

# PRODUKSI MISELIUM *Grifola frondosa* (Dickson: Fries) Gray ISOLAT CIANJUR DAN BOBOT EKSTRAKNYA PADA MEDIUM MYPB DENGAN PENAMBAHAN BIJI BUNGA MATAHARI *Helianthus annuus* L.

RIZKI MAULIDA, NUNIEK INA RATNANINGTYAS, SLAMET PRIYANTO

Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jalan dr. Suparno 63 Purwokerto 53122

## ABSTRACT

*Grifola frondosa* or maitake, not only can be used as a food ingredient but also as medicine. Other than nutrients, fruit body and mycelium of *G. frondosa* also contains bioactive compounds, such as terpenoids, alkaloids, flavonoids, and beta glucans extracellular polysaccharides ( $\beta$ -1,3 glucans and  $\beta$ -1,6 glucans). Extracellular polysaccharide harvested more often in mycelium form which is cultivated in liquid medium. Liquid medium which is commonly used for the growth of mycelium is MYPB (*Malt Yeast Peptone Broth*). Mycelium production on MYPB as a medium can be increased by adding additional ingredients, one of which is sunflower (*Helianthus annuus* L.). The treatment was the addition of sunflower seeds on medium MYPB. The main parameters were mycelium's dry weight and the weight of raw extract of *G. frondosa*. Supporting parameters were final pH medium, extracellular polysaccharides (qualitatively), terpenoid, alkaloid, and flavonoid compounds in the raw extract of *G. frondosa*. The addition of 250 g/l sunflower seeds in the medium MYPB was the optimum treatment that can produce 1,379 g/100ml of mycelium and 0,299 g/100ml *G. frondosa* extracts.

KEY WORDS: extracellular polysaccharides, *Grifola frondosa*, sunflower seeds

Penulis korespondensi: RIZKI MAULIDA | email: rizukimauri@gmail.com

## PENDAHULUAN

Jamur maitake atau *G. frondosa* berasal dari negara Jepang, dan saat ini jamur tersebut telah menyebar di benua Asia, Amerika Utara, dan Eropa, termasuk di Indonesia (Mizuno dan Zhang, 1995). Pemanfaatan *G. frondosa* sebagai bahan makanan banyak dilakukan karena kandungan zat gizinya, selain itu dapat dimanfaatkan sebagai obat antikanker, antitumor, menurunkan kolesterol, diabetes, bahkan antiHIV, oleh karena itulah *G. frondosa* dikenal sebagai *medicinal mushroom*. Ohno *et al.*, (1984) dalam Kim (2003) menyatakan bahan obat antikanker yang disebut polisakarida dapat dihasilkan baik oleh dinding sel miselium dan tubuh buah *G. frondosa*. Menurut Lee *et al.*, (2003); Bae *et al.*, (2005); dan Lin (2010) senyawa bioaktif yang terkandung di dalam *G. frondosa* adalah polisakarida ekstraseluler fraksi D dan grifolan.

Hsieh *et al.*, (2006) dan Wasser (2002) menyatakan bahwa polisakarida *G. frondosa* pada fraksi D diidentifikasi sebagai  $\beta$ -glukan ( $\beta$ -1,6 glukan dan  $\beta$ -1,3 glukan) merupakan gugus aktif yang berperan sebagai antitumor. Kandungan senyawa polisakarida ekstraseluler dalam *G. frondosa* sangat tergantung pada pertumbuhan miselium jamur tersebut yang dipengaruhi oleh nutrisi di dalam medium pertumbuhan. Medium pertumbuhan yang digunakan adalah MYPB (*Malt Yeast Peptone Broth*). Produksi miselium *G. frondosa* dan polisakarida ekstraseluler pada MYPB meskipun sudah tinggi, namun kemungkinan masih dapat ditingkatkan lagi dengan cara menambahkan bahan yang mampu menstimulir pertumbuhan miselium dan polisakarida ekstraseluler. Salah satu bahan yang dapat

ditambahkan ke dalam medium pertumbuhan *G. frondosa* adalah biji bunga matahari.

Biji bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) digunakan sebagai bahan tambahan pada medium MYPB (*Malt Yeast Peptone Broth*) karena selain kandungan nutriennya cukup tinggi, juga mengandung senyawa yang diduga mampu menstimulir pertumbuhan miselium *G. frondosa*, salah satu di antaranya adalah asam glutamat. Menurut Griffin (1994) asam glutamat dapat mempersingkat fase lag sehingga dapat meningkatkan produksi miselium dan polisakarida ekstraseluler.

