



**Perbaikan Strain Jamur Tiram dengan Teknik Fusi
Kultur Spora Tunggal Jamur Tiram Putih
dan Jamur Tiram Kelabu**

**Strain Improvement of Oyster Mushroom by Using Fusion
Technique of Single Spore Culture White-oyster
Mushroom and Gray-oyster Mushroom**

Rosnina A.G.^{1*}, Yusra¹, Zurrahmi Wirda¹

*Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Malikussaleh
Muara Batu Lhokseumawe.*

*rosnina@unimal.ac.id

ABSTRAK

Jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) dan jamur tiram abu-abu (*P. pulmonarius*) termasuk dalam famili Pleurotacea yang belum dapat mencapai hasil yang optimal. Selain itu sporophora jamur ini mudah rusak (*perishable*) sehingga menyukarkan proses pemanenan dan selama pengangkutan. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan kualitas benih jamur tiram melalui teknik fusi antara kultur spora tunggal isolat jamur tiram putih dan jamur tiram abu-abu. Koleksi isolasi spora tunggal yang berasal dari sporophora dewasa dari jamur tiram putih dan jamur tiram kelabu yang ditumbuhkan pada media agar dalam memperoleh kultur monokarion. Untuk memastikan isolasi kultur monokarion pada hifanya tidak terdapat koneksi penjepit (*clamp connection*). Masing-masing kultur monokaryon yang berasal dari kedua tetua diuji kompatibilitasnya dengan cara meletakkan miselia plug dengan bantuan cob borer berdiameter 0.7 cm yang diletakkan secara berjajar pada bagian tengah cawan petri yang berisi media PDA (*potato dextrose agar*). Keberhasilan peleburan dua jenis kultur monokaryon yang kompatibel ditunjukkan dengan adanya *clamp connection* pada zona pertemuan dua misela (*junction zone*) yang tampak terintegrasi secara merata, sedangkan penyatuan monokaryon kultur yang *incompatibel* ditandai dengan ketiadaan *clamp connection* dan tidak akan menghasilkan tubuh buah jamur jika dibudidayakan. Dikaryon baru hasil persilangan disubkulturkan dan dibudidayakan untuk mendapatkan sporophora jamur baru. Miselia jamur hasil persilangan memiliki kecepatan tumbuh memenuhi media baglog lebih tinggi dari miselia kedua tetuanya. Kecepatan tumbuh dan ketebalan miselia merupakan karakteristik yang akan dipilih sebagai tanda dalam seleksi benih unggul jamur tiram.

Key word; kompatibilitas, hibridisasi, sporopphora

ABSTRACT

White oyster mushrooms and gray oyster mushrooms are included in the Pleurotacea family which have not been able to achieve optimal yield. In addition that sporophore of this species is perishable, due to harvesting and transportation. This study aims to improve the quality of oyster mushroom spawn through a fusion technique between single spore isolates of white oyster mushroom and gray oyster mushroom. The study aims to improve the quality of oyster mushroom spawn through a fusion technique between single spore cultures of white oyster mushrooms and gray oyster mushroom isolation. A collection of single spore isolation derived from mature sporophores was grown on agar media to obtain monokarion culture. To confirmation the isolation of monokarion culture in the hyphae there is no clamp connection. Each monokaryon culture from both parents was tested for compatibility by placing a mycelial plug 0.7 cm diameter with the aid cob borer and placed in the center of a petri dish containing PDA (potato dextrose agar) media. The successful fusion of

compatible mating between two monokaryon cultures were indicated by the presence of a clamp connection which appears to be evenly integrated, while the union of incompatible monokaryon cultures is indicated by the absence of a clamp connection and will not produce mushroom fruiting bodies if cultivated. New dikaryon crosses were subcultured and cultured to obtain new genotype sporophores. New genotype mycelia had a higher growth rate run compared than both of parental mycelia to completed spawn run. Radial growth rate and thicknesses of mycelia are characteristics that will be considered marker to selection of quality mushrooms spawn.

Keywords; Compatibility, hybridization, sporophora

Pendahuluan

Jamur telah digunakan dalam diet bergizi sejak zaman kuno, sebagai makanan eksotis dan mewah. Salah satu jenis jamur yang banyak diusahakan adalah jamur tiram. Jamur tiram termasuk family Pleurotus yang merupakan species jamur yang dapat tumbuh pada limbah pertanian yang bervariasi dengan kondisi agroklimat yang berbeda. Selain itu enzyme yang dimilikinya sebagai pelapuk yang mampu mendegradasi lignin pada kayu merupakan peran penting lainnya dalam siklus kehidupan. Karakteristik jamur tiram dan sifat fleksibel yang dimilikinya merupakan hal utama dan penting dalam penelitian dan perkembangbiakan jamur tiram serta menyumbang 25% dari total produksi jamur secara Internasional, *International Society for mushroom sciences* (2016).

