

DAYA ANTIMIKROBA METABOLIT BIOAKTIF JAMUR SHIITAKE (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) YANG DIKULTUR PADA TIGA JENIS MEDIUM FERMENTASI

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF BIOACTIVE METABOLITES OF (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) CULTURED ON THREE TYPES OF FERMENTATION MEDIA

Nuraeni Ekowati^{1,2*}, Rina Sri Kasiamdari², Nursamsi Pusposendjojo³, dan C.J. Soegihardjo⁴

¹Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

²Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

³Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

⁴Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

ABSTRAK

Jamur shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) merupakan salah satu jamur yang berpotensi sebagai jamur pangan dan bahan obat (*edible and medicinal mushroom*). Kultivasi pada medium cair dengan proses fermentasi telah dikembangkan selama beberapa tahun terakhir ini. Empat isolat *L. edodes* (isolat asal Malang, Cianjur, Lembang dan Yogyakarta) dikultur pada tiga jenis medium fermentasi yaitu (KM: Kauffman Medium; GYMT: Glucose, Yeast extract, Malt extract, Thiamin; YEMR: Yeast extract, Malt extract, Rice bran). Metabolit bioaktif yang diekstrak dari biomassa miselium dan filtrat kultur hasil fermentasi diuji menggunakan mikroba patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Candida albicans* ATCC 10231, dan *Trichophyton mentagrophytes*. Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan analisis ragam, dan dilanjutkan dengan uji Duncan pada tingkat kesalahan 5 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dalam filtrat kultur maupun biomassa miselium *L. edodes* yang diekstrak menggunakan kloroform, etil asetat dan air, mampu menghambat *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans* tetapi tidak mampu menghambat *T. mentagrophytes*. Isolat *L. edodes* asal Lembang dan Yogyakarta yang dikultur pada medium Kauffman memberikan hasil zona hambat terbaik (24,97-31,14 mm). Mikroba uji yang paling sensitif terhadap senyawa bioaktif dari *L. edodes* adalah *C. albicans* diikuti oleh *E. coli*, *S. aureus* dan *T. mentagrophytes*. Metabolit bioaktif dari *L. edodes* berpotensi menghambat mikroba patogen dari kelompok bakteri dan khamir tetapi tidak menghambat jamur.

Kata kunci: *Lentinula edodes*, medium fermentasi, antimikroba, metabolit bioaktif

ABSTRACT

Shiitake mushroom (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) is one of the fungi that has potentially been used as food and medicinal mushroom. Cultivation in liquid medium by the fermentation process has been developed over recent years. Four isolates of *L. edodes* (isolates from Malang, Cianjur, Lembang and Yogyakarta) cultured on three types of fermentation media (KM: Medium Kauffman; GYMT: Glucose, Yeast Extract, Malt Extract, Thiamin; YEMR: Yeast extract, Malt Extract, Rice bran). Bioactive metabolites extracted from mycelium biomass and fermentation culture filtrates were tested using pathogenic microbial *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Candida albicans* ATCC 10231, and *Trichophyton mentagrophytes*. Inhibition zone diameter data were analyzed using analysis of variance followed by Duncan test at 5% error rate. The results showed that bioactive compounds in the culture filtrates and mycelium biomass of *L. edodes* extracted using chloroform, ethyl acetate and water, were able to inhibit *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans*, but were not able to inhibit *T. mentagrophytes*. Isolates of *L. edodes* from Lembang and Yogyakarta cultured on Kauffman Medium gave the best results with inhibitory zones of 24.97 to 31.14 mm. Microbes which gave the most sensitive of bioactive compounds test from *L. edodes* were *C. albicans* followed by *E. coli*, *S. aureus* and *T. mentagrophytes*. Bioactive metabolites from *L. edodes* inhibited potentially pathogenic microbes from the group of bacteria and yeasts but did not inhibit the fungus.

