

Makalah I

PENGUJIAN KEMAMPUAN ANTAGONISTIK KHAMIR EPIFIT ASAL KEBUN RAYA CIBODAS TERHADAP KAPANG DARI TANAMAN TOMAT TERINFEKSI

Handarini
e-mail: handa.rini@yahoo.com

ABSTRACT

Investigation on the ability of epiphytic yeasts from UICC showed that all epiphytic yeast strains (6) were able in inhibiting the growth of tomato spoilage-causing moulds. *Candida* sp. UICC Y-328 showed highest percentage of colony reduction of *Asp. ochraceus* (56.45%), followed by *Metschnikowia reukaufii* UICC Y-351 on *Asp. terreus* and *Drechslera* sp. (25.42% and 51.28%, respectively) after 6-day incubation. *Candida* sp. UICC Y-328 reduced the size of conidial heads (5.52%) and hyphae (8.29%) of *Asp. ochraceus*, at 3-day incubation. *Cryptococcus laurentii* UICC Y-379 reduced the size of conidial heads and hyphae of *Asp. ochraceus* (15.07% and 11.60% respectively) and *Asp. terreus* (12.35% and 24.47% respectively) at 3-day incubation. The yeast cells attached to hyphae of *Drechslera* sp. after 3- and 4-day incubation. The ability of epiphytic antagonistic yeasts against moulds is suggested by competition for nutrient and space.

Keywords: Antagonistic test, *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Drechslera*, epiphytic yeast, *Metschnikowia*, tomato.

PENDAHULUAN

Mikroorganisme, seperti fungi (kapang dan khamir) dan bakteri yang menempati habitat sama dapat saling berinteraksi satu sama lain. Menurut Batzing (2002: 696) salah satu bentuk interaksi antar mikroorganisme adalah antagonisme yaitu, interaksi yang menimbulkan efek merugikan pada pertumbuhan salah satu mikroorganisme, sedangkan mikroorganisme lain diuntungkan. Menurut Lima *dkk.* (1999: 223) kemampuan mikroorganisme dalam menghambat atau membunuh mikroorganisme lain disebut sebagai

kemampuan antagonistik. Mikroorganisme yang memiliki kemampuan antagonistik disebut sebagai mikroorganisme antagonis.

Salah satu mikroorganisme yang berpotensi sebagai mikroorganisme antagonis adalah khamir epifit (Mari & Guizzardi 1998:60). Khamir epifit merupakan khamir yang secara alami tumbuh di permukaan bagian tumbuhan seperti akar, batang, daun, bunga dan buah. Menurut Fonseca dan Inacio (2006: 289) khamir epifit memiliki karakteristik dapat tumbuh dengan cepat, dapat berkompetisi ruang dan nutrien, dan dapat bertahan terhadap kekeringan serta cahaya matahari. Karakter-karakter tersebut dapat memberikan potensi pada khamir epifit sebagai khamir antagonis.

Khamir epifit yang bersifat antagonis dapat dimanfaatkan dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen pada tanaman. Beberapa spesies khamir epifit telah dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan fungi patogen pada tanaman. Spadaro (2003:3) melaporkan *Metschnikowia pulcherrima* Pitt & M.W. Miller BIO126 dan *M. pulcherrima* GS37 yang diisolasi dari permukaan buah apel dapat menghambat pertumbuhan koloni kapang *Alternaria* sp. yang bersifat patogen pada buah apel. Dik dkk. (1999: 118) melaporkan *Aureobasidium pullulan* (de Bary) Arnaud, *Cryptococcus luteus* (Saito) C.E. Skinner, dan *Cr. laurentii* (Kufferath) C.E. Skinner yang diisolasi dari daun gandum serta *Cr. albidus* (Saito) C.E. Skinner yang diisolasi dari daun kentang dapat menghambat sporulasi *Botrytis cinerea* Pers. Ex Nocca & Balb yang bersifat patogen pada tanaman tomat.