Pada tahun 1904 Blakeslee adalah orang pertama yang menemukan seksualitas jamur Mucorales melalui perkawinan miselium dari spora tunggal. Kemudian pada tahun 1918-20 ditemukan mekanisme seksualitas pada kelas basidiomycetes. Sekarang hari untuk peningkatan ketegangan di jamur beberapa teknik pemuliaan yang dimodifikasi seperti seleksi dan hibridisasi oleh proses fusi Protoplas, penggunaan mutagenesis kimia, penggunaan penanda resistensi, memiliki telah digunakan dengan temuan baru hasil tinggi, lebih bergizi, tahan penyakit dan efisiensi biologis yang lebih tinggi. Untuk mengembangkan galur Pleurotus yang baik, beberapa strategi pemuliaan seperti anastomosis hifa pada *P. sajor caju* telah banyak digunakan (Jandaik, 1997).

Penyatuan dua monokaryotik kultur (Dikariotisasi) merupakan hibridisasi moderen yang dengan teknik fusi protoplas (protoplast

fusion) dan penggunaan mutasi dengan aplikasi sinar UV dan Gamma-ray Co60 untuk menghasilkan new-genotipe unggul sesuai karakteristik yang diinginkan (*desired traits*) merupakan seleksi strain secara konvensional yang sangat penting dalam perbaikan strain untuk membawa rekombinasi genetik dan mengembangkan hibrida somatik yang telah digunakan oleh beberapa pekerja untuk mengembangkan galur baru Pleurotus dengan temuan kemampuan kolonisasi cepat yang mengarah pada pembilasan awal buah tubuh dengan bentuk, ukuran yang baik, tingkat kematian tunas yang rendah, warna pelius yang baik dan kandungan protein yang tinggi (Bahukhandi dan Sharma, 2002, Rosnina *et al.*, 2007, Kumara and Edirimanna, 2009, Jaswal *et al.*, 2013, Rosnina *et al* 2016). Spesies Pleurotus secara komersial menempati peran penting sebagai jamur budidaya secara luas di seluruh dunia.

Oleh karena itu, peningkatan penelitian dalam pengembangan strain baru yang memiliki produksi tinggi dan karakteristik jamur yang lebih baik perlu ditingkatkan. K.R. Jyothi dan Susha S. Thara. 2020. melakukan penelitiannya perbaikan strain spesies Pleurotus dilakukan dengan hibridisasi interspesifik melalui persilangan kultur spora tunggal pada *Pleurotus djamor* efisiensi biologis (BE) yang rendah, setelah disilangkan dengan jamur tiram putih terjadi inisiasi pembentukan tubuh buah jamur yang lebih cepat dan hasil yang lebih tinggi.

Persilangan antarspesies yang diperoleh dengan teknik penyatuan monokaryon kultur dapat menghasilkan galur jamur yang lebih baik untuk perbaikan genetik dalam family Peurotus Noorlidah *et*

al. (2014). Karakter morfologi tiga hibrida baru yang dipilih menunjukkan karakteristik sporofora berdaya hasil tinggi yaitu peningkatan warna, aroma, tekstur dan hasil. Diantara family Pleurotus yang dibudidayakan secara besar-besaran adalah *P. rusak* (*perishable*) karena perlakuan selama panen dan transportasi yang lama. Hibridisasi berdasarkan persilangan galur homokariotik yang infertile antar galur dari spesies yang berbeda sifat genetik yang dikembangkan dapat menghasilkan strain hibrida unggul. Hibridisasi antar galur benih yang digunakan oleh Gupta *et al.* (2011) menggunakan isolasi spora tunggal antara *P. sajor-caju*, *P. florida*, *P. eous* dan *Hypsizyguis ulmaris* mengakibatkan periode spawn run yang lebih pendek yaitu 17 dan 18 hari setelah inokulasi dibandingkan dengan periode normal spawn run yaitu sekitar 25-30 hari. Selain itu, dikaryon hibrida menunjukkan sifat yang lebih baik dalam hal hasil tinggi, yang dapat menjadi dasar untuk perbaikan strain. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk menghasilkan benih jamur tiram yang berkualitas yang lebih baik ciri-cirinya dari galur induk.

