



TEKNIK PRESERVASI BIAKAN JAMUR

**Conny Riana Tjampakasari, Regita Aulia Rosalina
Chrecentia Hanna Swestikaputri**

Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

Email: connyrianat@yahoo.com

ABSTRAK

Teknik preservasi biakan jamur adalah hal yang penting dilakukan guna menjaga kelestarian biakan. Tujuan preservasi biakan jamur adalah memperoleh biakan dengan viabilitas masih baik dan tidak mengalami perubahan baik secara genetik maupun fenotipe meskipun disimpan dalam waktu tertentu. Preservasi jamur berdasarkan lama penyimpanannya dibedakan menjadi 2, yakni preservasi jangka pendek dan jangka panjang. Preservasi jangka pendek dilakukan untuk keperluan rutin penelitian yang disesuaikan dengan kegiatan program atau proyek tertentu sedangkan preservasi jangka panjang dilakukan dalam kaitannya dengan koleksi dan konservasi plasma nutfah jamur, sehingga apabila suatu saat diperlukan, dapat diperoleh kembali. Sangatlah penting untuk memilih teknik preservasi yang tepat agar kultur jamur yang dimiliki tetap lestari, tidak hilang akibat kematian ataupun terkontaminasi. Pilihan teknik preservasi tergantung pada pentingnya koleksi, karakteristik metode, ketersediaan peralatan dan biaya pemeliharaan

Kata kunci: penyimpanan, pemeliharaan, biakan, jamur

ABSTRACT

Fungal culture preservation techniques are important things to do in order to preserve the culture. fungi culture is an important thing to do in order to preserve the culture. The purpose of preservation of fungal cultures is to obtain with good viability and that do not experience changes either genetically or phenotype even though they are stored for certain time. Fungi preservation based on storage time is divided into 2 groups, namely short-term and long-term preservation. Short-term preservation is carried out for routine research purpose that are adapted to certain program or project activities while long-term preservation technique is carried out in connection with the collection and conservation of fungi germplasm, so that if one day it is needed, it can be recovered. It is very important to choose the right preservation technique so that the fungi culture that is owned is sustainable, no lost due to death or contamination. The choice of preservation technique depends on importance of collection, the features of the method, availability of equipment and maintenance costs.

Keywords: storage, maintenance, culture, fungi

PENDAHULUAN

Mikroorganisme yang sering ditemukan di sekitar kita adalah jamur. Kebanyakan spesies jamur terdapat di daerah tropis karena iklim tropis yang hangat dan lembap yang cocok untuk pertumbuhannya. Jamur dibagi menjadi dua jenis berdasarkan morfologinya, yaitu khamir (ragi) dan kapang menurut beberapa ahli mikologi. (Welsh, 2019)

Memelihara dan melestarikan kultur jamur merupakan elemen penting dari

sistematika dan studi keanekaragaman hayati. Jamur merupakan kelompok yang sangat beragam, beberapa metode kultur dan pengawetan diperlukan untuk memastikan kelangsungan hidup dan integritas morfologi, fisiologis, dan dengan dari kultur dari waktu ke waktu. Biaya dan kenyamanan setiap metode harus dipertimbangkan (Nakasone et al., 2004) Para ilmuwan perlu memiliki metode pembuatan dan penyimpanan koleksi yang sesuai untuk menjaga agar biakan jamur tetap hidup, ciri-

ciri genetiknya tetap stabil dan tidak berubah, serta hemat biaya dan tenaga. Metode yang dipilih sangat tergantung pada sifat dari jamur dan tujuan preservasi. Sifat mikroba tersebut tercermin dalam ciri-ciri morfologi mikroba yang beragam, ciri-ciri fisiologi dan biokimia mikroba, dan kemampuan mikroba bertahan hidup baik dalam lingkungan alaminya maupun lingkungan buatan (Surja et al., 2020)

Preservasi jamur memiliki tujuan jangka pendek dan jangka panjang. Tujuan utama dari pemeliharaan adalah mengurangi laju metabolisme mikroorganisme sekecil mungkin sambil menjaga viabilitas dan kualitas biakan yang optimal. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan angka kelangsungan hidup yang tinggi dengan sedikit perubahan pada ciri-ciri jamur yang disimpan (Sciortino Jr, 2017). Preservasi jangka pendek dilakukan untuk keperluan penelitian yang berkaitan dengan program atau proyek tertentu. Sementara itu, preservasi jangka panjang dilakukan dalam rangka koleksi dan konservasi plasma nutfah mikroba agar dapat digunakan kembali atau tersedia di masa yang akan datang (Guimarães et al., 2014)