Fungi penyebab kerusakan pada tanaman tomat umumnya berasal dari kelompok kapang. Menurut Filtenborg *dkk.* (2004: 307) kapang dapat menghasilkan berbagai enzim seperti karbohidrase, lipase, dan protease. Hal tersebut memungkinkan kapang untuk mendegradasi bagian-bagian tanaman, sehingga tanaman mengalami kerusakan. Buah tomat memiliki kandungan air yang tinggi dan kisaran pH 4,5--5,0, sehingga memberikan kondisi lingkungan yang cocok untuk pertumbuhan fungi (Pitt & Hocking 1985: 366; Spadaro 2003: 4).

Beberapa spesies kapang telah dilaporkan sebagai penyebab kerusakan pada tanaman dan buah tomat. Al-Kassim (2000: 180) melaporkan *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *B. cinerea*, *Cladosporium herbarum* (Pers.) Link, *Drechslera* sp. Ito, *Fusarium oxysporum* Schldl., *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp., *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, dan *Verticillium arbo-atrum* Reinke & Berthold merupakan spesies kapang yang ditemukan pada biji tomat terkontaminasi dari provinsi Gaza, Arab Saudi. Oetari *dkk.* (2007: 44) telah mengisolasi dan mengidentifikasi isolat kapang dari tanaman tomat terinfeksi di Bogor dan Tangerang, serta dari buah tomat busuk dari pasar daerah Jakarta Timur, Depok, dan Tangerang. Identifikasi menunjukkan sebelas spesies dari tujuh genus kapang yaitu, *Aspergillus niger* van Tieghem, *Asp. ochraceus* Wilhelm, *Asp. oryzae* (Ahlburg) E. Cohn, *Asp. parasiticus* Speare, *Asp. terreus* Thom, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, *Drechslera* sp., *Galactomyces* sp. Redhead & Malloch, *Moniliella suaveolens* (Lindner) von Arx, *Penicillium*

glabrum (Wehmer) Westling, dan *Rhizopus oryzae* Went & Prins. Menurut Andersen dan Frisvad (2004:7510) kapang dari genus *Aspergillus* lebih banyak ditemukan di daerah beriklim panas dan kering, sedangkan kapang dari genus *Alternaria* lebih banyak ditemukan di daerah beriklim lembap dan daerah empat musim.

University of Indonesia Culture Collection (UICC) memiliki koleksi khamir epifit dari daun, bunga, dan polen tumbuhan di Kebun Raya Cibodas, Jawa Barat. Khamir epifit koleksi UICC dari genus *Candida*, *Cryptococcus*, dan *Metschnikowia* belum diketahui memiliki kemampuan antagonistik terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi.

Pengujian kemampuan antagonistik khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi bertujuan memperoleh khamir epifit yang memiliki kemampuan antagonistik. Khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial diharapkan dapat berperan sebagai agen biokontrol kapang dari tanaman tomat terinfeksi.

LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, FMIPA-UI, Depok dan Laboratorium Genome Molecular Analysis, Center of Excellence Indigenous Biological Resources-Genome Studies UI, selama sembilan bulan (Juni 2008 hingga Maret 2009).

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Mikroorganisme

Khamir-khamir epifit yang digunakan dalam penelitian berasal dari sampel daun dan bunga tumbuhan di Kebun Raya Cibodas, koleksi University of Indonesia Culture Collection (UICC) (Tabel I.1). Khamir-khamir tersebut terdiri dari enam spesies yaitu, *Cr. laurentii* UICC Y-319, *Candida rancensis* UICC Y-326, *Candida* sp. UICC Y-328, *M. reukaufii* UICC Y-351, *Cr. laurentii* UICC Y-379, dan *Cryptococcus* sp. UICC Y-385. Kapang-kapang yang digunakan dalam penelitian berasal dari bagian tanaman tomat terinfeksi di Bogor dan Tangerang, koleksi UICC. Kapang-kapang tersebut terdiri dari *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3, *Asp. terreus* D2.2.MC, dan *Drechslera* sp. D1.3.MC.

