



Ekstraksi dan penentuan konsentrasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dari jamur shiitake (*Lentinula edodes*)

FAJRI¹, IRA DJAJANEGARA²✉, SANDRA HERMANTO¹

✉ Alamat korespondensi:

¹Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir. H. Djuanda No. 95, Ciputat, Tangerang Selatan 15412, Banten, Indonesia

²Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi, LAPTIAB Puspitek Serpong, Tangerang 15314, Banten, Indonesia. ✉email: idjajanegara@yahoo.com

Manuskrip diterima: 16 Juni 2013.

Revisi disetujui: 14 November 2013.

Fajri, Djajanegara I, Hermanto S. 2013. Extraction and determination of concentration of β -1,3;1,6-D-glucan compound from shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *Bioteknologi* 10: 60-66. People do not just want food that has a good nutrient composition, and also the interesting appearance and flavor, but also has physiological functions such as lowering blood pressure, cholesterol levels, or as an anticancer. This phenomenon gives the birth of the concept of functional foods. One of the foodstuffs that have potential as functional food is shiitake mushroom. Shiitake mushroom has a physiological function as an anticancer. Its anticancer activity is due to β -1,3;1,6-D-glucan compound. Lentinan compound is a polysaccharide with β -1,3 and 1,6-D-glucan bonds. To get β -1,3;1,6-D-glucan of shiitake mushroom, it was needed to do the extraction process to isolate the β -1,3;1,6-D-glucan compound. The extraction method of Yap & Ng was chosen because the extraction process was quick, cheap and safe to be used for solvent (distilled water) of food. To identify β -1,3;1,6-D-glucan compound in shiitake's extract, then to be conducted the FTIR analysis. Further, the concentration of β -1,3;1,6-D-glucan compound was measured by the Megazyme method. In this research, it was developed an alternative method that more efficient cost and effective time, i.e. by using the Congo red dye, to substitute the Megazyme method. From the result of Yap & Ng extraction method, it was obtained the dry shiitake's extract at 4.4987 g (0.4999%). The FTIR analysis result showed the existence of β -1,3;1,6-D-glucan compound in the extract glucan, which identified particularly at the wave number of 890 nm, i.e., the β -1,3 bond which specific for the β -1,3;1,6-D-glucan compound. From the result of Megazyme method analysis, it was obtained the average of (triplo) β -1,3;1,6-D-glucan compound at 30.8882%, while for analysis Congo red method showed no specific result for the concentration of β -1,3;1,6-D-glucan compound.

Keywords: Functional food, Megazyme and Congo red method, shiitake mushroom, Yap & Ng extraction method, β -1,3;1,6-D-glucan compound

Fajri, Djajanegara I, Hermanto S. 2013. Ekstraksi dan penentuan konsentrasi senyawa β -1,3;1,6-D-Glukan dari jamur shiitake (*Lentinula edodes*). *Bioteknologi* 10: 60-66. Orang tidak hanya menginginkan makanan yang memiliki komposisi gizi yang baik, serta penampilan dan rasa yang menarik, akan tetapi juga memiliki fungsi fisiologis seperti dapat menurunkan tekanan darah, kadar kolesterol, atau sebagai antikanker. Fenomena ini menyebabkan lahirnya konsep makanan fungsional. Salah satu bahan yang berpotensi sebagai makanan fungsional adalah jamur shiitake. Shiitake memiliki fungsi fisiologis sebagai antikanker. Aktivitas antikankernya disebabkan oleh kandungan senyawa β -1,3;1,6-D-glukan. Senyawa lentinan adalah suatu polisakarida dengan ikatan β -1,3 dan 1,6-D-glukan. Untuk mendapatkan β -1,3;1,6-D-glukan dari jamur shiitake maka perlu lakukan proses ekstraksi untuk mengisolasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan. Metode ekstraksi Yap & Ng dipilih karena proses ekstraksi cepat, murah, dan aman digunakan sebagai pelarut (air suling) makanan. Untuk identifikasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dalam ekstrak shiitake, perlu dilakukan analisis FTIR. Selanjutnya, konsentrasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan diukur dengan metode Megazyme. Pada penelitian ini dikembangkan metode alternatif dengan biaya yang lebih efisien dan waktu yang lebih efektif, yaitu penggunaan pewarna merah Congo, sebagai pengganti metode Megazyme. Dari metode ekstraksi Yap & Ng diperoleh ekstrak kering shiitake sebesar 4,4987 g (0,4999%). Hasil analisis FTIR menunjukkan adanya senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dalam ekstrak glukon yang teridentifikasi, terutama pada bilangan gelombang 890 nm adalah ikatan β -1,3 yang spesifik untuk senyawa β -1,3;1,6-D-glukan. Hasil analisis metode Megazyme diperoleh rata-rata (triplo) senyawa β -1,3;1,6-D-glukan yaitu sebesar 30,8882%, sedangkan untuk analisis berdasarkan metode Congo red menunjukkan hasil yang tidak spesifik untuk konsentrasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan.

