

4. PEMBAHASAN

4.1. Konsentrasi Jamur

4.1.1. Muscarine

Senyawa muscarine merupakan senyawa toksin yang dapat bekerja cepat dan memiliki periode laten yang pendek (gejala mulai dalam 5 jam setelah konsumsi) (Hallstrom & Thuvander, 1997). Selain itu, muscarine memiliki sifat polar dan memiliki molekul yang kecil (Ginterová *et al* (2014). Menurut Ginterová *et al.* (2014), muscarine adalah senyawa amonium kuarterner yang bermuatan positif secara permanen dalam seluruh rentang pH. Secara struktural, muscarine mempunyai struktur yang mirip dengan asetilkolin dan bersaing untuk beberapa situs reseptor asetilkolin (Romanek & Eyer, 2019). Muscarine juga merupakan salah satu racun yang stabil terhadap panas yang mengaktifkan reseptor asetilkolin muskarinik di kardiovaskular, gastrointestinal, pernapasan dan sistem saraf pusat, pada kelenjar eksokrin, dan di mata. Ini tidak terdegradasi oleh kolinesterase, dan durasi kerjanya lebih lama daripada asetilkolin (Lurie *et al.*, 2009). Senyawa ini terkandung dalam spesies jamur *I. fastigiata*, *I. geophylla*, dan *I. patouillardii* (Xu *et al.*, 2020), *I. muscaria*, *I. hainanense* (Deng *et al.*, 2021), *Inocybe* dan *Clitocybe* (Hallstrom & Thuvander, 1997; Kaufmann, 2007; Tomková *et al.*, 2015).

Konsentrasi senyawa ini sebesar $324 \pm 62,4$ mg/ kg dalam berat kering. Tetapi, konsentrasi senyawa muscarine dapat berubah sesuai kondisi lingkungan (terutama tanah) dan perubahan iklim (Xu *et al.*, 2020). Muscarine juga memiliki konsentrasi sebesar 0,3 mg/g dalam berat kering (Hallstrom & Thuvander, 1997). Toksin muscarine tersebar luas di basidiomata spesies *Inocybe* (Kosentka *et al.*, 2013). Pertama kali senyawa muscarine diidentifikasi pada *Amanita muscaria* yang memiliki kandungan yang sangat rendah sekitar 0,0003%. Namun, konsentrasi muscarine jauh lebih tinggi pada *Inocybe* dan *Clitocybe* mencapai sekitar 1,6% (Xu *et al.*, 2020). Senyawa muscarine merupakan toksin utama pada *Inocybe* yang hanya terdapat di dalam tiga spesies yaitu *I. Fastigiata*, *I. Geophylla*, dan *I. Erubescens* yang telah banyak dilaporkan kasus keracunannya (Xu *et al.*, 2020). Menurut Kaufmann (2007) konsentrasi muscarine sebesar 40 – 500 g dalam berat basah. *Inocybe* dan *Clitocybe*

mengandung konsentrasi muscarine hingga 1,6% dari berat total jamur segar (Ukruwuru *et al.*, 2018).

Berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh pada Tabel 4, dapat diketahui bahwa spesies *Inocybaceae muscarium* mengandung senyawa muscarine paling tinggi sebesar 1.603 ± 123 mg/kg. Keracunan spesies jamur ini terjadi berulang kali di Benua Asia khususnya di negara Cina. Spesies jamur ini memiliki basidiomata yang berukuran kecil hingga sedang, pileus berukuran dengan diameter 25- 60 mm, permukaan kering, halus dengan lapisan selubung putih gading, lamella berwarna putih hingga putih pucat, memiliki bau yang khas. Selain itu, spesies ini tumbuh secara berkelompok di bawah hutan Castanopsis pada akhir Maret hingga Agustus di Cina tropis (Deng *et al.*, 2021). Sementara spesies jamur yang memiliki konsentrasi paling rendah berdasarkan pada Tabel 4 adalah *Inocybe squarrosifulva*. Konsentrasi muscarine yang terkandung sebesar $31,2 \pm 5,8-101,8 \pm 18,9$ mg/kg yang banyak terdapat di Benua Asia. *Inocybe squarrosifulva* merupakan kelompok *Inocybe* sp. Karakteristik dari spesies *Inocybe squarrosifulva* adalah memiliki basidiomata berukuran kecil hingga sedang, berukuran dengan diameter 25- 55 mm, bentuk basidiomata bulat, pileus berwarna orange- coklat sampai coklat tua, lamella berwarna coklat kekuningan sampai kecoklatan, bau seperti kentang mentah. Konsentrasi muscarine di dalam kelompok *Inocybe* sp. dapat dipengaruhi oleh faktor keturunan tertentu dan lingkungan (Li *et al.*, 2021).