Penelitian untuk menentukan teknik penyimpanan atau pengawetan mikroba adalah hal yang kompleks dan memerlukan waktu yang lama, pemantauan yang ketat, serta dana yang besar. Semua hal ini berhubungan dengan tujuan utama preservasi, yaitu untuk mengurangi laju metabolisme dari mikroorganisme hingga sekecil mungkin sambil tetap mempertahankan daya hidupnya dan menjaga kualitas biakan agar dapat dipulihkan kembali dengan angka perolehan dan kehidupan yang tinggi dengan perubahan ciri-ciri yang minimal. (Cui et al., 2014)

Preservasi jangka pendek dilakukan dengan cara memindahkan

mikroba dari media lama ke media baru secara berkala, biasanya sebulan sekali. Meskipun memerlukan waktu dan tenaga yang banyak, teknik ini cukup efektif untuk penyimpanan isolat dalam jangka pendek atau menengah, namun tidak cocok untuk penyimpanan jangka panjang. Beberapa teknik penyimpanan sederhana yang efektif, antara lain menggunakan minyak mineral, tanah steril, air steril, manik-manik porselin, lempengan gelatin, dan P2O5 dalam keadaan vakum. Walaupun tidak banyak digunakan, teknik ini cukup mudah dilakukan karena tidak memerlukan peralatan canggih.

Sedangkan untuk metode penyimpanan jangka panjang, terdapat dua teknik yang paling efektif dan banyak digunakan, yaitu liofilisasi atau kering beku, dan kriopreservasi. Kedua teknik tersebut dilaporkan sangat berhasil untuk penyimpanan jangka panjang berbagai jenis mikroba (Ilyas dkk, 2019).

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam artikel ini adalah tinjauan *literature review*. *Literatur review* adalah sebuah metode yang sistematis, eksplisit dan reproduktibel untuk melakukan identifikasi, evaluasi dan sintesis terhadap karya-karya hasil penelitian dan hasil pemikiran yang sudah dihasilkan oleh para peneliti dan praktisi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preservasi Jamur

Preservasi jamur merupakan teknik yang digunakan untuk mengawetkan isolat jamur yang berhasil di isolasi. Isolasi dan pemeliharaan suatu mikroorganisme merupakan proses yang panjang dan mahal, sehingga sangat penting untuk mempertahankan karakteristik yang diperoleh. Pilihan teknik preservasi untuk jamur tertentu tergantung pada karakteristik metode, biaya pemeliharaan, pentingnya

koleksi dan ketersediaan peralatan. (Jawetz, 2019)

Pemeliharaan kultur jamur merupakan elemen penting dari sistematika dan studi keanekaragaman hayati karena jamur adalah kelompok yang sangat beragam dengan demikian berbagai metode biakan dan pengawetan diperlukan untuk menjamin kelangsungan hidup dan integritas morfologi, fisiologis dan kultur dari waktu ke waktu. Namun, biaya dan kenyamanan setiap metode juga harus dipertimbangkan. Pentingnya preservasi muncul dari kebutuhan untuk memiliki mikroorganisme yang tersedia setiap saat, untuk tujuan eksperimental, baik untuk pekerjaan rutin atau untuk memenuhi permintaan dari peneliti lain, untuk tujuan didaktik atau untuk studi banding dan lain-lain (Walsh et al., 2018)

Preservasi jamur berdasarkan lama penyimpanannya dapat dibedakan menjadi 2, yakni preservasi jangka pendek dan jangka panjang. Preservasi jangka pendek melibatkan pemeliharaan kultur jamur hingga 1 tahun sedangkan jangka panjang melibatkan waktu simpan mencapai 20 tahun (Muhammad I; Atit K; Maman R., 2007). Preservasi jangka pendek dilakukan untuk keperluan rutin penelitian yang disesuaikan dengan kegiatan program atau proyek tertentu. Preservasi jangka panjang dilakukan dalam kaitannya dengan koleksi dan konservasi plasma nutfah mikroba, sehingga apabila suatu saat diperlukan, dapat diperoleh kembali atau dalam keadaan tersedia (Mahon CR; Manuslis G, 2019)

