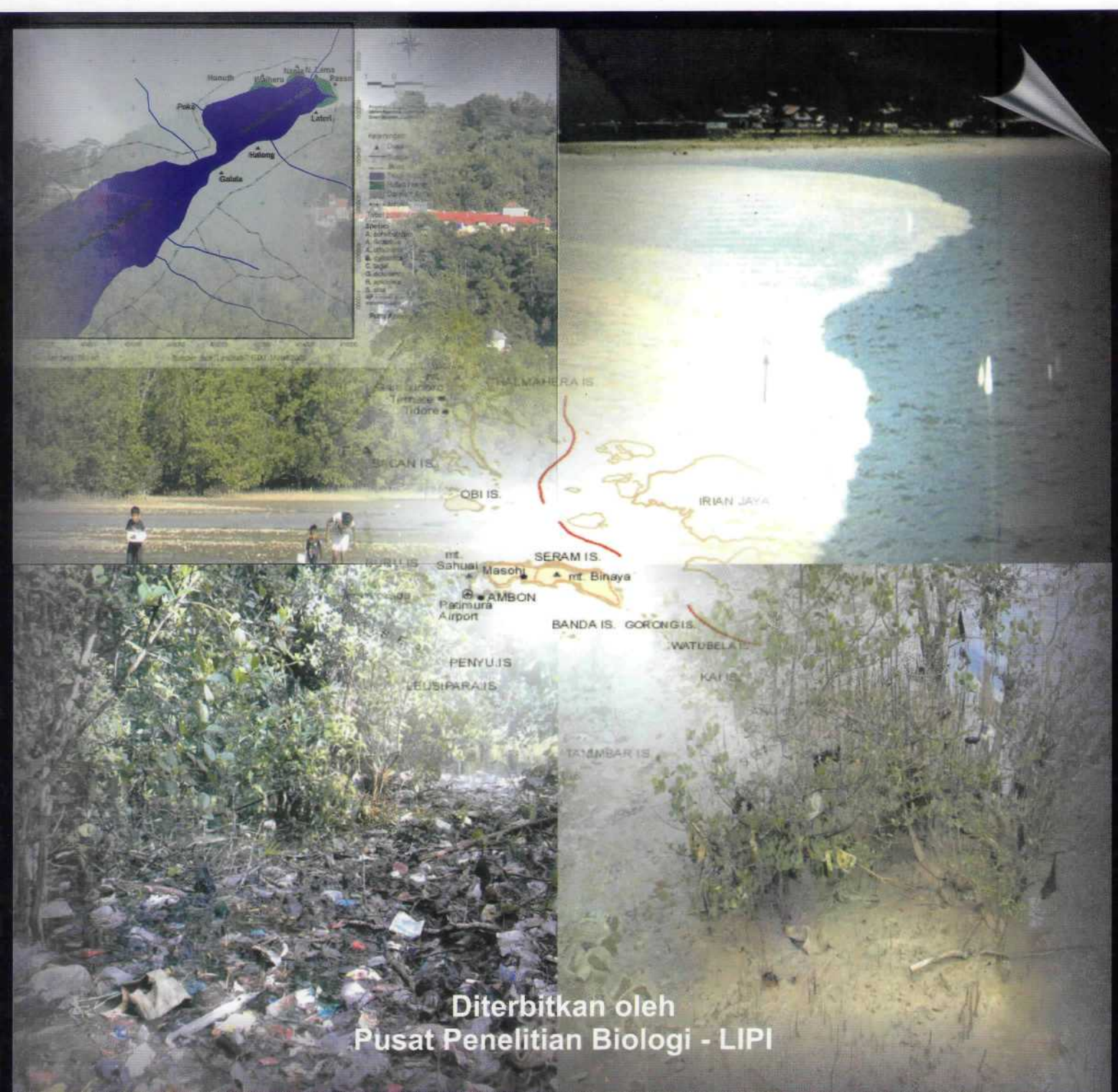


Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI

Berita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekaryas-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

Surat Keputusan Ketua LIPI

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

Dewan Pengurus

Pemimpin Redaksi

B Paul Naiola

Anggota Redaksi

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Marlina Ardiyani, Tukirin Partomihardjo

Desain dan Komputerisasi

Muhamad Ruslan, Yosman

Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum

(berlangganan, surat-menyurat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarjo

Pusat Penelitian Biologi—LIPI
Kompleks Cibinong Science Center (CSC-LIPI)

Jln Raya Jakarta-Bogor Km 46,
Cibinong 16911, Bogor - Indonesia
Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059
e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id
ksama_p2biologi@yahoo.com
herbogor@indo.net.id

Keterangan gambar cover depan: *Pembangunan perumahan di Passo dan tumpukan sampah yang mempercepat proses sedimentasi di areal hutan mangrove daerah Passo, Teluk Ambon, Maluku, sesuai makalah di halaman 481*
Suyadi - Bogor Agricultural University-SEAMEO Biotrop.



LIPI

Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

ISSN 0126-1754

Volume 9, Nomor 5, Agustus 2009

Terakreditasi A

SKKepala LIPI

Nomor 180/AU1/P2MBI/08/2009

**Diterbitkan oleh
Pusat Penelitian Biologi - LIPI**

Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
 - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dsbnya).
 - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
 - Aspek/ pendekatan biologi harus tampak jelas.
4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
7. Kerangka karangan: standar.

Abstrak dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. Kata kunci 5-7 buah. *Hasil dipisahkan dari Pembahasan.*
8. Pola penulisan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto. Gambar dan foto harus bermutu tinggi; penomoran gambar dipisahkan dari foto. Jika gambar manual tidak dapat dihindari, harus dibuat pada kertas kalkir dengan tinta Cina, berukuran kartu pos. Pencantuman Lampiran seperlunya.
9. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap. Nama inisial pengarang(-pengarang) tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
 - a. Jurnal

Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992. Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43,1559-1576.
 - b. Buku

Kramer PJ. 1983. *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
 - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya:

Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995. Pengamatan beberapa aspek biologi sotong buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di sekitar perairan pantai Wokam bagian barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
 - d. Makalah sebagai bagian dari buku

Leegood RC and DA Walker. 1993. Chloroplast and Protoplast. In: DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohler Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds.). *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, 268-282. Chapman and Hall. London.
10. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: berita.biologi@mail.lipi.go.id dan di-Cc-kan kepada: ksama_p2biologi@yahoo.com, herbogar@indo.net.id
11. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

Anggota Referee / Mitra Bestari

Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)
Dr. Joko Sulistyio (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Warid AH Qosim (*Universitas Padjadjaran*)
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Prof (Ris) Dr Johanis P Moge (Pusat Penelitian Biologi-LIPI)
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biologi Molekuler