4.1.2. Amatoxin

Amatoxin merupakan bisiklik oktapeptida yang mengandung sembilan sub senyawa seperti alpha amanitin, beta amanitin, gamma amanitin, dan lainnya. Selain itu, amatoxin merupakan racun dengan kerja yang lambat tetapi, 10 -20 kali lebih beracun daripada phallatoxin dan virotoxin (Vargas *et al.*, 2011). Amatoxin juga merupakan hepatotoxin paling kuat dalam jamur cyclopeptide (Robert *et al.*, 2013). Karakteristik amatoxin yaitu tidak memiliki warna, seperti kristal dan larut dalam air (Bonnet & Basson, 2002). Jenis amatoxin yang paling berbahaya ialah alpha amatoxin karena struktur oktapeptida bisikliknya mengandung dua asam amino teroksidasi yang merupakan kunci toksisitasnya (Matinkhoo *et al.*, 2018). Senyawa ini dapat ditemukan di beberapa spesies jamur Genus *Amanita*, yang terkandung di

dalam *Amanita phalloides*, *A. virosa* dan *A. bisporigera*, *Galerina marginata* dan *Conocybe filaris* (Ukwuru *et al.*, 2018). Namun, jamur dengan spesies *Amanita phalloides* merupakan spesies yang paling terkenal dan berbahaya sehingga dapat menyebabkan kematian (Bonnet & Basson, 2002; Matinkhoo *et al.*, 2018; Rengstorff *et al.*, 2003; Robert *et al.*, 2013; Tawatsin *et al.*, 2018; Vargas *et al.*, 2011). Jamur *Amanita* memiliki karakteristik dominan yaitu mempunyai sejumlah besar senyawa beracun (Kaya *et al.*, 2013). Senyawa ini memiliki berat basah kurang dari 50 g atau jamur berukuran sedang *Amanita phalloides* (Oğuzhan Kaygusuz, Kutret Gezer, Ali Çelik, 2013). Pada jenis jamur *Amanita verna* kandungan senyawa amatoxin sebesar 2.250 hingga 4.570 mg/kg berat kering (Yilmaz *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil analisis data yang ditemukan pada Tabel 4, dapat diketahui bahwa senyawa amatoxin paling banyak terdapat pada jamur *Amanita fuliginea* sebesar 4.330- 12.000 mg/kg. Jenis jamur ini paling banyak ditemukan di Benua Asia. Karakteristik dari jamur ini adalah memiliki ukuran yang besar, basidioma berwarna coklat muda hingga tua. Kandungan senyawa amatoxin paling banyak ditemukan di pileus. Sementara yang paling sedikit ditemukan di volva dan anulus yang masing- masing sebesar 3,94 dan 2,6 mg/g berat kering. Namun, jumlah racun juga terdeteksi dalam spora sebesar 0,25 mg/g berat kering (Zhou *et al.*, 2017). Sementara konsentrasi jamur yang paling rendah pada Tabel 5 adalah *Galerina marginata* sebesar 990 mg/kg. Spesies jamur ini banyak ditemukan di belahan bumi utara yaitu Benua Amerika (AS dan Kanada), Eropa (Prancis dan Norwegia), Asia (Cina dan Jepang). Spesies *Galerina marginata* memiliki aroma aromatik dan rasa jamur yang menyegarkan seperti mentimun segar. Bentuk spesies ini dilengkapi dengan lamela (*gills*) berwarna kecoklatan, tubuh buahnya memiliki tudung berwarna putih hingga kuning kecoklatan karena memudar apabila dikeringkan, memiliki spora berwarna coklat. Pada pertumbuhan jamur *Galerina marginata*, tudung jamur akan memanjang seperti payung dan berubah bentuk dari kerucut menjadi lonceng. Cincin pada membran batang dapat menghilang dengan bertambahnya usia. Pertumbuhan jamur ini di habitat yang lembab, berlumut atau di kayu yang membusuk. Kandungan senyawa toksin dapat bervariasi tergantung iklim dan kondisi ekologi yang berbeda, terutama jenis tanah yang berbeda (Akata *et al.*, 2020).

Terdapat 50 spesies jamur *Amanita* yang sering ditemui dan merupakan penyebab sebagian besar kasus kematian akibat keracunan jamur (Kaya *et al.*, 2013). Di benua Asia, khususnya negara Cina lebih dari 3800 spesies jamur telah dicatat, sekitar 435 spesies dinyatakan beracun. Data statistik dari Badan Nasional melaporkan bahwa terdapat 576 insiden keracunan pada tahun 2004- 2014 dengan 3701 korban 786 meninggal dunia (Sun *et al.*, 2018). Kasus fatal keracunan amatoxin di seluruh dunia telah mencapai 50- 100 kasus setiap tahun di Eropa Barat, sedangkan di Amerika Serikat mencapai kurang dari 100 kematian dalam 5 tahun (Yilmaz *et al.*, 2014).

