

ARTIKEL PENELITIAN

**ANALISIS METODE PRESERVASI SUBKULTUR BERKALA  
DAN DENGAN AIR STERIL  
UNTUK JAMUR *Aspergillus sp.* DAN *Candida albicans***

*ANALYSIS OF PERIODIC SUBCULTURE  
AND WITH STERILE WATER METHODS  
FOR *Aspergillus sp.* AND *Candida albicans**

**Gabi Vania Sally<sup>1</sup>, Sandy Vitria Kurniawan<sup>2,\*</sup>, Sem Samuel Surja<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Unika Atma Jaya, Jl. Pluit Raya no. 2, Jakarta, 14440

<sup>2</sup> Departemen Farmakologi – Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Unika Atma Jaya, Jl. Pluit Raya no. 2, Jakarta, 14440

<sup>3</sup> Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Unika Atma Jaya, Jl. Pluit Raya no. 2, Jakarta, 14440

\* **Korespondensi:** sandy.vitria@atmajaya.ac.id

**ABSTRACT**

**Introduction:** A good and proper preservation can maintain all collection of culture. Periodic subculture preservation is an old technique that is less able to guarantee the genetic characteristic for a long time. Sterile water is an alternative method in various studies to ensure the genetic characteristic for a long time and can be done in a simple laboratory concept. This study aimed to examine the method of periodic subculture and with sterile water

**Methods:** This research was a descriptive study with an experimental laboratory design on *Aspergillus sp.* and *Candida albicans*. This study examined at periodic subculture methods and with sterile water in maintaining viability, level of contamination, morphology, and antifungal resistance after six months

**Results:** The fungus had lived after being preserved with periodic subcultures without contamination, morphological changes, and resistance. *Aspergillus sp.* and *Candida albicans* also lived after being preserved with sterile water for six months with the same morphology and without contamination. The zone of inhibition of *Aspergillus sp.* had decreased but in *Candida albicans* remains the same.

**Conclusion:** Preservation with periodic subculture and with sterile water can be applied to *Aspergillus sp.* and *Candida albicans*.

**Key Words:** *Aspergillus sp.*, *Candida albicans*, periodic subculture, sterile water

**ABSTRAK**

**Pendahuluan:** Preservasi yang baik dan tepat dapat mempertahankan koleksi kultur dengan baik. Teknik preservasi subkultur berkala merupakan teknik lama yang kurang dapat menjamin sifat-sifat genetik jamur dalam jangka waktu lama. Air steril adalah salah satu metode alternatif dalam berbagai penelitian dalam menjamin sifat-sifat genetik jamur dalam waktu lama dan dapat dilakukan pada konsep laboratorium sederhana. Penelitian ini bertujuan untuk melihat metode preservasi berkala dan dengan air steril.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan desain eksperimental laboratorium pada jamur *Aspergillus sp.* dan *Candida albicans*. Penelitian ini melihat metode subkultur berkala dan dengan air steril dalam menjaga viabilitas, tingkat kontaminasi, morfologi dan resistensi terhadap antijamur setelah enam bulan.

**Hasil:** Jamur dapat hidup setelah dipreservasi dengan subkultur berkala tanpa kontaminasi, perubahan morfologi dan resistensi. *Aspergillus sp.* dan *Candida albicans* juga hidup setelah dipreservasi dengan air steril selama enam bulan dengan morfologi yang sama dan tanpa kontaminasi. Zona inhibisi *Aspergillus sp.* mengalami penurunan namun pada *Candida albicans* tetap sama.

**Simpulan:** Preservasi jamur dengan subkultur berkala dan dengan air steril dapat diterapkan pada *Aspergillus sp.* dan *Candida albicans*.

**Kata Kunci:** air steril, *Aspergillus sp.*, *Candida albicans*, subkultur berkala

## PENDAHULUAN

*World Data Centre of Microorganism* (WDCM) menyatakan bahwa ada sekitar 585 koleksi kultur yang tercatat di 68 negara dan koleksi tersebut meliputi jamur yang jumlahnya mencapai 506.333 spesies.<sup>1</sup> Teknik preservasi (penyimpanan) dan pemeliharaan yang baik serta sesuai dengan sifat kultur dan tujuan preservasi diperlukan agar dapat menjaga biakan jamur tetap hidup dan terjaga.<sup>2</sup> Metode preservasi diperlukan untuk menjaga viabilitas, morfologi, fisiologi, patogenik dan genetik jamur dari waktu ke waktu.<sup>3</sup> Teknik subkultur berkala merupakan cara tradisional yang masih digunakan sampai sekarang. Namun, teknik tersebut memiliki beberapa kelemahan, yaitu berisiko terjadinya perubahan genetik, kontaminasi dan kekeliruan dalam pemberian label, sehingga kurang cocok apabila digunakan untuk preservasi jangka panjang.<sup>2</sup> Beberapa teknik preservasi untuk keperluan jangka panjang yang dapat digunakan ialah dengan menggunakan minyak mineral, air steril, gel silika, dan kering beku.<sup>4,5</sup> Preservasi dengan air steril merupakan pilihan yang baik karena mudah dilakukan, tidak mahal serta dapat diaplikasikan pada laboratorium skala kecil dengan tujuan pengajaran.<sup>6</sup>

