

## Pengaruh pH dan Waktu Inkubasi Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Metabolit Sekunder Miselium *Lentinula edodes*

Aurora Pradipta Amelia, Nuraeni Ekowati\*, Nunek Ina Ratnaningtyas

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

\*Correspondent email : [nuraeniekowati29@gmail.com](mailto:nuraeniekowati29@gmail.com)

### Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 22/11/2022

Disetujui : 02/12/2023

### Abstract

Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) is one of the edible mushrooms that produces secondary metabolites with potential as a medicinal compound. Fungal secondary metabolites can be obtained by extraction from the fruiting body, mycelium, and the culture filtrate. The growth and production of fungal secondary metabolites can be influenced by external factors such as pH and incubation time. The purpose of this study is to determine the optimum pH of the medium and incubation time for the mycelium growth and to determine the secondary metabolites produced by *L. edodes*. The study was conducted experimentally by factorial CRD with two factors, namely the pH value (pH 3, 4, 5, and 6) and incubation time (15, 20, 25, and 30 days). So that there were 16 treatment combinations which were repeated 3 times. The independent variables of this study were pH and incubation time, and the dependent variable was mycelium growth and secondary metabolites produced. The main parameters of this study were the mycelium dry weight and the secondary metabolites produced, as well as the supporting parameters in the form of final pH of the growth medium. The results showed that pH of the medium and incubation time could increase the growth of *L. edodes* mycelium, but no interaction was found between them. The optimal pH value for the growth of *L. edodes* mycelium is in the pH range of 5-6 and the optimal incubation time is in the range of 20-30 days. Based on the Thin Layer Chromatography test, mycelium and culture filtrate of *L. edodes* are known to contain secondary metabolites in the form of alkaloids, flavonoids, and terpenoids.

**Key Words:** incubation time; *Lentinula edodes*; pH value; secondary metabolites.

### Abstrak

Jamur shiitake (*Lentinula edodes*) merupakan salah satu jenis jamur pangan yang menghasilkan metabolit sekunder dengan potensi sebagai bahan obat. Metabolit sekunder jamur dapat diperoleh dengan cara ekstraksi dari tubuh buah, miselium, maupun filtrat kulturnya. Pertumbuhan dan produksi metabolit sekunder jamur dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor eksternal seperti pH dan waktu inkubasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai pH dan waktu inkubasi yang optimal bagi pertumbuhan miselium jamur *L. edodes* serta golongan metabolit sekunder yang dihasilkan. Penelitian dilakukan secara eksperimental RAL Faktorial dengan dua faktor, yaitu faktor pH (pH 3, 4, 5, dan 6) dan waktu inkubasi (15, 20, 25, dan 30 hari) sehingga terdapat 16 kombinasi perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali. Variabel bebas penelitian berupa pH dan waktu inkubasi, serta variabel terikat berupa pertumbuhan miselium dan golongan metabolit sekunder yang dihasilkan. Parameter utama penelitian ini adalah bobot kering miselium dan golongan metabolit sekunder yang dihasilkan, serta parameter pendukung berupa pH akhir medium pertumbuhan. Data bobot kering miselium dianalisis menggunakan ANOVA dan uji lanjut DMRT pada tingkat ketelitian 95%, sedangkan data identifikasi golongan metabolit sekunder dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH medium dan waktu inkubasi dapat memengaruhi peningkatan pertumbuhan miselium jamur *L. edodes*, namun tidak ditemukan interaksi antara keduanya. Nilai pH yang optimal untuk pertumbuhan miselium *L. edodes* berada pada kisaran pH 5-6 dan waktu inkubasi yang optimal berada pada kisaran waktu 20-30 hari. Berdasarkan uji Kromatografi Lapis Tipis, miselium dan filtrat kultur jamur *L. edodes* diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder dari golongan alkaloid, terpenoid, dan flavonoid.

**Kata kunci:** *Lentinula edodes*, metabolit sekunder, pH, waktu inkubasi.

## PENDAHULUAN

Jamur merupakan salah satu kelompok organisme penghasil metabolit bioaktif yang sangat beragam dan potensial dalam manfaatnya untuk kesehatan. Pengembangan potensi jamur sebagai sumber bahan obat saat ini tengah menjadi perhatian para peneliti, terutama jamur-jamur dari filum Basidiomycota yang diketahui merupakan produsen molekul bioaktif dan enzim berharga berupa metabolit primer maupun metabolit sekunder. Salah

satu jamur Basidiomycota yang memiliki nilai penting karena manfaatnya sebagai jamur pangan dan obat adalah jamur shiitake (*Lentinula edodes*). Jamur ini menempati urutan ke dua setelah jamur kancing (*Agaricus bisporus*) sebagai jamur pangan terpenting di dunia karena memiliki senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai obat dan bahan *nutraceutical*, sehingga komoditasnya telah banyak dikembangkan di negara-negara maju seperti Cina dan Jepang (Tjokrokusumo, 2015).

Pemanfaatan jamur sebagai salah satu sumber komponen bioaktif berkhasiat obat perlu diteliti lebih lanjut, karena informasi ini masih sangat minim diketahui di Indonesia jika dibandingkan dengan pemanfaatan tumbuhan yang juga merupakan sumber komponen bioaktif. Menurut Newman *et al.* (2012), pada rentang tahun 1981-2010 metabolit sekunder yang diekstrak dari bahan alam telah berkontribusi sebanyak lebih dari 50% terhadap penyediaan bahan obat. Hal ini menunjukkan bahwa informasi mengenai metabolit sekunder yang dikandung oleh suatu bahan alam, khususnya dalam penelitian ini adalah jamur, menjadi penting untuk diketahui dalam rangka meningkatkan nilai guna jamur sebagai bahan dasar pembuatan obat di Indonesia.