4.1.3. Orellanine

Orellanine merupakan alkaloid yang tidak larut air dan bersifat termostabil sehingga tidak mengalami degradasi saat direbus ataupun digoreng. Senyawa ini biasa ditemukan di daerah Eropa dan Amerika Utara pada akhir musim panas ataupun musim gugur. Jenis jamur yang sering ditemukan adalah spesies *Cortinarius orellanus* (Dinis-Oliveira *et al.*, 2016; Marchelek-Myśliwiec *et al.*, 2020), *Amanita smithiana* (Ukwuru *et al.*, 2018), dan *Cortinarius speciosissimus* (Persson, 2016). Dari segi struktur kimia, orellanine menyerupai herbisida piridin paraquat dan diquat yang terdeoksidasi dalam sinar ultraviolet menjadi metabolit tidak toksin- orellin (Marchelek-Myśliwiec *et al.*, 2020). Secara turunannya, orellanine mempunyai struktur bipiridil. Selain itu, orellanine mampu stabil dan kondisi tetap utuh dalam waktu yang lama. Senyawa orellanine memiliki berat kering sebesar 150 gram (Marchelek-Myśliwiec *et al.*, 2020). Dalam berat kering, orellanine juga memiliki kandungan toksin sebesar kandungan toksin adalah 9400 mg/kg di tutup, 4800 mg/kg di batang, dan 3100 mg/kg di spora (Dinis-Oliveira *et al.*, 2016). Orellanine juga cepat terkonsentrasi di dalam ginjal dalam bentuk yang relatif larut dan tidak dapat dideteksi dalam urin, darah dan cairan dialisis pada saat gejala pertama dari keracunan tersebut (Ukwuru *et al.*, 2018).

Orellanine adalah kristal halus yang tidak berwarna dan berfluoresensi biru laut yang stabil pada 150–160°C. Orellanine juga dapat terurai di atas suhu 150–160°C dan di bawah sinar ultraviolet (UV) menjadi senyawa biripidil kuning orelline dengan melepaskan oksigen.

Degradasi eksplosif dapat terjadi pada suhu di atas 267°C. Keberadaan senyawa orellanine tidak dapat berkurang walaupun diberikan suhu memasak, pembekuan, dan pengeringan tidak mengurangi senyawa orellanine (Dinis-Oliveira *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh pada Tabel 4, diketahui bahwa konsentrasi paling tinggi terkandung di dalam spesies *Cortinarius orellanus* sebesar 2000- 3000 mg/ kg yang banyak ditemui di Benua Amerika. Karakteristik dari spesies ini adalah memiliki pileus berukuran 3- 6 cm dan berbentuk kerucut, berwarna orange kecoklatan, daging jamurnya cukup keras dibandingkan bagian tubuhnya yang lain (Bresinsky, Andreas & Helmut Besl, 1990). Sementara, berdasarkan pada Tabel 5 dapat diketahui bahwa konsentrasi orellanine paling rendah terkandung di dalam spesies *Cortinarius armillatus* sebesar 137 mg/kg yang banyak ditemui di Benua Amerika. Karakteristik dari spesies ini adalah memiliki pileus berukuran 5-11 cm, bentuk cembung, permukaan yang mempunyai sisik merah kecil, berserat halus dan sering terdapat bercak orange- merah atau lapisan di selubung tepinya (Niskanen *et al.*, 2011).

4.1.4. Psilocybin

Senyawa psilocybin merupakan zat halusinogen alami yang dapat mempengaruhi pengonsumsi (Kusumadewi, 2020). Selain itu, psilocybin juga dapat melakukan pembelahan secara cepat dan ekstensif (Musshoff *et al.*, 2000). Senyawa psilocybin terkenal terkandung di dalam spesies *Psilocybe cubensis*, *Galerina*, *Gymnopilus*, *Inocybe*, *Panaeolus*, *Pholiotina* (Zhuk *et al.*, 2015). Psilocybe merupakan turunan tryptamine yang secara struktural mirip dengan LSD (*lysergic acid diethylamine*) walaupun kurang kuat (Romanek & Eyek, 2019). Senyawa psilocybin bersifat polar sehingga mudah larut dalam air. Psilocybin dikenal mampu mengganggu sistem saraf manusia dan menyebabkan halusinasi dan mengikat asetilkolin dan menyebabkan gejala (Putra, 2020). Pembelahan cepat dan ekstensif kelompok ester fosfat psilocybin oleh alkalin fosfat dan ester tidak spesifik menunjukkan bahwa psilocybin bertindak sebagai prodrug dan metabolit hidroksinya psilocin mewakili agen aktif farmakologis yang sebenarnya (Musshoff *et al.*, 2000). Psilocin merupakan metabolit utama psilocybin. Psilocin adalah indoles yang bekerja secara sentral yang menyerupai LSD dan

serotonin secara stereokimia. Senyawa psilocybe memiliki berat basah sebesar 10- 50 gram dan berat kering sebesar 1- 5 gram (Kusumadewi, 2020). Psilocybin dapat bertindak sebagai agonis dan antagonis serotonin (Diaz, 2005). Triptofan merupakan prekursor untuk psilocybin (Kosentka *et al.*, 2013).

