadap kandungan toksik yang lebih spesifik secara kuantitatif misalnya uji keberadaan senyawa toksik menggunakan Gas Kromatografisehingga dipastikan keamanannya sebagai bahan pangan.

## DAFTAR PUSTAKA

Cahyadi S. 2008. *Studi Kelayakan Percetak Briket Berpori Sebagai Media Pengolahan Limbah Padat Gula*

- (Blotong): Skripsi. Jember: Fak.Teknik UNEJ.
- Erma NS, Sundari, Susanty, Palupi, Isnaeni, dan Sukardiman. 2004. *Kajian Pendahuluan Uji Toksisitas Ekstrak Air Miselia dan Tubuh Jamur Shiitake (Lentinus edodes) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. Jurnal Hayati. Vol 10: 13-18.
- Fergus CL dan Charles F. 2003. *Common Edible and Poisonous Mushrooms of the Northeast*. USA: Stackpole Books Ritter Road.
- Hendrawati, Anindita Rosenda Eka. 2009. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanaol Daun Kemangi (Ocimum sanctum Linn.) Terhadap Larva Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST): Laporan Akhir Penelitian Karya Tulis Ilmiah*. Semarang: Fakultas Kedokteran UNDIP.
- Isnansetyo A dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton*. Yogyakarta: Kanisius.
- Kurniawati, Nur. 2008. *Uji Toksisitas Ekstrak n-Heksana, Diklorometana dan Metanol Daun Beluntas (Pleuchea indica L. Les) dengan Metode BST*. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Jember: Fakultas Farmasi UNEJ.
- LargentDL. 1988a. *How To Identify Mushrooms To Genus I: Macroscopic Features*. Eureka, California: Mad River Press, Inc.
- Largent DL dan Timonthy JB. 1988b. *How To Identify Mushrooms To Genus VI: Modern Genera*. Eureka, California: Mad River Press, Inc.
- McLaughlin, J.L., Rogers, L. L., and Anderson. 1998. *The Use of Biological Assay to Evaluate Botanicals*. Drug Information Journal. Vol.32: 513-524.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichol, D. E., dan McLaughlin, J.L. 1982. *Brine Shrimp: A Convenient general bioassay for active plant constituents*. *Planta medica*.
- Permatasari A. 2008. *Uji Fraksi dari Ekstrak Diklorometana Kulit Batang Buni (Antidesma bunies L. Les) dengan Metode BST*. Skripsi. Tidak dipublikasikan. Jember: Fakultas Farmasi UNEJ.
- Prayitno. 2002. *Jamur Ledhok Di Badongan Yang Lezat* (online). <http://www.suaramerdeka.com/harian/0212/18/dar28.html> [12 oktober 2010].