



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN
Jl. Prof. Dr. H.R. Boenyamin No.708 Grendeng
Purwokerto 53122

Untuk Invensi dengan Judul : KOMPOSISI MEDIUM DAN PROSES PEMBUATAN β -
GLUKAN (PLEURAN) JAMUR *PLEUROTUS OSTREATUS*

Inventor : Nuraeni Ekowati

Tanggal Penerimaan : 26 November 2015

Nomor Paten : IDP000073628

Tanggal Pemberian : 15 Desember 2020

Pelindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
u.b.

Direktur Paten, Desain Tata Letak Sirkuit Terpadu dan
Rahasia Dagang



Drs. YASMON, M.L.S.
NIP. 196805201994031002



(11) IDP000073628 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 15 Desember 2020

(51) Klasifikasi IPC⁸ : A 01G 1/00

(21) No. Permohonan Paten : P00201507754

(22) Tanggal Penerimaan: 26 November 2015

(30) Data Prioritas :

(31) Nomor

(32) Tanggal

(33) Negara

(43) Tanggal Pengumuman: 11 November 2016

(56) Dokumen Pembanding:

P00201100579

P00201300517

WO2002085950 A1

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN
Jl. Prof. Dr. H.R. Boenyamin No.708 Grendeng
Purwokerto 53122

(72) Nama Inventor :
Nuraeni Ekowati, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Drs. Abdi Saputra Sembiring, M.Si.

Jumlah Klaim : 2

(54) Judul Invensi : KOMPOSISI MEDIUM DAN PROSES PEMBUATAN β -GLUKAN (PLEURAN) JAMUR *PLEUROTUS OSTREATUS*

(57) Abstrak :

Invensi ini berhubungan dengan komposisi medium padat untuk memperoleh tubuh buah dari jamur *Pleurotus ostreatus* dan proses produksi β -Glukan dari tubuh buah. Komposisi medium padat dengan penambahan tepung jagung 1%, 2%, dan 3%. Dengan proses perwujudan invensi ini, komposisi medium padat dengan penambahan tepung jagung 3% dapat digunakan sebagai medium produksi β -Glukan. Proses isolasi β -Glukan dilakukan dengan ekstraksi menggunakan air panas suhu 95-100°C selama lima jam, dan diendapkan menggunakan etanol 95%.



Deskripsi

KOMPOSISI MEDIUM DAN PROSES PEMBUATAN β -GLUKAN JAMUR

Pleurotus ostreatus

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan suatu proses kultivasi jamur untuk mendapatkan β -glukan. Lebih khusus lagi yaitu menentukan komposisi medium padat untuk produksi senyawa bioaktif β -glukan secara optimal dan proses isolasi β -glukan dari *Pleurotus ostreatus*.

Latar Belakang Invensi

Pleurotus ostreatus merupakan jamur pangan dan juga dapat digunakan dalam bidang kesehatan. *Pleurotus ostreatus* di Indonesia dikenal sebagai jamur tiram putih, hal ini dikarenakan jamur ini warnanya putih bersih, dan bentuk tubuh buahnya seperti tiram dengan perlekatan tangkai tidak tepat di tengah tudungnya. Lindequist et al. (2005), Gregori et al. (2007), menyatakan bahwa *Pleurotus ostreatus* tidak hanya berpotensi sebagai jamur pangan (*edible mushroom*), namun juga dapat digunakan sebagai bahan obat (*medicinal mushroom*). Chakravarty (2011) juga menyatakan bahwa jamur tiram putih dapat menghasilkan polisakarida (β glukan/pleuran) yang mempunyai aktivitas imunomodulator dan antikanker.

Senyawa bioaktif β -glukan hanya diproduksi oleh spesies jamur tertentu dan produknya sangat ditentukan oleh kandungan nutrisi pada medium pertumbuhannya. Oleh karena itu sangat penting untuk melakukan optimasi nutrisi dalam mediumnya. Ekowati et al. (2011) menyatakan bahwa dengan penambahan mineral pada medium fermentasi cair, memberikan hasil produksi senyawa bioaktif *Lentinula edodes* lebih tinggi dibandingkan medium standar tanpa penambahan mineral.