Medium

Potato Dextrose Agar (PDA) digunakan sebagai medium pemurnian kapang, pembuatan *stock culture* khamir epifit dan kapang, serta pengujian antagonisme melalui *strip method* dan *slide culture*. Yeast Malt Agar (YMA) digunakan sebagai medium pemurnian dan pembuatan *working culture* khamir epifit. Potato Dextrose Broth (PDB) dengan pH 5, digunakan sebagai

medium *co-culture*. Plate Count Agar (PCA) digunakan sebagai medium penghitungan jumlah sel dengan metode Total Plate Count (TPC).

Bahan Kimia

Bahan-bahan kimia dari Difco antara lain *yeast extract*, *malt extract*, pepton, PDA, dan PDB. Bahan-bahan kimia dari Merck adalah Na_2HPO_4 , asam sitrat, dan glukosa. Bahan-bahan kimia dari Britania adalah agar, dan PCA. Bahan-bahan kimia lain adalah alkohol, aseton, tetrasiklin [Phapros], dan minyak imersi.

CARA KERJA

Pembuatan Medium

Medium PDA dan PCA dibuat berdasarkan cara yang tertera pada kemasan. Medium YMA dibuat berdasarkan Yarrow (1993: 79). Medium PDB dibuat berdasarkan cara yang tertera pada kemasan dengan pH medium menjadi 5,0.

Larutan penyangga sitrat-fosfat pH 5,0

Pembuatan larutan penyangga sitrat-fosfat berdasarkan Gomori (1955: 141) yang dimodifikasi. Pembuatan larutan penyangga sitrat-fosfat memerlukan dua larutan, yaitu larutan Na_2HPO_4 0,2 M dan larutan asam

sitrat 0,1 M. Larutan Na_2HPO_4 0,2 M dibuat dengan melarutkan 28,4 g Na_2HPO_4 dalam akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml. Larutan asam sitrat 0,1 M dibuat dengan melarutkan 12,01 g asam sitrat dalam akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml.

Pembuatan 1.000 ml larutan penyangga sitrat-fosfat dengan pH 5,0 dilakukan dengan mencampurkan 275 ml larutan Na_2HPO_4 0,2 M dengan 225 ml larutan asam sitrat 0,1 M. Campuran tersebut ditambahkan akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml. Derajat keasaman campuran diukur menggunakan kertas pH.

Penghitungan jumlah sel khamir dan hifa/spora kapang

Satu ose biakan khamir epifit diinokulasikan sebanyak 15 goresan ke dalam medium YMA miring lalu diinkubasi pada suhu ruang selama dua hari. Sebanyak 5 ml akuades steril dimasukkan ke dalam biakan khamir epifit. Biakan khamir epifit dikerik menggunakan ose dan dihomogenkan menggunakan vorteks, sehingga diperoleh suspensi sel. Suspensi sel khamir diencerkan menggunakan akuades steril hingga faktor pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} secara aseptik.

Satu ose biakan kapang diinokulasikan sebanyak 15 goresan ke dalam medium PDA miring lalu diinkubasi pada suhu ruang selama dua hari untuk kapang *Aspergillus* pada pengujian *strip method*, tiga hari untuk kapang *Aspergillus* pada pengujian *co-culture*, dan empat hari untuk kapang *Drechslera*. Sebanyak 5 ml akuades steril dimasukkan ke dalam masing-

masing biakan kapang. Biakan kapang dikerik menggunakan ose dan dihomogenkan menggunakan vorteks, sehingga diperoleh suspensi hifa/spora. Suspensi hifa/spora kapang *Aspergillus* diencerkan menggunakan akuades steril hingga faktor pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} secara aseptik. Suspensi hifa/spora kapang *Drechslera* diencerkan menggunakan akuades steril hingga faktor pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} secara aseptik.

