Medium Tapioka untuk Preservasi Kapang yang Bermanfaat untuk Veteriner

Tapioca Medium for Preservation of Veterinary Beneficial Mold

Ahmad RZ

Laboratorium Mikologi, Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor
Jl. RE Martadinata 30 Bogor 16114, Indonesia

Ahmad RZ. 2018 – Media Tapioka untuk Preservasi Kapang yang Bermanfaat untuk Veteriner. Jurnal Mikologi Indonesia 2 (1), 1–6.

Abstrak

Preservasi mempunyai arti penting bagi kelestarian jamur khususnya kapang. Pemilihan media preservasi umumnya bergantung kepada tujuannya. Tujuan dari percobaan ini untuk menguji tapioka sebagai komponen utama preservasi kapang yang bermanfaat, khususnya untuk veteriner. Kapang yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Duddingtonia flagrans* dan *Purpureocillium lilacinum*. Percobaan dilakukan selama 15 bulan, di Laboratorium Mikologi Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor. Disiapkan 72 tabung, diisi dengan 4 gram tapioka dan 2 mL air, lalu diinokulasikan kapang yang berisi 1×10^5 spora. Setiap bulan secara berurutan satu tabung dibuka hingga tabung ke-12. Uji ini dilakukan sebanyak 3 ulangan, dengan 2 isolat kapang di atas. Hasil percobaan menunjukkan bahwa *D. flagrans* dapat dipreservasi hingga 12 bulan, dan *P. lilacinus* selama 8 bulan.

Kata kunci– Preservasi–Tapioka–*Duddingtonia flagrans*–*Purpureocillium lilacinum*

Abstract

Preservation has an important role in fungal conservation, especially mold. Selection of preservation media depends on the purpose. The purpose of this experiment is to examine tapioca as the main component of preservation medium for mold that is particularly useful for veterinary purposes. *Duddingtonia flagrans* and *Purpureocillium lilacinum* were selected in this study. The experiment was conducted for 15 months in Indonesian Center For Veterinary Sciences (IVETRI) Mycology Laboratory. A total 72 tubes filled with 4 gram tapioca and 2 mL water were prepared, and then inoculated with selected mold that has been prepared with 1×10^5 spores. Each treatment was examined and revived every month. The test was performed in three replicates. The results showed that *D. flagrans* can be preserved for up to 12 months, while *P. lilacinus* for 8 months.

Key words –Preservation –Tapioca –*Duddingtonia flagrans* –*Purpureocillium lilacinum*

Pendahuluan

Jamur adalah organisme eukariotik, menghasilkan spora, tidak berklorofil, memperoleh nutrisi dengan cara absorpsi, memproduksi secara seksual dan aseksual, berstruktur somatik dalam bentuk hifa, dinding selnya terdiri dari glukukan, kitin dan selulosa. Berdasarkan morfologinya, jamur dapat digolongkan menjadi cendawan (*mushroom*) yang

berukuran besar dan dapat dilihat dengan mata telanjang (makroskopik), kapang (*mold*) dan khamir (*yeast*) yang tergolong berukuran mikroskopik. Kapang adalah jamur renik yang mempunyai miselia dan massa spora yang jelas (Alexopoulos *et al.* 1996, Dube 1996).

Preservasi atau pengawetan digunakan untuk melestarikan biakan khususnya isolat yang dianggap penting. Tujuan preservasi meliputi tujuan jangka pendek dan panjang. Preservasi jangka pendek dilakukan untuk keperluan rutin penelitian yang disesuaikan dengan kegiatan program tertentu. Preservasi jangka panjang dilakukan dalam kaitannya dengan koleksi dan konservasi mikrob, sehingga apabila suatu saat diperlukan, dapat diperoleh kembali atau dalam keadaan tersedia (Machmud 2001). Preservasi ini dilakukan terhadap mikroorganisme seperti bakteri, jamur, parasit bahkan virus.

Preservasi yang untuk kapang memerlukan teknik dan bahan media tertentu. Pemeliharaan beberapa kapang pada kultur media memerlukan perhatian khusus, karena menghabiskan waktu, tidak praktis, mudah tercemari, efek terjadinya penurunan patogenitasnya. Pada umumnya preservasi kapang dilakukan dengan menggunakan agar padat, minyak mineral, manik-manik porselin, pasir, silika gel, gliserol, lempengan gelatin, jaringan host yang dikeringkan, tanah, air steril, liofilisasi, menggunakan potongan kertas filter, penyimpanan *In Vacuo* dalam Gas Fosfopentaoksida dan kriopreservasi (Diogo *et al.* 2005, Machmud 2001, Paul *et al.* 2015, Lapage *et al.* 1970).

