

3. HASIL

3.1. Senyawa Pada Jamur Liar dan Keamanannya

Jamur liar banyak ditemukan di berbagai benua, khususnya benua Asia, Eropa dan Amerika. Namun, tidak semua jamur liar merupakan jamur beracun. Oleh sebab itu diperlukan adanya data untuk mengetahui konsentrasi dari beberapa spesies, senyawa toksin yang terkandung didalam jamur sehingga mempengaruhi efek kesehatan, metode deteksi untuk analisis senyawa toksin.



3.1.1. Konsentrasi Jamur

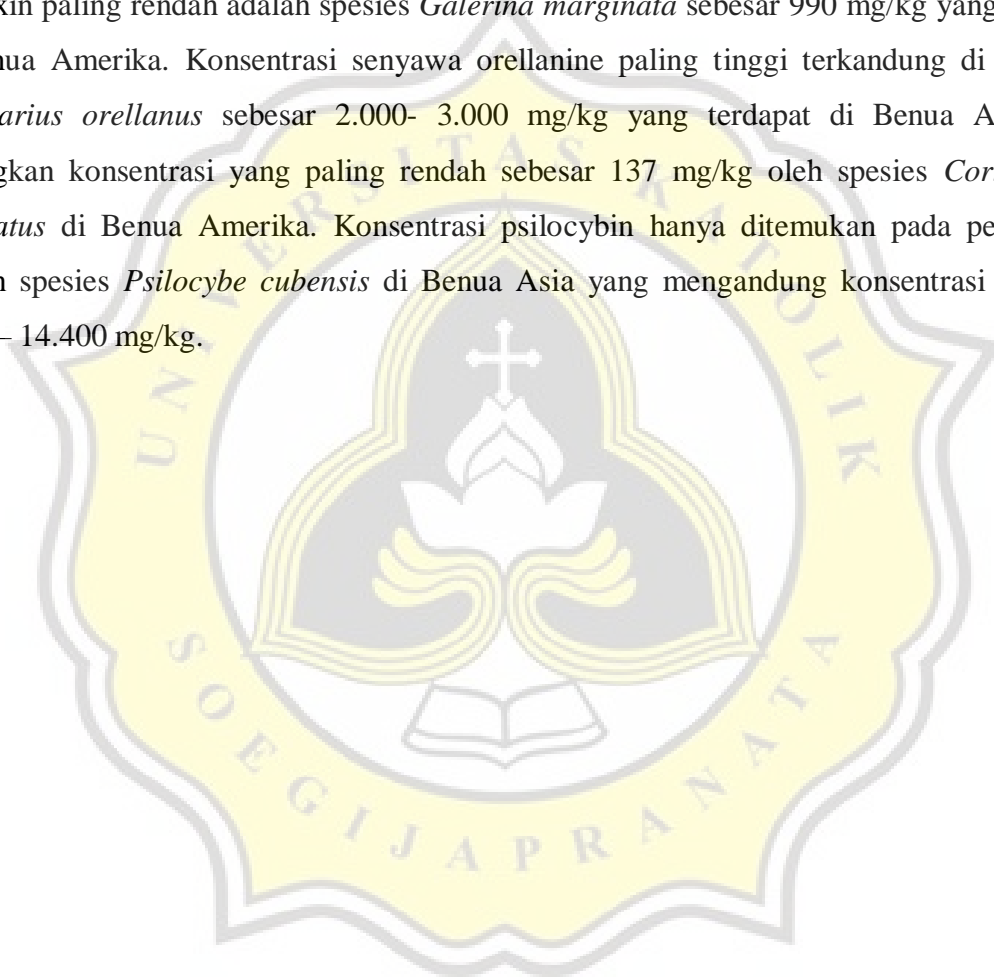
Tabel 4. Konsentrasi Jamur Berdasarkan Wilayahnya

