Berk. Penel. Hayati: 13 (57–61), 2007

PENGARUH MUTASI DENGAN RADIASI SINAR GAMMA (Co_{60}) TERHADAP PRODUKTIVITAS JAMUR TIRAM ABU-ABU (*Pleurotus sajur-caju*)

Ira Djajanegara*, Priyo Wahyudi*, Donowati Tjokrokusumo*, Netty Widyastuti*, dan **Harsoyo****
* P_3T Bioindustri BPPT
** BATAN

ABSTRACT

*Irradiation aplied to living organisms may have positive or negative effects on physiological and morphological properties of the organisms. One way to gain genetic variation with better properties than the parental strain is by Gamma (Co_{60}) radiation application. During this experiment, Gama (Co_{60}) rays was applied to the grey oyster (**Pleurotus sajur-caju**) mushroom mycellia during exponential phase. Radiation was applied at 0.75 KGray with dose velocity of 1.149 KGray. Analysis of mushroom productivity performances indicate that diameter of mycellia, fresh weight, dry weight, diameter of fruit body and the amount of fruit body of the mutant and control were not significantly different. However, the isozyme pattern showed a different pattern between the mutant and the control which indicates that mutation process has already occured. These data show that mutation did not affect the productivity of the mushroom. Therefore, mutation may affect the nutritional quality of the mushroom instead. Further experiment to verify this possibility is suggested.*

Key words: *mutant, grey oyster mushroom (**Pleurotus sajur-caju**), Gamma rays radiation, productivity, isozyme*

PENGANTAR

Jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur caju*) merupakan salah satu bahan pangan baru yang mulai digemari masyarakat. Jamur ini memiliki kandungan protein, lemak, fosfor, zat besi, thiamin dan riboflavin yang lebih tinggi dibandingkan jenis jamur lainnya. Jamur tiram juga mengandung 18 macam asam amino esensial di antaranya isoleusin, lisin, metionin, sistein, fenilalanin, tirosin, triptofan, valin, arginin, histidin, alanin, asam aspartat, asam glutamat, glisis, prolin dan serin (Djarijah dan Djarijah, 2001).

Khasiat jamur tiram untuk kesehatan adalah menghentikan pendarahan dan mempercepat pengeringan luka pada permukaan tubuh. Jamur tiram juga mampu mencegah penyakit diabetes melitus, penyempitan pembuluh darah, tumor dan kanker, kelejar gondok, dan influenza. Selain itu jamur tiram juga membantu menurunkan kolesterol darah, menambah vitalitas dan daya tahan tubuh, serta memperlancar buang air besar (Djarijah dan Djarijah, 2001).

Salah satu upaya untuk meningkatkan kualitas dan produktivitas jamur tiram (*Pleurotus* sp.) dengan pendekatan bioteknologi adalah dengan melakukan mutasi secara fisika untuk mendapatkan mutan (Aryantha dan Rachmat, 1999). Mutasi secara fisika yang banyak dilakukan dalam upaya perbaikan kualitas dan produktivitas jamur adalah menggunakan radiasi sinar gamma (Co_{60}) dan sinar ultra violet (UV). Adapun mutasi secara kimiawi yang biasa dilakukan adalah mutasi dengan menggunakan berbagai mutagen antara lain *nitrous acid*, hidroksilamin, *ethane methane sulfonate* (EMS), dan *alkylating agent* (Chang dan Miles, 1989). Mutasi secara fisika biasanya dilakukan dengan cara mencoba berbagai dosis radiasi. Setelah didapatkan dosis yang optimum, maka diuji produktivitasnya di lapangan di mana mutan yang memberikan hasil panen terbaik selanjutnya dikembangkan sebagai kultur induk.

Dalam upaya mendapatkan strain jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) yang mempunyai produktivitas tinggi atau kualitas yang lebih baik atau bahkan keduanya maka dilakukan mutasi dengan cara meradiasi miselia jamur dengan sinar gamma (Co_{60}). Radiasi dengan sinar gamma (Co_{60}) yang mampu menyebabkan mutasi adalah dengan dosis 0,75 KGy dan 1,00 KGy pada laju dosis 1,149 KGy (Djajanegara *et al*., 2004). Dosis-dosis radiasi tersebut efektif jika diaplikasikan pada miselia jamur tiram yang sedang tumbuh secara eksponensial yaitu pada 14 HSI (hari sesudah inokulasi) (Djajanegara *et al*., 2004).

