

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. JAMUR TIRAM (*Pleurotus* spp.)

1. Klasifikasi, morfologi, dan fisiologi jamur tiram

Jamur tiram diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan : Fungi
Filum : Basidiomycota
Kelas : Hymenomyces
Bangsa : Agaricales
Suku : Tricholomataceae
Marga : *Pleurotus*
Jenis : *Pleurotus cystidiosus* O. K. Mill. (jamur tiram cokelat)

(Alexopoulos *dkk.* 1996: 508--529; Miles & Chang 1997: 45)

Jamur tiram merupakan jamur kayu makroskopik yang memiliki bentuk tubuh buah membulat lebar dan melengkung seperti kulit kerang (tiram).

Morfologi tubuh buah jamur tiram terdiri atas tudung (*pileus*) dan tangkai (*stipe*) (Gambar 1). Permukaan atas tudung licin dan tepinya bergelombang.

Tangkai jamur tiram berada tidak tepat pada tengah tudung, melainkan mendekati bagian lateral (bagian tepi). Ukuran tangkai dapat mencapai 2--6 cm, tergantung pada kondisi lingkungan (Alexopoulos *dkk.* 1996: 508; Djariah & Djariah 2001: 12).

Jamur tiram memiliki dinding sel yang tersusun oleh polisakarida, lipid, dan protein. Dinding sel jamur tiram mengandung 75--90% polisakarida yang terdiri atas kitin dan glukukan. Kitin merupakan komponen skeletal yang ditemukan pada sebagian besar dinding sel jamur, sedangkan glukukan merupakan komponen penguat dan pemberi bentuk dinding sel jamur (Farkas 1985: 4--7).

2. Jamur tiram cokelat

Jamur tiram diklasifikasikan berdasarkan warna tudung buah atau sporanya. Jamur tiram cokelat memiliki karakteristik morfologi berupa tudung tebal berwarna putih kecokelatan atau abu-abu kecokelatan dengan lebar 6--14 cm (Gambar 2). Jamur tiram cokelat merupakan jamur tiram yang banyak dibudidayakan petani karena daya simpan yang lebih lama dibanding jenis jamur tiram lain (Djarjah & Djarjah 2001: 12; Kong 2004: 56 & 60).

Jamur tiram merupakan organisme heterotrof sehingga pertumbuhannya bergantung pada kondisi lingkungan. Faktor-faktor lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan jamur tiram meliputi suhu, pH, cahaya, air, kelembaban, aerasi, dan nutrisi (substrat). Suhu optimal untuk pertumbuhan tubuh buah jamur tiram sekitar 18--20° C (Djarjah & Djarjah 2001: 15--16).

Tingkat keasaman (pH) optimal bagi pertumbuhan jamur tiram adalah pH 5,5--6,5. Kelembaban udara optimal untuk jamur tiram sekitar 65--70%, sedangkan kandungan optimal CO₂ berkisar antara 15--20% volume udara

(Aryantha & Rahmat 1999: 27--31). Kebutuhan nutrisi utama bagi jamur tiram adalah sumber karbon, nitrogen, dan fosfat (Cahyana *dkk.* 2002: 8).

3. Siklus hidup jamur tiram

Siklus hidup jamur tiram, seperti pada siklus hidup jamur filum Basidiomycota lainnya, dapat dibedakan menjadi dua tahap yaitu tahap aseksual dan seksual (Gambar 3). Siklus aseksual diawali dengan jatuhnya basidiospora pada substrat yang tepat kemudian membentuk hifa primer. Hifa primer selanjutnya tumbuh membentuk struktur miselium primer yang berinti banyak. Dinding pemisah (septa) selanjutnya terbentuk pada miselium primer dan memisahkan masing-masing inti ke dalam kompartemen-kompartemen miselium (Carlile & Watkinson 1994: 53; Alexopoulos *dkk.* 1996: 513, 517).