Kata kunci: Jamur shiitake, makanan fungsional, metode ekstraksi Yap & Ng, metode Megazyme dan Congo red, senyawa β -1,3;1,6-D-glukan

PENDAHULUAN

Seiring dengan semakin meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat, tuntutan masyarakat terhadap bahan pangan juga bergeser. Bahan pangan yang kini banyak diminati masyarakat bukan hanya mempunyai komposisi gizi yang baik serta penampakan dan cita rasa yang menarik, akan tetapi juga harus memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh, seperti dapat menurunkan tekanan darah, kadar kolesterol, kadar gula darah, meningkatkan penyerapan kalsium, serta aktivitas antikanker. Fenomena tersebut melahirkan konsep pangan fungsional (Astawan 2003).

Salah satu bahan yang berpotensi sebagai bahan pangan fungsional adalah jamur shiitake. Jamur shiitake dikenal sejak 199 M di China dan telah dibudidayakan secara luas. Jamur shiitake mengandung senyawa β -1,3;1,6-D-glukan, atau dikenal sebagai senyawa lentinan, yaitu polisakarida yang larut di dalam air dan diketahui memiliki aktivitas sebagai antikanker. Kemampuan senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dari jamur shiitake sebagai antikanker dibuktikan pada hasil penelitian di *Cancer Center Institute* di Tokyo, Jepang, dan beberapa lembaga sejenis di Benua Eropa dan Amerika yang menunjukkan ekstrak shiitake memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kanker antara 72-92% (Hendry 2005).

Melihat pentingnya senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dalam aktivitas antikanker, maka pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi untuk mengisolasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dalam jamur shiitake. Metode ekstraksi yang dipilih adalah metode Yap & Ng (2001), karena digunakan pelarut aquades, sehingga diperoleh hasil ekstraksi yang aman untuk dikonsumsi (Widyastuti 2009). Identifikasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dalam ekstrak jamur shiitake dilakukan dengan analisis FTIR.

Penentuan kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak jamur shiitake dilakukan dengan metode *Megazyme*. Metode tersebut mampu mengukur secara spesifik kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan, namun kelemahan metode tersebut adalah dibutuhkan biaya yang cukup mahal dan waktu analisis yang kurang efektif, selain itu bahan ujinya sulit didapatkan dan memiliki batas waktu penggunaan. Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan juga metode *Congo red*, sebagai alternatif pengukuran kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dengan biaya yang

lebih efisien dan waktu pengerjaannya lebih efektif dibandingkan metode *Megazyme*. Apabila metode *Congo red* dapat secara spesifik mengukur kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan, diharapkan metode ini nantinya dapat diaplikasikan untuk industri jamur dalam skala kecil.

Tujuan penelitian ini adalah untuk (i) mendapatkan berat kering ekstrak jamur shiitake hasil ekstraksi metode Yap & Ng, (ii) mengidentifikasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake dengan analisis FTIR, dan (iii) mengetahui spesifitas metode *Congo red* dalam pengukuran kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam, Kimia LIPI-PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang; Laboratorium Mikologi, Teknologi Bioindustri, Gedung 1 LAPTIBAB, BPPT-PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang; dan Laboratorium Pangan, Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Oktober 2009 hingga Januari 2010.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari peralatan untuk ekstraksi yaitu blender, gelas beker, *hotplate*, *magnetic stirrer*, sentrifus (Sigma 201 m), dan batang pengaduk. Peralatan untuk pengeringan sampel hasil ekstraksi meliputi cawan petri dan alat *freeze-dryer* (Telstar Iyoalfa 15). Peralatan untuk uji *Megazyme* dan *Congo red* meliputi tabung uji beserta tutupnya, tabung reaksi, *waterbath* (Kottermann Labortechnik), mikropipet, *magnetic stirrer*, vorteks, sentrifus (HIMAC CR 21G), rak tabung reaksi, *hotplate*, dan termometer raksa. Adapun instrumen yang digunakan untuk analisis adalah Spektrometer *Infrared* (Perkin Elmer tipe *spectrum-one*) untuk identifikasi keberadaan senyawa lentinan, serta Spektrometer UV-Vis *double beam* (Hitachi tipe V-2001) untuk analisis kadar senyawa lentinan.