Key words: *Lentinula edodes*, fermentation medium, antimicrobial, bioactive metabolites

PENDAHULUAN

Lentinula edodes (Berk.) Pegler merupakan salah satu jenis jamur pangan yang produksinya di tingkat dunia, menduduki urutan kedua setelah *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach dan diproduksi terutama di Cina, Jepang, dan Korea. Di samping manfaat utamanya sebagai bahan pangan (*edible mushroom*), jamur ini mampu menghasilkan metabolit bioaktif yang dapat digunakan sebagai bahan obat (*medicinal mushroom*). Poucheret *et al.* (2006) mengemukakan bahwa *L. edodes* dapat digunakan sebagai bahan obat dan telah banyak diteliti di beberapa negara di antaranya Jepang, Cina, Korea dan Brazil. Metabolit bioaktif jamur tersebut, dapat diperoleh dari tubuh buah jamur, biomassa miselium maupun dari supernatan/filtrat mediumnya. Smith *et al.* (2002) menyatakan pula bahwa di Cina, *L. edodes* telah digunakan sebagai obat sejak ribuan tahun yang lalu, terutama untuk pengobatan penyakit infeksi, kanker, kardiovaskular, dan untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh. Informasi tersebut menunjukkan bahwa *L. edodes* berpotensi menghasilkan metabolit bioaktif, namun demikian *L. edodes* yang dibudidayakan di Indonesia belum pernah dilaporkan potensinya sebagai bahan obat.

Beberapa tahun terakhir ini banyak mikroorganisme patogen yang menjadi resisten terhadap antibiotik yang sering digunakan. Beberapa mikroorganisme yang telah dilaporkan resisten adalah *Candida* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus* sp. dan *E. coli* (Sudarmono, 1992; Rosa *et al.*, 2003). Untuk mengatasi masalah resistensi ini perlu selalu dilakukan pencarian bahan kimia alamiah baru yang berpotensi sebagai antimikroba. *L. edodes* merupakan salah satu sumber bahan kimia alamiah yang belum banyak diteliti. Penelitian yang telah dilakukan oleh Ishikawa *et al.* (2001) menunjukkan bahwa *L. edodes* mampu menghasilkan senyawa antimikroba, tetapi golongan senyawanya belum diidentifikasi.

Kultivasi jamur makroskopis (*mushrooms*) pada medium cair dengan proses fermentasi

Tiga jenis medium fermentasi yang dapat digunakan untuk produksi metabolit bioaktif *mushrooms* yaitu *Kauffman Medium* (KM), *Medium Glucose, Yeast extract, Malt extract, Thiamin* (GYMT), dan medium *Yeast extract, Malt extract, Rice bran* (YEMR) (Quimio, 1978; Vahidi *et al.*, 2004; Hasegawa *et al.*, 2005). Untuk mendapatkan jenis medium terbaik yang dapat mendukung produksi metabolit bioaktif antimikroba *L. edodes* dan untuk mengetahui daya antimikrobanya perlu dilakukan pengujian pada bakteri Gram positif, Gram negatif, khamir dan jamur.

METODOLOGI

L. edodes yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas empat isolat, yaitu isolat 1 asal Malang, isolat 2 asal Cianjur, isolat 3 asal Lembang, isolat 4 asal Yogyakarta, semua isolat jamur diperoleh dalam bentuk miselium biakan murni. Masing-masing isolat dikultur pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), diinkubasi pada suhu 28°C selama 15 hari. Mikroba uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (bakteri patogen Gram positif), *Escherichia coli* ATCC 35218 (bakteri patogen Gram negatif), *Candida albicans* ATCC 10231 (khamir patogen), dan *Trichophyton mentagrophytes* (jamur patogen).

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan rancangan acak lengkap pola faktorial yang terdiri atas tiga faktor, faktor 1: jenis isolat, 4 taraf (*L. edodes* M, C, L, Y); faktor 2: jenis medium fermentasi, 3 taraf (KM, GYMT, YEMR); faktor 3: jenis mikroba uji, 4 taraf (*S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, dan *T. mentagrophytes*). Biomasa miselium dan filtrat kultur hasil fermentasi *L. edodes* diekstrak menggunakan pelarut kloroform, etil asetat dan air. Variabel yang diamati adalah diameter zona hambat terhadap mikroba patogen dan bobot biomassa kering.

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan cara sebagai berikut: disiapkan cawan petri steril yang akan diisi medium *Sabouraud Agar* (SA) untuk jamur dan khamir serta medium *Nutrien Agar* (NA) untuk bakteri, inokulum cair untuk bakteri dan khamir (umur 24 jam), inokulum padat untuk jamur (umur 7 hari). Selanjutnya dilakukan pengujian dengan teknik difusi cakram kertas (*paper disc*) diameter 13 mm, cakram kertas ditetesi ekstrak 50 µL. Cakram kertas yang telah menyerap ekstrak tersebut diuapkan terlebih dahulu hingga kering, kemudian diletakkan dalam cawan petri berisi 10 mL medium SA untuk jamur dan khamir serta medium NA untuk bakteri. Setiap cawan petri diisi dengan tiga cakram kertas. Pengamatan dilakukan setelah

*Korespondensi : Nuraeni Ekowati
Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM
E-mail: Nuraeniekowati@yahoo.com

(*submerged cultured*) telah dikembangkan selama beberapa tahun terakhir ini untuk mendapatkan biomassa miselium dan filtrat kulturnya.