Dalam kaitannya dengan kelestarian yang bermanfaat dan memanfaatkan bahan-bahan alami yang murah dan mudah didapat, maka diperlukan percobaan-percobaan untuk menemukan media yang sesuai bagi berbagai kelompok kapang, dapat diaplikasikan secara langsung dan tak langsung, serta mudah didapat dan bersifat aplikatif. Dalam penelitian ini, tapioka digunakan sebagai bahan utama untuk medium preservasi *Duddingtonia flagrans* dan *Purpureocillium lilacinum* yang memiliki kemampuan untuk membunuh cacing dalam wujud larva dan telur. Menurut percobaan Ahmad (2002), tepung singkong (tapioka) merupakan bahan yang cocok untuk preservasi kapang, karena selain mudah didapat dan harganya murah, kapang dapat mudah tumbuh pada tepung tersebut. Diharapkan dengan media tapioka dapat digunakan sebagai media preservasi yang baik dan diaplikasi dengan mudah. Tujuan dari percobaan ini untuk mencari komposisi preservasi untuk kapang yang bermanfaat khususnya untuk kapang-kapang yang penting di veteriner.

Metoda Penelitian

Di dalam penelitian ini digunakan tepung singkong (tapioka) sebagai bahan utama untuk pengembangan medium preservasi. Isolat kapang yang dipilih adalah kapang nematofagus, yaitu kapang *D. flagrans* (Gb. 1) sebagai pereduksi larva cacing *Haemonchus contortus*, kemudian kapang *P. lilacinum* (Gb. 2) sebagai pereduksi telur cacing *H. contortus*. Selanjutnya diperlukan 144 mL aquades (air steril) sebagai pengencer tepung dan tabung reaksi sebagai tempat penyimpanan isolat yang diuji. Penelitian dilakukan selama 15 bulan di Laboratorium Mikologi, Balai Besar Penelitian Veteriner. Percobaan dilakukan dengan cara mempersiapkan 72 tabung, lalu diisi dengan 4 gram tapioka dan 2 mL air lalu diinokulasikan kapang yang berisi 1×10^5 spora *D. flagrans*. Tabung disimpan pada suhu kamar 25-30 °C. Selanjutnya setiap bulan pada bulan pertama, tiga tabung diperiksa, lalu bulan ke-dua berikutnya tiga tabung dan seterusnya hingga tiga tabung pada bulan ke-12. Pada *P. lilacinum* juga dilakukan hal yang sama (Gb. 3). Percobaan dilakukan dengan tiga ulangan.

Gambar 1 (a) Koloni *D.flagrans* pada media agar SDA inkubasi 5 hari suhu 25° C .
(b) Klamidospora *D. flagrans* dengan pewarnaan Metilen Biru. Pembesaran 400x, Bar :0,23 µm.

Gambar 2 (a) Koloni *P.lilacinum* pada media agar SDA inkubasi 5 hari suhu 25° C.
(b) *P. lilacinum* dengan pewarnaan Metilen Blue. Pembesaran 400x, Bar:1,25µm.

Gambar 3 Kapang yang dipreservasi di dalam tabung.

Hasil

Hasil percobaan menunjukkan bahwa isolat kapang *D.flagrans* dapat dipreservasi hingga 12 bulan atau satu tahun, sedangkan isolat kapang *P. lilacinum* hanya dapat dipreservasi selama 8 bulan (Tabel 1).

Pembahasan

Preservasi umumnya bertujuan untuk memelihara biakan jamur, khususnya kapang, dengan cara menjaga galur tersebut di dalam suatu media dengan harapan tidak terjadi perubahan fisiologis, genetik, dan morfologi. Beberapa jenis kapang tumbuh dalam kondisi dengan persyaratan tertentu atau media yang spesifik. Media pertumbuhan tertentu sangat bervariasi dan mempengaruhi pertumbuhan koloni. Prinsip dasarnya adalah

memperlambat dari metabolisme sampai mencapai tahap dorman. Ketika ditumbuhkan kembali diharapkan kemampuan jamur tidak hilang (Machmud 2001, Guimaraes *et al.* 2014).