NO	WILAYAH	SPESES JAMUR	SENYAWA TOKSIN	KONSENTRASI (Berat Kering) (mg/kg)	REFERENSI
1	Asia	<i>Inocybaceae muscarium</i>	Muscarine	1.603 ± 123 mg/kg	(Deng <i>et al.</i> , 2021)
		<i>Inocybaceae hainanense</i>	Muscarine	1.187 ± 302 mg/kg	
2	Asia	<i>Inocybe squarrosolutea</i>	Muscarine	136,4 ± 25,4–1.683 ± 313 mg/kg	(Li <i>et al.</i> , 2021)
		<i>Inocybe squarrosifulva</i>	Muscarine	31,2 ± 5,8–101,8 ± 18,9 mg/kg	
3	Asia	<i>Inocybe serotina</i>	Muscarine	324 ± 62,4 mg/kg	(Xu <i>et al.</i> , 2020)
4	Amerika	<i>Galerina venenata</i>	Amatoxin	1.580 mg/kg	(Bever <i>et al.</i> , 2020)
		<i>Galerina marginata</i>	Amatoxin	990 mg/ kg	
5	Asia	<i>Amanita fuliginea</i>	Amatoxin	4.330- 12.000 mg/kg	(Zhou <i>et al.</i> , 2017)
6	Amerika	<i>Cortinarius armillatus</i>	Orellanine	137 mg/kg	(Shao <i>et al.</i> , 2016)
		<i>Cortinarius rubellus</i>	Orellanine	153 mg/kg	
7	Amerika	<i>Cortinarius orellanus</i>	Orellanine	2.000- 3.000 mg/kg	(Koller <i>et al.</i> , 2002)

		<i>Cortinarius rubellus</i>	Orellanine	1.000 mg/kg	
8	Asia	<i>Psilocybe cubensis</i>	Psilocybin	5.100 – 14.400 mg/kg	(Tsujikawa <i>et al.</i> , 2003)



Dari Tabel 4 diketahui bahwa konsentrasi senyawa muscarine paling tinggi dan paling rendah terdapat di Benua Asia. Spesies *Inosperma muscarium* mengandung senyawa muscarine paling tinggi sebesar 1.603 ± 1230 mg/kg. Sedangkan, spesies *Inocybe squarrosifulva* yang mengandung konsentrasi senyawa muscarine paling rendah sebesar $31,2 \pm 5,8-101,8 \pm 18,9$ mg/kg. Konsentrasi senyawa amatoxin paling tinggi terdapat di Benua Asia yaitu spesies *Amanita fuliginea* mengandung sebesar 4.330-12.000 mg/kg. Sedangkan konsentrasi amatoxin paling rendah adalah spesies *Galerina marginata* sebesar 990 mg/kg yang berada di Benua Amerika. Konsentrasi senyawa orellanine paling tinggi terkandung di spesies *Cortinarius orellanus* sebesar 2.000- 3.000 mg/kg yang terdapat di Benua Amerika. Sedangkan konsentrasi yang paling rendah sebesar 137 mg/kg oleh spesies *Cortinarius armillatus* di Benua Amerika. Konsentrasi psilocybin hanya ditemukan pada penelitian dengan spesies *Psilocybe cubensis* di Benua Asia yang mengandung konsentrasi sebesar 5.100 – 14.400 mg/kg.