Sinar gamma memiliki energi yang lebih tinggi sehingga daya penetrasinya ke dalam sel lebih besar. Dengan demikian, sinar gamma sangat efektif untuk menembus dinding sel yang dimiliki jamur. Sinar gamma, selain dari *cobalt*-60, dapat juga berasal dari *cesium*-137 atau *technetium*-99 (Busby, 2003). Pengaruh radiasi terhadap spesimen biologis bergantung pada total energi yang

diabsorpsi dan jenis radiasi pengion. Jumlah unit energi yang diserap per satuan massa akibat radiasi dinyatakan dalam rad (*radiation absorbtion dose*) atau Gray (Gy). Satu Gray menunjukkan bahwa energi yang diserap oleh 1 kg benda akibat radiasi adalah sebesar 1 joule. Satu gray setara dengan 100 rad (Bueche dan Wallach, 1994).

Beberapa cara dapat dipakai untuk menganalisis keefektifan mutasi antara lain dengan analisis isozim. Isozim adalah enzim homolog yang memiliki perbedaan struktur molekular namun ditemukan pada organisme yang sama. Perbedaan struktur molekular tersebut disebabkan oleh perbedaan genetik diantara keduanya (Holme dan Peck, 1994). Isozim dapat digunakan sebagai penanda genetik karena isozim merupakan protein yang mencerminkan terjadinya perubahan dalam sekuens DNA melalui perubahan komposisi asam aminonya. Isozim telah banyak dimanfaatkan dalam analisis penyilangan, keragaman genetik dalam dan antarpopulasi, varietas, dan pengujian sifat ketahanan suatu organisme (Hartana, 2003). Mutasi dapat diwariskan pada salah satu atau kedua kopi kromosom sehingga terbentuk polimorfisme, maka analisis isozim adalah cara yang tepat untuk memastikan proses mutasi telah terjadi.

Di antara enzim-enzim ekstraseluler yang dihasilkan jamur, beberapa yang sering digunakan untuk penelitian isozim yaitu *esterase*, peroksidase, *acid phospatase,* dan *malate dehydrogenase* (Otrosina *et al*., 1991). *Acid phospatase* tergolong dalam enzim hidrolase yang mengatalisis reaksi monoester ortofosforik dan air menjadi alkohol dan fosfat. *Acid phospatase* memiliki spesifisitas reaksi yang luas dan juga berperan dalam mengkatalisis reaksi transfosforilasi (Moss, 1961), Seperti halnya *esterase*, terdapat sejumlah besar enzim yang tergolong dalam *acid phospatase*. Karena analisis enzim *acid phospatase* menghasilkan visualisasi yang jelas (Wendel dan Weeden, 1989), maka enzim ekstraseluler ini yang dipakai untuk memastikan proses mutasi telah berlangsung pada penelitian ini.

Dalam upaya menguji daya produktivitas maka dilakukan penumbuhan mutan serta kontrol jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) di lapangan dengan mengamati beberapa parameter antara lain jumlah tudung, diameter tudung, berat basah, dan berat kering dari kedua genotip jamur tiram abu-abu tersebut. Menurut Suriawiria (1993), produktivitas jamur ditentukan oleh beberapa parameter penting yaitu jumlah tudung, diameter tudung, berat basah, dan berat kering jamur.

Dalam penelitian ini dilakukan radiasi dengan menggunakan sinar gamma (Co_{60}) pada miselia jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) untuk melihat kemungkinan dampak mutasi terhadap produktivitas jamur tiram jenis ini. Dalam hal ini analisis diameter miselia dan isozim *acid phospatase* dipakai untuk menentukan adanya mutasi pada fase awal pertumbuhan jamur. Untuk memastikan pengamatan yang didapat pada tahap awal, maka dilakukan analisis produktivitas kedua jenis genotip jamur abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) tersebut.

BAHAN DAN CARA KERJA

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) dengan strain yang didapat dari petani. Medium yang digunakan adalah PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan PDB (*Potato Dextrose Broth*).