Penghitungan jumlah sel khamir epifit dan hifa/spora kapang menggunakan metode Total Plate Count (TPC) berdasarkan Madigan *dkk.* (2002: 146--147). Hasil TPC dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{CFU} = \frac{\text{Jumlah koloni yang tumbuh pada cawan petri}}{\text{Volume inokulum} \times \text{faktor pengenceran}}$$

Pengujian antagonisme khamir epifit terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi menggunakan *strip method*

Pengujian kemampuan antagonistik khamir epifit terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi dilakukan dengan *strip method* berdasarkan Azizmohseni *dkk.* (2007: 67). Biakan khamir epifit digoreskan sebanyak 15 gores pada medium YMA miring dan diinkubasi selama dua hari pada suhu ruang. Biakan kapang digoreskan sebanyak 15 gores pada medium PDA miring. Biakan kapang *Aspergillus* diinkubasi selama dua hari pada suhu ruang, sedangkan biakan kapang *Drechslera* diinkubasi pada suhu ruang selama empat hari.

Cawan petri berisi medium PDA diberi garis tengah dan dua garis sejajar yang masing-masing berjarak 5 mm dari garis tengah cawan petri. Biakan khamir epifit dikerik dan disuspensikan dalam 5 ml akuades steril, kemudian dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak 20 μ l suspensi sel khamir epifit, masing-masing diteteskan di sepanjang dua garis sejajar. Medium diinkubasi pada suhu ruang selama empat jam. Selanjutnya, biakan kapang dikerik dan disuspensikan dalam 5 ml akuades steril, kemudian dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak 20 μ l suspensi spora kapang diteteskan di sepanjang garis tengah antara dua garis inokulasi khamir epifit. Medium diinkubasi pada suhu ruang selama enam hari. Kontrol adalah medium PDA yang diinokulasi suspensi hifa/spora kapang tanpa diinokulasi suspensi sel khamir epifit dan medium PDA yang diinokulasi suspensi sel khamir epifit tanpa diinokulasi suspensi hifa/spora kapang. Pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan baik pada perlakuan maupun kontrol.

Pengamatan dilakukan setiap hari dengan mengukur lebar koloni kapang menggunakan jangka sorong digital dan melihat ada tidaknya sporulasi. Kemampuan khamir epifit dalam menghambat pertumbuhan kapang ditunjukkan dengan reduksi lebar koloni kapang setelah dibandingkan dengan lebar koloni kapang kontrol yang tidak diinokulasi oleh khamir.

Pengujian antagonisme khamir epifit terhadap kapang genus

Aspergillus* menggunakan metode *co-culture

Interaksi antagonisme enam spesies khamir epifit dengan kapang *Aspergillus* diketahui melalui pengujian antagonisme dengan metode *co-culture* berdasarkan Oetari *dkk.* (2007: 37) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan pada selang waktu antara penumbuhan khamir dan inokulasi kapang ke dalam medium, dari 48 jam menjadi 8 jam. Biakan khamir epifit digoreskan sebanyak 15 gores pada medium YMA miring dan diinkubasi pada suhu ruang selama dua hari. Biakan kapang *Aspergillus* digoreskan sebanyak 15 gores pada medium PDA miring dan diinkubasi pada suhu ruang selama tiga hari.

Biakan khamir epifit dikerik dan disuspensikan dalam 5 ml PDB pH 5,0 steril, kemudian dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak 1 ml suspensi sel khamir epifit ditambahkan ke dalam 18 ml PDB pH 5,0. Kemudian biakan ditumbuhkan dengan pengocokan secara resiprokal 110 rpm pada suhu 30⁰ C selama 8 jam. Selanjutnya, biakan kapang dikerik dan disuspensikan dalam 5 ml PDB pH 5,0 steril, kemudian dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak 1 ml suspensi spora kapang ditambahkan ke dalam 18 ml PDB pH 5,0 yang telah ditumbuhi oleh khamir epifit berumur 8 jam. Medium diinkubasi pada suhu 30⁰ C selama enam hari dalam keadaan fermentasi diam.