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)
Dr Hendig Sunarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)
Dr I Made Sudiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

Bioteknologi

Dr Andi Utama (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)
Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)

Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryo (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Herto Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Fauzan AH (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

Biodiversitas dan Iklim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)
Dr. Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih
kepada para Mitra Bestari/ Penilai (Referee) nomor ini
9(5)-Agustus 2009

Dr. Andria Agusta - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Bambang Sunarko - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Heddy Yulistiono - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Iwan Saskiawan - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Prof. (Ris.) Dr. Johanis P. Moge - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Magdalena Litaay - *FMIPA Universitas Hasanudin*
Dr. Rasti Saraswati - *BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*
Dr. Tukirin Partomohardjo - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Yuyu Suryasari Poerba - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*

Referee/ Mitra Bestari Undangan

Dr. Achmad Dinoto - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Drs. Edi Mirmanto, MSc. - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Herwint Simbolon - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Ibnu Maryanto - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*
Dr. Kuswata Kartawinata - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI (Purnabhakti) / UNESCO*
Dr. Niken T Murti Pratiwi - *Faperikan @ Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor*
Dr. Ocky Kama Radjasa - *Faperikan @ Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro*
Wellyzar Sjamsulrizal, PhD - *FMIPA Universitas Indonesia*

DAFTAR ISI

TINJAUAN ULANG (REVIEW PAPERS)

KONSEP JEM S PALEM: SEBUAH PENGANTAR

[Palm Species Concept: A Foreword]

Himmah Rustiami.....459MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)KINERJA *Saccharomyces cerevisiae* REKOMBINAN [GLOI] DALAM PROSES SIMULTAN
HIDROLISIS PATI DAN FERMENTASI UNTUK PRODUKSI BIOETANOL[The Performance of *Saccharomyces cerevisiae* Recombinant [GLOI] in the Producing Bioethanol
from Starch by Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) Conditions]*Afqf Baktir, Nur Cholifah dan Sri Sumarsih*.....465PENINGKATAN PRODUKSI GAS HIDROGEN (H₂) DAN ETANOL PADA *Bacillus pumilus*
DENG AN MUTASI MENGGUNAKAN *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) DAN SELEKSI
DENGAN METODAPROTON SUICIDE[Enhancement of Hydrogen Gas (H₂) and Ethanol Production in *Bacillus pumilus* by Mutation
Using Ethyl Methane Sulfonate (EMS) and Selected by Proton Suicide Method]*Trismilah dan Mahyudin AR*.....473

KONDISI HUTAN MANGROVE DI TELUK AMBON: PROSPER DAN TANTANGAN

[The Condition of Mangrove Forest in Ambon Bay: Prospect and Challenges]

Suyadi.....481STUDI VEGETASI HUTAN RAWA AIR TAWAR DI CAGAR ALAM RIMBO PANTI,
SUMATERA BARAT

[Vegetation Study on Freshwater Swamp forest of Rim bo Panti Nature Reserve, West Sumatera]

Razali Yusuf dan Purwaningsih.....491IDENTIFIKASI MOLEKULAR ISOLAT KAPANG PENGHASIL p-GLUCAN BERDASARKAN
DAERAH INTERNAL TRANSCRIBED SPACER (ITS)[Molecular Identification of Fungal Isolate Produces (β-Glucan Based on Internal
Transcribed Spacer (ITS)]*Yoice Srikandace, Ines Irene CaterinaA dan Wibowo Mangunwardoyo*.....509ABSORBSI GLUKOSA DAN SUKROSA SEBAGAI SUMBER KARBON UTAMA
OLEH KOMUNITAS MPG PADA KONDISI ANAEROBIK-AEROBIK[Absorbition of Glucose and Sucrose as Main Sources of Carbon by MPG Community in
Anaerobic-Aerobic Condition]*Dyah Supriyati*.....517UJI DAYA HAMBAT DAUN SENGGANI (*Melastoma malabathricum* L.) TERHADAP*Trichophyton mentagrophytees* DAN *Candida albicans*[Inhibition Potential of *Melastoma malabathricum* L. Leaves Against *Trichophyton mentagrophytees*
and *Candida albicans*]*Djaenudin Gholib*.....523PERTUMBUHAN DAN AKUMULASI MERKURI BERBAGAI JENIS TUMBUHAN YANG DITA
DI MEDIA LIMBAH PENAMBANGAN EMAS DENGAN PERLAKUAN BERBAGAI TINGKAT
KONSENTRASI MERKURI DAN KELAT AMONIUM TIOSULFAT[Growth and Mercury Accumulation on Various Plant Species Grown on Gold Mine Waste Media
Treated with Different Levels Of Mercury Concentration and Ammonium Thiosulfate
as Chelating Agent]*TitiJuhaeti, N Hidayati, F Syarif dan S Hidayat*.....529PENINGKATAN PRODUKSI BENIH BAUNG (*Mystus nemurus*) MELALUI PERBAIKAN
KADAR LEMAK PAKAN INDUK[Producing Good Quality Seed of Green Catfish (*Mystus nemurus*) by Improvement of Lipid Level
of Broodstock Feed]*Ningrum Suhenda, Reza Samsudin dan Jojo Subagja*.....539