Bahan aktif berupa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh jamur dapat diperoleh dari tubuh buah jamur, biomassa miselium, maupun dari supernatan/filtrat kulturnya (Ekowati *et al.*, 2011). Upaya untuk memperoleh biomassa miselium dan filtrat kulturnya telah dilakukan oleh Ekowati *et al.* (2011) dengan cara kultivasi jamur pada medium cair dengan proses fermentasi (*submerged cultured*). Beberapa faktor yang perlu diperhatikan ketika melakukan proses kultivasi dalam media cair yaitu nutrisi dalam medium serta kondisi lingkungan tumbuhnya seperti pH medium dan waktu inkubasi.

Nilai pH dalam medium dapat memengaruhi permeabilitas membran jamur dalam hal penyerapan nutrisi. Jika jamur berada pada pH yang tidak sesuai, penyerapan nutrisinya menjadi tidak optimal, sehingga produksi metabolit dan pertumbuhan miseliumnya menjadi terhambat (Gunawan, 2004; Septiana & Simanjuntak, 2017). Rosnan *et al.* (2019) menyatakan bahwa tiap spesies jamur dapat tumbuh dengan baik dalam berbagai tingkatan pH, dengan kisaran optimal untuk Basidiomycetes seringkali berada di lingkungan yang sedikit asam, yaitu pada pH 4-6. Penelitian Krupodorova *et al.* (2019) menunjukkan bahwa pH terbaik untuk pertumbuhan *L. edodes* yang ditandai dengan tingginya produksi miselium berada pada pH 3,5-4, dengan aktivitas metabolit bioaktif terbaik pada pH 5,5. Selain itu, ditemukan pula pada penelitian Durán-Rivera *et al.* (2018) bahwa eritadinin pada jamur *L. edodes*, yaitu metabolit sekunder yang terdiri dari alkaloid purin dengan fragmen gula teroksidasi diproduksi secara optimal pada pH 3-4.

Selain pH, waktu inkubasi juga dapat memengaruhi laju pertumbuhan miselium jamur, karena dalam prosesnya jamur membutuhkan waktu tertentu untuk memecah sumber-sumber nutrisi yang tersedia, menyerap, serta menggunakannya untuk pertumbuhan dan memproduksi metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, dan flavonoid (Tampubolon *et al.*, 2015). Menurut Ekowati *et al.* (2018), jamur yang dikultivasi pada medium cair akan menghasilkan metabolit sekunder pada fase akhir pertumbuhannya atau pada fase stasioner. Fase inilah saat di mana jamur tumbuh dengan optimal dan

mulai terjadi penurunan biomassa miselium karena menipisnya kandungan nutrisi dalam medium. Menurut Syarifah *et al.* (2021), semakin lama waktu inkubasi, maka pertumbuhan miselium akan semakin meningkat hingga batas tertentu, dimana produksi metabolitnya mencapai titik tertinggi. Hasil penelitian Listika (2015) menunjukkan bahwa waktu inkubasi 20-30 hari adalah waktu terbaik bagi Basidiomycota untuk memproduksi metabolit sekunder. Krupodorova *et al.* (2019) menemukan bahwa perbedaan strain *L. edodes* memiliki waktu inkubasi optimum yang berbeda pula. Pertumbuhan terbaik *L. edodes* ditemukan pada kisaran waktu inkubasi 15-28 hari dengan aktivitas metabolit bioaktifnya ditemukan paling baik pada waktu inkubasi 14-35 hari.

Metabolit sekunder merupakan senyawa organik yang dihasilkan dalam jumlah sedikit melalui jalur metabolisme sekunder. Berdasarkan jalur biosintesisnya, metabolit sekunder dapat dikategorikan dalam 3 golongan utama, yaitu terpenoid, flavonoid, dan senyawa yang mengandung nitrogen (sebagian besar merupakan senyawa alkaloid). Untuk mengisolasi senyawa-senyawa tersebut, perlu dilakukan proses ekstraksi, yaitu penarikan komponen/zat aktif dari suatu campuran padatan dan/atau cairan menggunakan pelarut tertentu (Febrina *et al.*, 2015; Iswanto *et al.*, 2016; Silalahi, 2017; Widyastuti & Tjokrokusumo, 2021).

Ekstraksi secara dingin, salah satunya maserasi, pada prinsipnya tidak memerlukan pemanasan sehingga banyak digunakan karena dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang labil dan tidak tahan panas (Hidayah *et al.*, 2016). Penggunaan pelarut dalam proses maserasi perlu diperhatikan agar penarikan senyawa metabolit sekunder dapat berjalan dengan optimal. Pemilihan pelarut n-heksana dan kloroform dimaksudkan agar senyawa-senyawa yang memiliki tingkat kepolaran berbeda dapat terekstrak ke dalam pelarut yang sesuai (Mujihradana, 2018). Setelah diekstraksi, kandungan senyawa metabolit sekunder dalam jamur dapat dideteksi keberadaannya dengan uji fitokimia, salah satunya menggunakan teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) (Lantah *et al.*, 2017).

Kromatografi Lapis Tipis merupakan salah satu metode pemisahan kromatografi yang fleksibel dan banyak digunakan. Metode ini memiliki beberapa keuntungan, yaitu memiliki kepekaan tinggi sehingga menghasilkan pemisahan yang lebih sempurna dan menggunakan peralatan yang sederhana sehingga dapat dilaksanakan dengan cepat (Afriyeni & Utari, 2016).