Preservasi dengan menggunakan air steril pernah dilakukan oleh Suciatmih dengan angka *survival* 100%, dan McGinnis dengan angka *survival* 92-94%.<sup>6-7</sup> Namun, dari penelitian-penelitian sebelumnya belum ada studi yang mengukur dengan parameter resistensi terhadap antijamur. Penelitian ini menilai viabilitas, morfologi, tingkat konta-

minasi, dan resistensi terhadap antijamur pada metode preservasi subkultur berkala dan dengan air steril untuk jamur *Aspergillus sp.* dan *Candida albicans*.

## METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan desain eksperimental laboratorium dan dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya (FKIK UAJ) selama 6 bulan dari April hingga Oktober 2019. Sampel yang akan digunakan pada penelitian ini ialah *Aspergillus sp.* dan *Candida albicans*. Penelitian ini melakukan pengujian viabilitas, morfologi, tingkat kontaminasi, dan resistensi.

Penelitian ini menggunakan dua metode preservasi. Pada sampel dengan metode subkultur berkala dilakukan pemindahan kultur setiap dua bulan. Pada sampel dengan metode air steril, jamur terlebih dahulu dibiakkan pada agar. Air steril sebanyak 6-7 ml dimasukkan ke dalam biakan dengan pipet, kemudian jamur digoreskan secara perlahan dengan pipet tips yang sama. Campuran air steril dan jamur ini selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung McCartney.

Pengujian dilakukan dengan pemindahan kultur pada tabung agar miring. Pemindahan dilakukan setiap dua bulan baik pada jamur dengan subkultur berkala dan dengan air steril. Viabilitas dari jamur yang dipreservasi dengan air steril dilakukan dengan memindahkan 0,2-0,3 ml inokulum ke dalam tabung agar. Apabila setelah dua minggu jamur tidak tumbuh, dilakukan kembali hal

yang sama dan apabila tidak tumbuh jamur maka dinyatakan tidak *viable*.

Pemeriksaan morfologi dilakukan dengan teknik *slide culture* pada *Aspergillus sp.* dan penanaman pada *rice cream agar* pada *Candida albicans*. Teknik *slide culture* menginokulasi jamur pada keempat sisi SDA ukuran  $\pm 7 \text{ mm}^2$  dan meletakkannya di atas kaca preparat. Morfologi diperiksa setelah inokulasi hari kedua dengan mewarnai spesimen kultur yang tumbuh dengan *lactophenol cotton blue*. *Rice cream agar* dibuat dengan bahan beras, akuades dan bacto agar. Campuran akuades dan beras dididihkan, disaring dengan kertas saring, kemudian dicampurkan kembali dengan akuades dan bacto agar. Setelah dilakukan autoklaf, agar ini siap digunakan sebagai media pertumbuhan *C. albicans*.

Pemeriksaan resistensi terhadap anti-jamur menggunakan teknik cakram difusi. Teknik ini dilakukan dengan cara meletakkan cakram antijamur pada SDA dan mengukur diameter zona inhibisinya. Pada *Aspergillus sp.* menggunakan cakram vorikonazol dan cakram flukonazol pada *C. albicans*.

## HASIL

Pada penelitian ini, baik *Aspergillus sp.* maupun *C. albicans* viabel pada preservasi subkultur berkala dan dengan air steril (Tabel 1). Pada parameter kontaminasi tidak terlihat adanya kontaminasi pada semua sampel (Tabel 1). Pada parameter morfologi terlihat sesuai dengan karakteristik dari masing-masing sampel, baik dengan preservasi subkultur berkala maupun dengan air steril.