Beberapa produk senyawa bioaktif yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat adalah golongan terpenoid, steroid, alkaloid, flavonoid dan β -glukan (Dewick, 2002). Senyawa β -glukan merupakan kelompok polisakarida, senyawa tersebut larut dalam air, stabil dalam panas, asam dan basa. β -glukan merupakan imunomodulator

yang berfungsi untuk mengaktifkan sistem kekebalan tubuh dengan cara berikatan dengan reseptor spesifik pada makrofag, yaitu Dectin-1 dan juga berikatan dengan *Complement Receptor 3* (CR3) pada komplemen (Smith et al., 2002; Daba dan Ezeronye, 2003).

5 Invensi sebelumnya yang dikemukakan oleh Leona, G (WO2002085950 A1) mengenai metode isolasi β -glukan dari sporangia *Pleurotus ostreatus*, namun komposisi medium dengan penambahan tepung jagung dan isolasi β -glukan ekstraseluler dari medium fermentasi cair belum ada.

10 Invensi ini menghasilkan pengayaan nutrisi pada medium tanam padat dengan sumber bahan organik maupun anorganik, dan beberapa kombinasi untuk meningkatkan produksi β -glukan *Pleurotus ostreatus*.

15 **Uraian Singkat Invensi**

Invensi ini berkaitan dengan suatu proses produksi β -glukan dari tubuh buah *Pleurotus ostreatus* dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- a. membudidayakan *Pleurotus ostreatus* pada medium padat dengan
20 bahan dasar serbuk gergaji kayu 100 kg, bekatul 15 kg, gypsum (CaSO_4) 1,5 kg, dan kalsium karbonat 1 kg;
- b. mengayakan medium tanam dengan menambahkan tepung jagung sebanyak 1-3% dari total bobot medium;
- c. mengkomposkan media tanam selama lima hari;
- 25 d. memasukkan kompos ke dalam plastik polipropilen (bobot medium tanam 1 kg);
- e. memadatkan kompos dalam kantong plastik dan menutup rapat;
- f. mensterilisasi dalam autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit;
- 30 g. mendinginkan media tanam sampai temperatur kamar;
- h. menginokulasi media tanam dengan bibit *Pleurotus ostreatus*;
- i. menginkubasikan media tanam selama 28 hari pada temperatur kamar sampai terbentuk tubuh buah;
- j. memanen tubuh buah *Pleurotus ostreatus*;

k. mengeringkan dan menghaluskan tubuh buah *Pleurotus ostreatus* sampai menjadi serbuk;

l. mengekstraksi serbuk *Pleurotus ostreatus* menggunakan 100 ml air panas (98-100°C) selama 5 jam;

5 m. menambahkan etanol 95% dan menyimpan pada lemari pendingin dengan temperatur 4°C;

n. mensentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 8.000 rpm;

o. memperoleh endapan putih;

10 p. membilas endapan putih yang terbentuk dengan etanol 95% dan aseton;

q. mengeringkan pada temperatur kamar sampai diperoleh endapan putih serbuk β -glukan.

Invensi ini juga berkaitan dengan suatu proses produksi β -glukan dari tubuh buah *Pleurotus ostreatus* dimana dimana poin (b)
15 mengayakan medium tanam dengan menambahkan tepung jagung sebanyak 3% dari total bobot medium tepung jagung.