Pengamatan secara makroskopik terhadap pertumbuhan khamir epifit dan kapang dilakukan setiap hari. Pertumbuhan khamir epifit diamati dengan melihat pembentukan pelikel, ada tidaknya endapan biomassa khamir, dan warna endapan. Pertumbuhan kapang diamati dengan melihat pembentukan hifa atau miselium dan terjadinya sporulasi. Pengamatan mikroskopik sel khamir epifit dan kapang dilakukan pada hari ke dua dan ke tiga. Pengamatan mikroskopik sel khamir epifit dilakukan dengan mengamati bentuk, ukuran, dan tipe pertunasan sel khamir epifit. Pengamatan mikroskopik pada kapang *Aspergillus* menggunakan mikroskop Primostar dengan mengamati bentuk kepala konidia, bentuk vesikel, susunan fialid dan metula. Pengukuran sel khamir dan spora kapang menggunakan perangkat lunak Axiovision 4.7 pada lebar dan panjang sel khamir, diameter kepala konidia, dan lebar konidiofor. Interaksi antagonisme antara khamir epifit dan kapang diketahui melalui tidak adanya pertumbuhan hifa atau miselium kapang pada permukaan medium, tidak terjadinya sporulasi, dan adanya perubahan ukuran dan morfologi kapang.

Pengujian antagonisme khamir epifit terhadap kapang genus *Drechslera* menggunakan metode *slide culture*

Interaksi antagonisme enam spesies khamir epifit dengan kapang *Drechslera* diketahui melalui pengujian antagonisme dengan metode *slide culture* berdasarkan Yarrow (1998: 83) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan pada tujuan penggunaan metode *slide culture* dari tujuan

mengamati pembentukan filamen pada khamir menjadi mengamati interaksi antagonisme antara khamir epifit dan kapang. Biakan khamir epifit digoreskan sebanyak 15 gores pada medium YMA miring dan diinkubasi pada suhu ruang selama dua hari. Biakan kapang dari genus *Drechslera* digoreskan sebanyak 15 gores pada medium PDA miring dan diinkubasi pada suhu ruang selama lima hari.

Medium PDA yang masih cair ditambahkan tetrasiklin, lalu dituangkan ke atas permukaan gelas objek steril hingga membentuk lapisan medium berukuran $\pm 18 \times 18$ mm. Medium dibiarkan selama beberapa menit hingga mengeras. Selanjutnya, biakan khamir epifit dikerik menggunakan ose dan diinokulasikan di atas permukaan medium PDA hingga membentuk garis inokulasi khamir pada salah satu sisi medium. Biakan kapang dikerik menggunakan ose dan diinokulasikan pada jarak 5 mm dari garis inokulasi khamir epifit. Permukaan medium yang telah diinokulasikan oleh khamir epifit dan kapang ditutup menggunakan kaca penutup steril. Preparat disimpan dalam cawan petri steril. Kertas saring yang telah ditetesi oleh akuades steril diletakkan di samping kiri dan kanan preparat untuk mencegah kekeringan pada medium. Preparat diinkubasi pada suhu ruang selama empat hari. Pengamatan dilakukan secara mikroskopik pada hari ke tiga dan ke empat. Interaksi antagonisme antara khamir epifit dan kapang *Drechslera* diketahui dengan mengamati ada tidaknya perubahan struktur hifa yang berada di dekat koloni khamir dan kemampuan sel khamir epifit melekat pada dinding hifa-hifa kapang tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian antagonisme khamir epifit terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi menggunakan *strip method*