Berdasarkan hasil analisis data pada Tabel 4, dapat diketahui bahwa hanya ada penelitian yang menemukan konsentrasi psilocybin pada spesies *Psilocybe cubensis* di Benua Asia. Konsentrasi senyawa tersebut sebesar 5100 - 14400 mg/kg. Ciri- ciri jamur *Psilocybe cubensis* ditandai dengan adanya noda kebiruan dipangkal stipe. Jika jaringan tersebut rusak akan berubah menjadi warna yang lebih tua. Selain itu, karakteristik dari jamur *Psilocybe cubensis* adalah memiliki caps dengan diameter berukuran 15- 85 mm, berbentuk kerucut, berwarna coklat seperti tembaga hingga coklat keemasan muda, lamella berwarna coklat muda menjadi abu tua, lamella juga bisa terdapat bintik dengan tepi keputihan. Habitat *Psilocybe cubensis* adalah dengan tumbuh berkelompok dan tersebar, dapat ditemukan di tanah yang subur, di padang rumput (Allen, 2020).

4.2. Metode Deteksi Analisis Senyawa

4.2.1. Muscarine

Metode LC-MS/MS dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa muscarine karena sederhana, cepat, sensitivitas yang cukup tinggi, cocok mendeteksi dalam urin manusia (Merová *et al.*, 2011). Berdasarkan pada hasil analisis data yang diperoleh pada Tabel 7, dapat diketahui bahwa metode *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) memiliki keunggulan dibandingkan HPLC konvensional. UPLC lebih efektif karena membutuhkan waktu yang lebih cepat sehingga meningkatkan produktivitas laboratorium dibandingkan dengan HPLC. Jadi, metode UPLC dapat bekerja dengan efisiensi lebih tinggi dengan jangkauan yang lebih luas. Metode RP-HPLC cukup ramah lingkungan tetapi tidak efisien (Mhamunkar *et al.*, 2012).

Berdasarkan pada Tabel 5, diketahui bahwa 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%. Penggunaan pelarut campuran metanol dan air memberikan tingkat *recovery* yang tinggi. Hal ini dikarenakan air merupakan senyawa polar yang memiliki polaritas yang tinggi. Oleh sebab itu, campuran air dengan metanol menghasilkan *recovery* yang tinggi dibandingkan hanya dengan menggunakan pelarut metanol murni (Mahasuari *et al.*, 2020). *Recovery* metode UPLC-MS/MS dengan pelarut asam format memperoleh *recovery* lebih rendah sebesar 95%. Hal ini dikarenakan asam format memiliki tingkat polaritas yang lebih rendah dibandingkan dengan campuran metanol dan air. Pada metode LC-MS/MS, HPLC, dan RP-HPLC yang menggunakan jenis kolom C18 diperoleh hasil analisis dari beberapa penelitian tidak dijelaskan tingkat *recovery* yang diperoleh dengan menggunakan metode tersebut terhadap senyawa toksin muscarine.

4.2.2. Amatoxin

Senyawa amatoxin dapat dianalisis melalui urin, darah dan berbagai organ. Beberapa metode dapat digunakan untuk analisis amatoxin tetapi metode HPLC yang paling banyak digunakan (Akata *et al.*, 2020). Hal ini juga dibuktikan dari hasil analisis data yang diperoleh pada tabel 7. Metode ini lebih efisien dalam mendeteksi amatoxin karena sifatnya yang tahan terhadap panas dan tidak terdegradasi dengan perlakuan panas, lebih efisien menggunakan HPLC untuk mendeteksi konsentrasi amatoxin dalam jamur (Sharma *et al.*, 2021). Sampel jamur yang digunakan dalam metode HPLC diberi perlakuan panas seperti digoreng, dipanggang dan direbus. Konsentrasi amatoxin yang paling tinggi adalah dengan perlakuan pemanggangan dibanding perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan bahwa proses pemanggangan merupakan pengeringan yang tidak mungkin mendegradasi senyawa. Namun, sampel jamur yang diberi perlakuan perebusan memiliki konsentrasi amatoxin yang paling rendah. Hal ini disebabkan sifat amatoxin yang larut dalam air. Dengan diberi perlakuan panas, konsentrasi amatoxin dapat dideteksi menggunakan HPLC. Namun, sampel yang tidak diberikan perlakuan panas dapat mempengaruhi konsentrasi amatoxin pada jamur. Sampel jamur yang dipanggang ditemukan lebih sedikit amatoxin dibandingkan yang tidak diberi perlakuan. Jadi, dapat diketahui bahwa efek toksin dari amatoxin dapat berkurang

karena proses pengolahan pada suhu yang lebih tinggi dan waktu yang lebih lama (Sharma *et al.*, 2021).