12-48 jam untuk bakteri dan khamir, serta 5-7 hari untuk jamur, dilakukan pengukuran apabila terbentuk zona hambat. Aktivitas antimikroba ditunjukkan oleh hambatan pertumbuhan terhadap mikroba uji yang dinyatakan dengan ukuran diameter zona jernih yang terbentuk di sekitar cakram kertas. Sebagai kontrol positif digunakan *fluconazole* (1mg/ml) untuk jamur dan khamir serta *chloramphenicol* (0,2 mg/ml) untuk bakteri. Sebagai kontrol negatif digunakan larutan *dimethylsulfoxide* (DMSO) 5 %. Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan analisis ragam, dan dilanjutkan dengan uji Duncan pada tingkat kesalahan 5 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas antimikroba menggunakan ekstrak kloroform, ekstrak etil asetat dan ekstrak air, dari filtrat kultur *L.edodes* terhadap mikroba uji menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dalam filtrat kultur *L. edodes* mampu menghambat *S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans* tetapi tidak mampu menghambat *T. mentagrophytes*. Kemampuan tersebut ditunjukkan dengan zona jernih disekitar cakram kertas berisi senyawa bioaktif. Zona jernih yang terbentuk selanjutnya dinyatakan sebagai diameter zona hambat. Senyawa yang diperoleh dari filtrat kultur merupakan senyawa bioaktif ekstraseluler yang telah disekresikan dari sel selama inkubasi dan terakumulasi di dalam filtrat kultur. Histogram uji aktivitas antimikroba ekstrak kloroform, ekstrak etil asetat dan ekstrak air dari filtrat kultur *L. edodes* (Gambar 1).

Hasil uji menggunakan ekstrak kloroform dari filtrat kultur *L. edodes* memberikan hasil zona hambat antara 15,67-34,67 mm, perlakuan terbaik adalah *L. edodes* isolat Yogyakarta yang dikultur pada medium KM. Hasil uji menggunakan ekstrak etil asetat memberikan hasil zona hambat antara 15,00-36,33 mm, perlakuan terbaik adalah isolat *L. edodes* asal Lembang yang dikultur pada medium KM. Hasil uji menggunakan ekstrak air memberikan hasil zona hambat antara 20,00-35,00 mm, perlakuan terbaik adalah isolat *L. edodes* asal Lembang yang dikultur pada medium KM. Hasil zona hambat pada penelitian ini lebih tinggi apabila dibandingkan dengan penelitian Ayodele dan Idoko (2011), yang menggunakan filtrat kultur *Lentinus squarrosulus*, diujikan pada mikroba uji *S. aureus* memberikan hasil zona hambat sebesar 16,2 mm dan pada mikroba uji *E. coli* sebesar 18,6 mm. Menurut Lalitha (2010), pengujian aktivitas antimikroba menggunakan teknik difusi cakram kertas akan diperoleh zona hambat yang jelas (nampak sebagai zona jernih). Ekstrak yang diujikan dianggap berpotensi

sebagai senyawa antimikroba apabila menunjukkan zona hambatan minimal 20 mm (zona hambat standar).

Penggunaan tiga jenis medium fermentasi yaitu KM, GYMT dan YEMR menunjukkan berbeda nyata, dan untuk mengetahui jenis medium kultur yang dapat mendukung sintesis metabolit bioaktif dilakukan analisis untuk faktor jenis medium (Tabel I).