**Tabel 1.** Viabilitas, Kontaminasi, Morfologi dan Resistensi pada *Aspergillus sp.* dan *Candida albicans* Sebelum dan Sesudah Preservasi

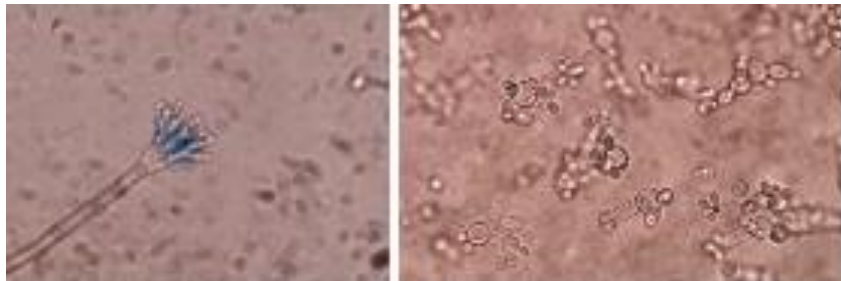
Parameter	Jamur	Bulan 0	Bulan 6	
			Subkultur Berkala	Air Steril
<b>Viabilitas</b>	<i>Aspergillus sp.</i>	+	+	+
	<i>Candida albicans</i>	+	+	+
<b>Kontaminasi</b>	<i>Aspergillus sp.</i>	-	-	-
	<i>Candida albicans</i>	-	-	-
<b>Morfologi</b>	<i>Aspergillus sp.</i>	Sesuai	Sesuai	Sesuai
	<i>Candida albicans</i>	Sesuai	Sesuai	Sesuai
<b>Resistensi (Zona inhibisi rata-rata)</b>	<i>Aspergillus sp.</i>	34,5 mm	31,0 mm	28,5 mm
	<i>Candida albicans</i>	33,0 mm	32,5 mm	34,5 mm

Pada parameter resistensi didapatkan adanya sedikit perubahan pada zona inhibisi setelah dipreservasi selama enam bulan. *Aspergillus sp.* yang dipreservasi dengan subkultur berkala memiliki zona inhibisi rata-

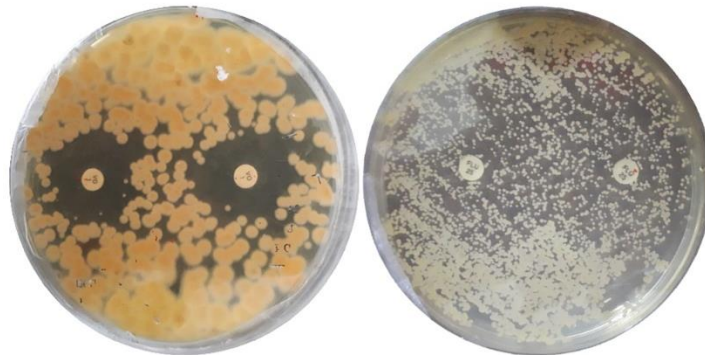
rata 31 mm dan yang dipreservasi dengan air steril memiliki zona inhibisi rata-rata 28,5 mm. *C. albicans* pada preservasi subkultur berkala memiliki zona inhibisi rata-rata 32,5 mm dan pada air steril 34,5 mm.



**Gambar 1.** Viabilitas dan Kontaminasi (negatif) pada *Aspergillus sp.* (kiri) dan *Candida albicans* (kanan)



**Gambar 2.** Morfologi pada *Aspergillus sp.*(kiri) dan *Candida albicans* (kanan)



**Gambar 3.** Zona inhibisi pada *Aspergillus sp.* (kiri) dan *Candida albicans* (kanan)

## DISKUSI

Penelitian ini menggunakan sampel *Aspergillus sp.* yang dapat menyebabkan aspergilosis pada pasien immunokompromi serta *Candida albicans* yang dapat menginfeksi manusia secara oportunistik.<sup>8-9</sup> Setelah 6 bulan, hasil uji viabilitas pada semua jamur dengan subkultur berkala *viable*. Selain itu, hasil uji morfologi menunjukkan morfologi

jamur sesuai dengan karakteristik masing-masing yaitu kepala konidia yang dua per tiga bagiannya terdapat fialides pada *Aspergillus sp.* dan adanya pseudohifa serta klamidiospora pada *C. albicans*. Penelitian serupa pernah dilakukan oleh Capriles, *et al.* yang mempreservasi jamurnya dengan teknik air steril yang memiliki nama lain teknik Castellani selama dua puluh tahun dengan *survival rate*

kurang lebih 50%.<sup>10</sup> Guimaraes, *et al.* mempreservasi jamur selama delapan bulan dengan *survival rate* 100% dan menyatakan bahwa metode ini memiliki viabilitas dan dapat mempertahankan karakteristik dengan baik.<sup>11</sup> Hasil morfologi dari kedua jenis jamur tidak mengalami perubahan dan sesuai dengan karakteris-tiknya masing-masing.<sup>12,13</sup>