Gambar 12. HPLC

Sumber: https://en.wikipedia.org/wiki/High-performance_liquid_chromatography

Berdasarkan pada Tabel 5, dapat diketahui bahwa metode yang banyak digunakan adalah metode HPLC. High Performance Liquid Chromatography (HPLC), sebelumnya dikenal sebagai High Pressure Liquid Chromatography, adalah teknik kimia analitik yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi dan mengukur komponen individu dalam campuran. Itu bergantung pada pompa untuk mendorong pelarut cair bertekanan yang mengandung campuran sampel melalui kolom yang dikemas dengan bahan penyerap padat. Setiap komponen dalam sampel berinteraksi dengan bahan adsorben sedikit berbeda, menghasilkan laju aliran yang berbeda untuk komponen yang berbeda dan pemisahan komponen saat mereka keluar dari kolom. Pelarut yang biasa digunakan dalam metode HPLC adalah asetonitril (CH_3CN). Metode HPLC dengan jenis kolom C18, menggunakan pelarut asetonitril dan asam asetat memperoleh *recovery* sebesar 84%- 104,6%. Asetonitril adalah pelarut organik polar yang relatif tidak beracun dan sangat mudah menguap. Selain itu, asetonitril merupakan nitril paling stabil dan terhidrolisis sangat lambat dalam air. Karakteristik pada asetonitril yaitu memiliki viskositas yang rendah, kekuatan elusi yang tinggi, dan ketercampuran yang tidak terbatas dengan air menjadikan pelarut ini sebagai fase gerak yang penting untuk metode HPLC (Zarzycki *et al.*, 2010).

Sementara, metode RP-HPLC dengan jenis kolom C18, menggunakan pelarut amonium asetat dan asetonitril memperoleh tingkat *recovery* lebih rendah yaitu sebesar 65%. Hal ini dikarenakan amonium asetat merupakan hasil reaksi antara amonia dan asam asetat sehingga memiliki tingkat polaritas lebih rendah. Selain itu, 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* sebesar 87,9%- 117%. Asetonitril adalah pelarut polar aprotik (tidak dapat membentuk hidrogen), sedangkan metanol adalah pelarut polar protik (dapat membentuk hidrogen). Hal ini berarti pelarut yang digunakan dalam fase gerak dapat memiliki tingkat kemampuan mendeteksi yang tinggi. Oleh karena itu, memvariasikan komponen organik dari fase gerak dapat menjadi alat metode yang kuat. Pelarut metanol dan asetonitril memiliki kelebihan dan kekurangan. Contohnya, penggunaan asetonitril membutuhkan biaya yang lebih besar dibandingkan metanol, sementara metanol memiliki toksisitas yang lebih rendah. (Trevor, 2019). Sedangkan metode deteksi amatoxin lainnya yang digunakan adalah *Human Resource Management System* (HRMS) dengan pelarut air dan metanol yang tidak diketahui tingkat *recovery* metode tersebut.

Keunggulan dari metode HPLC adalah efisien, rentang deteksi yang sesuai dengan konsentrasi sampel yang diharapkan, waktu analisis rentang menengah (2- 3 jam), tidak terdapat kesalahan hasil positif/ negatif palsu. Selain itu, HPLC juga memiliki kualitas analisis yang tinggi, tetapi tidak semua yang menangani keracunan amatoxin memiliki akses ke protokol yang canggih dan peralatan mahal tersebut. Kelemahan dari metode HPLC adalah ketersediaan bahan HPLC yang digunakan untuk beroperasi, sensitivitas dengan kisaran yang menengah sekitar minimum 20 ng/ml (Morel *et al.*, 2014). Sementara metode seperti *Thin Layer Chromatography* (TLC) tidak disarankan karena memiliki tingkat sensitivitas analisis yang rendah (Akata *et al.*, 2020).

4.2.3. Orellanine

Metode deteksi orellanine relatif sederhana menggunakan *Thin Layer Chromatography* (TLC) karena fleksibel, cepat, mudah digunakan (Oubrahim *et al.*, 1997). Menurut Shao *et al.* (2016), metode TLC memiliki keterbatasan dalam keakuratan deteksi, kurang sensitif dan sulit digunakan. Metode deteksi senyawa lainnya yang sering digunakan adalah LC-MS/MS. Metode ini lebih sensitif dibandingkan dengan HPLC. Metode LC-MS/MS lebih spesifik dibandingkan metode lainnya karena dapat mendeteksi ion dasarnya. Jadi, metode ini dapat digunakan sebagai metode konfirmasi yaitu untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa orellanine (Shao *et al.*, 2016).



