

**Kadar Karbohidrat dan Penapisan Senyawa Aktif dari *Pleurotus pulmonarius* yang Diekstraksi Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE) dengan Beberapa Perlakuan Suhu**  
**{Carbohydrate Content and Active Compound Screening of *Pleurotus pulmonarius* Extracted by Microwave Assisted Extraction (MAE) Method with Several Temperature Treatments}**

Rizki Rabeca Elfirta<sup>1</sup>, Iwan Saskiawan<sup>1</sup>, Kasirah<sup>1</sup>, R. Lia Rahadian Amalia<sup>2</sup>, Azra Zahrah Nakhirah Ikhwan<sup>1</sup>, Nunuk Widhyastuti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, BRIN, <sup>2</sup>Pusat Riset Zoologi Terapan, BRIN. Email: rizk030@brin.go.id

**Memasukkan:** Desember 2022, **Diterima** April 2023

**ABSTRACT**

The majority of carbohydrates found in edible mushroom are in the form of polysaccharides, specifically beta-glucans. These beta-glucans have been reported as anticancer, antioxidant, and immunomodulator. This study aimed to investigate the potential of *P. pulmonarius* as functional food by comparing the carbohydrate content (total carbohydrate, beta-glucans, and reducing sugars) in *P. pulmonarius* extracted using microwave assisted extraction (MAE) at different temperatures: 60 °C, 80 °C and 100 °C. Moreover, active compound screening was also conducted. MAE was chosen as the extraction method due to its short extraction time. The phenol-sulfuric acid method was used to measure total carbohydrates, while beta-glucan content was measured using the Megazyme Beta-Glucan Kit. Reducing sugar content was measured using the DNS (3,5-Di Nitro Salisilic Acid) and active compound screening was performed by qualitative method. The results showed that the highest total carbohydrates and beta-glucans were obtained at 60 °C (75,089±0,012 mg/mL and 32,356±0,006% w/w respectively) while the highest reducing sugar content was obtained at 80 °C (0,216±0,009 mg/mL). Active compound screening revealed the presence of flavonoids, saponins, and triterpenoids in each sample. These findings suggest that *P. pulmonarius* has potential as functional food since the rich content of beta-glucans and active compounds. The use of MAE at 60 °C is more effective to extract *P. pulmonarius* compared with 80 °C and 100 °C.

**Keywords :** beta glucans, reduction sugar, microwave Assisted extraction , *Peurotus pulmonarius*, total of carbohydrates

**ABSTRAK**

Sebagian besar karbohidrat yang terdapat didalam jamur pangan berupa polisakarida dalam bentuk beta glukuan. Beta glukuan dilaporkan memiliki berbagai bioaktivitas seperti antikanker, antioksidan dan imunomodulator. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kadar karbohidrat meliputi total karbohidrat, beta glukuan, dan gula pereduksi pada *P.pulmonarius* yang diekstraksi menggunakan metode *microwave assisted extraction* (MAE) dengan beberapa perlakuan suhu, yaitu 60°C, 80°C dan 100 °C. Selain itu, penapisan senyawa aktif juga dilakukan pada penelitian ini. Ekstraksi dengan metode MAE dipilih karena memerlukan waktu ekstraksi yang relatif singkat. Pengukuran total karbohidrat menggunakan metode fenol-sulfat, kandungan beta glukuan diukur berdasarkan Protokol Kit Megazyme Beta-Glucan, pengukuran kadar gula pereduksi menggunakan metode DNS (3,5-Di Nitro Salisilic Acid), sedangkan penapisan senyawa aktif dilakukan dengan metode kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total karbohidrat dan beta glukuan tertinggi diekstraksi pada suhu 60°C (75,089±0,012 mg/mL dan 32,356±0,006% b/b), sedangkan kadar gula pereduksi tertinggi diekstraksi pada suhu 80° (0,216±0,009 mg/mL). Penapisan senyawa aktif menunjukkan tiap sampel mengandung flavonoid, saponin dan triterpenoid. Penelitian ini menunjukkan bahwa *P. pulmonarius* memiliki potensi sebagai pangan fungsional karena kandungannya yang tinggi akan karbohidrat beta glukuan dan senyawa aktif. Selain itu, penggunaan metode MAE pada suhu 60 °C lebih efektif dalam mengekstraksi *P. pulmonarius* dibandingkan dengan suhu 80 °C.

**Kata Kunci:** beta glukuan, gula pereduksi, *microwave assisted extraction*, *Pleurotus pulmonarius*, total karbohidrat

## PENDAHULUAN

Jamur pangan merupakan sumber pangan fungsional yang memiliki manfaat kesehatan. Jamur pangan telah banyak dimanfaatkan di berbagai negara Asia Timur, seperti Cina, Jepang dan Korea sebagai sumber pangan. Secara umum, jamur pangan mengandung lemak (1.7 %), karbohidrat (66.1%) dan protein (12.5%). Selain itu jamur pangan kaya akan kandungan vitamin seperti B1 (thiamin), B2 (riboflavin), B3 (niasin), B7 (biotin), C (asam askorbat) dan E ( $\alpha$ -tokoferol) (Elfirta & Saskiawan 2020; Kadnikova *et al.* 2015; Kim *et al.* 2008). Jamur pangan mengandung berbagai senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti polisakarida, asam organik, lipid, steroid, dan triterpen tetrasiklik (Vlasenko *et al.* 2020). Jamur pangan kaya akan karbohidrat, yaitu lebih dari setengah berat keringnya. Beberapa polisakarida yang terkandung didalam jamur pangan diantaranya kitin, hemiselulosa, manan, alfa glukukan dan beta glukukan (Jayachandran, Xiao, & Xu 2017). Kebanyakan kandungan polisakarida dalam jamur berbentuk glukukan linear dan bercabang yang diikat dengan berbagai jenis ikatan glikosidik seperti 1-3- $\beta$ -D-glukan, 1-6- $\beta$ -D-glukan, dan 1-3- $\alpha$ -glukan (Moolkaew *et al.* 2021). Beta glukukan dari jamur pangan tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan sehingga berperan sebagai prebiotik yang dapat digunakan oleh mikroflora kolon untuk menghasilkan berbagai senyawa metabolit yang menguntungkan bagi manusia. Beta glukukan yang diserap dapat merangsang aktivitas antitumor serta kekebalan tubuh terhadap infeksi jamur dan bakteri pada manusia (Batbayar, Lee, dan Kim 2012). Beta glukukan diketahui memiliki berbagai manfaat kesehatan diantaranya sebagai anti hiperlipidemia, antihiperqlikemia, antioksidan, antiproliferasi dan antiinflamasi (He *et al.* 2020). Polisakarida dari jamur juga dilaporkan banyak di gunakan dalam terapi pengobatan pasien yang mengidap kanker (Moradali *et al.* 2007) maupun untuk peningkatan populasi bakteri rumen dan kinerjanya pada hewan ruminansia (Piliang & Suryahadi 1996)

