

BAB I

PENDAHULUAN

Jamur tiram (*Pleurotus* spp.) merupakan jamur pangan yang menempati posisi kedua pada pasar jamur dunia (Larraya *dkk.* 2003: 3617). Jamur tiram banyak dibudidayakan karena memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi pada berbagai substrat (Miles & Chang 1997:129). Jamur tiram yang banyak dibudidayakan di Indonesia adalah jamur tiram cokelat (*Pleurotus cystidiosus* O.K. Mill.) (Cahyana *dkk.* 2002: 7).

Jamur tiram merupakan jamur pangan yang potensial untuk diet manusia karena memiliki kandungan nutrisi tinggi dan diketahui menghasilkan senyawa anti tumor β -glukan (Miles & Chang 1997: 90, 110). Tahun 1992, Blascheck *dkk.* (*lihat* Firenzuoli *dkk.* 2007: 6) melaporkan bahwa β -glukan dari jamur menghambat 99--100% pertumbuhan sel tumor, sedangkan polisakarida lain hanya menghambat 10--40% pertumbuhan sel tumor. β -glukan ditemukan pada bagian dinding sel miselium jamur tiram dan disekresikan ke lingkungan dalam bentuk eksopolisakarida (EPS) (Firenzuoli *dkk.* 2007: 1).

Eksopolisakarida (EPS) merupakan polisakarida yang disekresikan keluar permukaan dinding sel bakteri, jamur, dan alga (Degeest *dkk.* 2001: 470). Eksopolisakarida (EPS) adalah cairan kental yang menyerupai gel sehingga banyak digunakan sebagai pengental makanan (Degeest *dkk.* 2001: 470). Eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan oleh *white-rot fungi*

diketahui berperan dalam proses degradasi lignin dan memengaruhi proses korosi logam (Majumdar *dkk.* 1999: 539).

Isolasi β -glukan melalui ekstrak EPS memiliki keunggulan dibandingkan dengan isolasi dari miselium, yaitu biaya produksi yang rendah dan waktu fermentasi yang lebih singkat (Firenzuoli *dkk.* 2007: 3). Meskipun demikian, Burns *dkk.* (1994: 566) melaporkan bahwa produksi EPS pada jamur tiram masih tergolong rendah sehingga upaya peningkatan produktivitas perlu dilakukan.

Kemampuan produksi senyawa oleh mikroorganisme dapat diubah secara konvensional dengan melakukan optimalisasi kondisi fermentasi dan seleksi strain berkualitas (Sarkar & Saunders 1997: 1). Upaya peningkatan produksi senyawa secara konvensional mengalami kendala jika sifat yang diinginkan diekspresikan oleh alel resesif (Abdullah 2001: 39). Oleh karena itu, upaya peningkatan secara genetik perlu dilakukan.

Peningkatan kualitas mikroorganisme secara genetik dapat berupa mutasi yang disertai penapisan mutan berkualitas, hibridisasi somatik, serta manipulasi genetik melalui fusi protoplas dan transformasi DNA (Sarkar & Saunders 1997: 2). Mutasi dapat diaplikasikan dalam upaya peningkatan produksi senyawa-senyawa yang belum diketahui gen-gen pengatur ekspresinya, seperti senyawa eksopolisakarida pada jamur (Srikrai & Robbers 1983: 1165). Kelebihan mutasi dibanding teknik lain adalah metode pengerjaan sederhana, cepat, dan efektif untuk mendapatkan variasi sifat yang diinginkan (Bhandal & Mehta 1994: 130).

Snustad & Simmons (2003: 345) menyatakan bahwa mutasi rantai DNA dapat diinduksi dengan bantuan mutagen fisika, kimia, atau biologi. Salah satu mutagen yang efektif digunakan untuk mutasi organisme eukariot, seperti jamur tiram, adalah *ethyl methane sulfonate* (EMS) (Freifelder 1987: 301). *Ethyl methane sulfonate* (EMS) merupakan mutagen kimia yang menyebabkan mutasi secara acak pada basa DNA (Snustad & Simmons 2003: 350).