Adanya sambungan klem (*clamp connection*) pada dikaryon hasil persilangan menunjukkan reaksi kompatibel fusi hifa antara kultur monokaryon kedua tetua yang menghasilkan pembentukan miselium heterokariotik pada zona pertemuan (*junction zone*) antara kedua monokaryon. Pembentukan heterokaryon terbatas pada zona kontak. Kemudian zona pertemuan antara dua monokaryon menjadi tidak dapat dikenali dari awal pertumbuhannya hingga memenuhi cawan petri (Kothe E, 2001). Pada pengamatan dikaryon kultur yang

Bahan dan Metode

Hibridisasi kultur monokaryon dengan fusi hifa kultur monokaryon diperoleh dengan melekatkan 1 cm pileus cap jamur dewasa dengan bantuan vaseline ke bagian dalam tutup petri dengan *gills* menghadap petri yang berisi media potato dextrose agar (PDA). Selanjutnya diinkubasi dalam posisi miring selama tiga sampai empat jam untuk mendapatkan spora tunggal. Setelah sekitar 2 hari, spora yang

ostreatus dan *P. pulmonarius* dikatakan umur simpan jamur berbanding terbalik dengan suhu budidaya (Bazanella *et al.*, 2013). Namun, hasil jamur tiram belum dapat mencapai produksi yang optimal dan mudah

kompatibel terlihat adanya pembentukan klem koneksi. Dengan demikian, beberapa alel ditemukan ada diantara kedua lokus tipe kawin. Alel tipe mating secara acak terjadi pada setiap kultur monokaryon.

Pertukaran inti timbal balik diasumsikan karena antagonisme miselium tidak diamati pada saudara kandung yang kompatibel. Ketika monokaryon yang mewakili setiap jenis kawin dari masing-masing dari tiga basidioma disilangkan dalam semua kombinasi

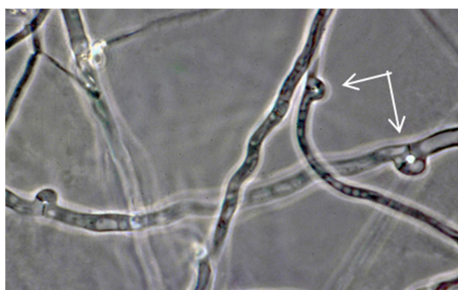
Untuk mendapatkan jamur galur baru yang memiliki karakteristik dan nilai komersial yang diinginkan telah dilakukan fusi hifa dari galur parental yang berbeda. Ada dua kelas sistem kawin, "diri" dalam garis murni, dan kawin "silang", yang menggambarkan hibridisasi dengan garis monokaryon yang sama atau berbeda. Pada penelitian ini dilakukan persilangan hypal fusion cross antar genus diantara sejumlah kultur spora tunggal spesies dari tetua yang berbeda dari family Pleurotuaceae yaitu *Pleurotus ostreatus* dan *P. pulmonarius*. Faktor ketidaksesuaian/incompatibility antra A dan B dari ketiga jamur memiliki sistem perkawinan tetra polar. Empat jenis standar kawinnya, A1B1, A2B2, A1B2 dan A2B1. Fusi hifa kultur homokariotik dari basidiokarp lain juga memiliki pola tetra polar (Jaswal *et al.*, 2013).

Fusi hifa *Pleurotus pulmonarius*, *P. ostreatus* untuk mendapatkan keturunan baru

berkecambah diisolasi secara manual dengan menggunakan jarum pindah yang dilakukan dengan bantuan mikroskop pada pembesaran 400x. Spora tunggal yang telah ditransfer ke media baru diinkubasi selama 7 hari pada suhu 25°C. Miselium dikonfirmasi sebagai monokaryon dengan tidak adanya koneksi penjepit (*clamp connection*) seperti yang ditunjukkan oleh tanda (panah) pada Gambar 1.

Kultur monokaryon dari kedua tetua dengan karakteristik kultur yang baik seperti laju pertumbuhan dan kepadatan miselia dipilih untuk disilangkan. Persilangan antara dua kultur monokaryon dengan menempatkan plug agar yang berisi miselia pada jarak sekitar 1 cm pada bagian tengah media PDA dan diinkubasi selama 7 hari. Reaksi penyatuan/fusi yang kompatibel dengan bantuan mikroskop diidentifikasi dengan

adanya *clamp connection* sedangkan reaksi negatif sebaliknya miselinya tidak memiliki sambungan klem. Karakteristik kultur dan laju pertumbuhan kultur hibrida dikariotik ditentukan dengan mengukur diameter rata-rata koloni miselium setiap hari selama 7 hari. Pembacaan rata-rata diplot terhadap waktu (hari) untuk mendapatkan laju pertumbuhan dalam mm/hari.