Jamur tiram merupakan salah satu jenis jamur pangan yang paling banyak dijumpai dan dikonsumsi masyarakat. Penelitian yang dilakukan

oleh Lam & Cheung (2013) menunjukkan bahwa ekstrak *Pleurotus ostreatus* (jamur tiram putih) mengandung beta glukukan dengan rantai utama 1-3- $\beta$ -D-glukan yang memiliki aktivitas sebagai antitumor (Lam & Chi-Keung Cheung 2013; Ruthes, Smiderle, & Iacomini 2015). Jamur tiram coklat (*P. pulmonarius*) merupakan kerabat dekat jamur tiram putih sehingga diduga memiliki karakter fungsional termasuk kadar beta glukukan yang sama tingginya. Selain itu, jamur tiram coklat memiliki beberapa keunggulan dibandingkan jamur tiram putih, diantaranya memiliki daya simpan yang lebih lama, tubuh buah yang lebih tebal, dan kadar air yang rendah (Jakijah, Hasanah, & Sari 2017), oleh sebab itu banyak cara digunakan untuk untuk mengefektifitaskan aktivitas Lakase, Selulase, dan Xilanase (Saskiawan dkk 2021) dan perlunya penambahan mikroba Selulolitik untuk mencari titik optimum pertumbuhan jamur tersebut (Saskiawan 2015).

Berbagai metode ekstraksi terus dikembangkan untuk mendapatkan senyawa fungsional dengan rendemen yang tinggi. Salah satu metode ekstraksi yang dilaporkan memiliki banyak keunggulan dengan efisiensi yang tinggi adalah metode *microwave assisted extraction* (MAE) karena dapat menghasilkan ekstrak dengan rendemen yang tinggi, penggunaan waktu yang relatif singkat, dan penggunaan pelarut yang minim dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional (Ince, Şahin, & Şümnü 2013; Moolkaew *et al.* 2021; Bhuyan *et al.* 2015; Mahardika & Roanisca 2019). MAE menggunakan radiasi gelombang mikro dan suhu dalam memecah sel simplisia selama proses ekstraksi sehingga senyawa fungsional dapat lebih mudah keluar dari simplisia dan terdifusi ke fase cair (pelarut) (Bhuyan *et al.* 2015; Mahardika & Roanisca 2019). Penggunaan metode MAE dapat lebih optimal apabila menggunakan suhu yang tepat. Aplikasi metode MAE salah satunya yaitu untuk mengekstraksi karbohidrat dan senyawa aktif lainnya dari sumber hayati, termasuk jamur tiram coklat. Sampai saat ini, penelitian terkait ekstraksi jamur tiram coklat masih terbatas dan belum banyak dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan kadar karbohidrat meliputi total karbohidrat, beta glukukan, dan gula

pereduksi pada *P. pulmonarius* yang diekstraksi menggunakan metode MAE dengan beberapa perlakuan suhu. Selain itu, penapisan senyawa aktif juga dilakukan pada setiap perlakuan suhu yang digunakan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rujukan bagi penelitian selanjutnya, terutama dalam pengungkapan karakter fungsional ekstrak *P. pulmonarius*.

## BAHAN DAN CARA KERJA

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah adalah tubuh buah jamur tiram cokelat (*P. pulmonarius*). Sampel didapatkan dari kumbung jamur Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Cibinong Science Center, Kabupaten Bogor, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN). Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi potassium sodium tartrate, 3,5-di nitro salisilic acid, natrium hidroksida (NaOH), D-glucose, fenol, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), *Megazyme mushroom and yeast beta-glucan*, serbuk magnesium, asam klorida (HCl), kloroform, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner.

Tubuh buah *P. pulmonarius* dikeringkan menggunakan dehidrator pada suhu  $50\text{ }^{\circ}C$  selama 24 jam. Sampel yang telah kering selanjutnya dihaluskan kemudian diayak menggunakan ayakan 80 mesh. Simplisia yang diperoleh selanjutnya disimpan di tempat yang kering dan siap digunakan untuk proses penelitian.

Ekstraksi dengan metode MAE dilakukan menggunakan instrumen *Start D Microwave Digestion System*. Sebanyak 4 gram simplisia *P. pulmonarius* dilarutkan kedalam 40 mL akuades. Larutan tersebut selanjutnya di masukan ke dalam vessel dan diletakan pengaduk magnetik pada setiap vessel dan ditutup rapat. Vessel yang telah berisikan larutan selanjutnya dimasukan kedalam microwave dan sistem microwave di atur pada beberapa perlakuan suhu meliputi:  $60\text{ }^{\circ}C$ ,  $80\text{ }^{\circ}C$  dan  $100\text{ }^{\circ}C$  dengan daya 1000 Watt dan waktu 10 menit. Setelah proses ekstaksi selesai, vessel diletakan pada wadah yang berisikan es untuk menurunkan temperatur hingga suhu  $40\text{ }^{\circ}C$ . Filtrat dan residu dari larutan dipisahkan menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan

3.500 rpm selama 15 menit. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dikeringkan menggunakan *freezedryer* dan disimpan pada suhu  $4\text{ }^{\circ}C$  (He *et al.* 2020; Maeng *et al.* 2017; Mahardika & Roanisca 2019; Mustapa *et al.* 2015).

Analisis total karbohidrat dilakukan berdasarkan metode fenol-sulfat. Sebanyak 0,5 mL larutan sampel (konsentrasi 0,5 mg/mL) dimasukan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan fenol 5% dan 2,5 mL  $H_2SO_4$  pekat. Tabung reaksi selanjutnya di inkubasi di dalam waterbath pada suhu  $38\text{ }^{\circ}C$  selama 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 490 nm. Larutan standar glukosa pada rentang konsentrasi 0,02-0,08 mg/mL digunakan untuk menentukan kurva standar (Smiderle *et al.* 2017).