Gambar 13. GC-MS/MS

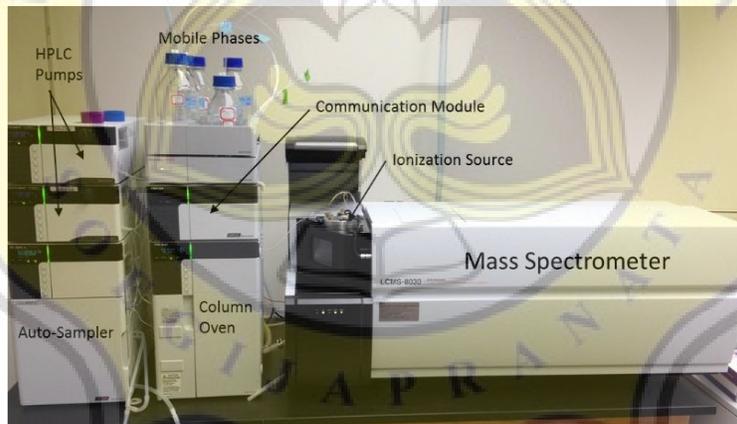
Sumber: www.kutztown.edu

Metode selanjutnya yang cukup sering digunakan adalah metode GC-MS/MS. Metode GC-MS/MS memberikan pemisahan zat yang jauh lebih baik dalam campuran dibandingkan dengan HPLC. GC-MS terdiri dari dua blok bangunan utama: kromatografi gas dan spektrometer massa. GC bekerja berdasarkan prinsip bahwa campuran akan terpisah menjadi zat individu ketika dipanaskan. Gas yang dipanaskan dibawa melalui kolom dengan gas inert (seperti helium). Saat zat yang dipisahkan muncul dari bukaan kolom, mereka mengalir ke MS. Kelebihan GC-MS/MS lebih sensitif meskipun hanya sejumlah bahan yang digunakan untuk dideteksi (Bronz *et al.*, 2012). Namun, senyawa yang kurang volatil cenderung lebih

rapuh dan kemungkinan lebih tinggi untuk menjadi lebih labil secara termal. Sifat orellanine seperti temolabilitas mempengaruhi menyebabkan penggunaan GC-MS/MS menjadi sulit untuk menganalisis (Brondz *et al.*, 2012).

Berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh pada Tabel 5 dapat diketahui bahwa 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, hanya penggunaan pelarut amonium asetat dan metanol yang memperoleh *recovery* yaitu sebesar 78,30%. Pelarut amonium asetat dan metanol merupakan senyawa polar. Tingkat polaritas suatu senyawa mempengaruhi interaksi antar fase gerakanya juga semakin meningkat. Hal ini mempermudah senyawa tersebut keluar melalui kolom (Patramurti & Martono, 2014). Sementara, hasil penelitian metode lainnya tidak diketahui tingkat *recovery*nya.

4.2.4. Psilocybin



Gambar 14. LC-MS/MS

Sumber: www.kutztown.edu

Metode deteksi psilocybin dapat menggunakan GC-MS/MS tetapi hasil yang diperoleh tidak akurat. Tetapi, metode LC-MS dan MS/MS dapat menjadi alternatif karena sensitif dan cocok digunakan untuk senyawa psilocybin karena dapat tahan terhadap panas dan tidak membutuhkan proses kimiawi untuk menganalisis psilocybin (Zhou *et al.*, 2021). Instrumen

LC-MS/MS tersebut secara garis besar memiliki dua alat yang digabungkan, yaitu instrumen kromatografi cair otomatis (LC) yang berada di sebelah kiri dan instrumen spektrometer massa (MS/MS) pada bagian kanannya sebagai detektor di ujung depan. Berdasarkan dari hasil analisis data yang diperoleh pada Tabel 5, dapat diketahui bahwa terdapat tiga penelitian dengan metode HPLC yang paling sering digunakan dan dua penelitian dengan metode 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%. Asam format adalah campuran eluen yang dapat mempercepat pemisahan di dalam kolom dalam waktu sekitar 10- 15 menit. Hal ini juga mempengaruhi pelarut dengan campuran asam format dan asetonitril. Pelarut asam format dan asetonitril merupakan senyawa polar (Farag *et al.*, 2016). Polaritas suatu senyawa dapat mempengaruhi interaksi antar pelarut yang semakin meningkat. Jadi, semakin polar suatu senyawa maka akan lebih mudah untuk keluar dari kolom (Patramurti & Martono, 2014). Sementara, metode yang lainnya berdasarkan hasil penelitian yang ditemukan tidak diketahui.