Hasil analisis menunjukkan bahwa medium KM merupakan medium terbaik yang dapat mendukung sintesis senyawa bioaktif ekstraseluler. Dalam medium KM terkandung nutrisi yang lengkap terutama dengan kandungan mineralnya yang membedakan dengan kedua medium lainnya. Sumber karbon yang digunakan dalam medium KM adalah ekstrak malt dan maltosa, ekstrak malt merupakan sumber karbon kompleks sehingga dapat digunakan dalam waktu lama sampai waktu sintesis senyawa bioaktif. Demikian pula dengan sumber nitrogen, tersedia sumber nitrogen kompleks yaitu ekstrak yeast dan pepton yang dapat digunakan sampai sintesis senyawa bioaktif. Medium KM juga mengandung makronutrien dan mikronutrien yang lengkap. Manjunathan dan Kaviyaran (2011) menyatakan bahwa sumber nitrogen terbaik untuk mendukung sintesis senyawa bioaktif adalah ekstrak yeast. Garraway dan Evans (1984); Griffin (1994) menyatakan bahwa sintesis metabolit sekunder dapat diaktivasi dengan penambahan ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} . Selain itu Yulinah dan Mathilda (1991) juga mengemukakan bahwa enzim yang berperan dalam pembentukan metabolit primer dan sekunder dapat ditingkatkan aktivitasnya dengan penambahan Mg^{2+} dan Mn^{2+} . Ketiga mineral tersebut tersedia dalam medium KM sehingga sintesis senyawa bioaktif yang merupakan produk metabolit sekunder dapat berlangsung dengan baik. Untuk mengetahui jenis mikroba uji yang paling rentan, dilakukan analisis untuk faktor tunggal jenis mikroba (Tabel II).

Tabel I. Daya antimikroba senyawa bioaktif pada faktor jenis medium kultur menggunakan ekstrak filtrat kultur *L. edodes*

No	Jenis medium	Nilai rerata diameter zona hambat (mm)		
		ekstrak kloroform	Ekstrak etil asetat	ekstrak air
1.	KM	27,78 ± 5,37 b	24,97 ± 7,18 b	31,14 ± 4,37 b
2.	GYMT	22,14 ± 4,92 a	19,61 ± 5,02 a	26,78 ± 4,13 a
3.	YEMR	20,92 ± 4,53 a	21,64 ± 6,93 a	27,94 ± 5,99 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, berbeda tidak nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf $P < 0,05$. KM: *Kauffman Medium*, GYMT: *Glucose, Yeast extract, Malt extract, Thiamin*, YEMR: *Yeast extract, Malt extract, Rice bran*

Tabel II. Daya antimikroba senyawa bioaktif pada faktor jenis mikroba uji menggunakan ekstrak dari filtrat kultur *L. edodes*

No	Jenis mikroba	Nilai rerata diameter zona hambat (mm)		
		ekstrak kloroform	ekstrak etil asetat	ekstrak air
1.	<i>S. aureus</i>	22,53 ± 6,34 b	17,06 ± 3,73 b	27,89 ± 5,48 b
2.	<i>E. coli</i>	24,61 ± 6,33 b	21,42 ± 5,81 c	27,81 ± 5,56 b
3.	<i>C. albicans</i>	23,69 ± 4,32 b	27,75 ± 5,69 d	30,17 ± 4,23 c
4.	<i>T. mentagrophytes</i>	00,00 a	00,00 a	00,00 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama, berbeda tidak nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf $P < 0,05$.

Uji aktivitas antimikroba menggunakan empat jenis mikroba uji yaitu *S.aureus*, *E. coli*, *C. albicans* dan *T. mentagrophytes* memberikan hasil penghambatan yang berbeda nyata. Senyawa bioaktif dari filtrat kultur dapat menghambat tiga jenis mikroba uji dari empat jenis mikroba uji yang digunakan. Mikroba uji yang paling sensitif terhadap senyawa dari filtrat kultur adalah *C. albicans* diikuti oleh *E. coli* dan *S.aureus*. Mikroba uji *T. mentagrophytes* tidak dapat dihambat baik menggunakan ekstrak kloroform, etil asetat maupun ekstrak air. Adanya perbedaan diameter zona hambat pada keempat mikroba uji menunjukkan bahwa ada perbedaan sensitivitas pada mikroba uji tersebut. Mekanisme penghambatan terhadap mikroba uji diantaranya adalah penghambatan terhadap sintesis dinding sel. Komposisi dinding sel dari keempat mikroba uji yang digunakan berbeda sehingga menyebabkan kepekaan yang berbeda terhadap senyawa yang diujikan. Mikroba uji *S.aureus* merupakan bakteri Gram positif yang mempunyai komponen dinding sel peptidoglikan yang tebal, asam teikhoat, protein dan polisakarida. *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang mempunyai komponen dinding sel peptidoglikan yang lebih tipis dibandingkan dengan bakteri Gram positif tetapi bakteri Gram negatif mempunyai dua membran yaitu membran luar dan membran dalam, membran luar tidak terdapat pada bakteri Gram positif. Membran luar

bakteri Gram negatif mengandung protein, lipid, lipoprotein dan lipopolisakarida (Yulinah dan Mathilda, 1991; Jawets *et al.*, 2008). Sedangkan komposisi dinding sel *C. albicans* dan *T. mentagrophytes* terdiri atas khitin, selulosa, β -glukan, mannan, khitosan, protein, lemak dan ion anorganik. Senyawa antimikroba yang dapat menghambat biosintesis dinding sel jamur pada umumnya adalah menghambat biosintesis khitin (Garraway dan Evans, 1984; Griffin, 1994).