Gambar-1. Clamp connection (arrow) of compatible mating strain

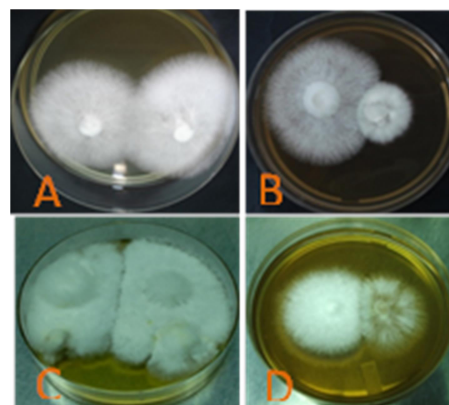
Source(http://www.botany.hawaii.edu/faculty/wong/Bot201/Basidiomycota/Clamp_connection_formation.html).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyatuan du kultur mono antara jamur tiram putih dan jamur tiram abu-abu menunjukkan adanya hubungan klem setelah berfusi/penyatuan antar monokaryon kultur kedua monokaryon tetua yang kompatibel menunjukkan adanya kesesuaian mating yaitu (alel A dan B berbeda). Pada persimpangan pertemuan ke-dua monokaryon yang kompatibel dilakukan subkultur dengan cara mengambil miselia pada zona pertemuan antara kedua monokultur tersebut yang dapat membentuk dikaryon baru.

Pada percobaan ini terdapat dua faktor kromosom ekstra yang jelas telah ditemukan, yang memiliki efek nyata pada spesifisitas persilangan dan pada heterokaryon yang terbentuk setelah terjadinya hibridisasi. Kedua faktor ini untuk sementara diberi nama faktor P (untuk *pseudoclamp*) dan faktor F (untuk flat). Terdapat empat jenis reaksi persilangan/perkawinan yaitu perkawinan kompatibel yang ditunjukkan dengan

adanya pembentukan *clamp connection* monokaryon $A \neq B \neq$ yang terdeteksi dan perkawinan inkompatibel yang terdiri dari 3 jenis; Kawin yang tidak sesuai dengan persilangan monokaryon, $A=B=$, ii. Persilangan klem palsu monokaryon (barrage, $A \neq B=$, iii. persilangan monokaryon (flat, $A=B \neq$), ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Colony characteristics of mating between some pairs of monokaryon culture (*P. ostreatus*, *P. pulmonarius*)

- A. crossing of single spore (compatible (Figure 1 A) clamp connections are detected
- B. crossing of single spore (overlap, $A=B=$) incompatible mating
- C. crossing of single spore (barrage, $A \neq B=$, false clamps (Figure 1B) are found
- D. crossing of single spore (flat, $A=B \neq$) (Sumber Rosnina AG)

Karakterisasi koloni miselia

Berdasarkan pengamatan kesesuaian persilangan antara monokaryon kultur hibrida *P. pulmonarius* yang berfusi dengan *P. ostreatus* memiliki karakteristik miselia yang berbeda dengan tetuanya. Kultur hibrida umumnya memiliki pola dan kepadatan miselium yang lebih tebal, hal ini termasuk salah satu karakteristik yang dapat menandakan bahwa ciri ini mampu beradaptasi terhadap parameter fisiologis yang dapat memicu laju pertumbuhan miselium yang kuat. Beberapa kultur hibrida memiliki pertumbuhan yang sangat tebal, padat yang berwarna putih kusam, sementara yang lain mirip dengan strain tetua dengan pertumbuhan yang sangat tebal dan padat dengan untaian rhizomorfik.

Dalam kajian ini reaksi penyatuan dua monokaryon kultur yang berbeda species yang berhasil/kompatibel (*compatible mating reaction*) banyak mengalami kontaminasi yang disebabkan kekurangan peralatan pendukung (*limited equipment*) sehingga memiliki persentase yang rendah. Keberhasilan penyatuan antara dua monokaryon kultur beberapa species *Pleurotus* sp yang berhasil 15,38-20,59%, yaitu antara monokaryon kultur yang berasal dari spora tunggal *Pleurotus sajor-caju*, *P. sapides* dan *P. cornucopiae* Gupta et al. (2011). Pada percobaan skala kecil sebelumnya persilangan antara kedua monokaryon kultur dari spesies *P. sajor-caju* dan *P. flabellatus* menunjukkan tingkat kompatibilitas yang juga lebih rendah yaitu 7% untuk adanya koneksi sambungan/*clamp connection* (Rosnina et al., 2007).