Tabel 1 Pemeriksaan isolat yang dipreservasi.

Pengamatan Bulan ke-	Kapang					
	<i>D.flagrans</i>			<i>P.lilacinum</i>		
	Ulangan ke-			Ulangan ke-		
	1	2	3	1	2	3
Januari	√	√	√	√	√	√
Februari	√	√	√	√	√	√
Maret	√	√	√	√	√	√
April	√	√	√	√	√	√
Mei	√	√	√	√	√	√
Juni	√	√	√	√	√	√
Juli	√	√	√	x	x	√
Agustus	√	x	√	x	√	√
September	√	√	√	x	x	x
Oktober	x	√	√	x	x	x
November	√	x	√	x	x	x
Desember	x	x	√	x	x	x

Keterangan : √ : isolat hidup, x : isolat mati

Diantara teknik preservasi yang pernah dilaporkan, teknik kriopreservasi dan liofilisasi/*freeze drying* merupakan teknik yang efektif karena kapang dapat tahan disimpan selama bertahun-tahun hingga puluhan tahun, walaupun tidak dapat langsung diaplikasikan langsung karena memerlukan proses adaptasi (Sugawana 2000, Ibatsam *et al.* 2012). Teknik penyimpanan pada agar miring dan air steril cocok untuk kapang toksigenik, namun mudah terkontaminasi dan tidak mudah dibawa kemana-mana. Penyimpanan *In Vacuo* dalam Gas Fosfopentaoksida dan menggunakan potongan kertas filter kurang praktis dilakukan dan terbatas pada mikroba tertentu. Sedangkan untuk pengawetan di dalam minyak mineral, tanah, gliserol, dan silika gel kedua kapang yang diuji kurang cocok untuk keperluan uji kedua kapang nematofagus ini.

Oleh karena itu, penting dicari bahan yang cocok untuk keperluan preservasi yang efektif dan efisien tersebut. Beberapa bahan dicoba sebagai media tumbuh untuk kapang seperti beras, jagung dan tapioka (Ahmad 2002). Meski tepung beras menunjukkan pertumbuhan yang bagus namun beras lebih dikonsumsi manusia yang harganya relatif lebih mahal sehingga lebih baik dipergunakan tapioka untuk ternak meski pertumbuhannya sedikit lebih lambat. Preservasi kapang pada media tapioka merupakan sesuatu hal yang baru, hal ini sebenarnya dilakukan untuk mengakomodir keperluan aplikasi di lapang. Saat kedua kapang tersebut memerlukan waktu simpan cukup lama, hingga dapat diaplikasikan kurang lebih 6 bulan hingga 12 bulan, kemudian media tersebut harus murah, mudah didapat dan mudah diaplikasikan. Media tapioka merupakan pilihan yang baik pada saat ini.

Tepung tapioka pada industri pangan umumnya digunakan sebagai bahan pengental, bahan pengikat dan bahan pengenyal. Tepung ini mempunyai komposisi yang cukup relevan dengan kebutuhan untuk menyimpan dan mengawetkan kapang. Kandungan nutrisi tepung tapioka cukup tinggi. Di dalam tapioka 100 gram terdapat sebesar karbohidrat 88,2 gram, protein 8,9 gram, lemak 0,5 gram, dan energi 363 kkal (Badan Ketahanan Pangan dan Penyuluhan Provinsi DIY 2014). Karbohidrat, protein, dan mineral pada tepung singkong cukup untuk kebutuhan preservasi kapang pada percobaan ini sesuai kebutuhan pertumbuhan jamur (Dube 1996).