Uji resistensi *Aspergillus sp.* dengan preservasi air steril mengalami penurunan zona inhibisi rata-rata apabila dibandingkan dengan bulan 0. Belum ada studi yang meneliti perubahan resistensi terhadap antijamur yang dipreservasi dengan air steril sebelumnya. Kondisi kekurangan atau keterbatasan nutrisi selama enam bulan mungkin menyebabkan jamur memiliki mekanisme pertahanan tersendiri untuk beradaptasi pada lingkungan tersebut sehingga ketika dibiakkan pada media yang baru jamur masih memiliki mekanisme pertahanan tersebut dan menjadi lebih resisten. Namun *Aspergillus sp.* masih dikategorikan sebagai *wildtype* dan *Candida albicans* masih sensitif terhadap antijamur.<sup>14,15</sup>

Keterbatasan penelitian ini adalah pemantauan yang belum dilakukan pada jangka panjang. Pada penelitian selanjutnya perlu ditambahkan durasi preservasi jamur, terutama dalam air steril.

## SIMPULAN

Baik preservasi dengan subkultur berkala maupun air steril dapat diterapkan dalam preservasi jamur pada jangka waktu 6 bulan. Namun diperlukan kehati-hatian dalam penggunaan jamur hasil preservasi dengan air steril untuk penelitian uji resistensi. Peng-

gunaan air steril dalam preservasi jamur dapat menurunkan zona inhibisi dalam uji cakram difusi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Karaduman AB, Atli B, Yamaç M. An example for comparison of storage methods of macrofungus cultures: *Schizophyllum commune*. *Turk J Botany*. 2012;36(2):205–12.
2. Machmud M. Teknik penyimpanan dan pemeliharaan mikroba. *Bul AgroBio*. 2001;4(1):24–32.
3. Boundy-Mills KL, Glantsching E, Roberts IN, Yurkov A, Casaregola S, Daniel H-M, et al. Yeast culture collections in the twenty-first century: New opportunities and challenges. *Yeast*. 2016;33:243–60.
4. Ryan MJ, Smith D, Jeffries P. A decision-based key to determine the most appropriate protocol for the preservation of fungi. *World J Microbiol Biotechnol*. 2000;16(2):183–6.
5. Crahay C, Munaut F, Colpaert J V, Huret S. Genetic stability of Ectomycorrhizal fungi is not affected by cryopreservation at  $-130^{\circ}\text{C}$  or cold storage with repeated sub-cultivations over a period of 2 years. *Mycorrhiza* 2017;27:595–601. <https://doi.org/10.1007/s00572-017-0770-3>
6. Mcginnis MR, Padhye AA, Ajello L. Storage of stock cultures of filamentous fungi, yeasts, and some aerobic Actinomycetes in sterile distilled water. *Appl Microbiol*. 1974;28(2):218–22.
7. Suciati S, Rachmat R. Pengujian survival jamur yang dipreservasi dalam air dan parafin cair. *Ber Biol*. 2005;7(5):241–8.
8. Fang W, Latgé JP. Microbe profile: *Aspergillus fumigatus*: A saprotrophic and opportunistic fungal pathogen. *Microbiol (United Kingdom)*. 2018;164(8):1009–11.
9. Mutiawati VK. Pemeriksaan mikrobiologi pada *Candida albicans*. *J Kedokt Syiah Kuala*. 2016;16(1):57–62.
10. de Capriles CH, Mata S, Middelveen M. Preservation of fungi in water (Castellani): 20 Years. *Mycopathologia*. 1989;106(2):73–9.
11. Guimarães LC, Fernandes AP, Chalfoun SM, Batista LR. Methods to preserve potentially toxigenic

- fungi. *Brazilian J Microbiol.* 2014;45(1):43–7.
12. Surja SS, Wijaya M, Padmasutra L, Yolanda H, Joprang FS, Makimian R, et al. *Atlas parasitologi kedokteran.* 1st ed. Jakarta: Penerbit Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya; 2019.
  13. Kidd S, Halliday C, Alexiou H, Ellis D. *Description of medical fungi.* 2016. 145– 7 p.
  14. Gupta P, Khare V, Kumar D, Ahmad A, Banerjee G, Singh M. Comparative evaluation of disc diffusion and E-test with broth microdilution in susceptibility testing of amphotericin B, voriconazole and caspofungin against clinical *Aspergillus* isolates. *J Clin Diagnostic Res.* 2015;9(1):DC04–7.
  15. Alexander BD, Procop GW, Dufresne P, Fuller J, Ghannoum MA, Hanson KE, et al. *M60 performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts.* 1st ed. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.