Analisis kadar beta glukan dilakukan menggunakan kit *Megazyme mushroom and yeast beta-glucan*. Analisis dilakukan dengan menghitung selisih dari nilai kadar total glukan dan alfa glukan dari sampel (Megazyme 2021). Analisis total glukan dilakukan dengan menimbang 90 mg sampel dimasukan ke dalam tabung reaksi tutup ulir kemudian ditambahkan 2 mL  $H_2SO_4$  12 M. Larutan tersebut selanjutnya diinkubasi selama 2 jam dalam kondisi dingin dan divortex setiap 20 menit. Setelah diinkubasi, sebanyak 4 mL akuades kemudian di vortex selama 10 detik kemudian ditambahkan kembali 6 mL akuades dan di vorteks kembali selama 10 detik. Larutan selanjutnya dipanaskan dengan waterbath pada suhu  $100\text{ }^{\circ}C$  selama 2 jam. Larutan selanjutnya dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL kemudian ditambahkan 6 mL NaOH 8M dan dicukupkan volumenya hingga 100 mL dengan buffer Na asetat pH 4.5. Larutan tersebut selanjutnya dicuplik sebanyak 2 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 9000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 0,1 mL larutan dimasukan kedalam tabung reaksi selanjutnya ditambahkan 0,1 mL campuran exo-1,3- $\beta$ -glucanase dan  $\beta$ -glucosidase (4 U/mL) kemudian di vorteks dan diinkubasi pada suhu  $40\text{ }^{\circ}C$  selama 60 menit. Setelah diinkubasi, sebanyak 3,0 mL reagen GOPOD (*glucose oxidase/peroxidase*) ditambahkan kemudian diinkubasi pada suhu  $40\text{ }^{\circ}C$  selama 20 menit. Absorbansi sampel diukur pada panjang

gelombang 510 nm. Analisis alfa glukon dilakukan dengan memasukan 100 mL sampel ke dalam tabung reaksi tutup ulir kemudian ditambahkan 2 mL NaOH 1,7 M. Tabung reaksi tersebut selanjutnya *dishaker* selama 20 menit dalam keadaan dingin. Sebanyak 8 mL bufer Na-asetat 1,2 M pH 3,8 dan 0,2 mL amiloglukosidase ditambahkan ke dalam tabung reaksi kemudian diinkubasi di dalam *waterbath* pada suhu 40 °C selama 40 menit. Sebanyak 2 mL larutan diambil dan disentrifugasi dengan kecepatan 9.000 rpm selama 10 menit. Sebanyak 0,1 mL dari larutan tersebut di masukan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan reagen GOPOD 3 mL dan diinkubasi pada suhu 40 °C selama 20 menit. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 510 nm.

Analisis kadar gula pereduksi beserta kurva standar dilakukan menggunakan metode DNS. Pereaksi DNS dibuat dengan melarutkan 1 gram DNS ke dalam 20 mL larutan NaOH 2 N dan 50 mL aquadest. Larutan DNS selanjutnya ditambahkan 30 gram natirum kalium tartarat dan diaduk hingga homogen kemudian ditambahkan akuades hingga voume akhir larutan mencapai 100 mL. Sebanyak 1 mL larutan sampel (konsentrasi 3 mg/mL) dan 2 mL larutan DNS dimasukan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi selanjutnya di panaskan di dalam *waterbath* selama 5 menit. Setelah 5 menit, tabung reaksi didinginkan hingga suhu ruang, kemudian larutan uji diukur absorbansinya menggunakan spectrophotometer BioSpect-1601 pada panjang gelombang 540 nm. Larutan standar glukosa dengan rentang konsentrasi 0,1-0,35 mg/mL digunakan sebagai kurva standar (Hassanah dan Saskiawan 2015).

Penapisan senyawa aktif dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Anandi *et al.* (2021). Analisis yang dilakukan diantaranya identifikasi flavonoid, saponin, alkaloid, triterpenoid dan steroid. Analisis tersebut dilakukan dengan metode sebagai berikut :

Identifikasi flavonoid digunakan sebanyak 200 µg sampel yang dimasukan kedalam gelas kimia kemudian dilarutkan menggunakan air panas dan dididihka menggunakan penagas air

selama 5 menit. Larutan disaring menggunakan kertas saring, filtrat yang diperoleh (5 mL) dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan serbuk magnesium, HCl pekat (1 mL) dan amil alkohol (5 mL). Larutan tersebut dihomogenkan dan dibiarkan hingga terpisah. Adanya warna yang terbentuk pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Identifikasi Saponin menggunakan larutan uji yang diperoleh dari identifikasi flavonoid dimasukan kedalam tabung reaksi sebanyak 10 mL kemudian ditambahkan dengan 5 mL KOH alkohol (0,5 mol/L). Larutan selanjutnya divorteks selama 10 detik. Sampel positif mengandung samponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm yang stabil selama 10 menit dan ketika ditambahkan HCl 2 N buih tetap stabil.

Identifikasi Alkaloid digunakan sebanyak 200 µg sampel yang digerus menggunakan ammonia 25% kemudian ditambahkan 20 mL kloroform hingga larut. Campuran selanjutnya disaring dan filtrat yang diperoleh diambil sebagai larutan A. Selanjutnya sebanyak 5 mL larutan A ditambahkan 5 mL HCl 10% dalam tabung reaksi dan dihomogenkan. Fraksi atas larutan diambil kemudian dibagi menjadi 2 tabung reaksi. Kedalam tabung pertama di tetesi pereaksi Mayer sedangkan tabung kedua ditetesi dengan pereaksi Wagner. Sampel uji positif mengandung alkaloid jika terbantuk endapan merah bata hingga hijau pada pereaksi Dragendroff, terbentuk endapan putih pada pereaksi Meyer dan terbentuk endapan cokelat pada pereaksi Wagner.

Identifikasi Triterpenoid dan steroid digunakan sebanyak 200 µg sampel dimaserasi menggunakan 10 mL eter selama 2 jam dan ditutup menggunakan alumunium foil kemudian disaring dan diambil filtratnya. Filtrat yang diperoleh diuapkan, kemudian residu yang diperoleh ditambahkan dengan asam sulfat pekat. Sampel positif mengandung steroid jika terbentuk kompleks berwarna hijau dan positif triterpenoid jika terbantuk kompleks berwarna merah.

Data gula pereduksi, total karbohidrat dan beta glukon diolah menggunakan perangkat

lunak SPSS 25 menggunakan uji ANOVA satu arah (*one way analysis of variance*) dengan tingkat kepercayaan 95%. Analisis lanjutan menggunakan tes Tukey ( $\alpha= 0,05$ ) dilakukan jika ditemukan perbedaan yang berbeda nyata antara kelompok perlakuan pada uji ANOVA.