Selain itu senyawa antimikroba dapat pula menyebabkan kerusakan pada membran sel yang berupa denaturasi protein serta lemak yang menyusun membran sel mikroba sehingga mengganggu pertukaran zat yang penting untuk kehidupan mikroba tersebut. Yulinah dan Mathilda (1991) mengemukakan bahwa membran sitoplasma merupakan barrier permeabilitas selektif, berfungsi untuk transport zat yang diperlukan oleh sel, transport cairan sitoplasma, sehingga mengontrol komposisi internal sel. Jika integritas fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion dapat keluar dari sel sehingga dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel. Membran sitoplasma bakteri dan jamur mempunyai struktur yang berbeda, membran sel pada jamur mengandung sterol sedangkan pada bakteri tidak. Antimikroba yang dapat berikatan dengan sterol akan dapat merusak membran sel jamur.

Mekanisme penghambatan mikroba yang terjadi pada penelitian ini diperkirakan adalah mengganggu fungsi membran sel. Komposisi utama membran sel bakteri Gram positif, Gram negatif dan khamir adalah protein dan lemak serta beberapa senyawa lain dengan persentase yang kecil (kurang dari 10%). Senyawa antimikroba menyebabkan denaturasi protein dan lemak pada membran sel mikroba uji (*S. aureus*, *E. coli* dan *C. albicans*). Namun demikian pada penelitian ini senyawa antimikroba tidak dapat menghambat pertumbuhan *T. mentagrophytes*. Hal ini disebabkan *T. mentagrophytes* merupakan jamur berfilamen yang multi-selular, dapat membentuk dua jenis konidia yaitu mikrokonidium dan makrokonidium. Garraway dan Evans (1984) menyatakan bahwa komposisi membran sel pada jamur berfilamen berbeda dengan khamir, pada jamur berfilamen kandungan karbohidrat empat kali lebih tinggi dibandingkan dengan khamir, kandungan protein dan lemaknya lebih rendah sehingga kepekaan terhadap senyawa antimikroba tidak sama dengan khamir, walaupun keduanya merupakan organisme eukariotik. Selanjutnya dinyatakan pula oleh Fisher dan Cook (1998) bahwa *T. mentagrophytes* menghasilkan makrokonidium yang dilindungi oleh khitin dan khitosan. Oyeka, (2000) menyatakan bahwa *T. mentagrophytes* menghasilkan enzim keratinase, fosfatase, amylase, dan protease yang berfungsi untuk menghidrolisis substratnya menjadi sub unit yang lebih kecil sehingga dapat dibawa masuk ke dalam selnya. Dihasilkannya enzim ekstraseluler ini juga menyebabkan kerja senyawa antimikroba terhambat, bahkan senyawa antimikroba dapat rusak atau kehilangan aktivitasnya.

Pada uji aktivitas antimikroba menggunakan senyawa bioaktif intraseluler (dari biomassa miselium) menunjukkan bahwa senyawa bioaktif juga dapat diperoleh dari biomassa miselium. Histogram uji aktivitas antimikroba pada perlakuan interaksi antara jenis isolat, jenis medium dan jenis mikroba uji ditampilkan pada Gambar 2.

Hasil zona hambat terlebar untuk ekstrak kloroform adalah $31,33 \pm 4,04$ mm pada perlakuan *L. edodes* isolat Lembang yang dikultur pada medium KM. Sedangkan untuk ekstrak etil asetat adalah $32,67 \pm 0,58$ mm pada perlakuan *L. edodes* isolat Yogyakarta yang dikultur pada medium KM. Senyawa bioaktif yang diekstrak dari miselium merupakan senyawa bioaktif intraseluler. Dari hasil penelitian ini dapat dinyatakan bahwa senyawa bioaktif *L. edodes* yang diekstrak dari filtrat medium (ekstraseluler) mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dari pada senyawa

bioaktif yang diekstrak dari biomassa miselium (intraseluler). Berdasarkan hasil identifikasi senyawa bioaktif *L. edodes* menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa senyawa yang dihasilkan positif termasuk dalam golongan terpenoid, steroid, alkaloid, dan flavonoid sesuai dengan standar senyawa yang digunakan (hasil tidak dicantumkan).