Jenis Jenis Preservasi Jamur

Preservasi Jangka Pendek

Preservasi jangka pendek dapat dilakukan dengan cara peremajaan berkala atau transfer serial. Metode ini sederhana, murah, dan banyak digunakan. Meskipun memakan waktu, transfer serial adalah pilihan yang baik untuk koleksi kecil dengan kultur yang digunakan secara konstan untuk

waktu yang singkat (kurang dari 1 tahun). Namun, metode ini juga memiliki beberapa kelemahan. Kultur harus sering diperiksa untuk kontaminasi oleh tungau atau mikroorganisme lain dan kondisi pengeringan. Selain itu, morfologi dan fisiologi jamur yang dapat berubah seiring waktu. Secara khusus, kemampuan untuk bersporulasi atau menginfeksi inang dapat hilang setelah transfer berulang. Karena kelemahan tersebut, teknik ini umumnya tidak sesuai untuk preservasi jangka panjang (lebih dari 1 tahun) (Machmud, 2001)

Proses peremajaan atau transfer serial dilakukan dengan cara secara berkala memindahkan atau memperbarui biakan jamur dari media lama ke media tumbuh yang baru, seperti setiap satu atau dua bulan sekali. Teknik ini merupakan metode konvensional yang sering digunakan oleh para peneliti untuk menjaga koleksi isolat jamur di laboratorium. Metode ini juga dapat digunakan untuk menyimpan dan merawat isolat jamur yang belum memiliki teknik penyimpanan jangka panjang yang terdefinisi dengan baik (Mahon CR; Manuslis G, 2019) Inokulum dipindahkan dari kultur jamur yang tumbuh aktif ke tabung reaksi (tutup sekrup atau ditutup dengan kapas atau busa) atau cawan petri (dibungkus dengan parafilm untuk mengurangi pengeringan) yang berisi media agar-agar pilihan. Pergantian media yang kaya nutrisi dengan media yang miskin nutrisi pada setiap transfer membantu menjaga kultur yang sehat. Beberapa jamur, seperti spesies endofit dan entomopatogen, memiliki persyaratan media yang spesifik. Setelah kultur terbentuk, itu disimpan pada suhu kamar atau pada 4°C. Kultur harus diperiksa secara berkala untuk kontaminasi dan pengeringan. Jamur seperti oomycetes dan beberapa basidiomycetes (misalnya, *Boletus*, *Coprinus*, *Cortinarius*, dan *Mycena*) harus dipindahkan setiap bulan jika disimpan pada suhu 16°C (Ilyas dkk, 2019).

Teknik ini mempunyai berbagai

kendala, di antaranya kemungkinan terjadi perubahan dengan melalui seleksi varian, peluang terjadinya kontaminasi, dan terjadi kekeliruan pemberian label. Kendala tersebut memberi peluang yang lebih besar terjadinya kehilangan isolat dibandingkan dengan teknik lain (Machmud, 2001). Untuk pemeliharaan kultur jamur jangka pendek biasanya dilakukan peremajaan menggunakan agar miring yang bertujuan menghindari adanya kekeringan pada isolat jamur. Plat agar juga dapat digunakan, namun rentan terhadap adanya kontaminan (Ilyas dkk, 2019).

Preservasi Jangka Panjang

Preservasi jangka panjang isolat jamur merupakan teknik penyimpanan dan pengawetan yang tahan lebih dari 1 tahun bahkan dapat bertahan hingga 20 tahun. Pemeliharaan jangka panjang bertujuan untuk koleksi keberagaman stok kultur jamur (biodiversitas) (Muhammad I; Atit K; Maman R., 2007)

Metode penyimpanan jangka panjang yang paling efektif dan banyak dilakukan adalah metode liofilisasi atau kering beku (*liophylization* atau *freeze drying*) dan kriopreservasi (*cryopreservation* atau *cryogenic preservation*). Kedua teknik tersebut dilaporkan paling berhasil untuk penyimpanan jangka panjang berbagai mikroba. Kendala utamanya adalah tidak semua laboratorium mempunyai peralatan tersebut (Machmud, 2001)

1. Minyak Mineral (Paraffin oil)

Cara sederhana untuk memelihara biakan jamur adalah dengan menempatkannya dalam tabung agar miring dan menutupnya dengan minyak mineral. Teknik penyimpanan ini bertujuan mempertahankan viabilitas jamur dengan mencegah pengeringan medium, sehingga waktu peremajaan bisa diperpanjang hingga beberapa tahun. Beberapa jenis jamur bisa bertahan hidup hingga 20 tahun, dan

dalam kondisi yang luar biasa, penyimpanan bisa mencapai 32 tahun pada suhu kamar atau 15°-20°C. Suhu kulkas (4°C) juga bisa digunakan untuk meningkatkan daya tahan hidup jamur. Untuk memelihara jamur, pertama-tama jamur harus ditanam pada tabung yang berisi medium Sabauroud Dekstroza Agar (SDA) agar miring atau SDA tabung tegak maupun medium cair yang sesuai untuk pertumbuhan jamur. Kemudian, permukaan biakan ditutup dengan minyak mineral steril setinggi 10-20 mm dari permukaan atas medium (Muhammad I; Atit K; Maman R., 2007)