**HASIL**

**Analisis Total Karbohidrat**

Larutan glukosa digunakan untuk pembuatan kurva standar dengan rentang konsentrasi 0,02-0,08 mg/mL. Kurva standar larutan glukosa yang diperoleh memiliki persamaan regresi  $y= 0,0075x + 0,0385$  dengan koefisien determinasi  $R^2 = 99,46\%$  (Gambar 1). Kadar total karbohidrat ekstrak *P. pulmonarius* metode MAE pada ketiga suhu perlakuan menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata ( $\alpha= 5\%$ ). Total karbohidrat pada suhu 60 °C lebih tinggi dari suhu 100 °C dan 80 °C (Tabel 1).

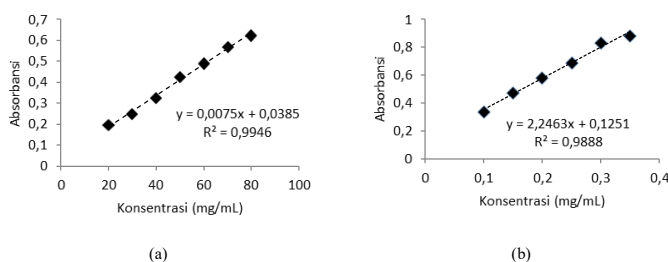
**Pengukuran Kadar Beta Glukan**

Kadar beta glukan dianalisis menggunakan kit *Megazyme mushroom and yeast beta*

*-glucan*. Kadar beta glukan diukur dengan menghitung selisih antara total glukan dan alfa glukan. Berdasarkan hasil pengukuran kadar total glukan dan alfa glukan, diketahui beta glukan yang terkandung dalam ekstrak *P. pulmonarius* metode MAE pada suhu 60 °C, 80 °C dan 100 °C memiliki nilai yang berbeda nyata dengan uji Tukey ( $\alpha= 5\%$ ) dengan kadar beta glukan pada suhu 60 °C lebih besar dari suhu 100 °C lebih besar dari suhu 80 °C. (Tabel 1).

**Analisis Gula Pereduksi**

Pengukuran kadar gula pereduksi diawali dengan pembuatan kurva standar glukosa. Kurva standar yang dihasilkan memiliki regresi linier 0,9888 ( $R^2=98,88\%$ ) dengan persamaan garis lurus  $y=2,2463x+0,1251$  (Gambar 1). Nilai absorbansi dari sampel selanjutnya disubstitusikan ke dalam persamaan garis kurva standar untuk menentukan kadar gula pereduksi pada sampel. Kadar gula pereduksi dari setiap perlakuan memiliki nilai rerata yang berbeda nyata pada uji lanjut dengan Tukey ( $\alpha= 5\%$ ) dengan kadar gula pereduksi pada suhu 80 °C



**Gambar 1.** Kurva standar (a) larutan standar glukosa untuk pengukuran total karbohidrat; (b) larutan standar glukosa untuk pengukuran gula pereduksi

**Tabel 1.** Kadar gula pereduksi, total karbohidrat dan beta glukan dari *P. pulmonarius* yang diekstraksi menggunakan MAE

Analisa	Perlakuan Suhu Ekstraksi (°C)		
	60	80	100
Kadar Gula Pereduksi (mg/mL)	0,157±0.011 <sup>a</sup>	0,216±0.009 <sup>c</sup>	0,174±0.004 <sup>b</sup>
Total Karbohidrat (mg/mL)	75,089±0.012 <sup>a</sup>	71,756±0.005 <sup>a</sup>	73,844±0.015 <sup>a</sup>
Kadar Beta Glukan (% b/b)	32,356±0.006 <sup>c</sup>	27,188±0.002 <sup>a</sup>	29,855±0.005 <sup>b</sup>

**Keterangan.** Perbedaan huruf (<sup>a-c</sup>) pada kolom kadar gula pereduksi, total karbohidrat dan beta glukan menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada uji Tukey ( $p < 0,05$ ) dengan tingkat kepercayaan 95%.

lebih tinggi dari suhu 100 °C dan lebih tinggi dari suhu 60 °C (Tabel 1).

**Penapisan Senyawa Aktif**

Hasil penapisan senyawa aktif dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak polisakarida *P. pulmonarius* positif mengandung saponin, terpenoid, dan flavonoid. Sementara hasil negatif ditunjukkan pada analisis alkaloid dan steroid. Semua perlakuan suhu memiliki hasil yang sama pada penapisan senyawa aktif.

**PEMBAHASAN**

**Kadar Karbohidrat: Total Karbohidrat, Beta Glukan dan Gula Pereduksi**

Pada analisis total karbohidrat, larutan glukosa digunakan sebagai larutan standar untuk pembuatan kurva standar dengan rentang konsentrasi 0,02-0,08 mg/mL. Hasil dari pengukuran kurva standar diperoleh kurva dengan regresi linier 99,46% dan persamaan garis lurus  $y=0,0075x+0,0385$  (Gambar 1). Berdasarkan hasil analisis total karbohidrat, diperoleh kadar total karbohidrat pada ekstrak *P.pulmonarius* yang di ekstraksi pada suhu 60°C, 80°C dan 100 °C berturut-turut sebesar 75,089±0.012; 71,756±0.005; dan 73,844±0.015 mg/mL. Hasil ini menunjukkan bahwa total karbohidrat maksimal dapat diekstraksi pada suhu 60°C, namun berdasarkan uji lanjut (uji Tukey) analisis kadar total karbohidrat ekstrak

*P. pulmonarius* pada ketiga suhu perlakuan menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata ( $\alpha=5\%$ ). Makanan yang mengandung karbohidrat seperti gula, polisakarida, pati dan serat pangan merupakan sumber energi utama untuk tubuh (Reynolds *et al.* 2019). Selain sebagai sumber energi, polisakarida yang terkandung didalam jamur pangan diketahui bersifat sebagai prebiotik yang stabil pada saluran pencernaan sehingga dapat menyeimbangkan komposisi mikroflora usus. Polisakarida jamur pangan juga bersifat sebagai serat pangan yang dapat difermentasi oleh mikroflora usus menjadi asam lemak rantai pendek. Asam lemak rantai pendek menstimulasi sekresi insulin dan meningkatkan sensitifitas insulin. Mekanisme tersebut merupakan mekanisme polisakarida dari jamur pangan sebagai antibiabetes (Khursheed *et al.* 2020).