Sebelum pengujian antagonisme dilakukan, jumlah sel khamir epifit dan hifa/spora kapang yang akan digunakan dalam pengujian perlu diketahui. Hasil penghitungan jumlah sel menggunakan metode Total Plate Count (TPC) menunjukkan jumlah sel khamir epifit lebih tinggi dibandingkan jumlah hifa/spora kapang. Tabel I.2 menunjukkan hasil penghitungan jumlah sel dari enam biakan khamir epifit. Jumlah sel dari enam biakan khamir epifit berada pada kisaran $(0,7--4,45) \times 10^8$ CFU/ml. Tabel I.3 menunjukkan hasil penghitungan jumlah hifa/spora tiga biakan kapang dari tanaman tomat terinfeksi. Jumlah hifa/spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 berada pada kisaran $(7,0--8,1) \times 10^7$ CFU/ml dan *Asp. terreus* D2.2.MC berada pada kisaran $(7,7--8,6) \times 10^7$ CFU/ml, sedangkan jumlah hifa/spora *Drechslera* sp. D1.3.MC berada pada kisaran $(0,45--3,5) \times 10^5$ CFU/ml. Penggunaan khamir antagonis dengan jumlah sel lebih tinggi daripada jumlah hifa/spora kapang dalam medium yang sama akan mendukung kemampuan khamir epifit untuk memenangkan kompetisi perolehan nutrisi dan ruang terhadap kapang. Spadaro (2002: 36) melakukan pengujian antagonisme *M. pulcherrima* dengan jumlah sel berbeda (10^6 CFU/ml, 10^7 CFU/ml, 10^8 CFU/ml) terhadap kapang *B. cinerea* dengan jumlah spora 10^6 spora/ml. Khamir *M. pulcherrima* dengan jumlah sel 10^7 CFU/ml dan 10^8 CFU/ml mampu menghambat

germinasi spora kapang *B. cinerea*. Persentase penghambatan germinasi spora tertinggi ditunjukkan oleh *M. pulcherrima* dengan jumlah sel 10^8 CFU/ml.

Pengujian antagonisme dilakukan pada enam spesies khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas koleksi UICC terhadap tiga spesies kapang dari tanaman tomat terinfeksi menggunakan *strip method* berdasarkan Azizmohseni *dkk.* (2007: 67). Setiap biakan khamir epifit ditumbuhkan empat jam lebih awal pada medium PDA sebelum kapang diinokulasikan. Hal tersebut dilakukan untuk memberikan keuntungan kepada setiap biakan khamir epifit dalam hal adaptasi medium, perolehan nutrisi, dan ruang. Pengujian antagonisme melalui *strip method* pengerjaannya sederhana dan hasil pengujian yang diperoleh dapat dikuantifikasikan dalam bentuk persentase.

Hasil pengujian antagonisme menunjukkan enam spesies khamir epifit memiliki kemampuan antagonistik yang berbeda terhadap kapang berbeda. Hasil pengujian antagonisme enam spesies khamir epifit terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 menunjukkan masing-masing spesies khamir epifit mampu menghambat pertumbuhan koloni kapang tanpa adanya penundaan waktu sporulasi. Koloni *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada kontrol dan koloni *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 yang ditumbuhkan bersama dengan masing-masing dari enam spesies khamir epifit bersporulasi pada hari yang sama yaitu, hari ke dua. Penghambatan pertumbuhan koloni *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 ditunjukkan oleh adanya reduksi lebar koloni

kapang setelah dibandingkan dengan lebar koloni kapang pada kontrol. Reduksi lebar koloni *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 oleh masing-masing spesies khamir epifit menunjukkan nilai persentase yang berbeda-beda. Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 memiliki kemampuan paling potensial dalam menghambat pertumbuhan *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 karena dapat mereduksi lebar koloni kapang tersebut hingga 56,45% setelah enam hari inkubasi (Gambar I.1). Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel I.5.

Hasil pengujian antagonisme enam spesies khamir epifit terhadap kapang *Asp. terreus* D2.2.MC menunjukkan sebanyak tiga spesies khamir epifit yaitu *Cr. laurentii* UICC Y-319, *Candida* sp. UICC Y-328 dan *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 mampu menghambat pertumbuhan koloni *Asp. terreus* D2.2.MC tanpa menunda terjadinya sporulasi. Koloni *Asp. terreus* D2.2.MC pada kontrol dan koloni *Asp. terreus* D2.2.MC yang ditumbuhkan dengan masing-masing dari tiga spesies khamir tersebut mulai bersporulasi pada hari ke dua. Khamir epifit lainnya yaitu *C. rancensis* UICC Y-326, *M. reukaufii* UICC Y-351, dan *Cr. laurentii* UICC Y-379 dapat menghambat pertumbuhan sekaligus menunda terjadinya sporulasi koloni kapang *Asp. terreus* D2.2.MC. Penghambatan pertumbuhan koloni *Asp. terreus* D2.2.MC ditunjukkan oleh adanya reduksi lebar koloni kapang setelah dibandingkan dengan lebar koloni kapang pada kontrol. Reduksi lebar koloni *Asp. terreus* D2.2.MC oleh masing-masing spesies khamir epifit menunjukkan nilai persentase yang berbeda-beda. Penundaan terjadinya sporulasi kapang oleh masing-masing spesies khamir epifit terjadi dalam