ANALISA VEGETASI HUTAN RIPARIAN DATARAN RENDAH DI TEPI SUNGAI NGGENG, TAMAN NASIONAL KAYAN MENTARANG, KALIMANTAN TIMUR [Vegetation Analysis of Lowland Riparian Forest at Nggeng River Side in Kayan Mentarang National Park, East Kalimantan] Purwaningsih.....	547
SISTEM SOSIAL JANTAN MONYET HITAM SULAWESI (<i>Macaco nigra</i>) DI CAGAR ALAM TANGKOKO-BATUANGUS, SULAWESI UTARA [Male Social System of Sulawesi Crested Black Macaques (<i>Macaca nigra</i>) at Tangkoko-Batuangus, North Sulawesi] Saroyo.....	561
STUDI FITOKIMIA <i>Baeckeafrutescens</i> L: PENGARUH FAKTOR LINGKUNGAN TERHADAP KOMPOSISI KIMIA MINYAK ATSIRI [Phytochemical Study of <i>Baeckeafrutescens</i> L.: Environmental Influence on Chemical Composition of its Essential Oils] Tri Murningsih.....	569
VARIASIINTRASPEKIES <i>Monascuspurpureus</i> DALAM BERBAGAI SAMPEL ANGKAK DARI JAWA TIMUR [Intraspecific Variation within <i>Monascus purpureus</i> in some Angkak (Chinese Red Rice) Samples from East Java] Nandang Suharna.....	577
KONDISI OPTIMUM FUSIPROTOPLAS ANTARA JAMUR TIRAM PUTIH (<i>PLEUROTUS FLORIDAE</i>) DAN JAMUR TIRAM COKLAT (<i>PLEUROTUS CYSTIDIOSUS</i>) [Optimizing Conditions for Protoplast Fusion between White Oyster Mushroom (<i>Pleurotus floridae</i>) and Brown Oyster Mushroom (<i>Pleurotus cystidiosus</i>)] Ira N. Djajanegara dan Korri El-khobar.....	585
INTERSPECIFIC ASSOCIATION PATTERNS AND EDAPHIC FACTORS' INFLUENCES: A CASE STUDY OF <i>Orania regalis</i> Zippelius IN WAIGEO ISLAND, WEST PAPUA [Pola Asosiasi Antarspesies dan Pengaruh Faktor Edafik: Studi Kasus <i>Orania regalis</i> Zippelius di Pulau Waigeo, Papua Barat] Didik Widyatmoko.....	595
EVALUASI KARAKTER PEKA PANJANG HARI (PHOTOPERIOD) PADA TIGA GOLONGAN (subspecies) PADI (<i>Oryza sativa</i>) SERTA PENGARUHNYA TERHADAP KARAKTER AGRONOMIS [Evaluation of Photoperiod Sensitive Character in Three Groups (subspecies) of Rice (<i>Oryza sativa</i>) and The Influence of Agronomic Characters] Tintin Suhartini.....	609
STATUS HARA DI HUTAN GEWANG (<i>Corypha Man Lamk.</i>), DESA USAPI SONBA'I, KUPANG, NUSA TENGGARA TIMUR [Status in The Forest Gewang Nutrients (<i>Corypha utan Lamk.</i>), Usapi Sonba'i, Kupang, East Nusa Tenggara] Laode Alhamd, T Partomihardjo dan BP Naiola.....	619
TEGAKAN BAMBU DI KEBUN RAKYAT KOTAMADYA SALATIGA [Bamboo Stands in The Community Garden at Salatiga District] Elizabeth A. Widjaja, Sunaryo, Hamzah.....	629
EKOLOGI DAN PERSEBARAN GEWANG (<i>Corypha utan Lamk.</i>) DI SAVANA TIMOR, NUSA TENGGARA TIMUR [Ecology and Distribution of Gewang (<i>Corypha utan Lamk.</i>) in Timor Savannah, East Lesser Sunda Islands] Tukirin Partomihardjo dan BP Naiola.....	637

KONDISI OPTIMUM FUSI PROTOPLAS ANTARA JAMUR TIRAM PUTIH
{*Pleurotus floridae*} DAN JAMUR TIRAM COKLAT
{*Pleurotus cystidiosus*}
[Optimizing Conditions for Protoplast Fusion between White Oyster Mushroom
{*Pleurotus floridae*} and Brown Oyster Mushroom {*Pleurotus cystidiosus*}]

Ira N Djajanegara^{2H*} dan KorriEl-khobar³

²Pusat Teknologi Bioindustri BPPT

³Lembaga Eijkman Jakarta

*e-mail: idjajanegara@yahoo.com

ABSTRACT

Genetic crossing of white oyster mushroom to introduce longer storage life trait can only be done within individuals in this particular species. However, longer storage life trait is possessed by brown oyster mushroom (*Pleurotus cystidiosus*) which is other species within this genus. Therefore, protoplast fusion between white oyster mushroom (*Pleurotus floridae*) and brown oyster mushroom (*Pleurotus cystidiosus*) was conducted to hopefully obtain an oyster mushroom strain that has higher production and longer storage life. Protoplast fusion was done by isolating protoplast from 5-days old monokaryotic mycelia grown in PDB. As much as 3.15×10^5 protoplasts/ml were harvested using mixture of cellulase Onozuka R-10 (1%) and macerozyme R-10 (1%) from brown oyster mushroom with 80.61% viability. Similarly, 3.71×10^5 protoplasts/ml were harvested using lysing enzyme (2%) from brown oyster mushroom with 83.68% viability. Protoplast fusion were conducted using 0% (control), 30%, 40% and 50% of PEG₆₀₀₀. Fusion periods were done at 10, 20 and 30 minutes. The candidate fusants were then screened using MRM (minimum regeneration media) media. Based on this experiment, the optimum conditions for protoplast fusion is 10 minutes incubation using 40% PEG₆₀₀₀ that yielded 121 colonies grown on MRM media as candidate fusants.

Kata kunci: Fusi, MRM, PEG, *Pleurotus cystidiosus*, *Pleurotus florida*, protoplas, regenerasi.

PENDAHULUAN

Di Indonesia, budidaya jamur tiram secara komersial dapat ditemukan di daerah Lembang. Produksi jamur tiram per tahunnya belum diketahui secara pasti karena sebagian besar kegiatan budidaya jamur tiram dilakukan dalam skala kecil dan menengah. Hambatan lain dalam budidaya jamur tiram adalah kualitas produk yang dipasarkan. Jamur tiram dipasarkan dalam bentuk segar sehingga produk lebih cepat rusak dan daya simpannya tidak lama (Cahyana *et.al*, 2002; Setiawati dan Juhiya, 2005). Oleh karena itu, diperlukan suatu cara untuk meningkatkan produktivitas dan daya simpan dari jamur tiram.

Teknik rekayasa genetika telah banyak digunakan untuk meningkatkan kualitas produk tanaman dan jamur konsumsi. Metode-metode yang umum digunakan meliputi teknik mutagenesis yang diiringi dengan proses penapisan, teknik hibridisasi somatik, dan teknologi molekular melalui DNA rekombinan yang memungkinkan terjadinya transfer gen secara spesifik (Sarkar dan Saunders, 1997).

Penggunaan teknik molekular dalam

peningkatan kualitas jamur tiram hingga saat ini belum dapat dilakukan karena tidak tersedianya informasi yang lengkap tentang efek gen, metode pewarisan sifat, dan peta keterkaitan (*linkage*) antar gen. Ketiga hal tersebut penting diketahui untuk memudahkan desain persilangan dan strategi pengklonaan yang dibutuhkan untuk peningkatan kualitas jamur tiram. Peningkatan kualitas dari jamur tiram lebih banyak dilakukan dengan teknik genetika klasik seperti persilangan dan hibridisasi somatik melalui teknik fusi protoplas (Bhandal dan Mehta, 1994; Larraya *et. al*, 1999; Ramirez *et.al*, 2000).