Sementara itu, bahan yang digunakan terdiri dari bahan sampel dan bahan untuk analisis. Bahan sampel berupa jamur shiitake yang diperoleh dari toko swalayan di Jl. Ampera Raya No.38 Cilandak Timur, Jakarta-Selatan dan β -1,3;1,6-D-glukan standar (*from barley*, SIGMA,

($C_6H_{10}O_5$)_n, powder, glukosa >95%) yang diperoleh dari LIPI, Pasar Jumat, Lebak Bulus, Jakarta-Selatan. Adapun bahan untuk analisis terdiri dari bahan ekstraksi berupa akuades dan alkohol 96%. Bahan analisis FTIR yang digunakan berupa serbuk KBr. Bahan untuk analisis kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dengan metode *Congo red* terdiri dari NaOH 1M dan pereaksi *Congo red*. Bahan analisis kadar senyawa β -1,3;1,6-glukan dengan metode *Megazyme* yaitu *Megazyme Kits* diperoleh dari Laboratorium Mikologi, Laboratorium Teknologi Bioindustri, BPPT-PUSPIPTEK, Serpong, Tangerang, terdiri dari Kit: 1 = suspensi *exo-1,3- β -glucanase* (100 U/mL) + *β -glucosidase* (20 U/mL) (2,0 mL); 2 = larutan *amyloglucosidase* (1630 U/mL) + *invertase* (500 U/mL) dalam 50% gliserol (*v/v*) 20 mL; 3 = pereaksi *buffer* glukosa (pekat, 50 mL); 4 = *glucose oxidase* >12,000 U/L, *peroxidase* >650 U/L, 4-*aminoantipyrine* 0,4 mM; 5 = larutan standar *D-glucose* (5 mL, 1,00 mg/mL) pada 0,2% asam benzoat (*w/v*); 6 = *control yeast β -glucan* (56%), dan reagen [*buffer* sodium asetat (1,2M; pH 3,8), *buffer* sodium asetat (200 mM; pH 5), KOH 2M, HCl (37%, *v/v*; ~10M), KOH 2N].

Cara kerja

Preparasi sampel

Jamur shiitake diperoleh dari toko swalayan di Jl. Ampera Raya No.38 Cilandak Timur, Jakarta-Selatan pada tanggal 12 Oktober 2009. Jamur shiitake yang digunakan merupakan jamur shiitake segar.

Preparasi reagen

Reagen 1, Sebanyak 8 mL *buffer* natrium asetat (200 mM, pH 5,0) dituang ke dalam botol, kemudian disimpan dalam tabung *polypropylene* pada suhu -20°C.

Reagen 2, Pereaksi *buffer* glukosa (pekat, volume 50 mL) diencerkan menjadi 1 L dalam air yang telah didistilasi atau di-ionisasi.

Reagen 3, *Glucose oxidase* >12.000 U/L, *peroxidase* >650 U/L, dan 4-*aminoantipyrine* 0,4 mM dilarutkan dalam botol.

Ekstraksi jamur shiitake dengan Metode Yap & Ng

Ditimbang sebanyak 900 g jamur shiitake yang telah dicuci dan dipotong-potong terlebih dahulu, kemudian dihaluskan dengan blender dan direbus dengan akuades (100°C) selama 1 jam. Selanjutnya, ekstrak jamur shiitake diinkubasi pada suhu ruang hingga suhunya mencapai suhu ruang ($\pm 27^\circ\text{C}$). Selanjutnya, sampel disentrifugasi untuk memisahkan