KESIMPULAN

Isolat *L. edodes* asal Lembang dan Yogyakarta memberikan hasil zona hambat terbaik. Jenis medium yang dapat mendukung sintesis metabolit bioaktif antimikroba *L. edodes* adalah *Kauffman Medium*. Mikroba uji yang paling peka terhadap senyawa bioaktif dari *L. edodes* adalah *C. albicans* diikuti oleh *E. coli*, *S. aureus* dan *T. mentagrophytes*. Metabolit bioaktif dari *L. edodes* berpotensi menghambat mikroba patogen dari kelompok bakteri Gram positif, bakteri Gram negatif dan khamir tetapi tidak menghambat pertumbuhan jamur patogen.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Kemdikbud Dikti yang telah memberikan dana penelitian melalui Hibah Penelitian Fundamental Tahun 2009. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Dekan Fakultas Biologi Unsoed yang telah memberikan ijin penelitian ini dan ketua LPPM Unsoed beserta staf yang telah memberikan fasilitas, informasi dan kerjasama yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayodele, S.M. and M. E.Idoko. 2011. Antimicrobial activities of four wild edible mushrooms in Nigeria. *I.J.S.N.*, 2(1) : 55-58
- Fisher, F. and N.B. Cook. 1998. *Fundamentals of Diagnostic Mycology*. W.B. Saunders Company. London.
- Garraway, M.O. and R.C. Evans. 1984. *Fungal Nutrition and Physiology*. A John Wiley & Sons, Inc., Publication. New York.
- Griffin, D.H. 1994. *Fungal Physiology*. A John Wiley & Sons, Inc., Publication. New York.
- Hasegawa, R.H., M.C.M. Kasuya, M.C.D. Vanetti. 2005. Growth and antibacterial activity of *Lentinula edodes* in liquid media supplemented with agricultural wastes. *Electron. J. Biotechno.*, 8 (2) : 212-217.
- Ishikawa, N.K., M.C.M. Kasuya, M.C.D. Vanetti. 2001. Antibacterial activity of *Lentinula edodes* growth in liquid medium. *Braz. J. Microbiol.*, 32 (3) : 206-210.

- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed. 23. Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Lalitha, M.K. 2010. *Manual on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Department of Microbiology, Christian Medical College Vellore, Tamil nadu.
- Manjunathan, J. and V. Kaviyarasan. 2011. Optimization of mycelia growth and antimicrobial activity of new edible mushroom, *Lentinus tuberregium* (Fr.). Tamil Nadu, India. *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, 3(1): 497-504.
- Oyeka, C.A. 2000. *Trichophyton mentagrophytes a keratinophilic fungus*. Department of Microbiology, Nnamdi Azikiwe University Awka, Anambra State, Nigeria.
- Poucheret, P., F. Fons and S. Rapior. 2006. Biological and Pharmacological Activity of Higher Fungi: 20-Year Retrospective Analysis. *Cryptogamie Mycol.*, 27 (4): 311-333.
- Quimio, T.H. 1978. *Workbook in Tropical Mycology*. Department of Plant Pathology, University of the Philippines at Los Banos College, Laguna Philippines.
- Rosa, L.H., K.M.G. Machado, C.C. Jacob, M. Capelari, C.A. Rosa and C.L. Zani. 2003. Screening of Brazilian Basidiomycetes for Antimicrobial Activity. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 98(7): 967-974.
- Smith, J.E., N.J. Rowan and R. Sullivan, 2002. *Medicinal Mushrooms : Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments*. Cancer Research UK, University of Strathclyde.
- Sudarmono, P. 1992. Antibiotika dan masalah resistensi. Kursus Mikrobiologi, diselenggarakan atas kerjasama Dirjen Dikti-Unesco-Perhimpunan Mikrobiologi Cab. Jakarta, 1-3 Desember 1992, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Vahidi, H., F. Kobarfard and F. Namjoyan. 2004. Effect of cultivation conditions on growth and antifungal activity of *Mycena leptcephala*. *Afr. J. Biotechnol.* 3 (11): 606-609.
- Yulinah, E. dan Mathilda. 1991. *Mekanisme Kerja Antibiotika*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Teknologi Bandung, Bandung.