## MATERI DAN METODE

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimental Rancangan Acak Lengkap pola faktorial (RAL Faktorial) yang terdiri atas dua faktor. Faktor pertama berupa variasi nilai pH (pH 3, pH 4, pH 5, dan pH 6), sedangkan faktor kedua berupa

variasi waktu inkubasi (waktu inkubasi selama 15, 20, 25, dan 30 hari). Total 16 kombinasi perlakuan yang terbentuk diulang sebanyak 3 kali sehingga didapatkan 48 unit percobaan. Parameter utama yang diamati dalam penelitian ini berupa bobot biomassa kering miselium dan golongan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan, serta parameter pendukung berupa pH akhir medium pertumbuhan.

a. Peremajaan Isolat *Lentinula edodes* (Maharani *et al.*, 2014)

Isolat murni *L. edodes* didapatkan dari tempat budidaya jamur di Sumedang, Jawa Barat. Isolat diremajakan dalam cawan Petri berisi medium PDA, lalu diinkubasi hingga miselium memenuhi cawan.

b. Pembuatan *Mushroom Complete Medium* (MCM) (Kim *et al.*, 2002)

Bahan-bahan yang diperlukan untuk membuat medium MCM di antaranya yaitu 20 g glukosa, 0,46 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 2 g pepton, dan 2 g *yeast extract*. Semua bahan dihomogenkan dengan akuades hingga mencapai volume akhir 1 L.

c. Pengaturan pH Awal Medium MCM (Rasullah *et al.*, 2013)

Derajat keasaman (pH) medium MCM diukur menggunakan pH meter sebelum melalui proses sterilisasi. Elektroda dimasukkan ke dalam medium yang telah homogen, lalu pH medium diatur sesuai dengan nilai yang telah ditentukan (pH 3, 4, 5 dan 6) dengan cara menambahkan NaOH 1N apabila pH terlalu asam dan diberi HCl 1N apabila pH terlalu basa hingga pH yang diinginkan tercapai.

d. Kultivasi Isolat pada Medium Cair MCM (Ekowati *et al.*, 2016)

Isolat jamur *L. edodes* hasil peremajaan dipotong dengan bor gabus berdiameter 5 mm, kemudian dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi 100 mL medium cair sebanyak 5 plug isolat *L. edodes*. Medium yang telah diinokulasikan isolat *L. edodes* selanjutnya diinkubasi selama 15, 20, 25, dan 30 hari.

e. Pemanenan dan Penimbangan Bobot Miselium (Ekowati *et al.*, 2016)

Pemanenan dan penimbangan bobot miselium dilakukan setelah waktu inkubasi mencapai 15, 20, 25, dan 30 hari. Bobot miselium yang ditimbang meliputi bobot basah dan bobot keringnya. Miselium dipanen menggunakan kertas saring dengan bantuan pompa vakum yang dihubungkan pada labu Buchner untuk mempercepat proses penyaringan. Miselium ditimbang untuk didapatkan data bobot basahnya, kemudian dioven pada suhu 40-50°C selama dua hari. Miselium kering ditimbang, lalu data bobot keringnya dicatat.

f. Pengukuran pH Akhir Medium MCM (Rasullah *et al.*, 2013)

Nilai pH akhir medium pertumbuhan diukur

menggunakan pH meter setelah proses pemanenan miselium. Elektroda dimasukkan ke dalam medium, lalu ditunggu hingga pH meter menunjukkan angka pH yang stabil. Nilai pH yang diperoleh selanjutnya dicatat.

g. Ekstraksi Miselium dan Filtrat Kultur Jamur (Rochman *et al.*, 2020)

Ekstraksi Miselium

Miselium kering dihaluskan dengan *mortar* dan *pestle*, lalu dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer berisi 25 mL n-heksan dan diinkubasi selama 1x24 jam. Pelarut diganti setelah 24 jam dengan cara menyaring ekstrak menggunakan kertas saring sampai didapatkan filtrat. Setelah dua kali pengulangan ekstraksi menggunakan n-heksan, miselium diekstraksi kembali dengan 25 mL kloroform sebanyak 2 kali (2x24 jam), dengan metode yang sama seperti ekstraksi menggunakan n-heksan.

Ekstraksi Filtrat Kultur Jamur

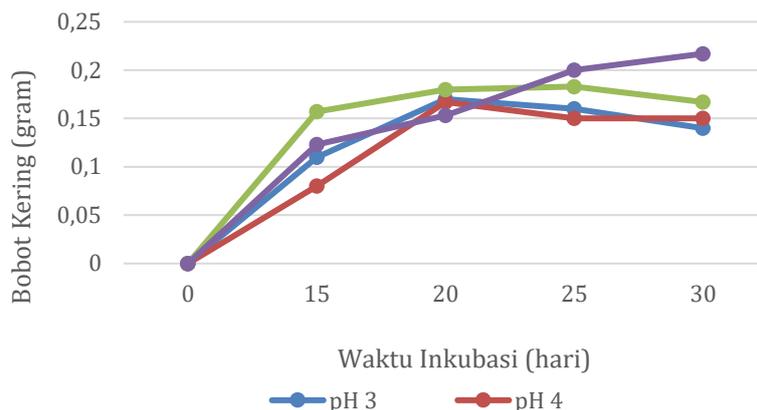
Sebanyak 50 mL filtrat dicampur dengan 25 mL n-heksan dalam corong pemisah. Corong pisah selanjutnya digoyangkan selama 5 menit agar kedua larutan tercampur, setelah itu didiamkan hingga terbentuk lapisan pemisah antara pelarut dan filtrat. Hasil ekstraksi dipisahkan dan ditampung dalam labu Erlenmeyer. Filtrat diekstraksi dua kali berturut-turut untuk masing-masing pelarut, dimulai dari pelarut n-heksan dan dilanjut dengan kloroform.