Berdasarkan uraian latar belakang, maka muncul permasalahan sebagai berikut; apakah penambahan biji bunga matahari pada medium MYPB dapat meningkatkan produksi miselium dan bobot ekstrak *G. frondosa*, dan pada penambahan biji bunga matahari berapa gram dalam 1 liter medium MYPB, untuk mendapatkan produksi miselium dan bobot ekstrak *G. frondosa* optimum. Berdasarkan permasalahan yang muncul maka dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui:

1. Peningkatan produksi miselium dan bobot ekstrak *G. frondosa* pada medium MYPB yang ditambah biji bunga matahari.
2. Banyaknya biji bunga matahari (gram) yang ditambahkan pada 1 liter medium MYPB untuk mendapatkan produksi miselium dan bobot ekstrak *G. frondosa* optimum.

Herlina (2005), telah melakukan penelitian tentang pengaruh penambahan biji bunga matahari pada medium GMC dengan konsentrasi dan waktu inkubasi berbeda terhadap pertumbuhan miselium dan produksi polisakarida *Ganoderma lucidum*. Hasil penelitian menunjukkan penambahan biji bunga

matahari sebanyak 60 g/l dengan inkubasi selama 7 hari dapat meningkatkan bobot kering miselium sebesar 60,79%.

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu maka hipotesis yang dapat diajukan adalah sebagai berikut:

1. Penambahan biji bunga matahari pada medium MYPB dapat meningkatkan produksi miselium dan bobot ekstrak *G. frondosa*
2. Produksi miselium dan bobot ekstrak *G. frondosa* optimum terdapat pada medium MYPB dengan penambahan biji bunga matahari sebanyak 250 g/l.

## METODE

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL). Adapun perlakuan yang dicobakan adalah:

P0 = penambahan biji bunga matahari 0 g/l

P1 = penambahan biji bunga matahari 100 g/l

P2 = penambahan biji bunga matahari 150 g/l

P3 = penambahan biji bunga matahari 200 g/l

P4 = penambahan biji bunga matahari 250 g/l

P5 = penambahan biji bunga matahari 300 g/l

Perlakuan diulang sebanyak 4 kali, sehingga terdapat 24 unit percobaan.

Parameter utama yang diamati berupa bobot kering miselium dan bobot ekstrak kasar *G. frondosa*. Parameter pendukung berupa pH akhir medium, polisakarida ekstraseluler (secara kualitatif), senyawa terpenoid, alkaloid, dan flavonoid dalam ekstrak kasar *G. frondosa*. Cara kerja penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian disterilisasi dengan autoklaf. Sterilisasi jarum ose dengan cara disemprot dengan alkohol 70% kemudian dibakar langsung di atas api bunsen sebelum digunakan (Ratnaningtyas *et al.*, 2012).
2. Pembuatan medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Fardiaz, 1993), dengan bahan :  
 Kentang ..... 200 g  
 Agar ..... 15 g  
 Dextrose ..... 20 g  
 Akuades add ..... 1000 ml  
 Medium PDA selanjutnya dituang ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml dan ditutup dengan kapas kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 20 menit.
3. Peremajaan Isolat *G. frondosa* (Lomberh *et al.*, 2002). Satu ose biakan murni *G. frondosa* diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi medium PDA kemudian ditutup dan dirapatkan dengan *wrap*. Pekerjaan dilakukan secara aseptis. Cawan petri yang telah diinokulasi dengan isolat *G. frondosa* diinkubasi pada suhu kamar ( $\pm 28^{\circ}\text{C}$ ) selama 30 hari hingga miselium memenuhi cawan.
4. Pembuatan Serbuk Biji Bunga Matahari (Curvetto *et al.*, 2002). Biji bunga matahari dihaluskan dengan blender. Setelah dihaluskan, biji bunga matahari kemudian ditimbang sesuai dengan perlakuan (100; 150; 200; 250 dan 300) gram.
5. Pembuatan Medium *Malt Yeast Peptone Broth* (MYPB) dengan Penambahan Biji Bunga Matahari (Stamets, 2000 dan Curvetto *et al.*, 2002), dengan bahan:  
 Malt extract ..... 20 g  
 Yeast extract ..... 2 g  
 Peptone ..... 1 g

Serbuk biji bunga matahari ..... sesuai perlakuan  
 Akuades add ..... 1000 ml  
 Volume akhir dibuat hingga mencapai 1000 ml dengan menambahkan akuades, untuk pembuatan medium uji yang lain cara pembuatannya sama hanya berbeda dalam bobot biji bunga matahari yang ditambahkan. Derajat keasaman (pH) medium MYPB yang telah diberi ekstrak biji bunga matahari diukur menggunakan pH meter. Medium MYPB tersebut dituang ke dalam labu Erlenmeyer volume 250 ml sebanyak 100 ml, kemudian ditutup dengan sumbat (kapas dibalut kain kassa) dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 20 menit.