Sebagian besar kultur dikaryon dari persilangan yang kompatibel memiliki pola miselium mat yang lebih tebal dan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan dikaryon kultur tetuanya. Kumara, 2009 melakukan kombinasi dua kultur monospora, yang berhasil mempercepat pembentukan tubuh buah dan siklus budidaya jamur hasil persilangan yang lebih singkat. Hasil penyatuan kultur yang berasal dari dua spora tunggal sebagai hibrida terbaik menunjukkan tingkat pertumbuhan yang lebih tinggi, tingkat pertumbuhan miselium terkait dengan pertumbuhan dan hasil yang tinggi, Gupta et al. (2011) menemukan bahwa basidiospora tunggal *Pleurotus* steril yang mampu membentuk

miselia dikariotik hasil persilangan antara sesame beberapa isolat spora tunggal yang kompatibel.

Rosnina et al., (2016) pada hibridisasi yang dilakukan antara dua monokaryon kultur *P. pulmonarius* dan *P. citrinopileatus* menghasilkan hibrida yang memiliki karakteristik sama dengan induknya yaitu *P. citrinopileatus* memiliki laju pertumbuhan miselia lebih tinggi dibandingkan dikaryon kultur tetuanya.

Persilangan pada family *Pleurotus* yang dilakukan mengarah pada pembentukan dikaryon yang dapat menghasilkan sporofor, ditentukan oleh heterotalisme bifaktorial (tetrapolar) yang dikendalikan oleh dua faktor multi-alel yang tidak terkait, A dan B. Gen tipe kawin dan faktor kompatibilitas lainnya sekarang digunakan dalam tipe kawin program pemuliaan dibantu untuk menghasilkan spesies jamur konsumsi yang ekonomis, Kothe E (2001).

KESIMPULAN

Untuk meningkatkan kualitas benih jamur tiram (*Pleurotus* sp) dapat dicapai melalui kultur monokaryon dengan hyfal fusion antar genus dalam satu family *Pleurotaceae* dalam meningkatkan karakteristik atau sifat jamur berkualitas yang diinginkan (*desired traits*).

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Malikussaleh University for grant PNB/UNIMAL/Geran (PPP) 248/PPK-2/SPK.JL/2020

REFERENCES

- Bahukhandi D, Sharma RK. Interspecific hybridization between *Pleurotus* species. Indian Phytopathology. 2002; 55(1):61-66.



- Bazanella, G. C. S., Souza, D. F., Castoldi, R., Oliveira, R. F., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2013). Production of laccase and manganese peroxidase by *Pleurotus pulmonarius* in solid-state cultures and application in dye decolorization. *Folia Microbiologica*, 58, 641–647.
- Gupta B, Reddy BPN, Kotasthane AS (2011) Molecular characterization and mating type analysis of oyster mushroom (*Pleurotus* spp.) using single basidiospores for strain improvement. *World J Microb Biot* 27:1–9
- Jaswal R, Sodhi K, Kapoor S, Khanna PK. 2013 Development of high yielding morphologically improved strains of *Pleurotus* (*Oyster Mushroom*) through inter-specific hybridization. *Indian Journal of Agricultural Sciences.*; 83(4):374-379.
- Jonathan, SG, Popoola, KOK, Olawuyi, OJ, Ajiboye, M, & Oyelakan, AO. (2012). Insect and fungal pests of some mushrooms collected from university of Ibadan, Nigeria campus. *Nature and Science*, 10(9), 142-147.
- Kibar, B, & Peksen, A. (2008). Modelling the effects of temperature and light intensity on the development and yield of different *Pleurotus* species. *Agric Trop Subtrop*, 41(2), 68-73.
- K.R. Jyothi and Sussha S. Thara. 20220. Development of improved strain of *Pleurotus* species by interspecific hybridization. *Journal of Tropical Agriculture*. 58(2). 246-254
- Kothe E (2001) Mating-type genes for basidiomycete strain improvement in mushroom farming. *Appl Microbiol Biotechnol* 56:602–612
- Kumara KLW, Edirimanna ICS (2009) Improvement of strains of two oyster mushroom cultivar using dual culture technique. *World J Appl Sciences* 7:654–660
- Rosnina A.G., Yee Shin Tan, Vikineswary S (2016) Morphological and molecular characterization of Yellow oyster mushroom, *P. citrinopileatus*, hybrids obtained by interspecies mating. *World Journal of Microbiology & Biotechnol.* <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1959-2>.
- Rosnina AG, Noorlidah A, Vikineswary S (2007) Strain improvement of edible mushrooms by mating. In *Abstracts of the Proceedings of the Asian Mycological Congress (AMC 2007)*