Hasil ekstraksi miselium dan filtrat selanjutnya dipekatkan menggunakan *hot plate* hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak yang didapat selanjutnya digunakan untuk proses identifikasi golongan metabolit sekunder.

h. Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder (Wagner *et al.*, 1984)

Identifikasi golongan metabolit sekunder ekstrak jamur dilakukan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan pereaksi semprot untuk masing-masing golongan metabolit sekunder yang akan diidentifikasi. Fase diam KLT yang digunakan adalah plat *silica gel* 60 F<sub>254</sub> yang dipotong dengan ukuran 10 x 5 cm, yang dielusi menggunakan campuran fase gerak n-heksan : etil asetat : asam asetat glasial (7:3:0,1) untuk ekstrak kloroform maupun ekstrak n-heksan. pereaksi Dragendorff dan  $\text{NaNO}_2$  untuk mendeteksi keberadaan alkaloid, pereaksi vanilin-asam sulfat untuk mendeteksi keberadaan terpenoid, dan pereaksi  $\text{AlCl}_3$  untuk mendeteksi keberadaan flavonoid dalam sampel. Nilai *Retardation factor* (Rf) selanjutnya dihitung untuk masing-masing bercak yang tampak pada plat kromatogram menggunakan rumus sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 1991):

$$Rf = \frac{\text{jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik awal (cm)}}{\text{jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik awal (cm)}}$$



**Gambar 1.** Grafik Pertumbuhan Miselium Jamur *L. edodes* pada pH dan Waktu Inkubasi Berbeda

Data bobot kering miselium dianalisis menggunakan ANOVA pada tingkat ketelitian 95% dan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat ketelitian yang sama, sedangkan data hasil identifikasi metabolit sekunder dianalisis secara deskriptif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Derajat keasaman (pH) dan waktu inkubasi merupakan dua hal yang memiliki peran penting dalam memengaruhi pertumbuhan miselium jamur pada suatu medium. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh data pertumbuhan miselium yang berbeda pada tiap perlakuan, meliputi data bobot basah dan bobot kering miselium. Menurut Keryanti *et al.* (2020), tingkat pertumbuhan miselium lebih representatif jika dilihat dari data bobot kering daripada bobot basah sel. Bobot kering sel merupakan berat sebenarnya dari hasil metabolisme jamur selama pertumbuhan tanpa adanya kandungan air dan senyawa terlarut lain dalam sel, sehingga tingkat pertumbuhan miselium diukur menggunakan data bobot kering yang dituangkan dalam bentuk grafik pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1, dapat diketahui bahwa bobot kering miselium jamur mengalami peningkatan pertumbuhan pada rentang waktu inkubasi 0-20 hari pada seluruh medium. Ketika memasuki waktu inkubasi 25 hari, miselium yang ditumbuhkan pada pH medium 3 dan 4 terlihat mengalami penurunan, sedangkan pertumbuhan miselium pada medium pH 5 dan 6 masih mengalami peningkatan. Pertumbuhan miselium pada waktu inkubasi 30 hari diketahui konstan pada medium pH 4 dan mengalami penurunan pada medium dengan pH 3 dan 5, sedangkan medium dengan pH 6 masih mengalami peningkatan bobot hingga mencapai nilai tertinggi dari seluruh perlakuan.

Tingkat pertumbuhan miselium terdiri atas beberapa fase yang menurut Rendowaty *et al.* (2017) terbagi menjadi fase lag, fase log (eksponensial), fase stasioner, dan fase kematian. Jamur akan mengalami

pertumbuhan yang rendah karena masih beradaptasi pada lingkungannya ketika berada pada fase lag. Setelah beradaptasi, jamur akan memasuki fase eksponensial, yaitu saat dimana bobot jamur meningkat dengan pesat hingga mencapai pertumbuhan optimumnya. Fase stasioner terjadi ketika pertumbuhan jamur menjadi relatif tetap karena jumlah pertumbuhan sel yang seimbang dengan jumlah sel mati. Jamur banyak menghasilkan produk buangan pada fase ini sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel atau toksik bagi sel. Fase akhir pertumbuhan jamur, yaitu fase kematian terjadi ketika bobot miselium mulai mengalami penurunan.

Berdasarkan hasil penelitian, setiap perlakuan mencapai pertumbuhan optimum pada waktu yang berbeda-beda. Miselium yang ditumbuhkan pada medium pH 3 dan 4 mencapai pertumbuhan optimum pada waktu inkubasi 20 hari, pH 5 pada waktu inkubasi 25 hari, sedangkan pH 6 pada waktu inkubasi 30 hari. Miselium *L. edodes* diketahui mulai memasuki fase stasioner hingga fase kematian pada rentang waktu inkubasi 25-30 hari. Menurut Popa *et al.* (2021), perbedaan laju pertumbuhan sel dalam medium merupakan dampak dari mekanisme sel dalam meregulasi pH. Derajat keasaman medium dapat memengaruhi fungsi membran sel dalam hal penyerapan nutrisi dari lingkungan ekstraseluler, serta memengaruhi aktivitas enzimatis sel dalam pembentukan metabolit untuk pertumbuhannya.

Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT faktor pH dapat diketahui bahwa miselium yang ditumbuhkan pada pH 5 menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan pH 6. Kedua perlakuan menghasilkan bobot kering yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan pH 3 dan 4. Hal ini menunjukkan bahwa rentang pH 5-6 merupakan nilai pH yang baik bagi pertumbuhan miselium *L. edodes*. Hasil penelitian sesuai dengan pernyataan Hakim *et al.* (2020), bahwa jamur dapat tumbuh dalam rentang pH yang luas mulai dari pH 3-8, dengan pH optimal untuk pertumbuhannya berada pada kisaran pH 5-6. Ghada (2011) menemukan bahwa bobot miselium

**Tabel 1.** Hasil Uji Lanjut DMRT Pengaruh Faktor pH dan Waktu Inkubasi terhadap Bobot Kering Miselium *L. edodes*

No	pH		Waktu Inkubasi	
	Perlakuan	Bobot Kering (g)	Perlakuan	Bobot Kering (g)
1	P1	0,1450 ± 0,294 <sup>ab</sup>	W1	0,1175 ± 0,395 <sup>a</sup>
2	P2	0,1367 ± 0,583 <sup>a</sup>	W2	0,1700 ± 0,273 <sup>b</sup>
3	P3	0,1717 ± 0,289 <sup>b</sup>	W3	0,1733 ± 0,454 <sup>b</sup>
4	P4	0,1758 ± 0,456 <sup>b</sup>	W4	0,1683 ± 0,467 <sup>b</sup>

Keterangan: P1: pH 3; P2: pH 4; P3: pH 5; P4: pH 6; W1: Waktu inkubasi 15 hari; W2: Waktu inkubasi 20 hari; W3: Waktu inkubasi 25 hari; W4: Waktu inkubasi 30 hari

*L. edodes* mengalami peningkatan secara progresif seiring dengan bertambahnya nilai pH medium. Bobot miselium terus mengalami peningkatan hingga nilai pH 6,5 dan di atas nilai pH tersebut bobot mulai mengalami penurunan.

Derajat keasaman merupakan faktor penting dalam mengatur permeabilitas membran sitoplasmik dalam proses pengangkutan nutrisi dan reaksi enzim. Penyimpangan pH yang jauh dari pH ideal bagi pertumbuhan jamur dapat menghambat proses metabolismenya (Kusumaningrum *et al.*, 2017). Menurut Corneliyawati *et al.* (2018) & Hanna *et al.* (2005), terganggunya transportasi ion H<sup>+</sup> akibat pH lingkungan yang tidak sesuai dapat menghambat proses penyerapan nutrisi yang berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur. Nilai pH yang optimum akan memaksimalkan penyerapan nutrisi dengan meningkatkan kinerja enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat, sehingga pemecahan nutrisi dapat berjalan dengan optimal dan bisa dimanfaatkan oleh sel jamur untuk pertumbuhannya.

Penentuan waktu inkubasi optimum bagi pertumbuhan jamur juga merupakan faktor yang penting untuk diketahui, karena hal ini berkaitan dengan waktu optimal jamur untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder. Hasil uji lanjut DMRT faktor waktu inkubasi menunjukkan bahwa miselium yang ditumbuhkan selama 20, 25, dan 30 hari memiliki rata-rata bobot kering yang tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa rentang waktu 20-30 hari merupakan waktu yang baik bagi pertumbuhan miselium *L. edodes*. Menurut Tampubolon *et al.* (2015), jamur membutuhkan waktu tertentu untuk dapat memecah sumber nutrisi yang tersedia, menyerap, serta menggunakannya untuk pertumbuhan dan memproduksi metabolit sekunder. Hasil penelitian yang didapat sesuai dengan pernyataan Listika (2015), bahwa waktu inkubasi 20-30 hari merupakan kisaran waktu yang baik bagi Basidiomycota untuk tumbuh dan memproduksi metabolit sekunder.

Seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi, pH medium diketahui mengalami perubahan yang disebabkan oleh aktivitas metabolit jamur selama pertumbuhannya (Tabel 2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa medium dengan pH awal 3 cenderung mengalami peningkatan nilai pH, sedangkan pH awal 4, 5, dan 6 cenderung mengalami penurunan. Menurut Martina *et al.* (2015),

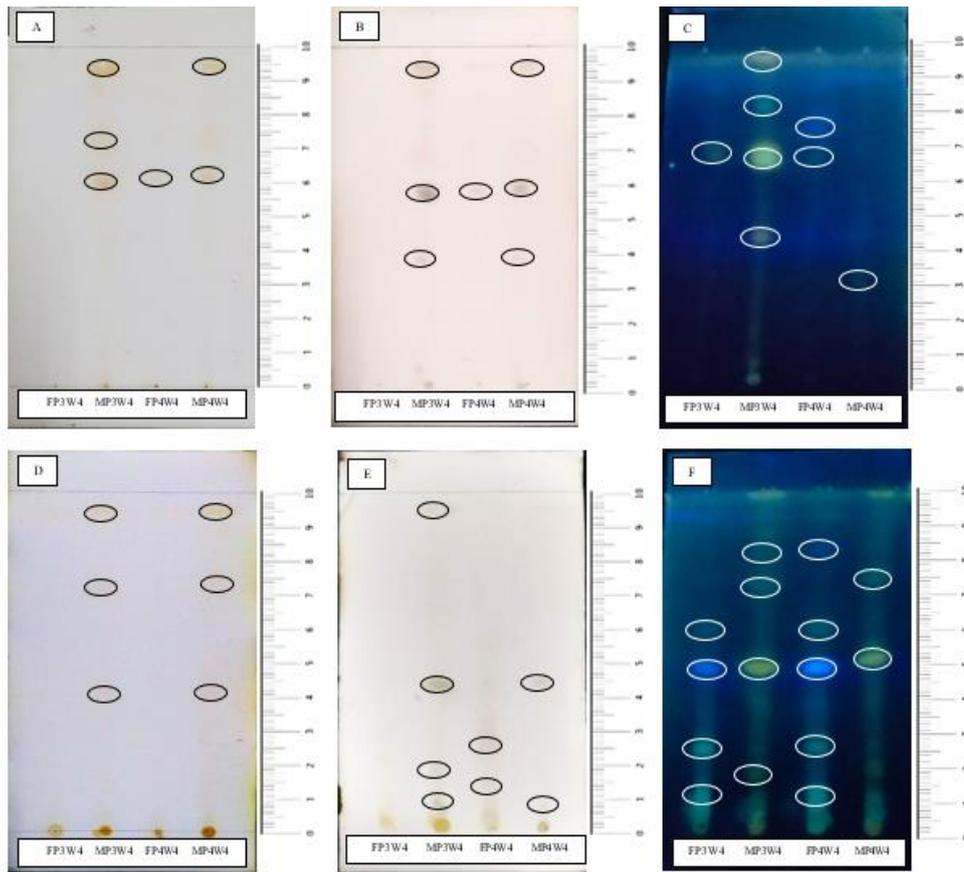
peningkatan pH akhir medium dapat diakibatkan oleh metabolisme nitrogen jamur selama pertumbuhannya sehingga terjadi penumpukan amonia. Penurunan pH medium, menurut Retnosari & Shovitri (2013), dapat disebabkan oleh akumulasi bertahap di lingkungan ekstraseluler jamur dari beberapa asam yang dilepaskan sebagai akibat dari proses metabolisme.