Metode ini sesuai untuk kultur miselium atau nonsporulasi yang tidak dapat dibekukan atau dikeringkan dengan cara dibekukan. Sebagai manfaat tambahan, minyak juga mengurangi infestasi tungau. Meskipun banyak Basidiomycetes dapat dipertahankan namun tingkat pertumbuhan kultur melambat seiring dengan meningkatnya waktu penyimpanan (Nakasone et al., 2004)

Teknik penyimpanan jamur dengan menggunakan minyak mineral relatif sederhana, tetapi tidak praktis untuk diangkut. Selain itu, metode ini dapat menyebabkan peremajaan menjadi tidak bersih karena adanya minyak mineral. Kerugian utama dari teknik ini adalah bahwa jamur masih dapat tumbuh, dan hal ini dapat memunculkan seleksi untuk mutan yang dapat bertahan hidup di kondisi yang merugikan (Nakasone et al., 2004)

2. Akuades Steril

Metode lain yang murah dan perawatannya mudah untuk menyimpan kultur jamur adalah dengan perendaman dalam air suling/akuades steril. Air dapat menekan perubahan morfologi di sebagian besar jamur. Metode ini telah berhasil digunakan untuk mengawetkan

Oomycetes, Ektomikoriza, Ascomycetes, Hyphomycetes, jamur patogen tanaman, Actinomycetes dan patogen manusia dan ragi. Kebanyakan Basidiomycetes bertahan setidaknya selama 2 tahun pada 5°C serta viabilitas menurun setelah 5-10 tahun penyimpanan. (Guimarães et al., 2014)

Jamur yang disimpan dengan metode ini cenderung terus tumbuh dengan lambat, sehingga stabilitas genetik jangka panjang tidak dapat dijamin. Penyimpanan dengan cara ini juga memungkinkan adanya kontaminasi (Muhammad I; Atit K; Maman R., 2007)

3. Tanah Steril

Banyak jamur yang dapat bertahan hidup dengan baik pada tanah kering yang disimpan pada suhu ruang untuk waktu yang lama, hingga 20 tahun atau lebih. Teknik ini mempunyai beberapa keuntungan, yaitu biaya murah, penyimpanan pada suhu ruang, dan stabilitas jamur dapat dipertahankan. Dormansi yang disebabkan oleh kekeringan membutuhkan waktu untuk berkembang, dan perubahan morfologi pada beberapa jamur telah dicatat (Guimarães et al., 2014)

Cara penyimpanan dalam tanah steril adalah sebagai berikut: Beberapa tanah liat diambil, dikeringkan dengan udara dan diayak untuk memisahkan partikel tanah yang cukup besar dan menghilangkan sisa-sisa tanaman. Tanah kering dan diayak ditempatkan dalam tabung atau botol dengan tutup 25 ml - 1 cm dari permukaan tutup. Tabung atau botol yang berisi kotoran diperlakukan dengan air suling steril hingga pembasahan 50% kemudian diautoklaf tiga kali berturut-turut selama tiga hari pada suhu 121°C selama satu jam. Selanjutnya botol dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama

satu jam dan setelah dingin disimpan dalam desikator sampai digunakan. Suspensi mikroba yang akan diawetkan (sel, spora atau konidia, miselium) disiapkan dalam larutan steril pepton 2% dalam air suling. Suspensi mikroba (0,1 ml) dihilangkan dengan pipet steril dan ditambahkan ke masing-masing labu yang telah disiapkan. Botol dikembalikan ke pengering untuk disimpan atau dikeluarkan setelah dikeringkan dan disimpan di dalam ruangan (Machmud, 2001)

Kelangsungan hidup mikroba yang disimpan diuji setiap tahun dengan menumbuhkannya pada media agar. Pertumbuhan kembali bakteri dilakukan dengan membuang sebagian sampel tanah dari vial penyimpanan, memindahkannya ke media cair, kemudian menyebarkannya pada media agar yang sesuai (McClenny, 2005)

4. Manik-manik Porselin (Silika Gel)

Cara mudah lainnya untuk mengawetkan berbagai jamur adalah mengeringkannya dengan manik-manik porselen atau manik-manik kaca, menggunakan gel silika sebagai pengering (Ilyas & Soeka, 2019). Lapisan gel silika diletakkan di bagian bawah botol dengan penutup, setelah itu ditutup dengan lapisan kapas atau wol terak, dan porselen atau manik-manik kaca yang telah diresapi dan direndam dalam spons diletakkan di atasnya. Kelembaban di manik-manik diserap ke dalam silika gel di bawah ini. Silica gel juga memiliki keunggulan menjaga udara di dalam botol tetap kering (Kitamoto et al., 2002)