Analisis kadar beta glukan dilakukan berdasarkan protokol dari kit *Megazyme mushroom and yeast beta-glucan*. Pengukuran kandungan meta glukan dilakukan dengan menghitung selisih nilai total glukan dan alfa glukan yang terdapat didalam sampel. Pada pengukuran total glukan, ekstrak sampel dilarutkan ke dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam keadaan dingin, hal ini disebabkan karena 1,6-β-D-glukan, 1,3-β-D-glukan dan alfa glukan dilarutkan dan terhidrolisis jika dilarutkan didalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam keadaan dingin. Fragmen dari glukan yang belum terhidrolisis kemudian dihidrolisis secara kuantitatif menjadi glukosa menggunakan campuran enzim exo-1,3-β-

**Tabel 2.** Penapisan senyawa aktif ekstrak polisakarida *P.pulmonarius*

Golongan senyawa	Jenis pengujian	Keterangan analisa	Hasil perlakuan suhu ekstraksi (°C)		
			60	80	100
Alkaloid	Mayer	Tidak terbentuk endapan putih pada kedua jenis sampel	-	-	-
	Wagner	Tidak terbentuk endapan coklat pada kedua jenis sampel	-	-	-
Flavonoid	Bate smith & metcalf	Terbentuk warna di lapisan amil alkohol pada kedua jenis sampel	+	+	+
Saponin	Uji Forth	Terbentuk busa stabil pada kedua jenis sampel	+	+	+
Triterpenoid/Steroid	Uji Lieberman Burchard/ Uji Keller Killiani	Terbentuk warna merah dan seulas warna biru tua pada kedua jenis sampel	+/-	+/-	+/-

glukanase dan  $\beta$ -glukosidase. Larutan uji selanjutnya direaksikan dengan reagent GOPOD dan membentuk kompleks larutan berwarna merah muda. Absorbansi larutan yang terukur menunjukkan nilai dari total glukan. Pada pengukuran alfa glukan, sampel di hidrolisis menggunakan NaOH pada keadaan dingin. Glukosa dan sukrosa yang terdapat didalam larutan uji dihidrolisis menjadi D-glukosa dan D-fruktosa dan glukosa menggunakan enzim amiloglukosidase dan invertase (Megazyme 2021; Moolkaew *et al.* 2021).

Pada penelitian ini, suhu ekstraksi yang paling optimal dalam mengekstraksi beta glukan dari jamur *P.pulmonarius* yaitu pada suhu 60°C, yaitu 32.356%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ermawar *et al.* (Ermawar *et al.* 2022), beta glukan dari jamur *P. Ostreatus* yang berhasil terekstrasi pada metode MAE sebesar 20% b/b sedangkan beta glukan yang terekstraksi dengan metode konvensional hanya 7% b/b. Hal ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi MAE dapat mengekstraksi beta glukan tiga kali lipat lebih banyak dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional. Ekstraksi dengan metode MAE secara efektif dapat mengekstrak polisakarida yang terkandung didalam jamur dengan cara mempercepat pemecahan dinding sel dan membantu difusi polisakarida kedalam pelarut (Li, Wang dan Wang 2017; Moolkaew *et al.* 2021). Pada penelitian ini, ekstraksi dengan MAE dilakukan menggunakan daya sebesar 1000 W. Penelitian yang dilakukan oleh Cheong *et al.* (2016) menunjukkan bahwa ekstraksi MAE dengan rentang daya 700W-1100W dapat meningkatkan rendemen dari ekstrak polisakarida. (Cheong *et al.* 2016).

Struktur beta glukan yang terdapat didalam jamur berbeda dengan beta glukan yang terdapat pada tanaman ataupun bakteri. Hal ini disebabkan karena rantai utama 1-3- $\beta$ -D-glukosa pada jamur umumnya berikatan pada posisi ke-6 dengan unit glukosa maupun oligosakarida lainnya. Beta glukan dengan rantai utama 1-3- $\beta$ -D-glukan diketahui memiliki aktivitas sebagai antitumor (Lam dan Chi-Keung Cheung 2013). Gharibzahendi *et al.* (2022) dan Vetvicka (2020) melaporkan bahwa polisakarida yang diekstraksi dengan

metode MAE memiliki aktivitas antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, anti kanker, antiproliferasi dan menginduksi apoptosis. Polisakarida tersebut yaitu beta glukan dengan rantai utama  $\beta$ -(1  $\rightarrow$ 3)-D-glukan (Gharibzahedi *et al.* 2022; Vetvicka dan Vetvickova 2020). Beta glukan yang diekstraksi dari *P.pulmonarius* dilaporkan sebagai anti inflamasi dan dapat menekan karsinogenesis kanker usus besar dengan memodulasi proliferasi sel dan menginduksi apoptosis (Lavi *et al.* 2012; Murphy *et al.* 2022). Lentinan, yang merupakan kandungan beta glukan utama dari jamur Shiitake memiliki rantai utama (1,3)-(1,6)- $\beta$ -D-glukan yang memiliki aktivitas antiinflamasi, immunomodulator, antioksidan, antitumor dan antimikroba (Morales *et al.* 2019). Adanya kandungan beta glukan yang terdapat pada *P.pulmonarius* menunjukkan bahwa *P.pulmonarius* berpotensi sebagai pangan fungsional dikarenakan kandungan nutrisi yang terdapat didalamnya dan kandungan bioaktif glukan yang memiliki berbagai manfaat kesehatannya.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa kadar gula pereduksi terbesar terdapat pada sampel yang diekstraksi menggunakan metode MAE dengan suhu 80°C. Gula pereduksi merupakan golongan gula (karbohidrat) yang dapat mereduksi senyawa-senyawa penerima elektron. Glukosa dan fruktosa merupakan contoh dari gula pereduksi. Gula pereduksi dicirikan dengan rantai yang mengandung gugus aldehida atau keton bebas. Semua monosakarida seperti glukosa, galaktosa, fruktosa dan disakarida seperti laktosa, maltosa, termasuk sebagai gula pereduksi. Akan tetapi polisakarida (sukrosa dan pati) bukan merupakan kelompok gula pereduksi (Afriza dan Nilda 2019). Nilai gula pereduksi menunjukkan banyaknya gula sederhana yang terdapat didalam *P.pulmonarius*. Gula pereduksi dapat digunakan oleh bakteri asal laktat di dalam usus untuk di fermentasi membentuk asam laktat dan senyawa-senyawa organik yang baik untuk kesehatan tubuh. Pada penelitian ini, metode yang digunakan untuk pengukuran kadar gula pereduksi adalah metode DNS. Metode DNS merupakan metode kolorimetri untuk mengetahui kadar gula pereduksi yang terdapat

didalam sampel. Metode ini didasarkan pada reduksi asam 3,5-dinitrosalisilat menjadi 3-amino-5-nitrosalisilat oleh gugus aldehida pada gula pereduksi dalam kondisi alkali (Başkan et al. 2016; Teixeira and Santos 2022). Adanya reduksi ini menyebabkan perubahan warna pada kompleks larutan yang berwarna kuning menjadi orange kemerahan yang dapat diukur absorbannya ada panjang gelombang 540 nm.