**Tabel 2.** Data pH Medium

Perlakuan	Rata-Rata	
	pH Awal	pH Akhir
P1W1	3	4,6
P1W2	3	3,1
P1W3	3	3,4
P1W4	3	3,7
P2W1	4	3,3
P2W2	4	3,2
P2W3	4	3,7
P2W4	4	3,7
P3W1	5	3,2
P3W2	5	3,0
P3W3	5	3,8
P3W4	5	4,5
P4W1	6	3,9
P4W2	6	3,5
P4W3	6	3,8
P4W4	6	4,8

Keterangan: P1: pH 3; P2: pH 4; P3: pH 5; P4: pH 6; W1: Waktu inkubasi 15 hari; W2: Waktu inkubasi 20 hari; W3: Waktu inkubasi 25 hari; W4: Waktu inkubasi 30 hari

Nilai pH dapat memengaruhi proses pembentukan metabolit sekunder jamur. Menurut Septiana & Simanjuntak (2017), umumnya jamur akan menghasilkan metabolit sekunder pada kisaran pH yang optimal bagi pertumbuhannya dan tidak ditemukan senyawa bioaktif pada pH yang terlalu ekstrim. Nofiani (2008) menyatakan bahwa pembentukan metabolit sekunder diatur oleh ketersediaan nutrisi dan penurunan kecepatan pertumbuhan. Nutrisi yang terbatas serta pertumbuhan yang mulai melambat akan menghasilkan sinyal yang mempunyai efek regulasi untuk pembentukan metabolit sekunder. Identifikasi golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak filtrat dan ekstrak miselium *L. edodes* dilakukan dengan metode KLT. Menurut Ekowati *et al.* (2018), laju pertumbuhan jamur berhubungan dengan waktu optimal jamur untuk memproduksi



**Gambar 2.** Kromatogram Ekstrak N-Heksan Hasil Uji Alkaloid (A), Terpenoid (B), Flavonoid (C) Kromatogram Ekstrak Kloroform Hasil Uji Alkaloid (D), Terpenoid (E), Flavonoid (F)

senyawa metabolit sekunder. Jamur diketahui mulai memproduksi metabolit sekunder pada fase akhir pertumbuhannya, atau ketika memasuki fase stasioner, sehingga perlakuan pH 5 dan 6 pada waktu inkubasi 30 hari dipilih sebagai sampel uji dalam penelitian.

Golongan senyawa yang teridentifikasi pada sampel ditandai dengan munculnya spot warna tertentu pada plat setelah diberi pereaksi semprot. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan hasil penelitian, dapat diketahui bahwa sampel yang diuji menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid, terpenoid, dan flavonoid. Kromatogram hasil uji alkaloid pada Gambar 2A dan 2D yang memunculkan bercak berwarna kuning jingga sesuai dengan pernyataan Wagner *et al.* (1984), bahwa alkaloid yang terdeteksi pada sampel akan memunculkan warna jingga kecoklatan ketika disemprot dengan pereaksi Dragendorff yang dilanjutkan dengan  $\text{NaNO}_2$  untuk meningkatkan visualisasi warna yang terbentuk pada plat. Alkaloid yang terdeteksi berada pada rentang nilai Rf 0,43-0,96. Nilai Rf yang diperoleh sesuai dengan Harborne (1987), yang mendapatkan bahwa nilai Rf alkaloid berada pada kisaran 0,07-0,62, serta penelitian Forestryana & Arnida (2020) yang menunjukkan bahwa senyawa alkaloid terdeteksi pada nilai Rf 0,09-0,96.

Kromatogram hasil uji terpenoid pada Gambar 2B dan 2E yang memunculkan bercak berwarna ungu kehitaman sesuai dengan pernyataan Wagner *et al.* (1984), bahwa sampel yang menunjukkan hasil positif terpenoid ditandai dengan adanya bercak berwarna biru ungu atau merah ungu gelap setelah disemprot dengan pereaksi vanilin-asam sulfat. Nilai Rf setiap spot yang terdeteksi berada pada rentang nilai 0,09-0,95. Hasil yang diperoleh berada pada kisaran nilai yang sama seperti penelitian-penelitian sebelumnya, diantaranya Qolbi & Yuliani (2018) yang menemukan nilai Rf terpenoid pada rentang 0,22-0,9. Identifikasi terpenoid yang dilakukan oleh Muhaimin *et al.* (2021) menunjukkan bahwa terpenoid terdeteksi pada nilai Rf 0,11; 0,6; dan 0,94.