6. Kultivasi Miselium *G. frondosa* pada Medium MYPB yang telah Ditambah Biji Bunga Matahari (Lee *et al.*, 2003). Medium MYPB yang telah dipersiapkan diinokulasi dengan 4 potong koloni isolat *G. frondosa*. Medium yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 hari menggunakan *orbital shaker*.
7. Pemanenan dan Penimbangan Bobot Kering Miselium *G. frondosa* (Uyanoglu *et al.*, 2010). Kultur miselium *G. frondosa* yang telah berumur 30 hari dipanen dan disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 41. Miselium yang telah tersaring ditimbang bobot selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C sampai diperoleh bobot kering yang konstan.
8. Pembuatan Ekstrak Kasar Miselium *G. frondosa* yang Diperoleh dari Masing-masing Perlakuan dengan Etanol (Harborne, 1984). Ekstraksi ekstrak kasar miselium *G. frondosa* dilakukan dengan metode maserasi. Miselium yang telah ditimbang bobot keringnya diblender hingga halus kemudian ditambah etanol 96% dengan perbandingan miselium berbanding etanol 96% 1:9 dan diinkubasi selama 1x24 jam. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan untuk menghilangkan etanolnya, selanjutnya diuji secara kualitatif untuk mengetahui ada tidaknya senyawa polisakarida ekstraseluler.
9. Uji Kualitatif Polisakarida Ekstraseluler Ekstrak Miselium *G. frondosa* (Dubois *et al.*, 1956). Uji kualitatif polisakarida ekstraseluler dilakukan dengan uji warna untuk mengetahui ada tidaknya senyawa tersebut. Ekstrak kental miselium *G. frondosa* sebanyak 10 mg dilarutkan dengan pereaksi fenol-asam sulfat sebanyak 1 ml. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning hingga orange.
10. Pengukuran pH Akhir Medium (Hadioetomo, 1993). Filtrat medium dipisahkan dari miselium, kemudian diukur pH akhir mediumnya menggunakan pH meter.
11. Deteksi Senyawa Terpenoid, Alkaloid, dan Flavonoid Ekstrak Miselium *G. frondosa* Secara Kualitatif (Harborne, 1984)

Deteksi senyawa aktif ekstrak miselium *G. frondosa* dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui ada tidaknya senyawa golongan terpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub>, dan fase gerak heksana-etil asetat (4:1) v/v.

Bobot kering miselium *G. frondosa* yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) uji F dengan tingkat kesalahan 5% dan 1% untuk mengetahui kemampuan biji bunga matahari yang ditambahkan pada medium MYPB dalam meningkatkan produksi miselium. Hasil uji F yang berpengaruh nyata, dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pertumbuhan miselium *G. frondosa* pada medium MYPB dengan penambahan biji bunga matahari dapat diketahui bahwa pertumbuhan optimum terdapat pada medium MYPB dengan penambahan biji bunga matahari sebanyak 250g/l dengan bobot kering miselium rata-rata 1,379g/100ml. Hasil terendah bobot kering miselium rata-rata adalah 0,207 g/100ml pada medium MYPB tanpa penambahan biji bunga matahari (kontrol).

Berdasarkan hasil analisis ragam dengan uji F dapat diketahui bahwa penambahan biji bunga matahari berbeda sangat nyata ( $F_{hitung} > F_{tabel}$  0,01 dan 0,05). Hal tersebut berarti penambahan biji bunga matahari sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan miselium *G. frondosa*. Berdasarkan pengukuran berat kering rata-rata miselium, penambahan biji bunga matahari mampu meningkatkan pertumbuhan miselium *G. frondosa* pada medium MYPB.