supernatan dengan residu (ampas) dari jamur shiitake. Supernatan yang didapat ditambahkan etanol 95% (4°C) dengan volume 1:1 dan disimpan dalam *freezer* pada suhu -15°C selama 1 malam untuk mengendapkan senyawa β -1,3;1,6-D-glukan yang terlarut dalam pelarut akuades. Endapan ekstrak basah jamur shiitake (berbentuk gel) yang diperoleh dipisahkan, kemudian direbus kembali dengan akuades (100°C) hingga larut. Setelah semua endapan larut kemudian diinkubasi pada suhu ruang, hingga suhunya $\pm 27^\circ\text{C}$ dan disaring, selanjutnya ditambahkan kembali etanol 95% (4°C) dengan volume 1:1 dan disimpan dalam *freezer* pada suhu -15°C selama satu malam untuk mengendapkan senyawa β -1,3;1,6-D-glukan kembali. Residu (ampas) dari jamur shiitake diekstrak kembali, ekstraksi berulang dilakukan hingga didapatkan ekstrak basah jamur shiitake dengan berat minimum. Setelah diperoleh ekstrak basah jamur shiitake, dilakukan proses pengeringan dengan metode *freeze drying* selama 5 hari, selanjutnya dihaluskan menjadi serbuk.

Identifikasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake dengan FTIR

Identifikasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan (lentinan) pada ekstrak kering jamur shiitake dilakukan dengan menggunakan FTIR dengan teknik cakram KBr. Sebanyak 2 mg ekstrak kering jamur shiitake glukan dicampur dengan 200 mg serbuk KBr kering dengan lumpang *agate* (*vibrating ball mill*) hingga homogen. Setelah itu, campuran tersebut dimasukkan ke dalam pencetak dengan alat press, lalu cakram KBr dilepas dari alat press. Selanjutnya dilakukan *scanning* dengan frekuensi berkisar antara 400-4000 cm^{-1} dan analisis yang sama untuk β -1,3;1,6-glukan standar.

Analisis kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake dengan Metode *Megazyme*

Penentuan kadar total glukan. Ditimbang sebanyak 100 mg ekstrak kering jamur shiitake, kemudian ditambahkan 1,5 mL HCl pekat (37%, *v/v*) ke dalam tabung reaksi dan divorteks secara perlahan. Kemudian, sampel diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 30°C selama 45 menit dan divorteks setiap 15 menit sekali. Sampel ditambahkan 10 mL akuades dan divorteks, diinkubasi kembali dalam *waterbath* pada suhu 100°C selama 2 jam, selanjutnya ditambahkan 10 mL KOH 2N. Sampel dipindahkan ke labu volumetrik 100 mL, sisa pada labu volumetrik

dicuci dengan *buffer* sodium asetat pH 5, dan dicampur dengan hati-hati dengan dibolak-balik. Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Sampel diambil 0,1 mL supernatan (duplo), masing-masing ditambahkan 0,1 mL reagen 1 (8 mL *buffer* sodium asetat 200 mM pH 5,0, suspensi *exo*-1,3- β -glukanase 100 U/mL, β -glucosidase 20 U/mL 2.0 mL) dan divorteks, selanjutnya diinkubasi pada suhu 40°C selama 60 menit, ditambahkan 3 mL reagen 3 (GOPOD) dan divorteks, diinkubasi kembali pada suhu 40°C selama 20 menit, kemudian divorteks. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 510 nm. Penentuan kadar total glukan dilakukan sebanyak tiga kali (triplo). Selain itu dilakukan juga penentuan kadar total glukan dari *yeast* dengan perlakuan dan waktu yang sama.

Penentuan kadar α -glukan. Ditimbang sebanyak 100 mg ekstrak kering jamur shiitake, kemudian ditambahkan 2 mL KOH 2 M, divorteks selama 20 menit, ditambahkan 8 mL *buffer* natrium asetat 1,2 M pH 3,8, kemudian divorteks. Sampel ditambah dengan 0,2 mL Kit 2 (larutan *amyloglucosidase* (1630 U/mL) + *invertase* (500 U/mL) dalam 50% gliserol (v/v) sebanyak 20 mL) dan divorteks kembali, selanjutnya diinkubasi pada suhu 40°C selama 30 menit dan divorteks secara perlahan. Sampel disentrifugasi selama 10 menit, diambil 0,1 mL supernatan, dan ditambahkan 0,1 mL *buffer* sodium asetat pH 5, dan divorteks. Sampel ditambahkan kembali 3 mL reagen 3 (GOPOD) dan divorteks, dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 20 menit. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 510 nm. Penentuan kadar α -glukan dilakukan sebanyak tiga kali (triplo). Selain itu dilakukan juga penentuan kadar α -glukan dari *yeast* dengan perlakuan dan waktu yang sama.