### Penapisan Senyawa Aktif

Penapisan senyawa aktif dilakukan terhadap masing-masing sampel yang diekstraksi dengan metode MAE pada suhu 60 °C, 80 °C, dan 100 °C dengan parameter uji pada golongan flavonoid, saponin, alkaloid, triterpenoid dan steroid. Penapisan senyawa aktif melalui uji kualitatif dapat dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa metabolit sekunder pada suatu bahan alam. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi untuk mempertahankan diri makhluk hidup dari cekaman lingkungan seperti suhu, gangguan hama, mikroorganisme, penyakit. Penemuan senyawa metabolit sekunder yang pada bahan alam diharapkan dapat memberikan informasi senyawa dengan efek farmakologi tertentu dalam penemuan obat baru (Anandi et al. 2021; Utama 2017).

Pengujian senyawa aktif pada golongan alkaloid dan steroid memberikan hasil yang negatif. Berdasarkan hasil pengujian alkaloid dengan pereaksi Wagner, tidak terbentuk kompleks larutan dengan endapan coklat pada larutan sampel yang menandakan tidak terdapatnya senyawa golongan alkaloid didalam sampel. Hasil yang sama ditunjukan pada pengujian senyawa golongan alkaloid menggunakan pereaksi Mayer. Larutan uji tidak membentuk endapan putih yang menandakan sampel tidak mengandung senyawa golongan alkaloid. Hasil pengujian negatif ditunjukan pula pada senyawa golongan steroid dikarenakan tidak terbentuknya seulas cincin biru kehijauan pada larutan sampel.

Pengujian terhadap senyawa metabolit sekunder menunjukkan hasil positif pada

golongan flavonoid, saponin dan triterpenoid. Hasil positif pada pengujian senyawa golongan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna pada lapisan amil alkohol pada masing-masing sampel. Agar flavonoid bisa diidentifikasi, maka ikatan glikosida dengan flavonoid dalam sampel harus diputus dengan cara mereduksi ikatan glikosida dengan penambahan HCl dan serbuk Mg yang mana hasil yang didapatkan positif karena terbentuk warna kuning. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder dengan struktur polifenolik yang banyak ditemukan pada tanaman dan sayuran. Senyawa golongan flavonoid merupakan komponen penting dalam industri nutrasetikal, farmasi dan kosmetik karena memiliki sifat sebagai antioksidan, anti inflamasi, anti kanker dan dapat memodulasi seluler kunci fungsi enzim (Aryal et al. 2019; Khoirunnisa dan Sumiwi 2019). Aktifitas senyawa golongan flavonoid ditentukan berdasarkan jumlah dan posisi gugus OH. Efek antioksidan senyawa ini disebabkan oleh penangkapan radikal bebas melalui donor atom hidrogen dari gugus hidroksil (Winahyu, Retnaningsih, dan Aprilia 2019; Panche et al. 2016).

Hasil pengujian pada senyawa golongan triterpenoid menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya seulas cincin berwarna merah kecokelatan. Senyawa golongan triterpenoid dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi yang meliputi antiviral, antibakteri, antiinflamasi, antikanker dan meningkatkan sistem imun (Anandi et al. 2021; Nassar et al. 2010; Sutardi 2016). Adapun hasil pengujian pada golongan senyawa saponin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit dan buih tidak hilang setelah ditambahkan HCL. Timbulnya buih pada uji Forth menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Saponin memiliki glikosil sebagai gugus polar serta gugus steroid atau triterpenoid sebagai gugus nonpolar sehingga bersifat aktif permukaan dan membentuk misel saat dikocok dengan air (Setyowati et al. 2014).



## KESIMPULAN

Metode *microwave assisted extraction* (MAE) telah dilakukan menggunakan suhu 60 °C, 80 °C, dan 100 °C terhadap jamur tiram coklat (*P. pulmonarius*). Ketiga perlakuan suhu tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap kadar total karbohidrat. MAE pada suhu 60 °C secara berbeda nyata menunjukkan kadar beta glukan paling tinggi dan kadar gula pereduksi paling rendah dibandingkan kedua suhu lainnya. Hal ini menunjukkan ekstraksi MAE pada suhu 60 °C dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa fungsional beta glukan dari jamur tiram coklat secara optimal. Selain itu, senyawa aktif pada perlakuan suhu 60 °C positif terhadap saponin, triterpenoid, dan flavonoid. Hasil penapisan senyawa aktif ini sama seperti perlakuan pada suhu 80 °C dan 100 °C. Penggunaan suhu 60 °C pada metode MAE terhadap jamur tiram coklat paling baik dibandingkan penggunaan suhu 80 °C dan 100 °C karena dapat menghasilkan kadar beta glukan (senyawa fungsional) yang paling tinggi dan tetap dapat mengekstraksi senyawa aktif lainnya serta penggunaan energi secara minimal (suhu terendah).