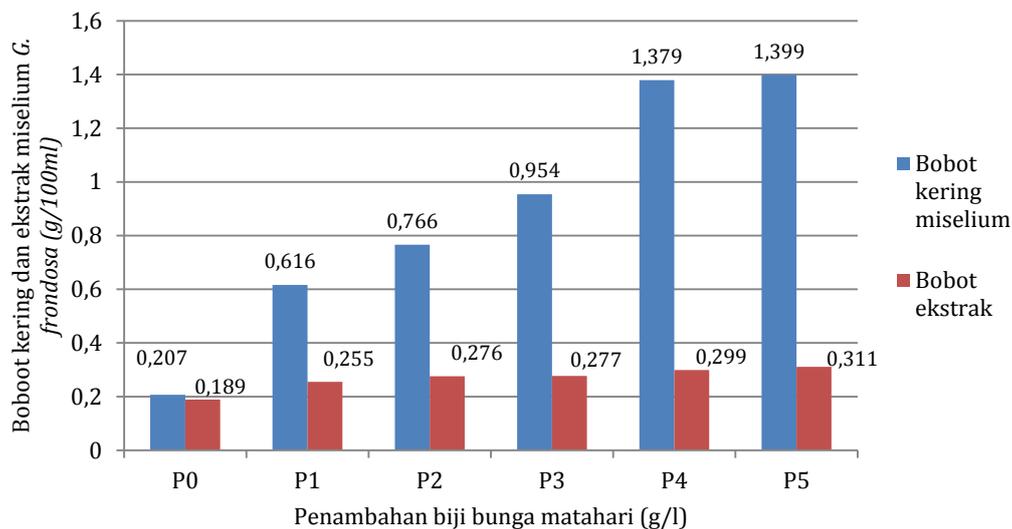
Pertumbuhan miselium *G. frondosa* pada medium MYPB yang ditambahkan dengan biji bunga matahari lebih cepat dan lebih baik karena biji bunga matahari mengandung nutrisi yang dapat dibutuhkan untuk pertumbuhan miselium jamur tersebut. Menurut Besler *et al.*, (2001), nutrisi yang terkandung dalam biji bunga matahari per 100 g antara lain protein 22,5 g, lemak 49 g, karbohidrat 12,3 g, vitamin B1 1900  $\mu$ m, vitamin B2 140  $\mu$ m, dan berbagai asam amino.

*G. frondosa* mampu memanfaatkan nutrisi yang ada pada medium pertumbuhan karena jamur tersebut dapat menghasilkan enzim pemecah nutrisi kompleks menjadi sederhana yang siap digunakan. Glukosa dimanfaatkan oleh *G. frondosa* sebagai

sumber karbon dan energi untuk pembentukan senyawa polisakarida ekstraseluler ( $\beta$ -glukan). Polisakarida yang terbentuk, selanjutnya digunakan sebagai penyusun dinding sel miselium. Asam amino yang ada digunakan sebagai sumber N dan asam lemak sebagai sumber energi untuk mensintesis senyawa-senyawa penyusun miselium *G. frondosa*, oleh karena itu dengan penambahan biji bunga matahari ke dalam medium pertumbuhan memberikan efek meningkatkan pembentukan miselium.

Asam amino dalam medium pertumbuhan selain digunakan sebagai sumber N, juga dapat memperpendek fase adaptasi (fase lag). Menurut Venkatesh dan Prakash (1993), biji bunga matahari yang dipanaskan pada suhu 121°C akan terjadi peningkatan jumlah kandungan beberapa jenis asam amino seperti asam glutamat, histidin, serin, prolin, glisin, alanin dan leusin. Griffin (1994), menyatakan bahwa asam glutamat memiliki peran dalam meningkatkan pertumbuhan jamur dengan memperpendek durasi fase lag.

Nutrisi yang terdapat pada biji bunga matahari selain digunakan untuk meningkatkan produksi miselium juga digunakan untuk membentuk metabolit sekunder pada akhir fase log. Berdasarkan hasil uji kualitatif dengan metode reaksi warna dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat diketahui bahwa pada ekstrak miselium *G. frondosa* yang didapat dari tiap perlakuan percobaan mengandung metabolit sekunder seperti terpenoid, alkaloid dan flavonoid.