Analisis kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake dengan Metode Congo Red

Ditimbang sebanyak 0,02 g ekstrak kering jamur shiitake, kemudian ditambahkan 1,4 mL NaOH 1M dan diaduk dengan stirer hingga serbuk glukan larut. Ditambahkan kembali 0,6 mL akuades dan diaduk kembali hingga tercampur. Campuran dipipet masing-masing 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus ukuran 1,5 mL. Sampel disentrifugasi untuk memisahkan ekstrak kering jamur shiitake yang sudah larut (filtrat) dengan yang belum larut

(residu). Filtrat yang terpisah kemudian diambil dan ditambahkan 500 μ L NaOH 0,2 M dan divorteks. Sampel ditambahkan 400 μ L pereaksi *Congo red* dan divorteks kembali dan diinkubasi selama 20 menit di ruang gelap. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi jamur shiitake

Hasil ekstraksi jamur shiitake dengan metode Yap & Ng dengan proses ekstraksi berulang sebanyak tujuh kali, dan dari 900 g sampel jamur diperoleh total ekstrak basah jamur shiitake basah sebesar 84 g dengan hasil berat kering sebesar 4,4987 g atau 0,4999% (w/w). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Yap & Ng (2001), dengan metode ekstraksi yang sama, dari 100 g sampel jamur shiitake diperoleh berat kering sebesar 325 mg (0,3250%, w/w).

Penggunaan pelarut akuades panas dalam proses ekstraksi jamur shiitake didasarkan pada sifat kelarutan senyawa β -glukan yang akan diekstraksi. Menurut Widyastuti (2009), β -glukan merupakan polisakarida yang larut dalam pelarut akuades panas dan NaOH. Terekstraksinya senyawa β -1,3;1,6-D-glukan oleh akuades panas dapat terjadi karena pada saat proses pemanasan menyebabkan rantai cabang dari senyawa β -1,3;1,6-D-glukan terbuka. Kondisi ini memungkinkan akuades untuk masuk ke dalam struktur polisakarida β -1,3;1,6-D-glukan dan berinteraksi ikatan hidrogen dengan gugus -OH dari senyawa β -1,3;1,6-D-glukan. Dengan demikian, senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dapat terekstrak ke dalam pelarut akuades. Pada proses ini terjadi gelatinisasi yang dapat terlihat dari supernatan hasil ekstraksi yang mengental.

Penambahan etanol dingin 95% (4°C) ke dalam supernatan hasil ekstraksi bertujuan untuk memisahkan senyawa β -1,3;1,6-D-glukan yang terlarut dalam pelarut akuades. Dengan penambahan etanol, interaksi hidrogen antara akuades dengan senyawa β -1,3;1,6-D-glukan tergantikan oleh interaksi antara etanol dengan akuades, sehingga menyebabkan senyawa β -1,3;1,6-D-glukan mengendap. Ketidakmampuan senyawa β -1,3;1,6-D-glukan untuk berinteraksi dengan etanol dikarenakan sifat kelarutannya yang kecil. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kusmawati dan Irma, telah dibuktikan bahwa semakin rendah suhu etanol yang digunakan dalam proses pengendapan, semakin