Teknik fusi protoplas merupakan proses peleburan antara protoplas dengan latar belakang genetik yang berbeda sehingga dihasilkan organisme hibrida dengan gabungan sifat dari kedua parentalnya (Santoso dan Nursandi, 2003). Teknik fusi protoplas telah digunakan untuk meningkatkan kualitas jamur konsumsi seperti dilakukan oleh (Sufiani, 1993), yang telah melakukan fusi protoplas antara *Agrocybe cylindracea* dan *Lentinus edodes* dengan menggunakan larutan 40% polietilen glikol (PEG₆₀₀₀)

¹Diterima: 17 Desember 2008 - Disetujui: 16 Februari 2009

dan waktu inkubasi 15 menit serta menghasilkan tiga jenis fusan yang merupakan hasil fusi kedua parentalnya. Penelitian serupa dilakukan juga oleh (Fadlia, 1993) yang melakukan fusi protoplas antara *Volvariella volvacea* dan *Auricularia polytricha* dengan menggunakan larutan 40% PEG₆₀₀₀ dan waktu inkubasi 15 menit serta menghasilkan lima jenis fusan yang merupakan rekombinasi dari kedua parentalnya.

Penelitian menggunakan jamur tiram cokelat yang memiliki daya simpan tinggi dan jamur tiram putih dengan jumlah rumpun yang banyak, sehingga dengan melakukan fusi protoplas antara kedua jenis jamur tersebut diharapkan didapatkan jamur hibrida dengan gabungan sifat unggul dari kedua parentalnya. Teknik fusi protoplas didahului dengan proses isolasi protoplas. Penelitian terdahulu (Irawan, 2004) telah berhasil melakukan optimasi untuk menentukan jenis enzim dan waktu inkubasi optimal yang diperlukan untuk isolasi protoplas dari jamur tiram cokelat dan putih (Foto 1).

Protoplas jamur tiram cokelat diisolasi secara optimal dengan menggunakan campuran enzim selulase 1% dan maserozim 1% dengan masa inkubasi 5 jam, sedangkan isolasi protoplas untuk jamur tiram putih didapat dengan menggunakan *lysing enzyme* 2% dengan masa inkubasi 1 jam (Irawan, 2004). Protoplas hasil isolasi kemudian dilarutkan dalam larutan penstabil osmotik 0,6 M MgSO₄·7H₂O dalam 0,01 M dapar fosfat pH 5,8 untuk menjaga tekanan osmotik protoplas dan mencegah pecahnya protoplas

(Santiago, 1982; Suryowinoto, 1996). Protoplas hasil isolasi tersebut kemudian digunakan untuk proses fusi

Protoplas dari kedua jamur difusikan dengan penambahan agen fusogenik berupa larutan polietilen glikol (PEG) dengan berat molekul 6.000. Polietilen glikol digunakan sebagai agen fusogenik karena dapat meningkatkan frekuensi fusi protoplas hingga 1.000 kali. Polietilen glikol dapat menyebabkan terjadinya perubahan karakteristik dari membran plasma sehingga protoplas akan lebih mudah berlekatan satu sama lain (Kao, 1991a; Smith, 1993).

Protoplas hasil fusi kemudian ditumbuhkan pada medium regenerasi minimal (MRM) yang berfungsi sebagai medium seleksi (Kiyohara *et al.* 1990). Protoplas yang dapat tumbuh pada MRM hanyalah protoplas fusan, sedangkan protoplas yang tidak mengalami fusi tidak akan dapat tumbuh. Koloni fusan yang tumbuh kemudian dihitung lalu dianalisis secara statistik dengan menggunakan metode ANAVA dua faktor (Sudjana, 1991) dan uji jarak ganda Duncan (Gomez dan Gomez, 1994).

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh konsentrasi larutan PEG₆₀₀₀ dan lama waktu inkubasi yang digunakan terhadap proses fusi serta menentukan kombinasi antara konsentrasi larutan polietilen glikol (PEG₆₀₀₀) dan waktu inkubasi yang tepat untuk melakukan fusi protoplas antara jamur tiram cokelat (*P. cystidiosus*) dan jamur tiram putih (*P. floridae*).



Foto 1. Jamur tiram coklat (*Pleurotus cystidiosus*) (kiri) dan Jamur tiram putih (*Pleurotus floridae*) (kanan)

BAHATANMETODE

Biakan jamur tiram cokelat (*Pleurotus cystidiosus*) dan jamur tiram putih (*Pleurotus florida*) yang digunakan merupakan koleksi kultur ITB Bandung (ITB-CC). Sedangkan bahan kimia yang digunakan selama penelitian adalah $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [Merck], $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [Merck], $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [Merck], enzim selulase Onozuka R-10 [Yakult Honsha], enzim maserozim R-10 [Yakult Honsha], *lysing enzyme* [Sigma], polietilen glikol BM 6.000 (PEG₆₀₀₀) [Merck], $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [Merck], dekstrosa [Difco], KC1 [Merck], $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ [Merck], K_2HPO_4 [Merck], $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ [Merck], agar *bacteriological* [Oxoid], akuades steril [Ikaparmindo], metilen biru [BDH], kloramfenikol [Sigma], kain kasa halus, dan kertas Whatman no. 1.

Prosedur isolasi protoplas jamur tiram coklat dilakukan berdasarkan modifikasi metode yang telah banyak dipakai (Santiago, 1983 dalam Sufiani, 1993) dan hasil optimasi sebelumnya (Irawan, 2004) menggunakan campuran selulase Onozuka R-10 1% dan maserozim R-10 1% selama 5 jam. Sedangkan prosedur isolasi protoplas jamur tiram putih juga dilakukan berdasarkan modifikasi metode sebelumnya (Santiago, 1983 dalam Sufiani, 1993) dan hasil optimasi Irawan (2004) hanya saja menggunakan 1 ml larutan *lysing enzyme* 2% selama 1 jam. Suspensi enzim dan miselia diinkubasi pada inkubator *shaker* dengan kecepatan 80 rpm selama 1 jam. Viabilitas protoplas diuji dengan menggunakan pewarna metilen biru. Pewarnaan dengan metilen biru dilakukan berdasarkan modifikasi metode Kao (Kao, 1991b). Data merupakan rerata dari 3 kali pengamatan.

Penghitungan ukuran protoplas dilakukan dengan melakukan pengamatan mikroskopis pada perbesaran 10x40 terhadap protoplas individual. Ukuran protoplas dihitung dengan menggunakan mikrometer. Sebanyak 50 p1 suspensi protoplas ditetaskan pada kaca preparat, kemudian diamati di bawah mikroskop. Ukuran protoplas individual kemudian dihitung. Nilai rerata ukuran protoplas jamur tiram didapat dengan melakukan 2 kali pengamatan dengan masing-masing 3 kali ulangan.