Invensi ini pada prinsipnya adalah menentukan komposisi medium untuk menghasilkan β -glukan dari *Pleurotus ostreatus* yang akan diisolasi dari tubuh buah (β -glukan intraseluler) dan filtrat
20 medium fermentasinya (β -glukan ekstraseluler). Produksi β -glukan yang optimal dapat diperoleh dari medium yang komposisi nutriennya sesuai, sehingga perlu dilakukan optimasi nutrisi dalam mediumnya dan proses isolasi β -glukan secara tepat. Untuk menghasilkan β -glukan yang optimal diperlukan beberapa tahapan sebagai berikut:
25 jamur *Pleurotus ostreatus* ditanam pada medium padat dengan komposisi medium serbuk gergaji dll. dengan perlakuan penambahan tepung jagung 1%, 2%, dan 3%. Selain itu juga ditanam pada tiga jenis medium cair dengan komposisi nutrisi yang berbeda yaitu medium 1, medium 2, dan medium 3. Dengan proses perwujudan invensi
30 ini, medium padat dengan penambahan tepung jagung 3% dapat digunakan untuk produksi β -glukan dari tubuh buah *Pleurotus ostreatus*, dan medium 3 dengan komposisi (g/l) glukosa 40,0; pepton 1,0; ekstrak ragi 2,0; KH_2PO_4 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2; $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ 5,0 dapat digunakan untuk produksi β -glukan dari filtrat medium
35 *Pleurotus ostreatus*.

Uraian Lengkap Invensi

Senyawa β -glukan merupakan salah satu senyawa bioaktif yang sering digunakan untuk meningkatkan daya kekebalan tubuh atau imunomodulator. Kebutuhan senyawa tersebut untuk bidang kesehatan sangat tinggi, namun demikian sampai saat ini belum dapat terpenuhi karena harganya sangat mahal dan produknya masih diimpor. Salah satu jamur pangan yang dapat menghasilkan β -glukan adalah *Pleurotus ostreatus*. β -glukan dapat dipanen dari dalam sel (intraseluler) maupun diluar sel (ekstraseluler). Invensi ini difokuskan pada formulasi medium optimum dan teknik produksi yang sederhana.

Metode untuk mendapatkan β -glukan, dibedakan menjadi dua yaitu β -glukan yang diisolasi dari sel jamurnya, digunakan tubuh buah *Pleurotus ostreatus*. Tubuh buah diperoleh dari budidaya pada medium padat dengan bahan dasar serbuk gergaji kayu sengon 100 kg; yang ditambah dengan bekatul 15 kg; Gypsum (CaSO_4) 1,5 kg; dan kalsium karbonat 1 kg. Perlakuan yang diberikan adalah pengayaan nutrisi dengan menambah tepung jagung sebanyak 0%, 1%, 2%, dan 3%. Semua bahan dicampur dan ditambahkan air sampai kandungan air mencapai 60%. Bahan yang sudah tercampur tersebut kemudian dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan dipadatkan. Medium tanam yang sudah berada di dalam plastik kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf, setelah medium dingin (suhu sekitar 25-30°C) dilakukan inokulasi bibit kemudian diinkubasi selama 30 hari. Pada hari ke 40 sudah dapat dilakukan pemanenan tubuh buah, kemudian dilakukan isolasi β -glukan. Metode untuk mendapatkan β -glukan ekstraseluler dilakukan kultivasi pada medium cair. Perlakuannya adalah tiga jenis medium yang berbeda kandungan nutrienya yaitu medium 1, medium 2, dan medium 3. Jamur dikultur selama 21 hari. *P.ostreatus* dikultur menggunakan tiga jenis medium cair (Medium 1, medium 2, medium 3). Medium 1 dengan komposisi = (g/l) kentang 200,0; dekstrosa 20,0; ekstrak biji jagung 10,0; Medium 2 dengan komposisi = (g/l) glukosa 20,0; pepton 5,0; ekstrak ragi 2,0; KH_2PO_4 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5; dan NaCl 0,06; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.4; ZnCl_2 0.2; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.8; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.1; Medium 3 dengan komposisi =

(g/l) glukosa 40,0; pepton 1,0; ekstrak ragi 2,0; KH_2PO_4 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2; $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ 5,0. dan diinkubasi pada inkubator penggoyang selama 21 hari. Biomassa miselium yang telah berumur 21 hari dipanen. Biomassa miselium disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 41. Filtrat medium yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan pengering beku sampai diperoleh volume lima ml, kemudian diendapkan dengan etanol 95%, disimpan pada suhu 4°C selama 1 malam.