Metode silika gel dapat digunakan untuk mengawetkan jamur yang bersporulasi jika fasilitas untuk pengeringan beku atau untuk penyimpanan dalam nitrogen cair tidak tersedia. Jamur bersporulasi yang dilindungi oleh susu skim dan disimpan

pada gel silika tetap bertahan selama 4-5 tahun. Spora dapat bertahan hingga 11 tahun pada gel silika. Secara umum, viabilitas setelah penyimpanan pada silika gel tergantung pada strain jamur dan media yang tumbuh sebelum penyimpanan. Keuntungan dari silika gel adalah mencegah semua pertumbuhan dan metabolisme jamur. Beberapa peneliti menggunakan manik-manik kaca sebagai pengganti gel silika (Muhammad I; Atit K; Maman R., 2007)

Tata cara penyimpanan dan perawatan manik-manik porselen adalah sebagai berikut: Sebanyak 3-4 g silika gel (biru kering dan ungu saat basah) ditempatkan dalam botol 25 ml bertutup. Di atas gel silika ditutup dengan kapas atau terak setebal 1 cm, agar tidak bergerak dan tetap keropos. 20-50 porselen jenuh atau manik-manik kaca diletakkan di atas kapas. Botol dibuka dan disterilkan dalam oven pengering pada suhu 160°C selama 1-2 jam. Tutup botol yang dilapisi karet disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dalam oven pengering pada suhu 100°C selama 1 jam dan setelah dingin, disegel dalam botol. Jamur yang akan diawetkan dibiakkan selama 24-48 jam dalam tabung reaksi berisi 1 ml media cair yang sesuai. Manik-manik porselen dituangkan ke dalam tabung reaksi dengan biakan. Manik-manik jamur basah dikembalikan ke botol dan ditutup rapat. Sebagian gel silika di dalam botol akan berubah menjadi merah muda sedangkan sisanya akan tetap biru. Jika semua gel silika berubah menjadi merah muda, botol sebaiknya tidak digunakan. Botol dengan jamur disimpan pada suhu kamar atau di lemari es. Pengujian viabilitas dilakukan secara rutin, minimal setiap tahun. Pertumbuhan kembali jamur dicapai dengan

mengambil manik-manik, memindahkannya ke media cair atau mengikisnya ke media agar yang sesuai dan menginkubasinya pada suhu optimal (Kitamoto et al., 2002)

5. Substrat Organik

Selama bertahun-tahun, para peneliti telah mengembangkan metode praktis dan efektif untuk melestarikan jamur pada berbagai substrat seperti serpihan kayu, biji-bijian sereal, kertas saring dan jaringan serangga dan tanaman. Banyak teknik yang dikembangkan untuk patogen atau jamur spesifik lainnya dan belum diuji secara ketat dengan berbagai jamur (Kitamoto et al., 2002)

Kayu

Beberapa Basidiomycetes dan Ascomycetes yang menghuni kayu dapat disimpan pada serpihan kayu hingga 10 tahun.³ Adapun cara pemeliharaan dengan metode ini dapat dilakukan dengan potongan-potongan kecil kayu beech (diameter 12 mm × tebal 6 mm) ditambahkan ke dalam kaldu ekstrak malt 2% (sekitar 60 lembar kayu per 100 ml kaldu) dan disterilkan selama 20 menit pada suhu 121°C. Campuran disterilkan kembali 24 jam kemudian. Sekitar 15 serpihan kayu dikeringkan dan ditempatkan pada koloni jamur yang tumbuh pada agar ekstrak malt dalam cawan petri. Cawan petri disegel dengan parafilm, dan jamur dibiarkan menjajah serpihan kayu. Setelah 10-15 hari, serpihan kayu yang diinokulasi dipindahkan ke tabung reaksi steril (18 × 180 mm) yang berisi 6-7 ml agar-agar 2% malt. Tabung disumbat dengan kapas dan diinkubasi selama sekitar 1 minggu, setelah itu kapas diganti dengan Parafilm dan aluminium foil steril. Tabung disimpan pada suhu 4°C. Untuk mengambil kultur, sepotong serpihan kayu dikeluarkan dan ditempatkan pada

media agar segar. Tabung disegel kembali dan dikembalikan ke lemari es (Tan & van Ingen, 2004)