Prosedur fusi protoplas dilakukan berdasarkan modifikasi metode Gunge (Grunge, 1983 dalam Sufiani, 1993). Sebanyak 1 ml suspensi protoplas hasil isolasi

dari tiap biakan dicampur di dalam tabung falcon kemudian disentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 2.500 rpm. Pelet lalu disuspensikan dalam 1 ml larutan PEG₆₀₀₀ dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0%, 30%, 40%, dan 50% (K1, K2 & K3). Larutan PEG₆₀₀₀ yang digunakan terlebih dahulu dipanaskan hingga 38° C. Suspensi kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama tiga periode yang berbeda yaitu 10, 20, dan 30 menit (W1, W2 & W3). Suspensi kemudian diencerkan dengan menambahkan 4 ml larutan penstabil osmotik 0,6 M $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 0,01 M dapar fosfat pH5,8.

Pola kecenderungan fusi antara kedua jenis protoplas diuji dengan melakukan pengamatan proses fusi protoplas di bawah mikroskop dengan menggunakan ketiga larutan PEG₆₀₀₀ dengan konsentrasi berbeda dan lama waktu inkubasi berbeda serta kombinasi kedua perlakuan tersebut (K0W0 sampai K3W3). Sebanyak 10 il protoplas jamur tiram coklat dan 10 il protoplas jamur tiram putih ditetaskan pada kaca preparat, kemudian tetesan dicampur dan ditambahkan dengan 10 il larutan PEG₆₀₀₀. Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10x40 selama 1 menit untuk melihat proses fusi yang terjadi. Pola kecenderungan fusi protoplas merupakan hasil dari 3 kali pengamatan.

Regenerasi protoplas merupakan kelanjutan dari proses fusi dan dilakukan berdasarkan metode Hong (Hong, 1983 dalam Sufiani, 1993). Sebanyak 1 ml suspensi protoplas hasil fusi dari tiap perlakuan (K0W0 sampai K3 W3) diinokulasikan ke cawan petri steril yang kemudian dituangi dengan medium regenerasi minimal (MRM). Petri lalu diinkubasi pada suhu 30° C sampai koloni tumbuh. Koloni fusan yang tumbuh pada MRM dihitung dan dianalisis secara statistik.

Data jumlah fusan dianalisis dengan menggunakan metode analisis varians (ANOVA) dua faktor dengan empat kali pengulangan. Normalitas sampel ditentukan dengan uji Shapiro- Wilk, sedangkan homogenitas sampel ditentukan dengan uji Bartlett. Data selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji jarak ganda Duncan untuk menentukan taraf beda nyata antara rerata dari tiap perlakuan (Conover, 1980; Sudjana, 1991; Sudjana, 1992; Gomez dan Gomez 1995).

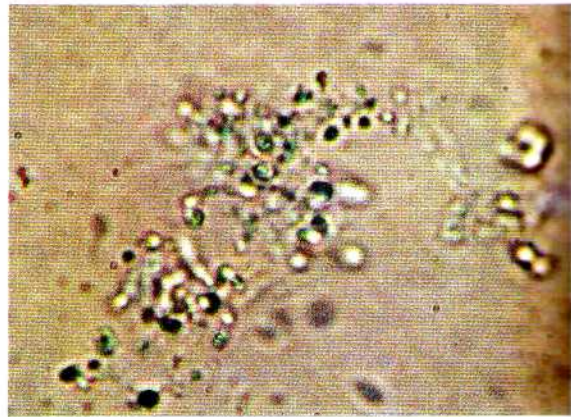
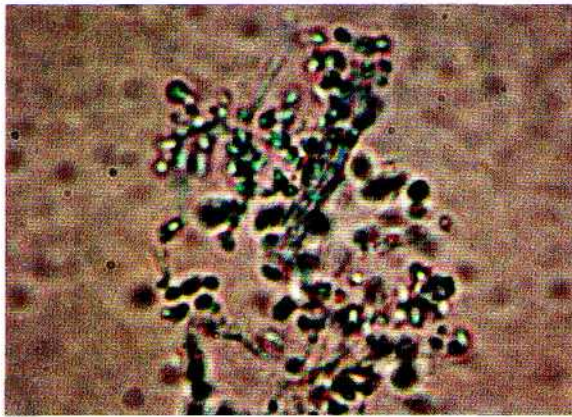


Foto 2. Protoplas jamur tiram putih (kiri) dan coklat kanan. (—•) menunjukkan protoplas yang mati sedangkan (—•) menunjukkan protoplas yang hidup

HASH,

Protoplas jamur tiram coklat dan putih hasil isolasi diamati dengan menggunakan mikroskop perbesaran 10x100 (Foto 2). Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa protoplas jamur tiram coklat dan jamur tiram putih berbentuk bulat (*spherical*). Pengukuran diameter protoplas dengan mikrometer menunjukkan bahwa protoplas jamur tiram coklat sedikit lebih besar dibandingkan protoplas jamur tiram putih. Ukuran rerata protoplas jamur tiram coklat adalah 3,24 μm , sedangkan ukuran rerata protoplas jamur tiram putih adalah 3,04 μm .

Rerata jumlah protoplas jamur tiram coklat hasil isolasi adalah $3,15 \times 10^5$ protoplas per ml suspensi, sedangkan rerata jumlah protoplas jamur putih adalah $3,71 \times 10^5$ protoplas per ml suspensi. Jumlah protoplas kedua jamur tersebut lebih besar dari 10^5 protoplas per ml, sehingga suspensi protoplas tersebut dapat digunakan untuk proses fusi. Jumlah protoplas optimum untuk melakukan fusi protoplas adalah 10^5 - 10^6 protoplas per ml suspensi protoplas (Budiwati dan Pudjiraharti, 2001).

Viabilitas protoplas jamur tiram coklat dan jamur tiram putih hasil isolasi diuji dengan pewarnaan metilen biru (Foto 2). Metilen biru akan terakumulasi pada protoplas yang mati karena membran protoplas bersifat permeabel terhadap zat warna, sehingga protoplas mati akan berwarna biru. Protoplas yang utuh dan hidup akan mereduksi zat warna tersebut, sehingga protoplas tampak berwarna kekuningan (Eriksson 1985; Endress 1994).

Persentase viabilitas protoplas jamur tiram coklat adalah 80,61%, sedangkan persentase viabilitas protoplas jamur tiram putih adalah 83,68%. Pengujian viabilitas protoplas dilakukan sebagai salah satu metode untuk mengetahui kemampuan protoplas dalam melakukan pembelahan, regenerasi, dan pembentukan organisme utuh (Eriksson 1985; Sufiani 1993).