Miselium primer yang bersifat homokarion selanjutnya berfusi dengan miselium kompatibel dan membentuk miselium sekunder dengan dua inti atau dikarion. Miselium sekunder mempertahankan sifat dikarion dengan membentuk struktur kait (*clamp connections*) pada bagian tepi (*mycelial tip*) yang memanjang. Miselium sekunder yang berada pada kondisi lingkungan optimal akan terhimpun menjadi jaringan teratur dan membentuk tubuh buah (basidiokarpus) yang menghasilkan basidiospora. Setiap basidium dalam basidiokarpus menghasilkan empat basidiospora melalui proses kariogami dan meiosis. Basidiospora yang telah matang kemudian jatuh dari tubuh buah jamur dan tumbuh menjadi hifa primer jika menemukan substrat yang

sesuai (Alexopoulos *dkk.* 1996: 518). Larraya *dkk.* (1999: 3416) melaporkan bahwa jamur tiram memiliki 11 kromosom dengan panjang total sebesar 35,0 Mpb.

4. β -glukan pada jamur tiram

β -glukan merupakan suatu polimer glukosa yang saling terhubung melalui ikatan β -1,3 atau β -1,6 (Gambar 4). β -glukan diketahui menyusun 80--90% dinding sel jamur (Lesage & Busey 2006: 318). β -glukan pada beberapa jamur disekresikan ke lingkungan luarnya dalam bentuk eksopolisakarida (EPS) (Firenzuoli *dkk.* 2007: 4). β -glukan menyusun 96% struktur EPS pada jamur tiram (Barrasa *dkk.* 1998: 325).

Sintesis β -glukan pada jamur dikatalisis oleh enzim *glucan synthase* (GS), suatu enzim multi-subunit yang berperan pada reaksi substrat *uridine diphosphat-glucose* (UDP-glukosa) menjadi polimer β -glukan. Subunit yang terdapat pada GS adalah subunit regulator, komponen pengikat-GTP, dan subunit katalitik. Beberapa gen yang mengkode subunit regulator dan katalitik dari GS sudah diketahui, namun jalur metabolisme dan interaksi antar gen secara alami belum dipastikan (Lesage & Busey 2006: 318--324).

5. Kandungan dan manfaat jamur tiram

Jamur tiram merupakan jamur pangan yang memiliki kandungan zat gizi lebih tinggi dibandingkan jamur pangan lain (Djariah & Djariah 2001: 9). Zat gizi pada jamur tiram di antaranya adalah karbohidrat, protein, dan

vitamin (Djariah & Djariah 2001: 9--10). Jamur tiram mengandung 18 macam asam amino yang diperlukan tubuh, seperti asam aspartat, threonin, serin, asam glutamat, prolin, glisin, alanin, valin, metionin, dan fenilalanin (Hadar & Arazi 1986: 1353).

Jamur tiram bermanfaat dalam bidang farmakologi karena mengandung asam folat yang berguna untuk mencegah dan mengobati anemia (Widyastuti & Koesnandar 2005: 9). Jamur tiram juga diketahui memiliki aktivitas anti tumor karena menghasilkan polisakarida β -glukan (Ruiz-Bravo *dkk.* 2001: 706). β -glukan berperan sebagai imunostimulan dan imunomodulator yang dapat mengaktifkan sistem pertahanan tubuh (Jun Yan *dkk.* 1999: 3045). β -glukan bekerja dengan menginduksi makrofag, neutrofil dan *natural killer cell* (NK cell) serta mensekresi interferon- γ (IF- γ) dan beberapa jenis interleukin (IL-6, IL-8, dan IL-12). Hal tersebut menyebabkan timbulnya respons spesifik dari sel-T untuk menghambat pertumbuhan sel tumor (Jun Yan *dkk.* 1999: 3045).

B. EKSOPOLISAKARIDA (EPS)

1. Penyusun eksopolisakarida

Eksopolisakarida (EPS) merupakan polisakarida dari bakteri, jamur, dan alga yang ditemukan di luar dinding sel, dapat berupa polisakarida kapsular atau polisakarida yang bercampur dengan medium pertumbuhan (Broadbent *dkk.* 2003: 407). Eksopolisakarida tersusun atas polimer heteropolisakarida

atau homopolisakarida. Heteropolisakarida merupakan polisakarida yang disusun oleh beberapa jenis monosakarida, seperti glukosa, fruktosa, dan rhamnosa. Homopolisakarida merupakan polisakarida yang tersusun atas satu jenis monosakarida (Sutherland 1997: 1911--1913).