Bahan kimia yang digunakan adalah chloramphenicol, alkohol 70% dan 96%, spiritus, N cair, pati kentang, pasir kuarsa, kertas saring, asam askorbat, sistein, triton-X-100, PVP-40, $Na_2HPO_4.2H_2O$, histidin monohidrat, asam sitrat monohidrat, TRIS hidroksilmetil aminometan, sodium fosfat, 1-naftil asetat, 2-naftil asetat, aseton, *fast blue RR salt*, natrium asetat, $CaCl_2$, H_2O_2 3%, 3-amino-9-etilkarbasol, bromofenol biru, NAD, asam malik, NBT, PMS, tris-Hcl, Na-1-naftil asam fosfatase, $MgCl_2$, *fast garnet GBG salt*, Na-asetat, dan akuades.

Peralatan yang digunakan antara lain cawan petri, spatel, labu Erlenmeyer, *bunsen*, autoklaf, *hot plate magnetic stirer*, *stirer*, *laminar air flow*, *shaker*, lemari es, *ultralow freezer*, tabung N cair, oven, timbangan analitik, kertas yellow pages, plastik sterilisasi, alumunium foil, baki plastik, pipet volumetrik, pompa pipet, dasaran neon, pompa vakum, pH-meter, timbangan, pinset dan mortar. Adapun peralatan lain yang digunakan adalah perlengkapan iradiasi, perlengkapan kering beku, serta perlengkapan elektroforesis gel berikut sumber arus listrik.

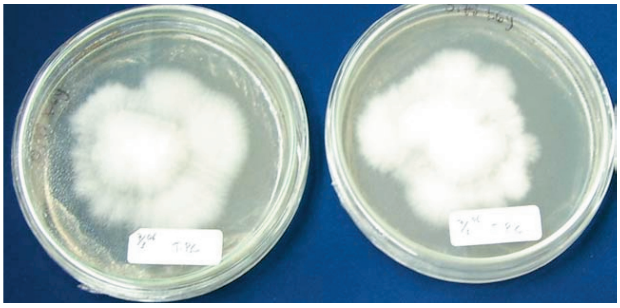
Transfer jamur dilakukan dengan modifikasi metode Djarijah dan Djarijah (2001) di mana seluruh aktivitas transfer dilakukan di dalam *laminar air flow*. Prosedur ini diikuti dengan perlakuan radiasi berdasarkan metode Esser (1971). Radiasi dilakukan pada miselia jamur dalam fase pertumbuhan eksponensial yang menempati sepertiga medium PDA (kurang lebih 14 HSI) (Djajanegara *et al.*, 2004).

Analisis isozim dengan pewarnaan enzim *Acid phospatase* dilakukan berdasarkan modifikasi metode Wendel dan Weeden (1989).

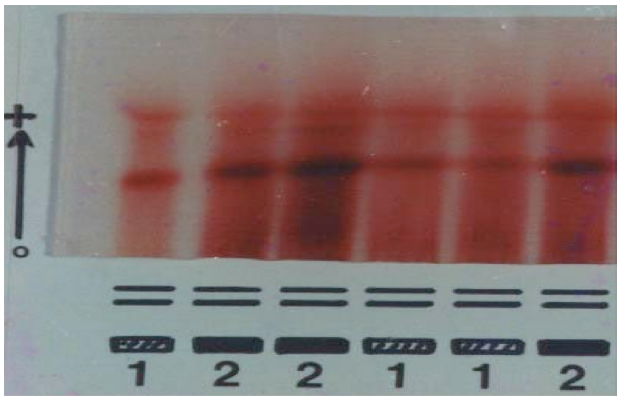
HASIL

Pengamatan pertama pascaradiasi yang dilakukan adalah laju pertumbuhan miselia yang digambarkan oleh diameter miselia (Tabel 1). Pengamatan diameter miselia memberikan gambaran pertumbuhan jamur secara dini. Dari data tersebut terlihat bahwa pertumbuhan miselia jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) kontrol dan mutan tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata (Tabel 1 dan Gambar 1). Tidak adanya perbedaan tersebut diamati sejak hari pertama sesudah radiasi (1 HSR) sampai 12 hari sesudah radiasi (12 HSR) di mana pertumbuhan biakan jamur abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) kontrol telah menutupi seluruh permukaan petri.