3.1.2. Metode Deteksi Senyawa

Tabel 5. Metode Deteksi Senyawa Beracun

NO	SPESES JAMUR	SENYAWA	METODE	JENIS KOLOM HPLC	PREPARASI	PELARUT	KECEPATAN ALIRAN PELARUT	RECOVERY	REFERENSI
1	<i>Lentinula edodes</i>	Muscarine	UPLC-MS/MS	Amida (2.1 mm × 100 mm, 1.7 µm)	dicampur dengan asetonitril dan divortex selama 30 detik, lalu dimasukkan ke rendam dalam ultrasonic selama 15 menit dan disentrifugasi selama 5 menit	Metanol : air (5:95)	1,22 ml/menit	95,56%	(Deng <i>et al.</i> , 2021)
2	<i>Lentinula edodes</i>	Muscarine	UPLC-MS/MS	Amida (2.1 mm × 100 mm, 1.7 µm)	dicampur dengan asetonitril dan divortex selama 30 detik, lalu dimasukkan ke rendam dalam ultrasonic selama 15 menit dan disentrifugasi selama 5 menit	Asam format	0,3 ml/ menit	95%	(Xu <i>et al.</i> , 2020)
3	<i>Inocybaceae</i>	Muscarine	LC-MS/MS	C18	dibekukan dalam nitrogen cair, ditumbuk halus dengan mortar, disentrifugasi,	Air dan Asetonitril	N/A	N/A	(Kosentka <i>et al.</i> , 2013)

4	<i>Inocybe virosa</i>	Muscarine	HPLC	C18	divortex selama 1 menit dan diekstraksi metanol dimurnikan dengan metanol lalu diekstrak ke dalam air Milli-Q dan dielusi melalui kartrid, 1 ml metanol dielusi	Amonium format, asam format, asetoni-tril, Metanol	0,2 ml/ menit	N/A	(Hallstrom & Thuvander, 1997)
5	<i>Inocybe virosa</i>	Muscarine	RP-HPLC	C18	didinginkan hingga kering di suhu 4°C, dihaluskan dan diekstraksi dengan etil akohol 50% dan diekstraksi selama 12- 15 menit dan prosesnya diulangi selama 4-5 kali	K ₂ HPO ₄ buffer dan Metanol (1:1)	0,6 ml/ menit	N/A	(Sai Latha <i>et al.</i> , 2020)
6	<i>Amanita phalloides</i> dan <i>Amanita muscaria</i>	Amatoxin	HPLC	C18	diencerkan dalam air murni, disuntikkan tanpa perlakuan awal sampel	Asetoni-tril dan Asam asetat (10:90)	1 ml/ menit	84%-104,6%	(Morel <i>et al.</i> , 2016)

7	<i>Galerina, Gymnopilus, Hebeloma, Flammula alnicola</i>	Amatoxin	HPLC	C18	digiling dan ditambahkan metanol	Amonium asetat dan Asetonitril	1 ml/ menit	N/A	(Bever <i>et al.</i> , 2020)
8	<i>Amanita subpallidorosea</i>	Amatoxin	HPLC	C18	digiling, ditimbang dan diekstraksi dengan asam format/ metanol/ air (0,5:50:49,5)	Amonium asetat dan Metanol	1 ml/ menit	N/A	(Wei <i>et al.</i> , 2017)
9	<i>Amanita bisporigera</i>	Amatoxin	HPLC	C18	direndam semalaman dalam media ekstraksi (metanol:air:HCL = 5:4:1), diekstraksi semalaman dan disentrifugasi selama 10 menit	Amonium asetat dan Asetonitril (90:10) dan (76:24)	1 ml/ menit	N/A	(Mcknight <i>et al.</i> , 2010)
10	<i>Amanita fuliginia</i>	Amatoxin	HPLC	(250 mm x 4.6 mm, ukuran partikel 10 mm)	diekstraksi dengan metanol 50% pada 25°C dan 150 rpm, disentrifugasi pada 4000 g selama 15 menit, disuspensikan dalam metanol 50%. Kedua	Amonium asetat dan Asetonitril (90:10) dan (76:24)	1 ml/ menit	N/A	(Zhou <i>et al.</i> , 2017)