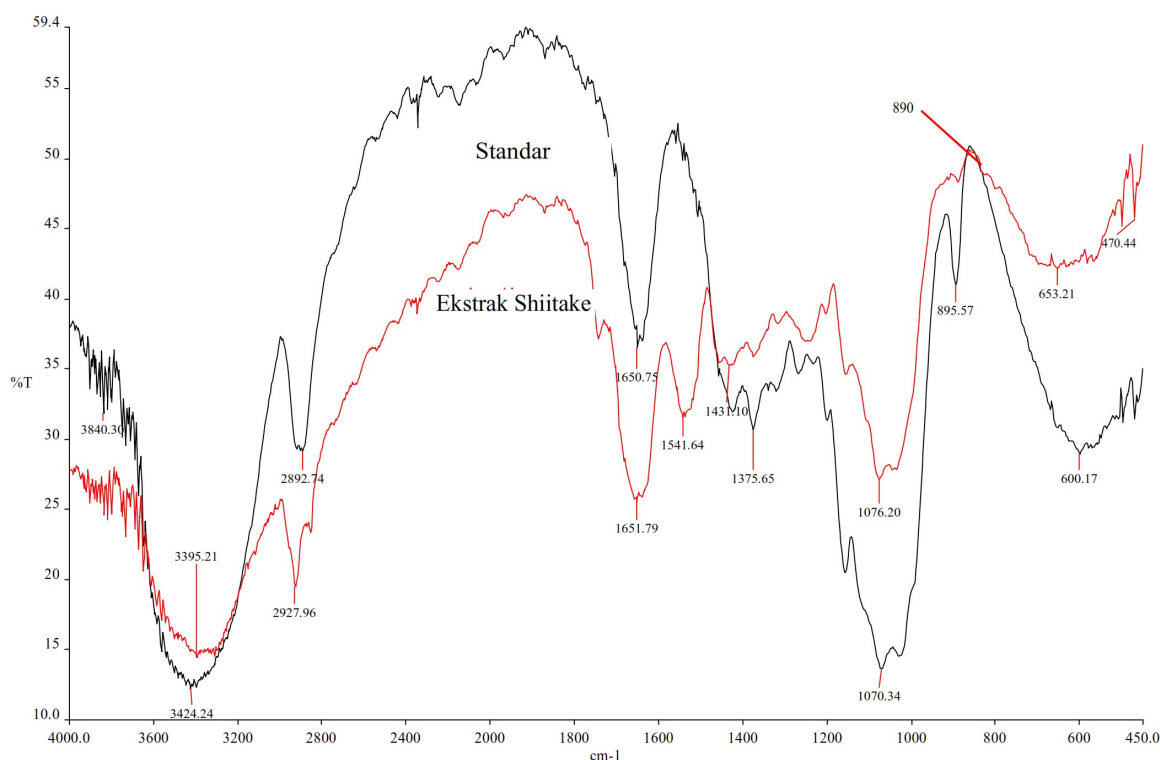
banyak polisakarida yang dapat diendapkan. Untuk lebih mengoptimalkan proses pengendapan ekstrak glukuan, setelah penambahan etanol dingin 95% (4°C) dilanjutkan dengan proses penyimpanan dalam freezer (-15°C) selama 1 malam, sehingga diharapkan semakin banyak ekstrak glukuan yang terendapkan.

Perebusan kembali endapan ekstrak basah jamur shiitake yang diperoleh dilakukan untuk menghilangkan partikel pengotor ataupun senyawa lain yang masih terbawa selama proses perebusan pertama ataupun selama proses pengendapan senyawa β -1,3;1,6-D-glukan. Proses pengeringan ekstrak basah jamur shiitake menggunakan metode *freeze drying* dipilih agar struktur ekstrak kering jamur shiitake yang diperoleh tidak rusak, karena dalam metode *freeze drying* tidak digunakan suhu tinggi. Sebaliknya, proses pengeringan dengan menggunakan oven dapat merusak struktur ekstrak kering jamur shiitake yang diperoleh.

Hasil identifikasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake dengan FTIR

Identifikasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dalam ekstrak kering jamur shiitake dapat ditentukan dengan melihat kemiripan puncak (*peak*) yang muncul pada spektrum ekstrak kering jamur shiitake dengan spektrum β -1,3;1,6-D-glukan standar (*from barley*, Sigma, kemurnian >95%). Dari hasil analisis IR diperoleh data spektrum sebagai berikut (Gambar 1).

Berdasarkan hasil spektrum FT-IR pada Gambar 1, dengan membandingkan bentuk kedua spektrum, terlihat bahwa puncak-puncak yang terdapat pada spektrum β -1,3;1,6-D-glukan standar juga muncul pada spektrum ekstrak kering jamur shiitake. Namun, masih terdapat perbedaan pada beberapa puncak antara kedua spektrum, dimana terdapat puncak yang muncul pada spektrum ekstrak kering jamur shiitake tetapi tidak muncul pada spektrum β -1,3;1,6-D-glukan standar, sehingga perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut terhadap puncak-puncak yang muncul pada spektrum ekstrak kering jamur shiitake.