Untuk menganalisis apakah proses mutasi dengan dosis radiasi 0.75 KGray telah berlangsung maka dilakukan analisis isozim dengan pewarnaan terhadap *Acid phospatase* di mana pemilihan isozim tersebut didasarkan pada penelitian isozim jamur yang dilakukan oleh Larraya *et al.* (2000) (Gambar 2). Dari data isozim pada Gambar 2 tidak terlihat adanya perbedaan dalam arti adanya tambahan pita isozim atau menghilangnya pita isozim. Data zimogram dengan pewarnaan tehadap *Acid phospatase* pada kedua jenis genotip jamur tiram abu-abu ini memberikan 2 pita yang hanya berbeda intensitasnya saja di mana pada mutan intensitas pita yang di bawah lebih terang daripada kontrol.



Gambar 1. Miselia jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) mutan (kiri) dan kontrol (kanan)



Gambar 2. Zimogam *Acid phospatase* pada jamur tiram abu-abu kontrol (no. 1) dan mutan (no. 2)

Tabel 1. Diameter miselia jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) kontrol dan mutan pascaradiasi

No	Jenis jamur	Hari Sesudah Radiasi (HSR)			
		Hari ke-1	Hari ke-4	Hari ke-8	Hari ke-12
1	Jamur tiram abu-abu kontrol	1,40[a]	2,81[a]	4,32[a]	5,99[a]
2	Jamur tiram abu-abu mutan	1,47[a]	2,90[a]	4,35[a]	5,90[a]

Keterangan: huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan bahwa nilai tidak berbeda nyata menurut uji BNT taraf 5% (masing-masing 5 ulangan)

Tabel 2. Tabel produktivitas jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*)

No	Parameter	Tiram abu-abu kontrol			Tiram abuabu mutan		
		Minggu ke-12	Minggu ke-15	Minggu ke-18	Minggu ke-12	Minggu ke-15	Minggu ke-18
1	Berat basah (g)	95,3[a]	70,6[a]	50,8[a]	92,2[a]	65,1[a]	51,2[a]
2	Berat kering (g)	19,1[b]	12,7[b]	7,6[b]	18,4[b]	11,7[b]	7,7[b]
3	Jumlah tubuh buah	15[c]	10[c]	8[c]	14[c]	11[c]	10[c]
4	Diameter tubuh buah (cm)	7,7[d]	4,0[d]	3,0[d]	6,9[d]	4,5[d]	4[d]

Keterangan: huruf yang sama pada lajur yang sama menunjukkan bahwa nilai tidak berbeda nyata menurut uji BNT taraf 5% (masing-masing 10 ulangan)

Pengaruh radiasi sinar gamma terhadap produktivitas jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) di lapangan datanya disajikan pada Tabel 2. Dari data pertumbuhan di lapangan yang dilakukan pada minggu ke-12, ke-15, dan ke-18, tidak terlihat adanya perbedaan yang signifikan antara kedua genotip jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) tersebut. Data diambil pada saat jamur mengalami panen pertama, kedua, dan terakhir. Data pada Tabel 2 tidak menunjukkan adanya pengaruh mutasi pada berat basah (g), berat kering (g), jumlah tubuh buah, dan diameter tubuh buah (cm). Hal ini memberikan kemungkinan bahwa mutasi berpengaruh pada kualitas jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*).

Dari keseluruhan data yang didapat tidak terlihat adanya pengaruh mutasi dengan menggunakan sinar gamma (Cobalt-60) terhadap produktivitas jamur yang dicerminkan oleh data berat basah (g) , berat kering (g), jumlah tubuh buah dan diameter tubuh buah (cm). Data pengamatan pertumbuhan miselia yang dicerminkan oleh data diameter miselia pascaradiasi juga tidak memperlihatkan adanya pengaruh yang signifikan dari perlakuan mutasi.

PEMBAHASAN

Mutasi dilakukan dengan penembakan sinar gamma yang berasal dari Co_{60} terhadap biakan jamur pada medium PDA. Menurut Esser (1971), teknik yang paling menguntungkan dalam melakukan radiasi pada jamur adalah dengan meradiasi biakan jamur pada media agar. Teknik tersebut lebih efektif dalam menghasilkan mutan dengan frekuensi yang besar. Selain itu, teknik tersebut juga mempercepat berlangsungnya radiasi dan memudahkan dalam melakukan pengamatan perubahan morfologi pascaradiasi.