Eksopolisakarida (EPS) yang tersusun atas heteropolisakarida di antaranya adalah *xanthan* dan pleuran. *Xanthan* merupakan contoh EPS heteropolisakarida yang tersusun atas monomer glukosa dalam bentuk β -glikosil dan mannososa dalam bentuk α -mannosyl. Bakteri *Xanthomonas campestris* (Pammel (1895) Dowson 1939) merupakan bakteri penghasil *xanthan* (Sutherland 1997: 1912). Pleuran merupakan polisakarida yang dihasilkan *Pleurotus* spp. dan disusun oleh polimer glukosa, manosa, dan fruktosa. Polimer glukosa terdapat dalam bentuk β -glukan dan menyusun 87% pleuran dari jamur tiram (Barrasa *dkk.* 1998: 325).

Berdasarkan struktur kimianya, homopolisakarida penyusun EPS dapat berupa α -glukan, β -glukan, atau polisakarida lain (Vanilngelgem *dkk.* 2003: 900). α -glukan merupakan penyusun eksopolisakarida yang dihasilkan khamir *Aspergillus nidulans* Winter. α -glukan pada khamir tersebut dinamakan pullulan dan berfungsi sebagai cadangan polisakarida (Meyer & Phaff 1977: 702).

Eksopolisakarida (EPS) yang tersusun atas β -glukan dihasilkan oleh bakteri dan jamur. Bakteri *Alcaligenes faecalis* (Castellani & Chalmers 1919) dan *Agrobacterium* sp. menghasilkan EPS yang mengandung β -glukan yang disebut *curdlan* (Lee 1997: 137). Jamur yang juga menghasilkan β -glukan di

antaranya adalah *Schizophyllum commune* Fries, *Lentinus edodes* (Berk.) Pegler, dan *Pleurotus* sp. Penamaan β -glukan yang dihasilkan jamur-jamur filum Basidiomycota tersebut sesuai dengan nama spesies penghasilnya, seperti shyzophillan dari *Schizophyllum commune*, lentinan dari *Lentinus edodes* (Sutherland 1998: 1912).

2. Biosintesis eksopolisakarida

Eksopolisakarida pada jamur diproduksi melalui jalur metabolisme senyawa dan melalui jalur pembentukan dinding sel. Eksopolisakarida yang tersusun atas senyawa β -glukan dan kitin dihasilkan melalui metabolisme dinding sel (Lesage & Busey 2006: 323). Namun demikian, secara umum biosintesis EPS pada mikroba dibagi menjadi tiga proses utama, diawali dengan proses penyerapan substrat glukosa, pembentukan polisakarida intraselular, dan pengeluaran eksopolisakarida dari sel (Gambar 5).

Sintesis EPS pada bakteri Gram-negatif terjadi di membran sitoplasma. Penyerapan substrat karbohidrat (glukosa) oleh sel terjadi dengan mekanisme transpor aktif dan fosforilasi substrat. Glukosa yang telah diserap kemudian memasuki jalur glikolisis hingga senyawa glukosa-1-fosfat. Senyawa tersebut membentuk UDP-glukosa (uridindifosfat-glukosa) dengan bantuan enzim UDP-glukosa firofosforilase.

Gugus glukosa dari senyawa UDP-glukosa selanjutnya berikatan dengan *isoprenoid lipid carrier* dan melepaskan senyawa prekursor UDP. Reaksi transfer tersebut dikatalisis oleh enzim transferase. Ikatan glukosa

dengan lipid selanjutnya mengalami polimerisasi dengan bantuan enzim polimerase. Rantai polimer glukosa selanjutnya terlepas dari ikatan lipid ketika polisakarida di translokasikan melewati membran sel, sedangkan lipid dapat berikatan kembali dengan UDP-glukosa dan mengulang siklus polimerisasi (Lee 1997: 141; Broadbent *dkk.* 2003: 408).