Gambar 1. Spektrum IR ekstrak kering jamur shiitake dan β -1,3;1,6-D-glukan standar (barley)

Dari beberapa puncak yang muncul pada spektrum ekstrak kering jamur shiitake, dapat teridentifikasi beberapa gugus fungsi sebagai berikut. Pada bilangan gelombang 3395,21 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi OH asam, pada bilangan gelombang 2927,96 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi CH aromatik, pada bilangan gelombang 1076,20 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi C-O-C *stretching*, dan paling spesifik adalah keberadaan puncak pada bilangan gelombang 890 cm^{-1} yang menunjukkan ikatan 1,3- β -glikosidik.

Keberadaan gugus-gugus fungsi tersebut sebagai identifikasi β -1,3;1,6-D-glukan dibuktikan juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Synytsya et al. (2008a), bahwa adanya senyawa β -1,3;1,6-glukan dapat dilihat dari ikatan polisakarida yang kuat, terutama dalam cincin piran yang ditunjukkan pada bilangan gelombang 950-1200 cm^{-1} . Adanya C-O-C *stretching* dari ikatan glikosida pada bilangan gelombang 1150-1160 cm^{-1} , ikatan β -glikosidik yang spesifik ditunjukkan pada bilangan gelombang 894 cm^{-1} .

Selain mengidentifikasi puncak yang menunjukkan gugus fungsi dari senyawa β -1,3;1,6-D-glukan, perlu diidentifikasi juga puncak yang muncul pada spektrum ekstrak kering jamur shiitake, yaitu menunjukkan gugus C=O pada bilangan gelombang 1541,64 cm^{-1} dan gugus N-H pada bilangan gelombang 1651,79 cm^{-1} . Kedua puncak tersebut tidak menunjukkan gugus fungsi dari senyawa β -1,3;1,6-D-glukan, namun diduga kedua puncak tersebut berasal dari senyawa amida yang terikat pada glukan (proteoglukan). Hal tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Werning (2008) pada penentuan β -glukan, dimana pada bilangan gelombang tersebut menunjukkan adanya vibrasi CO-NH dari protein atau proteoglukan. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Synytsya et al. (2008b), bahwa pada bilangan gelombang antara 1650 cm^{-1} dan 1540 cm^{-1} menunjukkan vibrasi amida dari protein.

Dengan demikian, dari hasil analisis FTIR dapat diidentifikasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake. Namun demikian, dari hasil tersebut belum dapat dipastikan kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan secara kuantitatif, sehingga perlu dilakukan pengujian lebih lanjut.

Hasil analisis kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake dengan metode megazyme

Hasil pengukuran (triplo) kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan menggunakan metode *Megazyme* dengan proses perhitungan melalui program komputerisasi *Mega-Cal Yeast and Mushroom β -glucan Determination* maka diperoleh kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan sebesar 32,8279%; 30,5821%; dan 29,2545% dengan kadar rata-rata sebesar 30,8882%. Adapun untuk pengukuran (triplo) kadar β -1,3;1,6-D-glukan dari *yeast* diperoleh nilai sebesar 54,2977%; 54,2433%; dan 53,2018%.

Tujuan dari pengukuran terhadap kadar β -1,3;1,6-D-glukan dari *yeast* yang sebelumnya telah diketahui kadarnya yaitu sebesar 56% (tercantum pada kemasan) yaitu digunakan sebagai kontrol positif terhadap prosedur pengukuran kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dengan menggunakan metode *Megazyme*. Sebagai kontrol positif, pengukuran kadar β -1,3;1,6-D-glukan dari *yeast* dilakukan dengan perlakuan dan waktu yang sama terhadap pengukuran kadar β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake. Selain itu, kadar β -1,3;1,6-D-glukan dari *yeast* yang diperoleh harus berkisar antara 50-56%, sebagaimana yang ditetapkan dalam prosedur pengukuran metode *Megazyme*. Apabila kadar β -1,3;1,6-D-glukan dari *yeast* yang diperoleh <50%, prosedur pengujian kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dari sampel harus diulang.

Hasil analisis kadar senyawa β -1,3;1,6-d-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake dengan metode Congo Red

Dari hasil analisis dengan metode *Congo red* didapat nilai absorban ekstrak kering jamur shiitake sebesar 0,2850. Dengan memasukkan nilai absorban tersebut ke dalam persamaan regresi linier dari β -1,3;1,6-D-glukan standar (*from barley*, Sigma, kemurnian >95%) maka diperoleh konsentrasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan sebesar 44,5200 ppm dengan rendemen hasil sebesar 890,0400%.