Radiasi sinar gamma dilakukan pada biakan yang telah menempati kurang lebih satu per tiga medium agarnya yaitu sekitar 14 hari sesudah inokulasi (HSI). Berdasarkan hasil pengamatan pendahuluan pada kurva pertumbuhan miselia jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) (Djajanegara *et al.*, 2004), fase eksponensial terjadi pada 14 sampai dengan 24 HSI. Pada penelitian pendahuluan tersebut juga didapatkan bahwa seluruh miselia menutupi permukaan cawan petri pada 26 HSI. Sebagaimana jenis jamur lainnya, jamur tiram memiliki tipe pertumbuhan ekstensif selama substrat masih tersedia. Sel-sel hifa pada bagian ujung miselium merupakan sel-sel yang memiliki tingkat metabolisme tinggi. Sel-sel tersebut terdiri atas vesikel yang mensekresikan enzim dan polimer untuk pertumbuhan ujung-ujung hifa. Pada sel-sel tersebut, inti sel melakukan pembelahan yang terus-menerus guna menyediakan inti bagi tiap kompartemen yang baru terbentuk (Alexopoulus *et. al.*, 1996). Diharapkan bahwa radiasi dapat menyebabkan efek yang optimum terhadap sel-sel tersebut karena tingginya radiosensitivitas dari sel yang aktif bermetabolisme dan belum terdiferensiasi (Prassad, 1999).

Untuk menganalisis terjadinya proses mutasi dengan dosis radiasi 0,75 KGray maka dilakukan analisis isozim dengan pewarnaan terhadap *Acid phospatase* di mana pemilihan isozim tersebut didasarkan pada penelitian isozim jamur yang dilakukan oleh Larraya *et al.* (2000). *Acid phospatase* adalah enzim yang tersebar di berbagai tempat pada sel dengan 2–4 isozim (Hartana, 2003). Dalam hal ini analisis isozim dengan menggunakan pewarnaan terhadap enzim *Acid phospatase* diharapkan dapat menangkap fenomena mutasi pada semua lokasi di dalam sel.

Dari data isozim pada Gambar 2 tidak terlihat adanya perbedaan dalam arti adanya tambahan pita isozim atau menghilangnya pita isozim. Data zimogram dengan pewarnaan tehadap *Acid phospatase* pada kedua jenis genotip jamur tiram abu-abu ini memberikan 2 pita di mana pada mutan intensitas pita yang di bawah lebih terang daripada kontrol. Menurut Hartana (2003), pewarnaan terhadap *Acid phospatase* akan memberikan 2–4 pita-pita isozim. Dalam penelitian ini didapat 3 pita-pita isozim yang hanya berbeda intensitasnya saja. Hal ini mengindikasikan bahwa mutasi telah terjadi dengan sempurna dimana sinar gamma menyebabkan mutasi pada alel daerah pengatur produksi enzim *Acid phospatase* sehingga terjadi perubahan pada produksi enzim tersebut di mana pada mutan lebih banyak produksinya daripada kontrol. Fenomena yang sama pada tanaman juga dilaporkan terjadi pada zimogram enzim *Esterase* oleh Griffiths (2000).

Dari data produktivitas tersebut dapat diimplikasikan bahwa kadar air tubuh buah jamur tiram berkisar antara 80–90%. Angka tersebut sesuai dengan angka kadar air jamur tiram yang dilaporkan oleh beberapa peneliti lainnya. Berat kering tubuh buah jamur secara umum dilaporkan sekitar 10–13% dari berat basahnya (Suhardiman, 1998). Tingginya kadar air pada jamur pangan menjadi masalah dalam proses penyimpanan dan transportasinya sehingga teknologi pascapanen dari jamur pangan menjadi penting. Sebagian besar jamur pangan dipasarkan dalam bentuk telah diawetkan (kalengan, dan lain-lain).