Sereal Gandum

Jamur seperti spesies *Sclerotinia*, *Magnaporthe*, *Leptosphaeria*, dan *Rhizoctonia* telah disimpan hingga 10 tahun pada benih gandum. Untuk mengawetkan isolat spesies *Rhizoctonia*, gandum direndam semalaman dalam air yang mengandung kloramfenikol (250g/ml). Air dihilangkan, dan biji-bijian diotoklaf selama 1 jam pada 12°C selama 2 hari berturut-turut. Botol tutup ulir diisi dengan biji-bijian dan diotoklaf. Botol diinokulasi dengan transfer dari tepi kultur yang tumbuh aktif dan diinkubasi pada 23°-27°C selama 7- 10 hari. Kultur kemudian dikeringkan secara menyeluruh dalam ruang pengering. Tutupnya dikencangkan dan dibungkus dengan parafilm, dan vial disimpan pada suhu -25°C (Kitamoto et al., 2002)

Strip Agar

Pythium, *Rhizoctonia*, dan beberapa spesies *Basidiomycetes* bertahan selama 18 bulan dengan metode ini, sedangkan *Ascomycetes* bertahan 3-5 tahun. Kultur jamur ditumbuhkan pada media yang sesuai dalam cawan petri. Strip sepanjang 1 cm dipotong dari tepi koloni yang tumbuh dan ditempatkan dalam cawan petri steril. Setelah 1 minggu pada suhu kamar, potongan agar kering dipindahkan ke ampul steril, dikeringkan dengan vakum, dan disegel. Untuk menghidupkan kembali kultur, strip agar ditempatkan pada media segar pilihan (Kitamoto et al., 2002)

Jaringan Serangga atau Tumbuhan

Jaringan inang dapat digunakan sebagai substrat untuk memelihara dan

menyimpan kultur beberapa jamur patogen. Misalnya, akar tanaman yang terinfeksi *Pyrenochaeta* dan *Thielaviopsis* dapat dikeringkan dan kemudian dibekukan. *Neozigot fresenii* tidak dapat dibiakkan secara *in vitro*, tetapi telah dikembangkan metode pengawetan konidia yang hidup pada mumi kutu beku yang terinfeksi (Kitamoto et al., 2002)

6. *In Vacuo* dalam Gas Fosfopentaoksida

Teknik penyimpanan ini disebut juga teknik Sordelli, karena mula-mula ditemukan oleh Sordelli. Biakan jamur disimpan dalam serum kuda yang ditempatkan dalam tabung gelas kecil atau ampul. Tabung ini ditempatkan di dalam tabung lain yang lebih besar berisi sedikit fosfopentaoksida (P_2O_5) dan disimpan pada suhu ruang atau di kulkas. Teknik ini sesuai untuk penyimpanan jangka panjang khamir dan jamur. Khamir dan jamur tersebut dapat bertahan hidup dengan baik selama 5-28 tahun, tergantung pada strain jamur yang disimpan (Muhammad I; Atit K; Maman R., 2007)

7. Pembekuan

Kebanyakan kultur jamur dibekukan pada -20°C sampai -80°C pada *freezer* mekanis. Kultur yang ditanam pada agar miring dalam botol atau tabung reaksi dengan tutup ulir dapat ditempatkan langsung di dalam *freezer*. Tingkat kegagalan keseluruhan untuk *Ascomycetes* mitosporik, *Zygomycetes* dan ragi setelah 5 tahun dalam penyimpanan pada -20°C adalah 5,1%. Tidak direkomendasikan pembekuan dan pencairan berulang, yang secara signifikan mengurangi kelangsungan hidup kultur isolat jamur (Nakagiri, 2005)

8. Pengeringan Cair (Nitrogen Cair)

Penyimpanan dalam nitrogen cair adalah cara yang efektif untuk mengawetkan banyak mikroorganisme, termasuk organisme yang tidak dapat liofilisasi. Namun, biayanya sedikit lebih mahal daripada liofilisasi, karena nitrogen cair harus diisi ulang setiap beberapa hari. Penyimpanan nitrogen cair direkomendasikan untuk pengawetan Dictyostelids, Zygomycetes termasuk Entomophthorales, Oomycetes jamur fitopatogen, dan khamir. Ascomycetes yang bersporulasi buruk dalam kultur, dan Basidiomycetes yang umumnya tumbuh hanya sebagai miselia dalam kultur juga dapat disimpan dalam nitrogen cair. Tingkat mutasi pada jamur yang dikultur kemungkinan besar sesuai dengan pembelahan sel dan aktivitas metabolisme, sebaiknya pemeliharaan jamur menggunakan metode penyimpanan yang menghentikan pembelahan sel sepenuhnya dan menghentikan metabolisme secara total, tetap mempertahankan kelangsungan hidup. Pembekuan pada atau di bawah -139°C, suhu di mana kristal es tidak tumbuh dan laju proses biofisik lainnya terlalu lambat untuk mempengaruhi kelangsungan hidup sel (Nakagiri, 2005)