Protoplas jamur tiram coklat dan putih difusikan dengan penambahan larutan PEG_{6000} yang mengandung 50 mM CaCl_2 . Pola kecenderungan fusi antara protoplas jamur tiram coklat dan jamur tiram putih setelah penambahan larutan PEG_{6000} pada konsentrasi yang berbeda (0%, 30%, 40%, dan 50%) diamati dengan melakukan pengamatan mikroskopis. Hasil pengamatan selama 1 menit menunjukkan bahwa penambahan larutan 0% PEG_{6000} tidak menyebabkan protoplas dalam suspensi saling berdekatan dan berlekatan. Hal tersebut membuktikan bahwa proses fusi antara protoplas dari spesies yang berbeda tidak dapat terjadi dengan sendirinya (secara spontan) karena harus diinduksi dengan penambahan zat tertentu sebagai fusogen.

Sedangkan penambahan larutan 30% PEG_{6000} menyebabkan dua protoplas saling berdekatan dan mengadakan pelekatan (kontak), namun kontak yang terbentuk tidak stabil sehingga protoplas terpisah kembali. Hal tersebut menunjukkan bahwa larutan 30% PEG_{6000} diduga mampu berperan sebagai agen penginduksi fusi karena dapat mendekatkan protoplas namun belum cukup efektif karena adhesi yang ditimbulkannya kurang kuat sehingga protoplas dapat

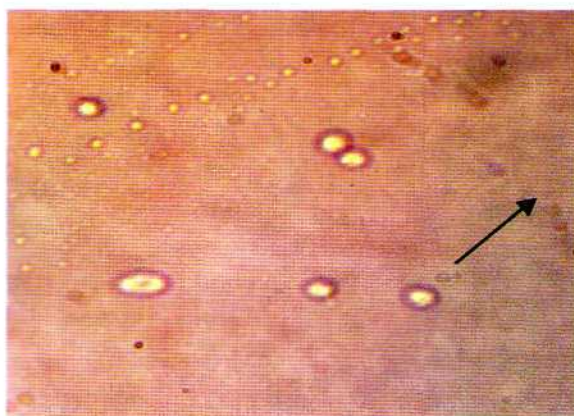


Foto 3. Fusi 2 protoplas dengan penambahan 40% PEG₆₀₀₀(kiri) dan Fusi lebih dari 2 protoplas dengan penambahan 50% PEG₆₀₀₀(kanan)

kembali terpisah.

Penambahan larutan 40% PEG₆₀₀₀ menyebabkan dua protoplas saling berdekatan dan mengadakan kontak (Foto 3). Kontak yang terbentuk lebih stabil, sehingga protoplas tidak mudah terpisah kembali seperti saat penambahan larutan 30% PEG₆₀₀₀. Hal tersebut menunjukkan bahwa larutan 40% PEG₆₀₀₀ diduga mampu berperan sebagai agen penginduksi fusi yang efektif karena dapat mendekatkan protoplas dan menimbulkan daya adhesi yang cukup kuat sehingga protoplas yang berlekatan tidak terlepas kembali.

Penambahan larutan 50% PEG₆₀₀₀ menyebabkan lebih dari dua protoplas saling berdekatan dan mengadakan kontak dengan cepat (Foto 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa larutan 50% PEG₆₀₀₀ diduga mampu berperan sebagai agen penginduksi fusi yang lebih efektif dari larutan 40% PEG₆₀₀₀ karena dapat mendekatkan dan melekatkan lebih dari dua protoplas.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi proses fusi adalah lama waktu inkubasi dalam PEG. Waktu inkubasi dalam PEG yang digunakan pada penelitian adalah 10, 20 dan 30 menit. Seiring dengan peningkatan waktu inkubasi, diharapkan semakin banyak protoplas yang berlekatan dan mengadakan peleburan. Namun, peningkatan lama waktu inkubasi juga dapat menyebabkan kematian protoplas. Menurut Kao (1991a), inkubasi protoplas dalam waktu yang lama dalam larutan PEG atau Ca²⁺ tinggi dapat menyebabkan kematian protoplas. Hal tersebut mungkin disebabkan oleh tingginya afinitas PEG terhadap air dan adanya aktivitas aglutinasi PEG yang dapat menyebabkan

distorsi pada protoplas, sehingga dapat menurunkan viabilitas protoplas. Selain itu, PEG diketahui bersifat toksik terhadap beberapa jenis sel tertentu sehingga dapat mengurangi viabilitas produk fusi. Oleh karena itu, PEG harus segera dicuci atau diencerkan setelah proses fusi terjadi (Constabel dan Cutler 1985; Hadini 1997).

Protoplas hasil fusi ditumbuhkan di medium regenerasi minimal (MRM). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa protoplas non fusi tidak dapat tumbuh (Tabel 1), sedangkan protoplas hasil fusi yang ditumbuhkan pada MRM mulai tumbuh pada hari ke-7 setelah fusi protoplas.

Kemampuan produk fusi untuk tumbuh pada medium regenerasi minimal mungkin disebabkan oleh perbedaan materi genetik yang dimiliki fusan. Selain itu, peleburan inti (kariogami) pada sel heterokarion cenderung meningkatkan aktivitas metabolisme sehingga sel dapat mengatasi keterbatasan kandungan bahan organik pada MRM (Endress, 1994). Protoplas parental dan non fusi tidak dapat tumbuh pada MRM, hal tersebut dapat disebabkan oleh ketidakmampuan protoplas dalam mengatasi minimnya kandungan bahan organik pada MRM.

Koloni-koloni yang tumbuh pada MRM belum dapat dipastikan sebagai produk fusi karena perlu diuji lebih lanjut untuk mengetahui apakah benar koloni yang tumbuh merupakan produk fusi. Pengujian koloni fusan dapat dilakukan dengan melakukan pengamatan morfologis, analisis isozim ataupun uji aktivitas biokimia seperti yang dilakukan oleh Fadlia (1993) dan

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi PEG₆₀₀₀(K) dan lama waktu inkubasi (W) terhadap keberhasilan proses fusi protoplas

Perlakuan	Rerata hasil fusi ^a	UJGD ^b
K2W1	121,25	a
K2W2	114,50	a
K3W2	110,50	a
K3W1	109,00	a
K3W3	108,00	a
K2W3	69,25	b
K1W3	54,25	be
K1W2	28,25	cd
K1W1	6,5	d
KOWO	0	e

Keterangan:

^a : Rerata dari empat kali ulangan,^b : Angka-angka yang mempunyai huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda nyata pada uji jarak anda Duncan (UJGD) pada taraf nyata 5%.

Sufiani (1993). Akan tetapi jumlah koloni yang tumbuh pada media MRM cukup memadai sebagai indikator jumlah fusan yang didapat dari berbagai macam kondisi fusi untuk menentukan kondisi mana yang paling optimum berdasarkan jumlah kandidat fusan yang terbanyak yang tumbuh pada media MRM.