4.3. Efek Kesehatan

4.3.1. Muscarine

Muscarine dikenal mampu mengganggu sistem saraf manusia dan menyebabkan halusinasi (Putra, 2020). Gejala keracunan akibat muscarine biasanya muncul setelah dikonsumsi, disertai muntah, diare, dan air liur. Gejala yang paling khas adalah rasa gugup, kesulitan bernapas, menggigil, dan kecenderungan untuk pingsan (Ukruwuru *et al.*, 2018). Selain itu, keracunan dapat menimbulkan gejala hipotensi, sakit kepala dan tremor, air liur yang berlebihan, kram perut, muntah dan diare (Pauli & Foot, 2005; Persson, 2016). Muscarine dapat merangsang reseptor kolinergik di sistem saraf otonom (Persson, 2016). Peningkatan air liur, keringat dan lakrimasi yang dapat muncul dalam waktu 15- 30 menit setelah konsumsi jamur (Tomková *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil analisis data pada Tabel 6, dapat diketahui bahwa muscarine menjadi senyawa beracun kedua diketahui dari hasil analisis data penelitian dengan tikus LD50 sebesar 0,23 mg/kg berat badan. Muscarine juga memiliki ADI sebesar 0,735 mg/ kg berat badan setelah amatoxin (Arena, J.M., 1970).

Menurut Kaufmann (2007), dalam 15 menit- 2 jam akan terjadi masa laten yang dimana memberikan gejala seperti mual, kram perut, muntah, dan diare. Keracunan yang parah dapat memberikan efek sesak panas serta penurunan tekanan darah yang menunjukkan saluran panas memberikan reaksi asma dan peningkatan sekresi bronkial (sirkulasi reaksi dengan bradikardia dan hipotensi). Hal ini disebabkan senyawa muscarine tidak dihidrolisis oleh asetilkolinesterase dalam plasma, keberhasilan organ vagal perifer tetap dirangsang untuk waktu yang lama sampai racun melepaskan reseptor lagi melalui degradasi atau difusi lokal. Oleh karena itu, gejala iritasi kolinergik dapat bertahan selama beberapa jam (Romanek & Eyer, 2019). Gejala yang terjadi pada wanita lebih parah seperti kelelahan, kram otot, mulut berbusa, berkeringan, penglihatan kabur, miosis, batuk, hipotensi, muntah, kram perut dan diare. Sementara pada laki- laki, gejala yang ditimbulkan lebih ringan (George & Hegde, 2013).

Senyawa muscarine berikatan dengan reseptor asetilkolin dan menginduksi serangkaian gejala khas yang meliputi keringat berlebih, lakrimasi, dan bradikardia. Gejala- gejala ini umumnya muncul dengan cepat dalam waktu dua jam setelah konsumsi jamur tersebut. Keracunan toksin ini ditandai dengan peningkatan air liur dan keringan dalam waktu 15- 30 menit, sakit perut, mual, diare, kondisi mental yang stabil namun denyut nadi melambat, pernapasan berat, pupil menyempit, gagal jantung dan pernapasan yang mampu mengakibatkan kematian. Tindakan yang dilakukan terhadap kasus ini dengan memberikan atropine penangkal tertentu (Gopinath *et al.*, 2011).

4.3.2. Amatoxin

Senyawa amatoxin memiliki ADI sebesar sebesar 0,1 mg/ kg berat badan sehingga apabila dikonsumsi dapat berakibat fatal seperti kematian (Karahana *et al.*, 2016; Tawatsin *et al.*, 2018). Hal ini juga dapat diketahui dari hasil analisis data yang diperoleh pada Tabel 6 yang menyatakan bahwa senyawa ini paling berbahaya dibandingkan senyawa lainnya dengan percobaan pada tikus dengan LD50 0,1 mg/kg berat badan. Keracunan amatoxin menimbulkan gejala pada manusia seperti sakit perut kronis, mual, muntah, diare (Oğuzhan Kaygusuz *et al.*, 2013; Vargas *et al.*, 2011). Selain itu, dapat menyebabkan keringat dingin,

dan rasa haus yang berlebihan selama 48 jam, disertai dehidrasi, kram, dan anuria (De Olano *et al.*, 2020; Ukwuru *et al.*, 2018). Gejala pertama terjadi dalam 8- 12 jam setelah amatoxin diserap tubuh dan menghancurkan metabolisme hati dan ginjal hanya dalam 3-4 hari (Oğuzhan Kaygusuz, Kutret Gezer, Ali Çelik, 2013). Berdasarkan kasus keracunan di Benua Asia, yaitu negara Thailand, amatoxin tidak dapat terpengaruhi toksisitasnya sehingga banyak jiwa yang tidak terselamatkan (Tawatsin *et al.*, 2018).