## KONTRIBUSI PENULIS

Para penulis naskah ini memiliki kontribusi yang sama dalam pembuatan naskah. RRE dan NW membuat kerangka penelitian. IS, K dan NW mengumpulkan sampel. RRE, IS, AZNI, K, RLRA dan NW melakukan analisis laboratorium. Semua penulis melakukan pengolahan data dan penulisan naskah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afriza, R., & I. Nilda. 2019. Analisis Perbedaan Kadar Gula Pereduksi Dengan Metode Lane Eynon Dan Luff Schoorl Pada Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*).” *Jurnal Temapela* 2(2): 90–96.
- Anandi, F., PR. Ferdian, J. Pratiwi, RLR. Amalia, Haerul, N. Fitriana, & AS. Nurinsyah. 2021. Penapisan Senyawa Aktif Dan Uji Toksisitas LC50 Lendir Dua Spesies Keong Darat: *Hemiplecta Humphyreysiana* Lea, 1840 dan *Amphidromus Palaceus* Mousson, 1849 Sebagai Sediaan Nutrikosmesetikal Potensial. *Zoo Indonesia* 30(2): 106–16.
- Aryal, S., Baniya, MK., K. Danekhu, P. Kunwar, R. Gurung, & N. Koirala. 2019. Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants* 8(4).
- Başkan, KS., E. Tutem, E. Akyuz, S. Ozen, & R. Apak. 2016. Spectrophotometric Total Reducing Sugars Assay Based on Cupric Reduction. *Talanta* 147: 162–68.
- Batbayar, S., DH. Lee, & HW. Kim. 2012. Immunomodulation of Fungal  $\beta$ -Glucan in Host Defense Signaling by Dectin-1. *Biomolecules and Therapeutics* 20(5): 433–45.
- Bhuyan, DJ., Vuong, QV., Chalmers, AC., van Altena, IA., Bowyer, MC. & Scarlett, CJ.. 2015. “Microwave-Assisted Extraction of Eucalyptus Robusta Leaf for the Optimal Yield of Total Phenolic Compounds.” *Industrial Crops and Products* 69: 290–99. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.044>.
- Cheong, KL., Wang, LY., Wu, DT., Hu, DJ., Zhao, J., & Li, SP. 2016. Microwave-Assisted Extraction, Chemical Structures, and Chain Conformation of Polysaccharides from a Novel *Cordyceps Sinensis* Fungus UM01. *Journal of food science* 81(9): C2167–74.
- Elfirta, RR., & I. Saskiawan. 2020. The Functional Character Of *Auricularia auricula* Crude Polysaccharides: Anti oxidant And Antibacterial Activity. *Berita Biologi* 19(3B).
- Ermawar, RA., RH. Setyawan, RR. Elfirta, N. Widhyastuti, RS. Ningrum, DA. Pramasari, D. Sondari, E. Hermiati, & I. Saskiawan. 2022. Title Translation in English: ‘Production Process of Beta Glucan Extract Powder from White-Oyster Mushroom and Enzymatic Purification. *Direktorat manajemen kekayaan intelektual*.
- Gao, L., Y. Wang, F. Zhang, S. Li, J. Zhao, Q. Zhang, J. Ya, Y. Ma, Y., Z. Wang, & W. Chen. 2022. A Standardized Method for the Quantification of Polysaccharides: An Example of Polysaccharides from *Tremella uciformis*. *LWT* 167(July): 113860. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113860>.
- Gharibzahedi, SMT., FJM. Quijal, FJ. Barba, & Z. Altintas. 2022. Current Emerging Trends

- in Antitumor Activities of Polysaccharides Extracted by Microwave- and Ultrasound-Assisted Methods. *International Journal of Biological Macromolecules* 202: 494–507. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.01.088>.
- Hassanah, N., & I. Saskiawan. 2015. Aktivitas Selulase Isolat Jamur Dari Limbah Media Tanam Jamur Merang. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 1(Imas 2009): 1110–15.
- He, JL., H. Guo, SY. Wei, J. Zhou, PY. Xiang, L. Liu, L. Zhao, W. Qin, RY. Gan, & DT. Wu. 2020. Effects of Different Extraction Methods on the Structural Properties and Bioactivities of Polysaccharides Extracted from Qingke (Tibetan Hulless Barley). *Journal of Cereal Science* 92 (December 2019): 102906. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102906>.
- Ince, AE., S. Sahin, & SG. Sumnu. 2013. Extraction of Phenolic Compounds from Melissa Using Microwave and Ultrasound. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 37(1): 69–75.
- Jakiyah, E., HU. Hasanah, & DNR. Sari. 2017. Persilangan Jamur Tiram Coklat (*Pleurotus cytidiosus*) dengan Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Varietas Grey Oyster Menggunakan Metode Fusi Miselium Monokarion. *Bioma* 6(2): 11–20.
- Jayachandran, M., J. Xiao, & B. Xu. 2017. A Critical Review on Health Promoting Benefits of Edible Mushrooms through Gut Microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*.
- Kadnikova, IA., R. Costa, TK. Kalenik, ON. Guruleva, & S. Yanguo. 2015. Chemical Composition and Nutritional Value of the Mushroom *Auricularia suricula*-Judae. *Journal of food and nutrition research* 3 (8): 478–82. doi:10.12691/jfnr-3-8-1.
- Khoirunnisa, I., & S. Sumiwi. 2019. Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktifitas Farmakologi. *Farmaka* 17(2): 131–42. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/21922>.
- Khursheed, R., SK. Singh, S. Wadhwa, M. Gulati, & A. Awasthi. 2020. Therapeutic Potential of Mushrooms in Diabetes Mellitus: Role of Polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules* 164: 1194–1205. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.145>.
- Kim, MY., Seguin, P., Ahn JK., Kim, JJ., Chun, SC., Kim, EH., Seo, SH., Kang, EY., Kim, SL., Park, YJ., Ro, HM., & Chung, IM. 2008. Phenolic Compound Concentration and Antioxidant Activities of Edible and Medicinal Mushrooms from Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 7265–70. doi:10.1021/jf8008553.
- Lam, KL., & Cheung PCK. 2013. Non-Digestible Long Chain Beta-Glucans as Novel Prebiotics. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 2(1): 45–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2013.09.001>.
- Lavi, I., Nimri, L., Leyinson, D., Peri, I., Hadar, Y., & Betty, S. 2012. Glucans from the Edible Mushroom *Pleurotus pulmonarius* Inhibit Colitis-Associated Colon Carcinogenesis in Mice. *Journal of Gastroenterology* 47(5): 504–18.
- Li, X., Wang, L., & Wang, Z. 2017. Structural Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharide from *Hohenbuehelia Serotina*. *International Journal of Biological Macromolecules*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.12.089>.
- Maeng, JH., HM. Shahbaz, K. Ameer, Y. Jo, & JH. Kwon. 2017. Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from *Coriolus Versicolor* Mushroom Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Process Engineering* 40(2): 1-8. DOI: 10.1111/jfpe.12421.
- Mahardika, RG., & O. Roanisca. 2019. Microwave-Assisted Extraction of Polyphenol Content from Leaves of *Tristanopsis merguensis* Griff. *ASEAN Journal of Chemical Engineering* 19(2): 110–19. DOI: 10.22146/ajche.50448.
- Megazyme. 2021. Mushroom and Yeast Beta-Glucan Assay Procedure (K-YBGL 02/21). *megazyme* 21: 1–16. [www.megazyme.com](http://www.megazyme.com).
- Moolkaew, P., T. Junyusen, N. Chatchavanthatri, VM. Phan, & S. Sornsomboonsuk. 2021. Microwave-Assisted Extraction Of *Pleurotus sajorcaju* Polysaccharides and