Koloni-koloni yang dapat tumbuh pada medium regenerasi minimal (MRM) dihitung dan diasumsikan sebagai produk fusi yang dihasilkan (Tabel 1). Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rerata jumlah koloni yang diduga fusan bervariasi yaitu 121,25 (perlakuan K2W1), 114,5 (perlakuan K2W2), 110,5 (perlakuan K3W2), 109 (perlakuan K3W1), 108 (perlakuan K3W3), 69,25 (perlakuan K2W3), 54,25 (perlakuan K1W3), 28,25 (perlakuan K1W2), dan 6,5 (perlakuan K1W1).

Metode ANAVA dilakukan untuk melihat adanya efek faktor lama waktu inkubasi, konsentrasi PEG₆₀₀₀, serta interaksi antara faktor lama waktu inkubasi dan konsentrasi PEG₆₀₀₀ terhadap proses fusi protoplas. Hasil analisis dengan metode tersebut menunjukkan bahwa pada taraf nyata (α) 0,05, faktor yang memiliki nilai F_{hitung} lebih kecil dari $F^*(F(0,334) < F_{tabel}(3,354)$ adalah lama waktu inkubasi. Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa dari ketiga faktor (lama waktu inkubasi, konsentrasi PEG₆₀₀₀, serta interaksi antara faktor lama waktu inkubasi dan konsentrasi PEG₆₀₀₀) yang diujikan yaitu konsentrasi hanya faktor lama waktu inkubasi yang memiliki efek signifikan terhadap keberhasilan proses fusi protoplas.

Analisis statistik dilanjutkan dengan melakukan uji jarak ganda Duncan (UJGD) pada taraf kepercayaan

95% untuk melihat perbedaan nyata antara rerata dari tiap perlakuan (Hadini, 1997). Data hasil UJGD (Tabel 1) menunjukkan bahwa rerata jumlah koloni pada kombinasi perlakuan K2W1 (konsentrasi PEG₆₀₀₀ 40% dan waktu inkubasi 10 menit) menempati peringkat pertama walaupun tidak berbeda nyata secara statistik dengan perlakuan K2W2 (konsentrasi PEG₆₀₀₀ 40% dan waktu inkubasi 20 menit), K3W2 (konsentrasi PEG₆₀₀₀ 50% dan waktu inkubasi 20 menit), K3W1 (konsentrasi PEG₆₀₀₀ 50% dan waktu inkubasi 10 menit), dan K3W3 (konsentrasi PEG₆₀₀₀ 50% dan waktu inkubasi 30 menit). Oleh karena itu, penentuan kondisi optimal untuk proses fusi protoplas antara jamur tiram coklat dan jamur tiram putih dilakukan berdasarkan nilai rerata terbesar jumlah koloni yang diduga fusan.

Data jumlah koloni yang diduga fusan menunjukkan bahwa rerata terbesar didapat pada perlakuan penambahan konsentrasi PEG₆₀₀₀ 40% dan waktu inkubasi 10 menit yaitu 121,25 fusan. Berdasarkan hal tersebut, diduga kondisi optimal untuk fusi protoplas antara jamur tiram coklat dan jamur tiram putih adalah pada perlakuan K2W1 yaitu pada konsentrasi PEG₆₀₀₀ 40% dan waktu inkubasi 10 menit.

PEMBAHASAN

Pengukuran protoplas hasil isolasi dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk memantau adanya proses fusi spontan saat isolasi protoplas. Data yang didapat pada penelitian ini menunjukkan bahwa variasi ukuran antara protoplas satu dan lainnya tidak terlalu jauh, sehingga diduga bahwa tidak terjadi

proses fusi spontan pada saat isolasi protoplas. Menurut Endress (Endress, 1994), peningkatan volume protoplas hasil isolasi menunjukkan adanya peningkatan aktivitas metabolisme yang terjadi akibat proses fusi.

Keberhasilan proses isolasi protoplas dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain metode isolasi, jenis enzim litik, larutan penstabil osmotik, suhu, dan pH (Fadli 1993). Metode isolasi protoplas jamur tiram cokelat dilakukan dengan metode satu tahap karena metode tersebut lebih praktis dan sederhana. Selain itu, metode satu tahap dapat meminimalkan frekuensi fusi spontan yang mungkin menghasilkan protoplas multinukleat dan kerusakan protoplas akibat agitasi selama masa inkubasi (Setiari 2001). Menurut Ye & Earle (Ye & Earle, 1991), penggunaan protoplas multinukleat pada proses fusi protoplas dapat mempengaruhi tipe produk yang dihasilkan dan kesuksesan dari proses fusi protoplas yang dilakukan.

Enzim yang digunakan untuk isolasi protoplas jamur tiram cokelat adalah campuran selulase dan maserozim. Menurut Hong (Hong, 1983 dalam Sufiani, 1993), campuran kedua jenis enzim tersebut baik digunakan untuk mengisolasi protoplas jamur Basidiomycota. Enzim selulase dan maserozim memiliki aktivitas selulase, hemiselulase, dan pektinase yang berperan penting dalam pelisisan dinding sel miselium dan pelepasan protoplas (Davis, 1985).

Enzim yang digunakan untuk isolasi protoplas jamur tiram putih adalah *lysing enzyme* yang berasal dari *Trichoderma harzianum*. Enzim tersebut diketahui memiliki aktivitas selulase, kitinase, dan protease yang berperan dalam pelisisan secara efektif dinding sel miselia yang tersusun atas selulosa, kitin, dan protein (Davis, 1985).

Perbedaan jenis enzim litik yang digunakan saat isolasi protoplas dapat disebabkan oleh perbedaan perbandingan komposisi dinding sel dari kedua jamur. Perbedaan komposisi dinding sel jamur tiram cokelat dan jamur tiram putih belum diketahui, namun berdasarkan aktivitas jenis enzim yang digunakan diduga bahwa dinding sel jamur tiram cokelat memiliki komposisi selulosa yang lebih besar bila dibandingkan dengan dinding sel jamur tiram putih.

Larutan penstabil osmotik yang digunakan

adalah 0,6 M $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 0,01 M dapar fosfat pH 5,8. Penggunaan larutan garam tersebut diketahui dapat meningkatkan aktivitas enzim dan tidak akan menghambat aktivitas enzim seperti halnya larutan gula alkohol, sehingga protoplas yang dihasilkan dapat lebih banyak (Davis, 1985; Zhao *et al.*, 2004).