Jika dilihat dari persentase kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan yang didapat maka nilai tersebut jika dibandingkan dengan hasil pengukuran kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan dengan metode *megazyme*, kedua metode tersebut menunjukkan hasil yang berbeda. Dari hasil tersebut dapat diketahui adanya ketidakmampuan metode *Congo red* dalam menentukan kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan

secara spesifik, hal ini diduga disebabkan karena pada pengukuran dengan metode *Congo red*, bukan hanya senyawa β -1,3;1,6-D-glukan yang terukur, melainkan seluruh polisakarida (ikatan β dan α -glukan). Diduga polisakarida lain ikut terukur dikarenakan terjadinya interaksi antara pewarna *Congo red* dengan polisakarida lain. Hal ini dapat dibuktikan dari penelitian yang dilakukan oleh Anugraha (2008) bahwa *Congo red* akan bereaksi dengan polisakarida, termasuk D-glukan dan selulosa yang telah disubstitusi (CMC) menjadi polisakarida kompleks berwarna merah.

Meskipun metode *Congo red* memiliki kelebihan dari segi biaya yang lebih efisien dan waktu pengerjaan yang lebih efektif dibandingkan dengan metode *Megazyme*, metode *Congo red* belum dapat digunakan untuk menentukan kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan secara spesifik. Namun, dengan melihat kemampuan pewarna *Congo red* dalam berinteraksi dengan semua polisakarida maka untuk penelitian selanjutnya metode *Congo red* diharapkan dapat digunakan dalam pengukuran total glukan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa dari hasil ekstraksi metode Yap & Ng diperoleh berat kering ekstrak jamur shiitake (ekstrak glukan) yaitu sebesar 4,4987 g dengan rendemen hasil per berat sampel sebesar 0,4999%. Analisis dengan FTIR dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering

jamur shiitake, ditunjukkan dengan keberadaan beberapa gugus fungsi seperti OH dari asam pada bilangan gelombang 3395,21 cm^{-1} , gugus fungsi CH aromatik pada bilangan gelombang 2927,96 cm^{-1} , gugus fungsi C-O-C *stretching* pada bilangan gelombang 1076,20 cm^{-1} , dan ikatan 1,3- β -glikosidik pada bilangan gelombang 890 cm^{-1} . Metode *Congo red* secara spesifik belum mampu menentukan kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan pada ekstrak kering jamur shiitake, hal ini terlihat dari hasil pengukuran kadar senyawa β -1,3;1,6-D-glukan yang jauh berbeda dengan hasil pengukuran metode *megazyme*.

DAFTAR PUSTAKA

- Anugraha P. 2008. Deteksi aktivitas enzim eksoglukanase bakteri selulolitik dalam menghidrolisis secara in vitro. Perpustakaan Universitas Erlangga, Surabaya.
- Astawan M. 2003. Pangan fungsional untuk kesehatan yang optimal. Kompas. [23 Maret 2003].
- Hendry RE. 2005. Manfaat jamur sebagai bahan pangan dan obat. Majalah Health Today.
- Synytsya A, Mičková K, Synytsya A et al. 2008a. Glucans from fruit bodies of cultivated mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Leurotus eryngii*: Structure and potential prebiotic activity. Carbohydr Polym 76: 548-556.
- Synytsya A, Mičková K, Jablonský. 2008b. Mushrooms of Genus *Pleurotus* as a source of dietary fibres and glucans for food supplements. Czech J Food Sci 26(6): 441-446.
- Werning LM. 2008. Heterologous expression of a position 2-substituted (1,3)- β -D-glucan in *Lactococcus lactis*. Appl Environ Microbiol 74(16): 5259-5262.
- Widyastuti N. 2009. Jamur shiitake-budidaya dan pengolahan si jamur penakluk kanker. Lily Publisher, Jakarta.
- Yap AT, Ng ML. 2001. Immunopotentiating properties of lentinan (1-3)- β -D-glucan extracted from culinary-medicinal shiitake mushroom *Lentinus edodes* (Berk.) Singer (Agaricomycetidae). Int J Med Mushrooms 3: 6-19.