Kromatogram hasil uji terpenoid pada Gambar 2B dan 2E yang memunculkan bercak berwarna kuning, hijau, dan biru sesuai dengan pernyataan Wagner *et al.* (1984), bahwa flavonoid akan memunculkan fluoresensi warna kuning, hijau, atau biru ketika diamati di bawah sinar UV 366 nm. Perbedaan warna yang terbentuk tergantung dari tipe struktur senyawa golongan flavonoid yang terdeteksi. Nilai Rf setiap spot yang diperoleh berada pada rentang nilai 0,1-0,95. Hasil yang diperoleh sesuai dengan penelitian Forestryana & Arnida (2020) yang menemukan bahwa flavonoid memiliki rentang nilai Rf 0,18-0,98.

## SIMPULAN

Derajat keasaman (pH) dan waktu inkubasi dapat memengaruhi peningkatan pertumbuhan miselium jamur *L. edodes*, namun tidak ditemukan interaksi antara keduanya. Nilai pH yang optimal untuk pertumbuhan miselium *L. edodes* berada pada kisaran pH 5-6 dan waktu inkubasi yang optimal berada pada kisaran waktu 20-30 hari. Miselium dan filtrat kultur jamur *L. edodes* mengandung metabolit sekunder dari golongan alkaloid, terpenoid, dan flavonoid.

## Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada LPPM Unsoed yang telah memberikah hibah penelitian dengan Skim Riset Unggulan Unsoed Tahun 2021.

## DAFTAR REFERENSI

- Afriyeni, H. & Utari, N. W., 2016. Identifikasi Zat Warna Rhodamin B pada Lipstik Berwarna Merah yang Beredar di Pasar Raya Padang. *Jurnal Farmasi Higea*, 8(1), pp. 59-64.
- Corneliyawati, E., Massora., Khikmah. & Arifin, A. S., 2018. Optimalisasi Produksi Enzim Kitinase pada Isolat Jamur Kitinolitik dari Sampel Tanah Rizosfer. *Eubiotik: Jurnal Pendidikan, Biologi, dan Terapan*, 3(1), pp. 62-69.
- Durán-Rivera, B., Moreno-Suárez, J. R., Rodas, F. R., Jiménez, K. M. V., Castro-Restrepo, D., 2018. Enhancement of Eritadenine Production Using Three Carbon Sources, Immobilization and Surfactants in Submerged Culture with Shiitake Mushroom (*Lentinula edodes*) (Berk.) Singer). *African Journal of Food Science*, 12(12), pp. 374-382.
- Ekowati, N., Kasiamdari, R. S., Pusposendjojo, N., & Soegihardjo, C. J., 2011. Daya Antimikroba Metabolit Bioaktif Jamur Shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) yang Dikultur pada Tiga Jenis Medium Fermentasi. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3), pp. 132-137.
- Ekowati, N., Ratnaningtyas, N. I. & Mumpuni, A., 2016. Potensi Jamur *Trametes versicolor* dan *Russula* sp. dalam Menghasilkan B-Glukan Melalui Proses Fermentasi. *Seminar Nasional Pendidikan dan Sainstek*, pp. 142-146.
- Ekowati, N., Maharning, A. R., Ratnaningtyas, N. I., Mumpuni, A. & Izzah, W., 2018. Eksplorasi dan Pola Pertumbuhan Fase Vegetatif Beberapa Jamur Liar pada Medium Cair. *Prosiding Seminar Nasional LPPM Unsoed*, 8(1), pp. 100-111.
- Febrina, L., Rusli, R., & Muflihah, F., 2015. Optimalisasi Ekstraksi dan Uji Metabolit Sekunder Tumbuhan Libo (*Ficus variegata* Blume). *J. Trop. Pharm. Chem.*, 3(2), pp. 74-81.
- Forestryana, D. & Arnida, A., 2020. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), pp. 113-124.
- Ghada, M. M., 2011. Optimization of Submerged Culture Conditions for Mycelial Biomass Production by Shiitake Mushroom (*Lentinula edodes*). *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 7(4), pp. 350-356.
- Gunawan, A. W. 2004. *Budidaya Jamur Tiram*. Depok: PT. Agro Media Pustaka.
- Hanna., Tyasrini, E. & Ratnawati, H., 2005. Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhii* In Vitro. *Maranatha Journal of Medicine and Health*, 5(1), pp. 1-7.
- Hakim, L., Kurniatuhadi, R. & Rahmawati., 2020. Karakteristik Fisiologis Jamur Halofilik Berdasarkan Faktor Lingkungan dari Sumur Air Asin di Desa Suak, Sintang, Kalimantan Barat. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar*, 5(2), pp.227-232.
- Iswanto, E. H., Praptana, R. H. & Guswara, A., 2016. Peran Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Padi terhadap Ketahanan Wereng Cokelat (*Nilaparvata lugens*). *Iptek Tanaman Pangan*, 11(2), pp. 127-132.
- Harborne, J. B., 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi I*. Bandung: ITB Press.
- Hidayah, N., Hisan, A. K., Solikin, A., Irawati, I., & Mustikaningtyas, D., 2018. Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *J. of Creativity Student*, 1(2), pp. 1-9.
- Keryanti., Faizal, A. & Suhardi, S. H., 2020. Pengaruh Variasi pH Medium terhadap Perolehan Biomassa Sel dan Laju Konsumsi Substrat Amonium pada Kultur Suspensi Sel Wortel (*Daucus carota* L.). *Jurnal Ilmiah Teknik Sipil dan Teknik Kimia*, 5(2), pp. 125-134.
- Kim, S. W., Hwang, H. J., Park, J. P., Cho, Y. J., Song, C. H., Yun, J. W., 2002. Mycelial Growth and Exo-Biopolymer Production by Submerged Culture of Various Edible Mushrooms Under Different Media. *Letters in Applied Microbiology*, 34(1), pp. 56-61.
- Krupodorova, T. A., Barshteyn, V. Y., Kizitska, T. O. & Pokas, E. V., 2019. Effect of Cultivation Conditions on Mycelial Growth and Antibacterial Activity of *Lentinula edodes* and