3. Penelitian-penelitian tentang eksopolisakarida

Eksopolisakarida diketahui memiliki banyak manfaat untuk industri makanan dan farmasi. Eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *lactic acid bacteria* (LAB) bersifat asam sehingga banyak dimanfaatkan untuk mencegah kontaminasi makanan dan pengatur tekstur makanan fermentasi (yoghurt dan berbagai makanan berbahan dasar susu) (Deegest *dkk.* 2001: 470). Eksopolisakarida yang dihasilkan oleh jamur Basidiomycetes diketahui potensial sebagai senyawa anti tumor (Maziero *dkk.* 1999: 77). Ruiz-bravo *dkk.* (2001: 706) melaporkan bahwa EPS yang dihasilkan oleh *Paenibacillus jamilae* CP-7 menunjukkan peningkatan efek imunomodulator pada mencit BALB/c. Li *dkk.* (2006: 1668) melaporkan bahwa penggunaan eksopolisakarida dari khamir menghambat pertumbuhan sel tumor tanpa menyebabkan efek toksik pada sel lain. Penelitian Chung *dkk.* (2001: 552) menunjukkan bahwa eksopolisakarida dari *Ganoderma lucidum* dapat menginduksi produksi sel T dan menghambat 80% pertumbuhan sel kanker hati manusia.

C. MUTASI

1. Definisi dan tipe-tipe mutasi

Mutasi didefinisikan sebagai perubahan sekuen nukleotida dari sebuah gen yang diwariskan kepada keturunan selanjutnya (Moat & Foster 1988: 431). Organisme yang mengalami mutasi disebut mutan, sedangkan agen yang menyebabkan mutasi disebut mutagen. Mutasi dibagi menjadi beberapa tipe berdasarkan proses terjadi mutasi dan tipe perubahan basa (Snustad & Simmons 2003: 334). Berdasarkan proses terjadinya, mutasi dibagi menjadi mutasi spontan dan mutasi induksi (Snustad & Simmons 2003: 334). Mutasi spontan merupakan mutasi yang terjadi secara spontan, sedangkan mutasi induksi merupakan mutasi yang terjadi setelah introduksi agen mutagenik pada organisme (Klug & Cummings 1994: 342).

Berdasarkan tipe perubahan basa, mutasi dibagi menjadi mutasi gen dan mutasi titik. Mutasi gen merupakan mutasi yang terjadi pada satu gen pengkode asam amino. Mutasi titik adalah mutasi yang terjadi pada sebuah basa, dapat berupa transisi, transversi, delesi, atau insersi basa. Transisi dan transversi dapat menyebabkan terjadinya perubahan spesifik pada kodon sehingga terjadi perubahan ekspresi asam amino (*missense mutation*) atau perubahan triplet kodon menjadi *stop codon* (*nonsense mutation*). Insersi atau delesi dari satu atau lebih basa dapat menyebabkan terjadinya perubahan kerangka baca (*frameshift mutation*) sehingga mengubah

susunan asam amino yang disintesisnya (Moat & Foster 1988: 431; Klug & Cummings 1994: 350).

2. Penyebab mutasi

Mutasi secara spontan dapat muncul pada populasi sel karena adanya fenomena alami yang mengakibatkan terjadi perubahan metabolisme dalam tingkat rendah atau pengaruh senyawa dari lingkungan (Snustad & Simmons 2003: 334). Mutasi juga dapat terjadi karena induksi suatu mutagen sehingga mengakibatkan perubahan susunan pada basa DNA (Klug & Cummings 1994: 342).

Mutagen merupakan komponen fisika, biologi, atau kimia yang menyebabkan terjadinya mutasi. Radiasi sinar-x, sinar gamma, dan sinar UV merupakan contoh mutagen fisika, sedangkan transposon dan virus adalah contoh dari mutagen biologi. Mutagen kimia dapat dibagi menjadi beberapa senyawa berdasarkan tipe mutagenesis, yaitu basa analog, agen deaminasi, agen interkalasi, dan agen alkilasi (Snustad & Simmons 2003: 334--337).

3. *Ethyl methane sulfonate* (EMS)

Ethyl methane sulfonate (EMS) adalah salah satu mutagen kimia yang memiliki rumus kimia $C_4H_{10}SO_3$ (Gambar 6a). Mutagen tersebut termasuk golongan agen alkilasi yang mengikatkan gugus etilnya pada basa DNA guanin (G) di posisi 7-N dan 6-O sehingga terbentuk gugus O^6 -etilguanin. Etilasi tersebut menyebabkan kesalahan dalam pemasangan basa saat

replikasi sehingga terjadi mutasi titik berupa transversi, transisi, atau mutasi *frameshift*. *Ethyl methane sulfonate* (EMS) menyebabkan mutasi secara acak pada rantai DNA (Sambrook & Russell 2001: 13; Snustad & Simmons 2003: 350).