**Gambar 1.** Histogram bobot kering miselium rata-rata dan bobot ekstrak miselium rata-rata *G. frondosa* pada medium MYPB dengan penambahan biji bunga matahari

Data hasil analisa BNT menunjukkan bahwa perlakuan P4 (penambahan biji bunga matahari 250 g/l) dan P5 (penambahan biji bunga matahari 300 g/l) berbeda tidak nyata. Perlakuan P4 dan P5 mampu meningkatkan produksi miselium, namun secara statistik besarnya peningkatan tidak berbeda (sama). Hal tersebut kemungkinan diakibatkan salah satunya

oleh konsentrasi biji bunga matahari yang ditambahkan terlalu tinggi, sehingga komponen penyusun dalam medium pertumbuhan tidak berperan secara maksimal. Postemsky *et al.*, (2006) menyatakan bahwa penambahan biji bunga matahari dengan konsentrasi yang tinggi pada medium cair tidak berpengaruh secara signifikan dalam

meningkatkan produksi miselium, karena beberapa komponen medium basal berkurang saat pemanasan dan proses sterilisasi (*autoclaving*).

Mengingat bahwa bobot kering miselium yang diperoleh dari penelitian ini sangat kecil, maka ekstraksi miselium *G. frondosa* dilakukan dengan cara akumulatif per ulangan. Hasil yang diperoleh tidak dianalisa menggunakan ANOVA, tetapi dibuat grafik bobot kering rata-rata miselium dan bobot rata-rata ekstraknya seperti terlihat pada Gambar 1. Berdasarkan histogram (Gambar 1) dapat diketahui bobot kering miselium rata-rata dan bobot ekstrak rata-rata *G. frondosa* serta bobot optimum. Bobot ekstrak miselium rata-rata lebih rendah dibandingkan dengan bobot kering miselium rata-rata *G. frondosa*, karena ekstrak miselium diperoleh dari bobot kering miselium. Bobot ekstrak miselium rata-rata optimum (0,299 g/100ml) diperoleh pada medium MYPB dengan penambahan biji bunga matahari sebanyak 250 g/l. Hal tersebut menunjukkan adanya keterkaitan antara bobot kering miselium dan bobot ekstraknya.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Penambahan biji bunga matahari pada medium MYPB dapat meningkatkan produksi miselium dan bobot ekstrak *G. frondosa*.
2. Produksi miselium dan bobot ekstrak *G. frondosa* optimum terdapat pada medium MYPB dengan penambahan biji bunga matahari sebanyak 250 g/l yaitu sebesar 1,379 g/100ml dan 0,299 g/100ml.

### DAFTAR REFERENSI

- Bae JT, Sim GS, Lee DH, Lee BC, Pyo HB, Choe TB, Yun JW. 2005. Production of exopolysaccharide from mycelia culture of *Grifola frondosa* and its inhibitory effect on matrix metalloproteinase-1 expression in uv-irradiated human dermal fibroblast. FEMS Microbiology Letters. 251: 347-354.
- Besler M, Hefle SL, Jensen-Jarolim E. 2001. Allergen data collection : sunflower seed (*Helianthus annuus*). Internet Symposium on Food Allergens. 3(2): 103-114.
- Curvetto N, González-Matute R, Figlas D, Delmastro S. 2002. Sunflower seed-based medium for growth of *Ganoderma* spp. Mushroom Biology and Mushroom Products. ISBN 968-878-105-3 : 205-211.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 28(3): 3550-3560.
- Fardiaz S. 1993. Fisiologi Fermentasi. PAU Pangan dan Gizi Bogor: IPB.
- Griffin DH. 1994. *Fungal Physiology 2nd Edition*. New York : Willey-Liss, Inc.
- Hadioetomo RS. 1993. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek : Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Jakarta: Gramedia.
- Harborne JB. 1984. Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: ITB.
- Herlina M. 2005. Pengaruh penambahan biji bunga matahari pada media GMC dengan konsentrasi dan waktu inkubasi berbeda terhadap pertumbuhan miselium dan produksi polisakarida *Ganoderma lucidum* [skripsi]. Universitas Jenderal Soedirman-Purwokerto.
- Lee BC, Bae JT, Pyo HB, Choe TB, Kim SW, Hwang HJ, Yun JW. 2003. Biological activities of the polysaccharides produced from submerged culture of the edible basidiomycetes *Grifola frondosa*. Enzyme and Microbial Technology. 32: 6574-6581.
- Lin ES. 2010. Production of exopolysaccharides by submerged mycelial culture of *Grifola frondosa* TFR11073 and their antioxidant and antiproliferative activities. World Journal Microbiology Biotechnology. 27(3): 555-561.
- Postemsky P, González-Matute R, Figlas D, Curvetto N. 2006. Optimizing *Grifola sordulenta* and *Grifola gargal* in agar and liquid nutrient media. Micologia Aplicada International. 18(1):7-12.