					supernatan digabungkan dan dikeringkan, dilarutkan dan disaring				
11	<i>Amanita verna</i>	Amatoxin	RP-HPLC	C18	metanol:air:asam klorida (5:4:1), diinkubasi selama 1 hari dan disentrifugasi selama 5 menit	Amonium asetat dan Asetonitril (90:10)	1 ml/ menit	65%	(Yilmaz <i>et al.</i> , 2014)
12	<i>Genus Amanita</i>	Amatoxin	LC-MS/MS	ZIC HILIC (20 mm x 2.1 mm, 3.5 µm)	diinkubasi pada suhu 65°C selama 10 menit, disentrifugasi pada 14.000 rpm selama 5 menit. Lalu diekstraksi dengan air deionisasi: metanol: kloroform (4:2:3)	Amonium asetat dan Asam format	0,2 ml/ menit	N/A	(Dhippayom <i>et al.</i> , 2018)
13	<i>Amanita smithiana</i>	Amatoxin	<i>Thin Layer Chromatography</i> (TLC)	N/A	digiling dan disuspensikan dalam metanol selama 30 menit	Metanol– Isopropanol– Air– Asam asetat– Asetat (5:8:12:15:40)	N/A	N/A	(Kirchmair <i>et al.</i> , 2012)

14	<i>Lentinula edodes</i> , <i>Amanita virosa</i>	Amatoxin	LC-TOF MS	Amida-80 3 μ m (150 x 2.0 mm)	ditambahkan metanol, dihomogenkan, disentrifugasi selama 10 menit	Asetonitril dan Metanol	1 ml/ menit	87,9%-117%	(Ahmed <i>et al.</i> , 2010)
15	<i>Genus Amanita</i>	Amatoxin	Human Resource Management System (HRMS)	Atlantis HSS T3 (100 x 2.1 mm, 1.8 mm) / ACE-AQ 3 (150 x 3.0 mm, 3 μ m)	dicairkan dan dihomogenkan dengan metanol, diekstrak semalaman disentrifugasi pada 5000 rpm selama 5 menit dengan suhu 4°C	Air dan Metanol	0,45 ml/ menit	N/A	(Clarke <i>et al.</i> , 2012)
16	<i>Cortinarius rubellus</i>	Orellanine	HPLC	C18	dicampur dengan asam klorida, diekstraksi dan disentrifugasi pada 3000 rpm selama 30 menit	Amonium asetat dan Metanol	0,3 ml/ menit	78,30%	(Shao <i>et al.</i> , 2016)
17	<i>Cortinarius rubellus</i> dan <i>Cortinarius tubaeformis</i>	Orellanine	HPLC	C18	dikeringkan dan disimpan pada suhu -20°C, disentrifugasi pada 3500 rpm selama 10 menit	Amonium format dan Asam format	0,2 ml/ menit	N/A	(Herman <i>et al.</i> , 2012)
18	<i>Cortinarius rubellus</i> dan <i>Cortinarius orellanus</i>	Orellanine	HPLC	C18	diekstraksi metanol-KCL(4:1), disentrifugasi selama 15 menit	Asetonitril dan Air (5:95)	1 ml/ menit	N/A	(Koller <i>et al.</i> , 2002)

					pada 15000 g, diuapkan hingga kering pada suhu 60°C, dilarutkan dalam 1% asam trifluoroasetat dalam air				
19	<i>Cortinarius rubellus</i>	Orellanine	GC-MS	Kapiler Rxi-5Sil MS (0.25 mm x 0.25µm)	diekstraksi dan dilarutkan dalam metanol	metanol	8 ml/ menit	N/A	(Brondz, 2013)
20	<i>Genus Psilocybe</i>	Psilocybin	HPLC	Analitis (25 x 34 mm, 5 µm)	dikeringkan dan ditambahkan dengan metanol	KH ₂ PO ₄ dan Asetonitril	1 ml/ menit	N/A	(Musshoff <i>et al.</i> , 2000)
21	<i>Psilocybe caerulescens</i>	Psilocybin	HPLC	250 mm x 4.6 mm	dikeringkan, dihancurkan, dikeringkan hingga berat konstan, direndam dengan metanol, dicampurkan dengan pengocok, ekstrak metanol diuapkan dan disimpan dalam botol gelap dalam freezer	Air yang mengandung amonium asetat dan Metanol yang mengandung amonia asetat	N/A	N/A	(Garraway & Maharaj, 2007)