Perlakuan mutasi dengan dosis radiasi 0,75 KGy pada laju dosis 1,149 KGy memberikan hasil yang positif dilihat dari data zimogram *Acid Phospatase* dimana terlihat adanya perbedaan intensitas warna yang mencerminkan adanya perbedaan produksi enzim tersebut. Dosis radiasi

sinar gamma (Cobalt-60) pada 0,75 KGy pada laju dosis 1,149 KGy dan di atas 0,75 KGy pada laju dosis 1,149 KGy menyebabkan mutasi pada jamur tiram putih, abu-abu dan coklat pada penelitian pendahuluan (Djajanegara *et al.*, 2004). Hasil-hasil ini mendorong diadakannya penelitian lanjutan untuk melihat apakah mutasi berdampak pada kualitas jamur abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) yaitu kandungan nutrisi, kandungan metabolit sekunder (pleuran, serat, dan lain-lain) atau karakter-karakter lainnya (rasa, daya simpan, dan lain-lain).

Secara garis besar dapat disimpulkan bahwa radiasi dengan sinar sinar gamma (Cobalt-60) menyebabkan mutasi pada jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) yang diindikasikan oleh data isozim terhadap enzim *Acid phospatase*. Mutasi tersebut tidak terekspresikan pada produktivitas jamur tiram abu-abu (*Pleurotus sajur-caju*) sehingga diduga mutasi terekspresi pada kualitas atau karakteristik lain dari jenis jamur tersebut.

KEPUSTAKAAN

Alexopoulus CJ, Mims CW and Blackwell M, 1996. *Introductory mycology*. 4th ed. John Willey & Sons, Inc., New York, 128.

Aryantha INP dan Rachmat B, 1999. *Dasar-dasar usaha budidaya jamur*. Bio Agro Lestari Publ., Bandung, 22.

Bueche F dan Wallach DL, 1994. *Technical Physics*. 4 th ed. John Willey & Sons, Inc., New York, 569, 558.

Busby B, 2003. Radiation and Radioactivity. http://www.physics.isu.edu/radinf.htm. 6 April 2003, pk. 05.50.

Chang ST dan Miles PG, 1989. *Edible jamurs and their cultivation*. CRC Press, Florida, 34,59.

Djajanegara I, Lestari R, Harsoyo dan Wahyudi P, 2004. Penelitian pendahuluan mutasi dengan sinar gamma (Co60) untuk meningkatkan kandungan metabolit sekunder dan analisis isozyme pada 3 varietas jaur tiram (Pleurotus sp.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 2(1): 10–17

Djarijah NM dan Djarijah AB, 2001. *Budidaya jamur tiram*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 5.

Esser K, 1971. Application & importance of fungal genetics for industrial research *Dalam*: Radiation & radioisotopes for industrial microorganisms. IAEA, Viena: 83 – 91.

Griffiths AJF, Miller JH, Suzuki DT, Lewontin RC dan Gelbart WM, 2000. *An Introduction to Genetic Analysis*. WH Freeman, New York, 673,781.

Hartana A, 2003. *Pelatihan singkat teknik analisis dengan metode dan peralatan mutakhir di bidang hayati dan kimia*. Pusat Studi Ilmu Hayati Lemabga Penelitian IPB, Bogor, 37.

Holme DJ dan Peck H, 1994. *Analytical chemistry*. 2nd ed. Longman Scientific & Technical, Burnt Mill, 458.

Larraya LM, Perez G, Ritter E, Pisabarro AG dan Ramirez L, 2000. Genetic linkage map of the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology* 66(12): 5290–5300.

Moss GP, 1961. IUBMB Enzyme nomenclature: E. C. 1.1.1.37. http://www.chem.qmul.ac. uk/iubmb/enzyme/EC1/1/37.html. 21 November 2003, pk. 15.55.

Otrosina WJ, Chase TE, dan Cobb FE, 1991. Allozymes differentiation of insterility group of *Hererobusidion anosum* isolated from conifer in western US. *Phytopathology* 82(5): 540–545

Prassad G, 1999. Varietal effect on mutation frequency and spectrum induced by gamma rays in barley. http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/bgn/25/v25p6.html. 5 Juni 2003, pk 06.41

Suhardiman P, 1998. *Budidaya Jamur Shiitake*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 23.

Suriawiria U, 1993. *Pengantar untuk mengenal dan menanam jamur*. Penerbit Angkasa, Bandung, 189.

Wendel JF dan Weeden NF, 1989. *Visualization and interpretation* of plant isozymes. *Dalam*: DE Soltis & PS Soltis (*eds.*). 1989. *Isozymes in plant biology*. Dioscorides Press, Portland, 5–45.

Reviewer: **Ir. Triwibowo Yuwono, Ph.D.**