Semua jamur dapat disimpan, tetapi metode ini umumnya disimpan untuk jamur yang tidak bersporulasi dalam kultur, jamur yang memiliki spora besar atau halus yang tidak akan bertahan dalam pengeringan beku (liofilisasi). Keuntungan utama penyimpanan nitrogen cair termasuk pencegahan peningkatan variabilitas; menghemat waktu, mengurangi tenaga kerjadibandingkan dengan penanganan penyimpanan kultur dengan peremajaan; penghapusan kebutuhan untuk uji patogenisitas berulang, pencegahan hilangnya kultur dari kontaminasi; dan

peningkatan jaminan ketersediaan budaya jangka panjang. Kerugian utama dari teknik ini adalah biaya peralatan yang unit pendingin, dan kebutuhan untuk pengawasan yang konstan (Tan & van Ingen, 2004)

Salah satu kelemahan yang mempengaruhi distribusi galur yang diawetkan dalam nitrogen cair adalah bahwa pertama-tama harus ditumbuhkan pada atau dalam media cair untuk menghindari biaya pengiriman bahan beku (Kitamoto et al., 2002)

Prosedur yang digunakan untuk memanen bahan untuk pengawetan dalam nitrogen cair berbeda tergantung pada apakah jamur bersporulasi, memiliki miselia yang menembus di bawah permukaan agar atau hanya tumbuh dalam kultur cair (Nakagiri, 2005)

9. Beku Kering (Liofilisasi)

Teknologi liofilisasi, atau teknologi pembekuan, adalah teknologi pengawetan yang paling umum digunakan untuk penyimpanan jangka panjang mikroba. Teknik ini cocok untuk mengawetkan berbagai jenis mikroorganisme, termasuk virus, khamir, jamur pembentuk spora dan jamur non pembentuk spora, bahkan alga dan protozoa. Teknik ini juga bekerja dengan baik untuk koleksi dan pemasok biakan mikroba, karena volume ampul yang besar dapat disiapkan dan mudah didistribusikan. Banyak kultur mikroba yang disimpan dapat bertahan selama beberapa dekade, tetapi beberapa mikroba membutuhkan bahan pengawet tertentu yang sesuai (Muhammad I; Atit K; Maman R., 2007)

Teknologi *freeze drying* merupakan teknologi yang paling kompleks dibandingkan dengan beberapa teknologi penyimpanan lainnya karena teknologi

ini membutuhkan pengetahuan teknis yang tinggi dan modal dasar untuk membeli peralatan *freeze drying*. Namun, jika peralatannya tersedia, tekniknya sederhana dan sangat memuaskan. Faktanya, pengering beku tidak selalu merupakan perangkat yang rumit dan mahal, karena perangkat sederhana dapat dirakit sendiri dengan menggabungkan pompa vakum dan kompresor zat pendingin. Saat ini terdapat berbagai model pengering beku di pasaran, yang menurut penelitian tidak mahal (Kitamoto et al., 2002)

10. Kriopreservasi

Khamir dan kapang dapat dibekukan dalam jangka waktu lama, sehingga sangat mengurangi aktivitas atau metabolismenya. Mikroba disimpan dalam freezer dengan suhu -20°C dan -70°C . Semakin rendah suhu penyimpanan, semakin kecil kemungkinan kehilangan viabilitasnya. Penyimpanan pada suhu di atas -70°C sebaiknya tidak terlalu lama, tidak lebih dari satu tahun. Penyimpanan mikroba suhu sangat rendah dengan membekukan dalam nitrogen cair pada -196°C menawarkan kesempatan kepada peneliti untuk menyimpan mikroba menggunakan teknik standar sederhana yang telah terbukti berhasil pada suhu sangat rendah untuk berbagai jenis mikroba dan mamalia. Hilangnya viabilitas sel dan stabilitas tinggi. Berbagai spesies bakteri dapat dibekukan secara langsung dalam media kultur, namun penambahan senyawa krioprotektif seperti gliserin atau dimetil sulfoksida (DMSO) dapat mengurangi tekanan beku. Krioprotektan lain yang dapat digunakan adalah gula sakarida, pati dan polivinilpirolidon (PVP). Beberapa senyawa krioprotektif beracun dan menyerang mikroba, terutama