22	<i>Psilocybe subaeruginosa</i> , <i>Hypholoma aurantiaca</i> , <i>Panaeolina foenisecii</i>	Psilocybin	HPLC	C12 (150 mm x 4.6 mm)	diencerkan dengan metanol dan diekstraksi dengan metanol (1:1) dan disaring	Amonium format dan Metanol	0,5 ml/ menit	N/A	(Anastos <i>et al.</i> , 2006)
23	<i>Psilocybe cubensis</i> dan genus <i>Copelandia</i>	Psilocybin	HPLC	C18	diekstraksi dua kali dengan metanol selama 30 menit, disentrifugasi pada 3000 rpm selama 2 menit, diuapkan sampai kering dibawah aliran nitrogen	Amonium format dan Asetonitril	0,2 ml/ menit	N/A	(Tsujikawa <i>et al.</i> , 2003)
24	7 jamur halusinogen dan rambut	Psilocybin	LC-MS/MS	UPLC HSS T3 (100 × 2.1 mm, ukuran partikel 1.8 µm)	ditimbang dan ditambahkan metanol, dibekukan dan digiling dua kali dengan suhu dibawah 4°C	Asam format dan Asetonitril	0,2 ml/ menit	76%- 102%	(L. Zhou <i>et al.</i> , 2021)
25	<i>Psilocybe mexicana</i>	Psilocybin	LC-MS/MS	Kinetex HILIC (150 × 3.0 mm, ukuran partikel 2.6 µm)	diekstraksi dengan metanol dengan maserasi semalaman, campuran disaring dan ditambahkan larutan IS	Asam asetat dan Asetonitril	2 ml/ menit	N/A	(Farè <i>et al.</i> , 2015)

Dari Tabel 5, diketahui bahwa terdapat 25 referensi penelitian mengenai metode deteksi senyawa toksin pada jamur. Pada senyawa muscarine paling banyak menggunakan metode UPLC-MS MS. Metode UPLC-MS/MS dengan menggunakan jenis kolom amida (2.1 mm × 100 mm, 1.7 µm) dan pelarut metanol dan air memperoleh *recovery* sebesar 95,56%. *Recovery* tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan metode UPLC-MS/MS dengan pelarut asam format yang memperoleh *recovery* sebesar 95%. Sementara metode LC-MS/MS, HPLC, dan RP-HPLC dengan menggunakan jenis kolom C18 yang diperoleh dari hasil analisis beberapa penelitian tidak dijelaskan tingkat *recovery* yang diperoleh dengan menggunakan metode tersebut terhadap senyawa toksin muscarine.

Pada senyawa amatoxin metode yang banyak digunakan berdasarkan hasil penelitian yang ditemukan adalah metode HPLC. Metode HPLC dengan jenis kolom C18, menggunakan pelarut asetonitril dan asam asetat memperoleh *recovery* sebesar 84%- 104,6%. Sementara metode RP-HPLC dengan jenis kolom C18, menggunakan pelarut amonium asetat dan asetonitril memperoleh tingkat *recovery* lebih rendah yaitu sebesar 65%. Terdapat hasil penelitian yang menggunakan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC) dan LC-MS/MS untuk mendeteksi senyawa amatoxin. Namun, pada kedua metode tersebut tidak diketahui seberapa besar tingkat *recovery* yang dihasilkan. Pada metode LC-TOF MS hanya ditemukan satu penelitian untuk mendeteksi senyawa amatoxin digunakan jenis kolom amida-80 3 µm (150 x 2.0 mm). Pelarut yang digunakan adalah asetonitril dan metanol yang memperoleh tingkat *recovery* paling besar dari seluruh metode yaitu sebesar 87,9%- 117%. Metode deteksi amatoxin lainnya yang digunakan adalah *Human Resource Management System* (HRMS) dengan pelarut air dan metanol tidak diketahui tingkat *recovery* metode tersebut.