Kemampuan PEG dalam menginduksi fusi disebabkan oleh dua aktivitas yang dimilikinya yaitu menyebabkan adhesi (pelekatan) sel dan mengganggu kestabilan membran protoplas dengan mengubah penyebaran muatan listrik pada membran (Hadini, 1997). Saat dilarutkan dalam air, PEG akan bermuatan negatif dan dapat membentuk ikatan hidrogen dengan kurub positif dari molekul air serta molekul karbohidrat dan protein yang terdapat pada membran protoplas. Ikatan hidrogen tersebut menyebabkan terjadinya perubahan penyebaran muatan listrik dan agregasi lokal komponen-komponen protein pada membran. Polietilen glikol dengan berat molekul yang tinggi berperan sebagai jembatan antara membran protoplas yang berdekatan dan menyebabkan terjadinya agregasi protoplas (Endress, 1994). Bagian positif membran dapat langsung berikatan dengan bagian negatif membran lainnya pada titik kontak antar membran, sehingga jembatan sitoplasma kecil terbentuk dan terus membesar sampai akhirnya kedua protoplas melebur (Smith, 1993; Endress, 1994; Purwito, 1999).

Penambahan PEG menyebabkan timbulnya adhesi yang kuat pada sitoplasma protoplas. Menurut Constabel & Cutler (Constabel & Cutler, 1985), adhesi atau aglutinasi tersebut dapat mengeliminasi sistem pengenalan antar sel yang mungkin terdapat antara sel-sel dari taksa yang berbeda. Hal tersebut memungkinkan terjadinya proses fusi antara protoplas yang berasal dari satu spesies, berbeda spesies, ataupun berbeda genus.

Larutan PEG_{6000} yang digunakan ditambahkan dengan larutan 50 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Efek penambahan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pada proses fusi yang dilakukan belum diketahui, namun penambahan kation seperti Ca^{2+} dalam larutan PEG diduga dapat meningkatkan frekuensi fusi. Ion kalsium berperan sebagai jembatan penghubung antara PEG dan membran protoplas atau antara fosfolipid dari dua membran sehingga mempercepat proses pelekatan dan peleburan antar

- Indonesia, Jakarta. 455 - 457.
- Hadini H. 1997.** Hibridisasi somatik pisang ambon dan kavendis secara *in vitro*. Tesis Pascasarjana UGM, Yogyakarta. 65 -67.
- Irawan D. 2004.** Optimasi isolasi protoplas jamur tiram putih (*P. ostreatus floridae*) dan jamur tiram coklat (*P. ostreatus cystidioides*). Laporan Kerja Praktek Departemen Biologi FMIPA UI, Depok. 18 -19.
- Kao KN. 1991a.** Fusi protoplas tanaman dan isolasi heterokariosit. Dalam: Wetter, LR & F Constabel (eds.). 1991. *Metode kultur jaringan tanaman*. Ed. ke-2. Penerbit ITB, Bandung. 65-74.
- Kao KN. 1991b.** Metode pewarnaan untuk protoplas dan sel. Dalam: Wetter, LR & F Constabel (eds.). 1991. *Metode kultur jaringan tanaman*. Ed. ke-2. Penerbit ITB, Bandung. 87-93.
- Kiyohara H, T Watanabe, J Imai, N Takizawa, T Hatta, K Nagao dan A Yamamoto. 1990.** Intergeneric hybridization between *Monascus anka* and *Aspergillus oryzae* by protoplast fusion. *Applied Microbiology Biotechnology* 33: 671-676.
- Larraya LM, G Perez, MM Penas, JJP Baars, TP Mikosch, AG Pisabarro dan L Ramirez. 1999.** Molecular karyotype of the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology* 65(8): 3413-3417.
- Larraya LM, G Perez, E Ritter, AG Pisabarro dan L Ramirez. 2000.** Genetic linkage map of the edible basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. *Applied and Environmental Microbiology* 66(12): 5290-5300.
- Necas O dan A Svoboda. 1985.** Cell wall regeneration and protoplast reversion. Dalam: Peberdy, JF & L Ferenczy (eds.) 1985. *Fungal protoplasts: Applications in biochemistry and genetics*. Marcell Dekker, Inc., New York. 115-133.
- Purwito A. 1999.** Fusi protoplas intra dan interspesies pada tanaman kentang. Disertasi Pascasarjana IPB, Bogor. 211 -214.
- Ramirez L, L. Larraya dan AG Pisabarro. 2000.** Molecular tools for breeding basidiomycetes. *International Microbiology* 3: 147-152.
- Santiago Jr, CM. 1982.** Production of *Volvariella* protoplasts by use of *Trichoderma* enzyme. *Mushroom Newsletter for the Tropics* 3(2): 3-6.
- Santoso U dan F Nursandi. 2003.** *Kultur jaringan tanaman*. UMM Press, Malang. 190 - 193.
- Sarkar S dan G Saunders. 1997.** The role of genetics in the effective utilisation of filamentous fungi. International Conference on Biodiversity and Bioresources: Conservation and Utilization, 23-27 November 1997, Phuket: 1-9.
- Setiari N. 2001.** Studi tentang fusi protoplas pada tanaman kacang hijau (*vigna radiata* (L.) Wilczek) dan kacang hijau liar (*Vigna sublobata* L.): Struktur anatomi protoplas induk dan protoplas hasil fusi. Tesis Magister Sains ITB, Bandung. 47-51.
- Setiawati MR dan Juhiya. 2005.** Jamur tiram. 4 him. <http://Ayarintek.progressio.or.id/pertanian/jtiram.htm>. 15 Maret 2005, pk. 11.15.
- Smith JE. 1993.** *Prinsip bioteknologi*. Terj. dari *Biotechnology principle*, oleh Sumo, U.F., B. Sumantri & A. Sumantri. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. 202 - 211.
- Sudjana. 1991.** *Desain dan analisis eksperimen*. Ed. ke-3. Penerbit Tarsito, Bandung. 415 - 423.
- Sudjana. 1992.** *Metoda statistika*. Ed. ke-5. Penerbit Tarsito, Bandung. 386 - 387.
- Sufiani N. 1993.** Fusi protoplas intergenera antara *Agrocybe cylindracea* (D.C. ex Fr.) Gillet dengan *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. Tesis Sarjana Biologi ITB, Bandung. 42 - 43.
- Suryowinoto M. 1996.** *Pemuliaan tanaman secara in vitro*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta. 212-213.
- Suriawira U. 1993.** *Pengantar untuk mengenal dan menanam jamur*. Penerbit Angkasa, Bandung. 10 - 13.
- Varavallo MA, MV de Quieroz, JF Pereira dan EF de Araujo. 2004.** Isolation and regeneration of *Penicillium brevicompactum* protoplasts. *Acta Scientiarum* 26(4): 475-479.
- Ye GN dan ED Earle. 1991.** Effect of cellulases on spontaneous fusion of maize protoplasts. *Plant Cell Reports* 10: 213-216.
- Zhao KD, Zhou W P dan J Ge. 2004.** Study on the preparation and regeneration of protoplast from taxol-producing fungus *Nodulisporium sylviforme*. *Nature and Science* 2(2): 52-59.