- Fomitopsis betulina*. *Czech Mycology*, 71(2), pp. 167-186.
- Kusumaningrum, I. K., Zakia, N. & Nilasari, C., 2017. Pengaruh Derajat Keasaman (pH) Media Tanam dan Waktu Panen pada Fortifikasi Selenium Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Journal Cis-Trans*, 1(1), pp. 30-34.
- Lantah, P. L., Montolalu, L. A. D. Y. & Reo, A. R., 2017. Kandungan Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Rumpun Laut *Kappaphycus alvarezii*. *Jurnal media Teknologi Hasil Perikanan*, 5(3), pp. 73-79.
- Listika, D. A., 2015. Potensi *Pleurotus sajor-caju*, *Hypsizygus ulmarius*, dan *Volvariella volvacea* dalam Menghasilkan Metabolit Sekunder pada Dua Jenis Medium Fermentasi Berbeda. *Skripsi*. Universitas Jenderal Soedirman.
- Maharani, M. M., Ratnaningtyas, N. I. & Priyanto, S., 2014. Penggunaan Beberapa Medium Semisintetik untuk Produksi Miselium Jamur Maitake (*Grifola frondosa* (Dickson: Fr.) S. F. Gray) Isolat Cianjur dan Ekstrak Kasarnya. *Scripta Biologica*, 1(1), pp. 20-25.
- Martina, A., Linda, T. M., Zul, D., Veronika, N. & Jelita, R., 2015. Aktivitas Ligninolitik Beberapa Jamur Aphyllphorales dan Kemampuannya Mendegradasi Lignin pada Lindi Hitam. *Al-Kauniyah*, 8(1), pp. 27-31.
- Mujipradhana, V. N., 2018. Aktivitas Antimikroba dari Ekstrak *Ascidian Herdmania momus* pada Mikroba Patogen Manusia. *Pharmakon*, 7(3), pp. 338-347.
- Newman, D. J., & Cragg, G. M., 2012. Natural Products as Sources of New Drugs Over the 30 Years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), pp. 311-335.
- Nofiani, R., 2008. Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia*, 10(2), pp. 120-125.
- Popa, G., Nicolcioiu, B. M., Toma, R., Margarit, G., Groposila-Constantinescu, D., 2021. Assessment of The Growth Potential in Liquid Cultures of Some Edible and Medicinal Mushrooms. *Horticulture*, 65(2), pp. 156-161.
- Qolbi, N. & Yuliani, R., 2018. Skrining Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Sepuluh Daun Tanaman Terhadap *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(1), pp. 8-18.
- Rasullah, F. F. F., Nurhidayati, T. & Nurmalasari., 2013. Respon Pertumbuhan Tunas Kultur Meristem Apikal Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Varietas NXI 1-3 secara in vitro pada Media MS dengan Penambahan Arginin dan Glutamin. *Jurnal Sains dan Seni POMITS*, 2(2), pp. 99-104.
- Rendowaty, A., Djamaan, A. & Handayani, D., 2017. Waktu Kultivasi Optimal dan Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etil Asetat Jamur Symbion *Aspergillus unguis* (WR8) dengan *Haliclona fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 4(1), pp. 49-54.
- Retnosari, A. A. & Shovitri, M., 2013. Kemampuan Isolat *Bacillus* sp. dalam Mendegradasi Limbah Tangki Septik. *Jurnal Sains dan Seni POMITS*, 2(1), pp. 7-11.
- Rochman, R. D., Sunartatie, T. & Afiff, U., 2020. Eksplorasi Antibakteri dari Kapang Tanah Arboretum. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)*, 25(3), pp. 456-461.
- Rosnan, N. D., Chuen, N. & Ngadin, A. A., 2019. First Record of in vitro Growth Evaluation of Wild Mushroom, *Schizophyllum commune* from Pulau Kapas in Malaysia. *Asian J. Agric. Biol.*, 7(4), pp. 602-609.
- Sastrohamidjojo, H., 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Liberty.
- Septiana, E. & Simanjuntak, P., 2017. Pengaruh Kondisi Kultur yang Berbeda terhadap Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Kapang Endofit Asal Akar Kunyit. *Majalah Obat Tradisional*, 22(1), pp. 31-36.
- Silalahi, M., 2017. *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansfeld: Manfaat dan Metabolit Sekundernya. *Jurnal EduMatSains*, 1(2), pp. 107-118.
- Tampubolon, Dewi B. M. S., Utomo, B. & Yunasfi., 2015. Keanekaragaman Jamur Makroskopis di Hutan Pendidikan Universitas Sumatera Utara Desa Tongkoh Kabupaten Karo Sumatera Utara. *Artikel ilmiah*. Medan: USU.
- Tjokrokusumo, D., 2015. Diversitas Jamur Pangan Berdasarkan Kandungan Beta-Glukan dan Manfaatnya Terhadap Kesehatan. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(6), pp. 1520-1523.
- Wagner, H., Bladt, S. & Zgainski, E. M., 1984. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. New York: Springer.
- Widyastuti, N. & Tjokrokusumo, D., 2021. Manfaat Jamur Konsumsi (Edible Mushroom) dilihat dari Kandungan Nutrisi serta Perannya dalam Kesehatan. *Jurnal Teknologi Pangan dan Kesehatan*, 3(2), pp. 92-100.