- Characterization Of Bioactive Compounds. *Suranaree Journal of Science and Technology*. 26(4): 520–32.
- Moradali, MF., H. Mostafavi, S. Ghods, & GA. Hedjaroude. 2007. Immunomodulating and Anticancer Agents in the Realm of Macromycetes Fungi (Macrofungi). *International Immunopharmacology* 7(6): 701–24. doi:10.1016/j.intimp.2007.01.008
- Morales, D., FR. Smiderle, M.. Villalva, H. Abreu, C. Rico, S. Santoyo, M. Iacomini, & CS. Rivas. 2019. Testing the Effect of Combining Innovative Extraction Technologies on the Biological Activities of Obtained  $\beta$ -Glucan-Enriched Fractions from *Lentinula Edodes*. *Journal of Functional Foods* 60(2019): 1-11. https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103446.
- Murphy, EJ., E. Rezoagli, R. Pogue, BISA. Paiva, BISA., IIZ. ABidin, GW. Fehrenbach, E. O'Neil, I. Major, JG. Laffey, N. & Rowan, N. 2022. Immunomodulatory Activity of  $\beta$ -Glucan Polysaccharides Isolated from Different Species of Mushroom – A Potential Treatment for Inflammatory Lung Conditions. *Science of the Total Environment* 809: 152177. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152177.
- Mustapa, AN., A. Martin, JR. Gallego, JR., RB. Mato, & Cocero. 2015. Microwave-Assisted Extraction of Polyphenols from *Clinacanthus nutans* Lindau Medicinal Plant: Energy Perspective and Kinetics Modeling. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 97: 66–74. http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2015.08.013.
- Nassar, ZD., AAF. Aisha, & AMSA. Majid, . 2010. The pharmacological properties of terpenoids from *Sandoricum koetjape*. 1 (12):1–11. http://www.webmedcentral.com/article\_view/1311.
- Piliang, WG. & Suryahadi. 1996. Biofermentasi Limbah Lignoselulosa oleh Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan Efeknya Terhadap Metabolisme dan Populasi Mikroba Rumen. *Jurnal Biologi Indonesia*. 1 (4): 37 - 43.
- Reynolds, A., Mann, J., Cummings, J., Winter, N., Mate, E., & Morenga, LT. 2019. Carbohydrate Quality and Human Health: A Series of Systematic Reviews and Meta-Analyses. *The Lancet* 393(10170): 434–45. http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31809-9.
- Ruthes, AC, Smiderle, FR., & Iacomini, M. 2015. D -Glucans from Edible Mushrooms: A Review on the Extraction , Purification and Chemical Characterization Approaches.” *Carbohydrate Polymers* 117: 753–61. http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.051.
- Saskiawan, I. 2015. Penambahan Inokulan Mikroba Selulolitik pada Pengomposan Jerami Padi untuk Media Tanam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). *Jurnal Biologi Indonesia*. 11 (2):187 - 193.
- Saskiawan, I., N. Widhyastuti, Kasirah & D. Sutardi. 2021. Pola Aktivitas Enzim Lakase, Selulase, dan Xilanase Pada Masa Pertumbuhan Budidaya Jamur Tiram Putih [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.] . *Jurnal Biologi Indonesia*. 17 (2): 145 - 151.
- Setyowati, WAK., SRD. Ariani, B. Ashadi, Mulyani, & CP. Rahmawati. 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Seminar Nasional Kimia Dan Pendidikan Kimia VI*: 271–80.
- Smiderle, FR., D. Morales, AG. Ramirez, LI. de Jesus, B. Gilbert-Lopez, M. Iacomini, & C. Soler-Rivas. 2017. Evaluation of Microwave-Assisted and Pressurized Liquid Extractions to Obtain  $\beta$ -D-Glucans from Mushrooms. *Carbohydrate Polymers* 156: 165–74. http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.029.
- Sutardi. 2016. Kandungan bahan aktif tanaman pegagan dan khasiatnya untuk meningkatkan sistem imun tubuh. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*. 35(3), 121. https:// doi.org/10.21082/jp3.v35n3.2016.p121-130
- Teixeira, GG., & PM. Santos. 2022. Simple and Cost-Effective Approaches for Quantification of Reducing Sugar Exploiting Digital Image Analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*. 113(2022):

104719. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104719>.
- Muthmainnah, B. 2017. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) Dengan Metode Uji Warna. *Media farmasi poltekes makasar* 13(2): 1–14.
- Vetvicka, V., & J. Vetvickova. 2020. Anti-Infectious and Anti-Tumor Activities of  $\beta$ -Glucans. *Anticancer Research* 40(6): 3139–45. doi:10.21873/anticancer.14295
- Vlasenko, VA., TN. Ilyicheva, TV. Teplyakova, SV. Svyatchenko, SV. Asbaganov, IV. Zmitrovich, & AV. Vlasenko. 2020. Antiviral Activity of Total Polysaccharide Fraction of Water and Ethanol Extracts of *Pleurotus pulmonarius* against the Influenza A Virus.” *Current Research in Environmental and Applied Mycology*. 10 (1): 224–35. Doi 10.5943/cream/10/1/2
- Winahyu, DA., A. Retnaningsih, & M. Aprilia. 2019. Penetapan Kadar Flavonoid Pada Kulit Batang Kayu Baru Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Analisis Farmasi* 4(1): 29–36.
- Wiyantoko, B., R. Rusitasari, & RN. Pitri. 2021. Study of Hydrolysis Process from Pineapple Leaf Fibers Using Sulfuric Acid, Nitric Acid, and Bentonite Catalysts. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis* 16(3): 571–80. <https://doi.org/10.9767/bcrec.16.3.10281.571-580>
- Zhang, YK., Q. Zhang, J. Lu, J., JL. Xu, H. Zhang, & JH. Wang. 2017. Physicochemical Properties of Tremella Fuciformis Polysaccharide and Its Interactions with Myofibrillar Protein. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 11:18–25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2017.06.002>.