selama pembekuan dan pencairan kultur yang disimpan. Oleh karena itu, senyawa tersebut harus diencerkan atau dihilangkan seluruhnya selama pertumbuhan mikroba (Kitamoto et al., 2002) Pada *cold storage*, pembekuan harus lambat dan stabil hingga mencapai 0°C atau -40°C , dilanjutkan dengan pendinginan cepat hingga mencapai suhu pendinginan akhir (-196°C). Pembekuan yang cepat dapat menyebabkan pembentukan kristal es di ruang antara sel dan ketidakseimbangan elektrolit yang dapat membunuh atau merusak sel. Kultur mikroba yang disimpan harus dicairkan dengan cepat. Secara umum, bakteri, khamir dan fungi lebih tahan terhadap kerusakan akibat pembekuan dibandingkan alga, protozoa atau kultur jaringan (Tan & van Ingen, 2004)

KESIMPULAN

Preservasi jamur merupakan salah satu aspek penting untuk menjaga viabilitas jamur. Teknik preservasi terdiri dari, preservasi jangka pendek dan jangka panjang. Preservasi jangka pendek dapat digunakan dengan metode transfer serial atau peremajaan. Pemeliharaan ini bertujuan untuk penelitian, pemeriksaan serta pendidikan. Pemeliharaan jangka panjang dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain liofilisasi atau kering beku dan kriopreservasi. Untuk menentukan keberhasilan pada pemeliharaan jamur perlu memerhatikan beberapa hal antara lain, tindakan dilakukan secara aseptik, teliti, pemberian label yang jelas dan tidak mudah hilang sehingga dapat memudahkan pelacakan data, melakukan pengecekan rutin yang mencakup tidak hanya untuk menguji viabilitas, tetapi juga stabilitas terutama virulensinya. Setiap isolat minimal dibuat 5 duplikat agar pengujian viabilitas dapat dilakukan lebih leluasa. Pembuatan database dari koleksi isolat merupakan hal yang mutlak diperlukan untuk memantau diversitas jamur yang tersedia.

DAFTAR PUSTAKA

Cui, H., Wang, C., Gu, Z., Zhu, H., Fu, S., & Yao,

- Q. (2014). Evaluation of soil storage methods for soil microbial community using genetic and metabolic fingerprintings. *European Journal of Soil Biology*, 63, 55–63.
- Guimarães, L. C., Fernandes, A. P., Chalfoun, S. M., & Batista, L. R. (2014). Methods to preserve potentially toxigenic fungi. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45, 43–47.
- Ilyas, M., & Soeka, Y. S. (2019). Accelerated rate storage and viability test of Basidiomycetous fungal strains were cryopreserved at -80° C. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 308(1), 012069.
- Jawetz, M. & A. (2019). *Medical Microbiology*. Appleton & Lange. 28 ed.
- Kitamoto, Y., Suzuki, A., Shimada, S., & Yamanaka, K. (2002). A new method for the preservation of fungus stock cultures by deep-freezing. *Mycoscience*, 43, 143–149.
- Machmud, M. (2001). *Teknik penyimpanan dan pemeliharaan mikroba*.
- Mahon CR; Manuslis G. (2019). *Text Book of Diagnostic Microbiolgy*. WB Saunders Comp.
- McClenny, N. (2005). Laboratory detection and identification of *Aspergillus* species by microscopic observation and culture: the traditional approach. *Medical Mycology*, 43(Supplement_1), S125–S128.
- Muhammad I; Atit K; Maman R. (2007). Pusat Penelitian Biologi. *LIPI Cibinong Science*.
- Nakagiri, A. (2005). Preservation of fungi and freezing methods. *Workshop on Preservation of Microorganisms*, 1–25.
- Nakasone, K. K., Peterson, S. W., & Jong, S.-C. (2004). Preservation and distribution of fungal cultures. *Biodiversity of Fungi*, 37–47.
- Sciortino Jr, C. V. (2017). *Atlas of clinically important fungi*. John Wiley & Sons.
- Surja, S. S., Sally, G. V., Hartoyo, F. S. R., Kurniawan, S. V., & Budiman, Y. (2020). Preservation in Paraffin Oil: Alternative for Fungi Preservation in Simple Laboratory Concept. *Althea Medical Journal*, 7(3), 117–121.
- Tan, S., & van Ingen, C. (2004). Preservation of fungi and yeasts. In *Life in the frozen state* (pp. 303–324). CRC Press.
- Walsh, T. J., Hayden, R. T., & Larone, D. H. (2018). *Larone's medically important fungi: A guide to identification*. John Wiley & Sons.
- Welsh, C. T. (2019). *Microbiology: a laboratory manual*. Pearson.