Metode yang ditemukan untuk deteksi senyawa toksin orellanine adalah HPLC dan GC-MS/MS. Terdapat tiga penelitian yang menggunakan metode HPLC dengan jenis kolom C18. Namun, penggunaan pelarut amonium asetat dan metanol memperoleh *recovery* sebesar 78,30%. Sementara, hasil penelitian lainnya tidak diketahui tingkat *recovery*nya.

Senyawa psilocybin ditemukan ada beberapa metode untuk mendeteksi senyawa tersebut. Metode yang digunakan adalah tiga penelitian dengan HPLC, dan dua penelitian dengan LC-MS/MS. Metode LC-MS/MS dengan jenis kolom UPLC HSS T3 (100×2.1 mm, ukuran partikel $1.8 \mu\text{m}$) yang menggunakan asam format dan asetonitril memiliki tingkat *recovery* sebesar 76%- 102%. Sementara, metode yang lainnya berdasarkan hasil penelitian yang ditemukan tidak dijelaskan.



3.1.3. Dampak Senyawa Racun pada Jamur di Makhluk Hidup

Tabel 6. Dampak Senyawa Racun pada Jamur yang terdokumentasikan melalui studi *in-vivo*

NO	SENYAWA	EFEK KESEHATAN	METODE PENGAPLIKASIAN	LD50* (mg/kg BB)	REFERENSI
1	Muscarine	menurunkan tekanan intaokular (karbakol)	Vivo (Tikus)	0,23	(Liu <i>et al.</i> , 2005); *(Fraser, 1957)
		banyak produksi air liur, miosis	Vivo (Tikus)	-	(Sai Latha <i>et al.</i> , 2020)
		muntah, diare, sakit perut	Vivo (Tikus)	-	(Sailatha <i>et al.</i> , 2014)
2	Amatoxin	gastrointestinal, hepatitis, cedera ginjal akut, penyakit kuning	Vivo (Tikus)	0,1	(Trakulsrichai <i>et al.</i> , 2017);*(Yilmaz <i>et al.</i> , 2015)
		pendarahan mukosa, oliguria, hipoglikemia	Vivo (Tikus)	-	(Trabulus <i>et al.</i> , 2011)
		gagal hati, dehidrasi, diare, mual, lemas, kram perut	Vivo (Tikus)	-	(Krenová <i>et al.</i> , 2007)
		kegagalan multiorgan	Vivo (Tikus)	-	(Ganzert <i>et al.</i> , 2005)
3	Orellanine	kerusakan ginjal	Vivo (Tikus)	4,9- 8,3	(Nilson <i>et al.</i> , 2008); *(Prast <i>et al.</i> , 1988)
		kerusakan hati	Vivo (Tikus)	-	(Anantharam <i>et al.</i> , 2016)
4	Psilocybin	infeksi saluran darah, penurunan fungsi hati, halusinasi	Vivo (Tikus)	280	(Pohju <i>et al.</i> , 2022); *(Lim <i>et al.</i> , 2012)

Dari Tabel 6 dapat diketahui bahwa senyawa muscarine, amatoxin, orellanine, psilocybin banyak menggunakan metode pengaplikasian *in-vivo* (tikus). Efek kesehatan yang ditimbulkan dari setiap masing- masing senyawa berbeda. Senyawa yang paling parah menimbulkan efek kesehatan adalah muscarine dan amatoxin. Hal tersebut dapat diketahui berdasarkan lethal dose menggunakan tikus yang diperoleh setiap senyawa. Amatoxin memiliki LD50 sebesar 0,1 mg/ kg berat badan yang dapat menyebabkan berbagai gejala keracunan hingga kematian. Muscarine menjadi senyawa beracun kedua dengan LD50 sebesar 0,23 mg/kg berat badan. Senyawa orellanine menjadi urutan ketiga yang beracun dengan LD50 sebesar 4,9- 8,3 mg/kg berat badan. Sedangkan senyawa dengan tingkat beracun paling rendah adalah psilocybin dengan LD50 sebesar 280 mg/kg.