Ada fase gejala dalam kasus keracunan amatoxin antara lain: Fase 1) 0 hingga 6–18 jam setelah konsumsi : tanpa gejala. Fase 2) 6-24 jam setelah konsumsi: Gastroenteritis, termasuk sakit perut, mual, muntah, dehidrasi dengan atau tanpa hipotensi, fungsi ginjal normal atau sedikit terganggu dan tingkat enzim hati. Fase 3) 1-7 hari setelah konsumsi: mengatasi gejala gastrointestinal, tetapi gagal hati progresif, cedera ginjal (termasuk sindrom hepatorenal), kemungkinan perkembangan menjadi kegagalan organ multisistem dan tingkat kematian 10% -30%. Fase 4) > 7 hari setelah konsumsi: Penyelesaian gejala pada sebagian besar penderita selama berminggu-minggu atau berbulan-bulan (Robert *et al.*, 2013). Gejala lain yang ditimbulkan ialah nyeri otot (myalgia), lemas, dan mioglobin yang keluar dari sel otot (mioglobinuria), dan perubahan warna urin (Yilmaz *et al.*, 2014). Dengan adanya gejala gastrointestinal yang intens, diare berair yang parah, mulai 8-24 jam (rata-rata 12 jam) setelah konsumsi dan bertahan selama 24 jam atau lebih. Keracunan ini juga dapat mengakibatkan kebingungan, delirium, serangan kemarahan hingga mengaburkan kesadaran dan otot berkedut (Kaufmann, 2007). Menurut Romanek & Eyer (2019), tidak ada gejala selama 6-12 jam dan diikuti fase gastrointestinal, mulai dari 6-24 jam dan berlangsung 12-24 jam. Ada kelesuan dengan nyeri di perut, muntah, diare berair (mungkin mengandung darah dan lendir) dengan dehidrasi dan kolaps.

4.3.3. Orellanine

Keracunan orellanine menimbulkan gejala seperti kerusakan ginjal (ditandai dengan kesulitan pencernaan, haus, sakit kepala, nyeri otot, nyeri pinggang) selama beberapa hari hingga 2 minggu (Dinis-Oliveira *et al.*, 2016). Berdasarkan pada hasil analisis data yang diperoleh pada Tabel 6, diketahui bahwa senyawa orellanine menjadi urutan ketiga yang

beracun dengan percobaan ke tikus LD50 sebesar 4,9- 8,3 mg/kg berat badan. ADI senyawa orellanine sebesar 12- 20 mg/ kg berat badan (Prast *et al.*, 1988). Apabila seseorang mengonsumsi melewati batas maksimum dapat mempengaruhi efek kesehatan di dalam tubuh. Menurut Ukruwuru *et al.* (2018), gejala dapat muncul dalam 3- 6 hari setelah mengonsumsi jamur beracun. Kasus keracunan orellanine sering terjadi di Michigan, Amerika Utara ditandai dengan muntah dan diare selama 3 hari setelah konsumsi. Jika tidak diobati dapat bertambah parah menjadi gagal ginjal akut selama 4- 15 hari (Judge *et al.*, 2010). Gejala paling parah yang muncul adalah gastrointestinal dan neurologis dengan anoreksia, muntah, diare/ konstipasi, menggigil, sering buang air kecil (poliuria), nyeri otot (myalgia). Semakin awal gejala keracunan muncul, maka semakin parah level keracunannya.

4.3.4. Psilocybin

Keracunan akibat psilocybin dapat memberikan efek seperti pupil yang melebar, perubahan kondisi mental (disorientasi) (Mrazova *et al.*, 2011; Robert *et al.*, 2013), ataksia, muntah. Gejala yang paling parah ialah hipertensi, hipertermia, dan juga kejang (Romanek & Eyek, 2019). Berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh pada Tabel 6, dapat diketahui bahwa senyawa psilocybin merupakan senyawa yang paling rendah toksisitasnya diketahui dari hasil analisis data dengan tikus LD50 sebesar 280 mg/kg berat badan. Psilocybin juga memiliki ADI sebesar 280 mg/kg (AAT Bioquest, Inc., 2022). Keracunan senyawa psilocybin mampu mengakibatkan kombinasi toksisitas gastrointestinal dalam waktu 6- 12 jam yang dapat berkembang menjadi ginjal akut dalam waktu 2- 6 hari. Selain itu, keracunan tersebut dapat mempengaruhi kinerja sistem saraf pusat, sehingga menimbulkan rasa gelisah, bingung dan dapat mengganggu konsentrasi (Kusumadewi, 2020). Keracunan ini dapat menimbulkan gejala lain seperti pusing, kelemahan, tremor, mual, ngantuk, parestesia, penglihatan kabur, pupil melebar dan refleks tendon meningkat (Johnson *et al.*, 2008), kecemasan, pelebaran pupil (midriasis), detak jantung di atas normal (takikardia), hipertensi, perasaan tidak nyaman (disforia), halusinasi, tremor (Diaz, 2005; Persson, 2016). Tanda- tanda seperti vertigo, kemerahan, demam dan kejang (jarang) dapat terjadi (Persson, 2016).