Rakariyatham *dkk.* (2006: 3) melaporkan bahwa pemberian EMS pada spora *Aspergillus* sp. NR4617 meningkatkan produksi enzim *myrosinase*. Keller (1983: 581) menyebutkan bahwa penggunaan EMS dengan konsentrasi 26,5 mM menyebabkan peningkatan produksi senyawa alkaloid pada kapang *Claviceps purpurea*. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, EMS terbukti dapat mengubah jalur metabolisme sehingga mengubah produktivitas senyawa oleh mikroorganisme.

Perlakuan EMS pada penelitian menggunakan biakan dikariotik jamur tiram coklat dari koleksi Laboratorium Teknologi Bioindustri. Jamur tiram coklat tidak menghasilkan spora aseksual pada pertumbuhan di laboratorium. Spora aseksual jamur umum digunakan untuk mutagenesis, namun fragmen miselia dapat digunakan untuk jamur yang tidak menghasilkan spora aseksual pada skala laboratorium (Keller 1983: 580).

Pemberian EMS dilakukan pada saat kultur jamur tiram berada pada awal fase eksponensial supaya mutasi yang terjadi berlangsung dengan optimal dan diturunkan pada keturunannya. Stonesifer & Baltz (1985: 1182)

melaporkan bahwa mutasi DNA *Streptomyces fradiae* Waksman & Hendrici terjadi setelah pemberian EMS dengan variasi konsentrasi 8, 15, 20, 25, dan 30 µl/ml. Oleh karena itu, variasi konsentrasi yang sama digunakan pada penelitian untuk menentukan satu konsentrasi optimal. Selain konsentrasi mutagen, mutasi dipengaruhi oleh waktu inkubasi mutagen (Holmes *dkk.* 1999: 1). Berdasarkan hal tersebut, pemberian konsentrasi optimal dilakukan pada variasi waktu inkubasi yang mengacu pada penelitian Mehta *dkk.* (2003: 4044). Variasi waktu inkubasi EMS pada penelitian adalah 0, 20, 40, dan 60 menit.

Kandidat mutan yang didapat setelah perlakuan mutasi EMS diverifikasi dengan pengukuran berat kering miselium dan pengamatan ekspresi enzim-enzim pertumbuhan melalui analisis isozim. Isozim merupakan variasi bentuk molekular dari enzim yang memiliki aktivitas katalitik yang sama (Abdullah 2001: 39). Menurut Abdullah (2001: 39), isozim dapat digunakan sebagai marka molekuler yang merepresentasikan adanya mutasi pada alel-alel pengkode isozim. Analisis isozim dari enzim peroksidase (PER), fosfatase asam (ACP), aspartat aminotransferase (AAT), dan dehidrogenase malat (MDH) dilakukan untuk mengamati pengaruh mutagen EMS pada jamur tiram cokelat.

Perubahan produksi EPS oleh jamur tiram cokelat setelah perlakuan EMS diketahui dengan membandingkan jumlah produksi EPS dari jamur tiram cokelat jenis normal dan mutan yang berada pada fase stasioner.

Maziero *dkk.* (1999: 81) melaporkan bahwa produksi EPS pada jamur tiram meningkat pada fase stasioner.

Eksopolisakarida (EPS) yang diperoleh pada penelitian dianggap sebagai *crude* β -glukan. Menurut Kimura *dkk.* (2006: 4132), purifikasi β -glukan pada EPS sulit dilakukan sehingga *crude* β -glukan digunakan dalam berbagai penelitian. Pengujian terhadap kandungan *crude* β -glukan pada EPS dilakukan dengan uji *colorimetric* menggunakan reagen *congo red* (Eberendu *dkk.* 1994: 5--9).

Mutasi dengan menggunakan EMS diharapkan dapat menghasilkan mutan jamur tiram dengan peningkatan kandungan *crude* β -glukan yang merupakan komponen EPS. Mutan jamur tiram cokelat dengan produksi EPS dan kandungan β -glukan yang lebih tinggi selanjutnya dapat digunakan sebagai sumber alternatif senyawa anti tumor.

Penelitian bertujuan menentukan konsentrasi optimal EMS untuk jamur tiram cokelat dari variasi konsentrasi 8, 15, 20, 25, dan 30 μ l/ml serta mengamati pengaruh perlakuan EMS dengan konsentrasi optimal selama variasi waktu inkubasi 0, 20 40, dan 60 menit terhadap produksi EPS jamur tiram cokelat.