Teknik preservasi kapang *D. flagrans* dan *P. lilacinum* dengan menggunakan media tapioka menunjukkan hasil yang berbeda. Isolat kapang *D.flagrans* dapat dipreservasi hingga 12 bulan, sedangkan isolat kapang *P. lilacinum* hanya dapat dipreservasi selama 8 bulan. Hal

ini dapat terjadi karena kedua isolat tersebut mempunyai morfologi, struktur spora dan hifa yang berbeda sehingga akan mempunyai perbedaan pada pertumbuhan dan daya tahan. Ketika tapioka dipakai sebagai bahan preservasi pada kedua isolat selain berbeda pada tumbuh dan daya tahan, komposisi tapioka ini yang mengandung 88,2 gram karbohidrat cocok dengan penyimpanan isolat *D.flagrans*, yang akan dipakai di lapang sehingga dapat diaplikasikan. Hal ini didukung dengan kemampuan kapang *D. flagrans* membentuk spora yang bernama klamidospora, yaitu spora yang tahan terhadap kekeringan air dan cuaca ekstrim, sedangkan *P. lilacinum* tidak mempunyai klamidospora dan hanya dapat hidup seperti umumnya kapang kosmopolitan pada suhu 20-35 °C dan kelembaban minimal 60% mmHg. Ketika dilakukan preservasi kemungkinan pada bulan ke-8 air yang masih diperlukan sudah kering sehingga kapang mati pada kondisi tersebut, sedangkan *D. flagrans* masih dapat bertahan hidup (Ahmad 2013). Kemungkinan hal yang lain adalah kesalahan operator. Umumnya operator yang berbeda didalam melakukan pemeriksaan setiap bulan, dengan cara mengambil isolat dalam tepung singkong pada tabung reaksi dipindahkan ke media akan berbeda, seharusnya hanya satu operator yang sama, kalau berbeda akan mempengaruhi hasil pengamatan. Selanjutnya adalah komposisi yang belum tepat perbandingan antara tapioka, air, massa kapang, dan volume udara, kemungkinan terdapat perbedaan komposisi yang dibutuhkan kapang *D.flagrans* dan *P. lilacinum* untuk hidupnya dalam tabung reaksi. Sehingga hanya *D. flagrans* yang masih dapat hidup selama 1 tahun. Pada percobaan ini medium preservasi dengan tapioka cocok untuk aplikasi kapang yang akan diaplikasi di lapang, dan dapat dilanjutkan percobaan komposisi yang lebih tepat, tergantung jenis kapang yang dipakai.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada kepada teknisi-teknisi Laboratorium Mikologi Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor yang telah memberikan dukungan dalam pelaksanaan percobaan ini.

Pustaka

- Ahmad RZ. 2002– Media lokal untuk pertumbuhan kapang nematofagus sebagai sebuah model, pp. 444–449. Dalam: Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2002, Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan, Departemen Pertanian.
- Ahmad RZ. 2013– Kapang *Paecilomyces lilacinus* dan *Verticillium chlamydosporium* sebagai pengendali hayati fasciolosis. *Wartazoa* 23(3), 134–140.
- Alexopoulos CJ, Mims CW, Blackwell M. 1996– Introductory to Mycology. 4th Ed. JOHN WILEY and SONS. INC., New York-Chichester-Brisbane-Toronto-Singapore.
- Badan Ketahanan Pangan dan Penyuluhan Provinsi DIY. 2014 – Data Kandungan Gizi Bahan Pangan dan Olahannya. <http://www.bkppp.bantulkab.go.id> (diakses: 6 -11-2017).
- Diogo HC, Sarpiere A, Pires MC. 2005– Fungi preservation in distilled water. *An Bras Dermatol* 80 (6), 591–594.
- Dube HC. 1996– An Introduction to fungi. 2ndEd. Vikas Publishing House PVT Ltd. Delhi.
- Guimaraes LC, Fernandes AP, Chalfoun SM, Batista LR. 2014– Methods to preserve potentially toxigenic fungi. *Braz J Microbiol* 5(1), 43–47.
- Ibatsam K, Rukhsana B, Nasim G. 2012– Preservation of *Penicillium* species by Lyophilization. *AJFAND* 12(3), 1–6.
- Lapage SP, Shelton JE, Mitchell TG. 1970– Media for the maintenance and preservation of bacteria. In: Methods in Microbiology 3A (Norris JR, Ribbons DW) (Eds.), Elsevier, pp. 1–133.

- Machmud M. 2001–Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. *Buletin Agro Bio*4(1),24–32.
- Paul JS, Tiwari KL, Jadhay SK.2015– Long TermPreservation of Commercial Important Fungi in Glycerol at 4° C. *International Journal of Biological Chemistry* 9, 79–85.
- Sugiawan W. 2000 – Teknik pengawetan bakteri, khamir dan kapang dengan metode Pengering–bekuan (*Freeze Drying*).*Prosiding Temu Teknis Fungsional non Peneliti* 29–39.