Basa DNA yang teralkilasi oleh EMS diperbaiki secara langsung dengan enzim O⁶-metilguanin metil transferase (enzim MGMT). Enzim MGMT ditemukan pada organisme prokariot dan eukariot. Enzim MGMT bekerja dengan mengikat gugus alkil sehingga gugus tersebut terlepas dari rantai DNA (Gambar 6b). Enzim yang telah berikatan dengan gugus alkil tidak dapat digunakan kembali sehingga enzim MGMT dikenal dengan nama *suicide enzyme*. Perbaikan dengan enzim MGMT sangat terbatas sehingga tidak semua basa yang teralkilasi diperbaiki. Hal tersebut menyebabkan terjadinya mutasi yang diturunkan (Weaver & Hendrik 1997: 311).

4. Penapisan mutan setelah perlakuan mutasi

Penapisan mutan merupakan hal yang dilakukan untuk mendeteksi keberadaan mutan. Penapisan mutan secara langsung (seleksi positif) dilakukan dengan mengeliminasi koloni dengan fenotipe tipe-liar (*wild-type*) yang tumbuh pada medium penapisan. Medium penapisan merupakan medium yang diberi senyawa selektif seperti antibiotik. Rasio kematian pada penapisan langsung dihitung dengan membandingkan jumlah koloni sebelum mutasi dan setelah mutasi (Bauman 2004: 227). Keller (1983: 582) melaporkan bahwa mutan jamur *Claviceps purpurea* dengan rasio kematian

98--99% menunjukkan peningkatan produksi alkaloid setelah perlakuan dengan EMS sebanyak 2 µl/ml suspensi.

Penapisan secara tidak langsung (seleksi negatif) dilakukan dengan teknik *replica plating*. Teknik tersebut dilakukan dengan menumbuhkan mikroorganisme, yang telah diberi perlakuan mutagen, ke medium pertumbuhan lengkap (*complete medium*). Koloni mikroorganisme tersebut kemudian ditempelkan pada kain kasa dan dicetak pada medium pertumbuhan lengkap serta medium pertumbuhan yang tidak mengandung satu nutrisi. Koloni yang tumbuh pada medium pertumbuhan, tetapi tidak tumbuh pada medium pertumbuhan merupakan mutan setelah perlakuan mutagen (Bauman 2004: 227--228).

D. ISOZIM

1. Definisi dan analisis isozim

Isozim didefinisikan sebagai enzim dengan fungsi sama, namun struktur molekular berbeda dan ditemukan pada satu organisme (Stebbins 1989: 1). Variasi alel lokus isozim dapat digunakan untuk menguji adanya mutasi pada populasi manusia, tanaman, dan jamur karena isozim merupakan sebuah protein yang merefleksikan secara langsung mutasi pada sekuen DNA (Weeden & Wendel 1989: 46--47; Aly *dkk.* 2003: 208).

Isozim dapat dianalisis dengan menggunakan prinsip elektroforesis gel protein. Isozim adalah enzim yang dapat berbagi substrat, tetapi memiliki

mobilitas elektroporetik yang berbeda. Mobilitas elektroporetik enzim dipengaruhi oleh muatan, bentuk, dan ukuran yang dimilikinya (Wendel & Weeden 1989: 5, 34).

Elektroforesis gel horizontal dari ekstrak jaringan dengan menggunakan substrat tertentu dengan pewarnaan enzim spesifik akan membentuk pita isozim. Pola pita isozim yang tergambar pada gel elektroforesis disebut zimogram. Visualisasi zimogram digunakan sebagai alat indentifikasi variabilitas genetik antar spesies tanaman dan jamur (Zervakis *dkk.* 2001: 3183).

2. Enzim-enzim pertumbuhan pada jamur tiram

Jamur tiram merupakan jamur aerob yang menghasilkan enzim-enzim pertumbuhan untuk menunjang proses metabolisme. Beberapa enzim pertumbuhan merupakan suatu isozim yang dapat digunakan sebagai pendeteksi terjadinya mutasi pada salah satu alel pengkode enzim tersebut. Enzim peroksidase, fosfatase asam, aspartat aminotransferase, dan dehidrogenase malat merupakan enzim-enzim yang banyak digunakan dalam analisis isozim dari jamur (Djajanegara *dkk.* 2004: 11).

