

INTISARI

Salah satu cara untuk meningkatkan produksi eritromisin adalah dengan melakukan pemuliaan galur *Saccharopolyspora erythrea* dengan mutagenesis acak. Mutagenesis dipengaruhi oleh banyak faktor seperti pH, waktu inkubasi, kadar mutagen dan fase tumbuh mikroba.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh pH dan waktu inkubasi terhadap efektivitas mutagenesis *Saccharopolyspora erythrea* ATCC 11635 menggunakan N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidin (NTG). NTG bekerja melalui mekanisme metilasi basa guanin dalam sekuen DNA. Parameter efektivitas mutagenesis yang digunakan adalah % sel yang bertahan hidup (% survival).

Mutagenesis dilakukan menggunakan spora dengan konsentrasi 10^8 - 10^9 spora/ml buffer fosfat. pH yang digunakan adalah 7,4; 8,20; dan 9,0 dengan waktu inkubasi 0, 15, 30, 45, 60 dan 90 menit. Konsentrasi NTG dibuat tetap yaitu 1 mg/ml. Setelah perlakuan dengan NTG, mikroba dicuci, diencerkan kemudian ditumbuhkan dalam piring petri yang berisi media antibiotik. Jumlah koloni yang bertahan hidup dalam piring petri dihitung dan dikonversikan dalam CFU sel yang bertahan hidup. Data ini selanjutnya diubah menjadi % survival dan dibuat kurva Log % survival vs waktu inkubasi mutagenesis untuk masing-masing perlakuan pH.

Kurva log % survival vs waktu inkubasi mutagenesis menunjukkan bahwa kurva untuk perlakuan pH 9,0 berada paling bawah disusul pH 8,2 dan 7,4. Hal ini berarti, untuk setiap waktu inkubasi, % survival yang dihasilkan pH 9,0 paling kecil atau pH 9,0 menyebabkan kematian paling banyak. Hal tersebut disebabkan karena NTG pada pH basa membebaskan diazometan, agen pengalkilasi yang justru lebih kuat dibanding NTG sehingga efek mutasi yang terjadi lebih banyak. Seperti diketahui mutagen juga dapat berefek pada kematian mikroba jika mempengaruhi metabolisme primer. Pada setiap perlakuan pH, semua kurva menurun dengan makin



besarnya waktu inkubasi. Waktu inkubasi berpengaruh pada intensitas mutasi.

Berdasarkan pengalaman empiris daerah % survival 1 - 0,1 % merupakan daerah terbaik mutagenesis. Daerah ini mempunyai kemungkinan lebih besar dalam menghasilkan mutan sementara keleluasaan dalam seleksi mutan masih cukup terjamin. Waktu inkubasi yang diperlukan untuk mencapai daerah terbaik tersebut berbeda pada masing-masing perlakuan pH. Perlakuan pH 9,0 memerlukan waktu inkubasi paling pendek yaitu 11,2 - 34,4 menit sehingga dipilih sebagai kondisi terbaik bagi mutagenesis *Saccharopolyspora erythraea* ATCC 11635 menggunakan NTG dengan kadar 1 mg/ml.