Perbedaan antara medium 1, medium 2, dan medium 3 adalah berbeda pada kandungan karbon, nitrogen dan mineral. Dari uji statistik diperoleh hasil medium 3 dengan komposisi (g/l) glukosa 40,0; pepton 1,0; ekstrak ragi 2,0; KH_2PO_4 1,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2; $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ 5,0; menunjukkan hasil terbaik, yaitu didapatkan β -glukan sebanyak 2,7 g/L. β -glukan dari medium 1 dan medium 2 berturut-turut sebanyak 0,9 dan 1,4 g/L. Kandungan β -glukan tertinggi diperoleh dari medium 3 dan berbeda nyata dengan medium 1 dan medium 2. Medium 3 merupakan medium yang mempunyai kandungan karbon tinggi yaitu glukosa 40 g/L, kandungan glukosa ini lebih tinggi dari medium lainnya dan glukosa merupakan prekursor dari β -glukan. Selain itu pada medium ini tersedia beberapa macam mineral sehingga metabolisme berjalan dengan optimal. Medium ini hanya sedikit mengandung sumber nitrogen dan tinggi kandungan karbon, sehingga kelebihan sumber karbon dalam medium digunakan oleh *Pleurotus ostreatus* untuk pembentukan β -glukan.

25

30

35

Klaim

1. Suatu proses produksi β -glukan dari tubuh buah *Pleurotus ostreatus* dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- a. membudidayakan *Pleurotus ostreatus* pada medium padat dengan bahan dasar serbuk gergaji kayu 100 kg, bekatul 15 kg, gypsum (CaSO_4) 1,5 kg, dan kalsium karbonat 1 kg;
- b. mengayakan medium tanam dengan menambahkan tepung jagung sebanyak 1-3% dari total bobot medium;
- c. mengkomposkan media tanam selama lima hari;
- d. memasukkan kompos ke dalam plastik polipropilen (bobot medium tanam 1 kg);
- e. memadatkan kompos dalam kantong plastik dan menutup rapat;
- f. mensterilisasi dalam autoklaf pada temperatur 121°C selama 15 menit;
- g. mendinginkan media tanam sampai temperatur kamar;
- h. menginokulasi media tanam dengan bibit *Pleurotus ostreatus*;
- i. menginkubasikan media tanam selama 28 hari pada temperatur kamar sampai terbentuk tubuh buah;
- j. memanen tubuh buah *Pleurotus ostreatus*;
- k. mengeringkan dan menghaluskan tubuh buah *Pleurotus ostreatus* sampai menjadi serbuk;
- l. mengekstraksi serbuk *Pleurotus ostreatus* menggunakan 100 ml air panas ($98-100^\circ\text{C}$) selama 5 jam;
- m. menambahkan etanol 95% dan menyimpan pada lemari pendingin dengan temperatur 4°C ;
- n. mensentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 8.000 rpm;
- o. memperoleh endapan putih;
- p. membilas endapan putih yang terbentuk dengan etanol 95% dan aseton;
- q. mengeringkan pada temperatur kamar sampai diperoleh endapan putih serbuk β -glukan.

2. Suatu proses produksi β -glukan dari tubuh buah *Pleurotus ostreatus* sesuai dengan klaim 1 dimana poin (b) mengayakan medium tanam dengan menambahkan tepung jagung sebanyak 3% dari total bobot medium tepung jagung.

5

10

15

20

25

30

35

Abstrak**KOMPOSISI MEDIUM DAN PROSES PEMBUATAN β -GLUKAN JAMUR*****Pleurotus ostreatus***

5 Invensi ini berhubungan dengan komposisi medium padat untuk memperoleh tubuh buah dari jamur *Pleurotus ostreatus* dan proses produksi β -Glukan dari tubuh buah. Komposisi medium padat dengan penambahan tepung jagung 1%, 2%, dan 3%. Dengan proses perwujudan invensi ini, komposisi medium padat dengan penambahan tepung
10 jagung 3% dapat digunakan sebagai medium produksi β -Glukan. Proses isolasi β -Glukan dilakukan dengan ekstraksi menggunakan air panas suhu 95-100°C selama lima jam, dan diendapkan menggunakan etanol 95%.