Peroksidase (PER) (EC 1. 11. 1. 7) merupakan anggota enzim oksidoreduktase yang mengkatalisis reaksi pengikatan oksigen atau pelepasan hidrogen (Suhartono 1998: 8). Enzim PER berperan dalam reaksi oksidasi yang melibatkan hidrogen peroksida sebagai oksidator (Suhartono 1998: 9--10). Peroksidase diekspresikan pada bagian sitosol dan dinding sel

(Weeden & Wendel 1989: 50). Menurut Wendel & Weeden (1989: 50), visualisasi pita pada elektroforesis enzim PER umumnya membentuk 2--14 pita, berbeda pada setiap organisme. Peroksidase berperan dalam degradasi lignin pada jamur tiram (Gutierrez *dkk.* 1994: 1783).

Fosfatase asam (ACP) (EC 3. 1. 3. 2) merupakan enzim yang berperan dalam reaksi monoester ortofosforik H_2O menjadi alkohol dan fosfat (Bostian *dkk.* 1982: 1). Enzim ACP tersusun atas glikoprotein dan didistribusikan ke seluruh bagian sel (Weeden & Wendel 1989: 47, 50). Enzim ACP memiliki struktur kuartener berupa monomer dan dimer sehingga visualisasi elektroporetik enzim tersebut dapat menghasilkan satu sampai dua pita, berbeda pada setiap spesies (Weeden & Wendel 1989: 49--50).

Aspartat aminotransferase (AAT) (EC 2. 6. 1. 1) merupakan enzim yang berperan dalam konversi aspartat menjadi asam amino lain seperti glutamat. Enzim AAT diekspresikan pada hampir semua bagian sel yang meliputi sitosol, plastida, mitokondria, dan badan mikro (Weeden & Wendel 1989: 49). Enzim AAT pada tumbuhan umumnya membentuk empat pita pada visualisasi gel elektroporetik (Weeden & Wendel 1989: 49).

Dehidrogenase malat (MDH) (EC 1. 1. 1. 37) merupakan enzim oksireduktase yang mengkatalisis pembentukan oksaloasetat dan $NADH_2$ dari reaksi antara malat dan NAD (Moss 1961: 1). Menurut Weeden & Wendel (1989: 50), enzim MDH diekspresikan pada bagian sitosol, mitokondria, dan badan mikro. Enzim MDH berperan dalam siklus TCA, metabolisme piruvat, dan fiksasi karbon (Moss 1961: 1)

E. METODE UJI COLORIMETRIC

Kemampuan suatu material untuk menyerap cahaya dapat digunakan sebagai sarana mendeteksi keberadaan material tersebut dalam suatu sampel melalui teknik spektrofotometri. Beberapa materi biologi, seperti polisakarida, tidak dapat menyerap cahaya tampak sehingga dibutuhkan bantuan reagen pewarna untuk mendeteksi materi tersebut. Metode spektrofotometri dengan penambahan reagen pewarna disebut metode *colorimetric* (Seidman & Moore 2000: 410).

Prinsip kerja metode *colorimetric* adalah membuat material yang tidak menyerap cahaya tampak berikatan dengan reagen pewarna. Ikatan dua substansi tersebut mengakibatkan substansi yang tidak menyerap cahaya tampak menjadi berwarna dan terdeteksi. Reagen pewarna yang digunakan disesuaikan dengan sampel yang akan dianalisis (Seidman & Moore 2000: 410, 412).

Congo red merupakan salah satu pewarna azo (memiliki gugus $-N=N^+$ diantara gugus-gugus aromatiknya) yang menghasilkan warna merah melalui proses konjugasi sistem elektron. *Congo red* memiliki kelarutan yang tinggi di dalam air sehingga banyak digunakan untuk mewarnai senyawa dengan berat molekul besar, seperti polisakarida (Seidman & Moore 2000: 412). Menurut Eberendu *dkk.* (1994: 5), *congo red* merupakan salah satu reagen pewarna yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya β -glukan.