jangka waktu yang berbeda. Khamir *M. reukaufii* UICC Y-351 memiliki kemampuan paling potensial dalam menghambat pertumbuhan *Asp. terreus* D2.2.MC karena dapat mereduksi lebar koloni kapang tersebut hingga 25,42% pada hari ke enam inkubasi (Gambar 1.2). Koloni *Asp. terreus* D2.2.MC yang ditumbuhkan bersama *M. reukaufii* UICC Y-351 mulai bersporulasi pada hari ke tiga inkubasi, sedangkan koloni kapang kontrol mulai bersporulasi pada hari ke dua inkubasi. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel I.5.

Hasil pengujian antagonisme enam spesies khamir epifit terhadap kapang *Drechslera* sp. D1.3.MC menunjukkan satu spesies khamir epifit dapat menghambat pertumbuhan koloni *Drechslera* sp. D1.3.MC tanpa menunda terjadinya sporulasi. Khamir tersebut adalah *Candida* sp. UICC Y-328 yang dapat mereduksi pertumbuhan koloni *Drechslera* sp. D1.3.MC hingga 20,93% pada hari ke enam inkubasi. Sebanyak lima spesies khamir epifit lainnya yaitu, *Cr. laurentii* UICC Y-319, *C. rancensis* UICC Y-326, *M. reukaufii* UICC Y-351, *Cr. laurentii* UICC Y-379 atau *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 dapat menghambat pertumbuhan dan menunda waktu sporulasi. Penghambatan pertumbuhan koloni *Drechslera* sp. D1.3.MC ditunjukkan oleh adanya reduksi lebar koloni kapang setelah dibandingkan dengan lebar koloni kapang pada kontrol. Reduksi lebar koloni *Drechslera* sp. D1.3.MC oleh masing-masing khamir epifit menunjukkan nilai persentase yang berbeda-beda. Masing-masing khamir epifit mampu menunda terjadinya sporulasi *Drechslera* sp. D1.3.MC dalam jangka waktu yang berbeda. Khamir

M. reukaufii UICC Y-351 merupakan khamir epifit paling potensial dalam menghambat pertumbuhan *Drechslera* sp. D1.3.MC karena dapat mereduksi lebar koloni *Drechslera* sp. D1.3.MC hingga 51,28% pada hari ke enam inkubasi (Gambar 1.3). Koloni *Drechslera* sp. D1.3.MC yang ditumbuhkan bersama *M. reukaufii* mulai bersporulasi pada hari ke lima inkubasi, sedangkan koloni kapang kontrol mulai bersporulasi pada hari ke dua inkubasi. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.6.

Khamir epifit yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari permukaan daun dan bunga. Menurut Fonseca dan Inacio (2006: 265, 291) khamir epifit dapat memanfaatkan sumber nutrisi yang ada di permukaan bagian tumbuhan seperti eksudat daun dan nektar bunga. Ketersediaan nutrisi di permukaan bagian tumbuhan berada dalam jumlah besar, namun populasi mikroorganisme di permukaan bagian tumbuhan juga cukup tinggi. Hal tersebut secara alami menyebabkan khamir epifit memiliki kemampuan dalam berkompetisi untuk memperoleh nutrisi.

Mekanisme khamir epifit dalam menghambat pertumbuhan koloni kapang diduga berupa kompetisi nutrisi dan ruang hidup. Khamir epifit diduga memiliki kemampuan untuk mengkolonisasi medium dan memanfaatkan nutrisi yang terkandung di dalamnya lebih banyak dibandingkan kapang. Ketika kapang diinokulasikan ke dalam medium yang sama, nutrisi dan ruang pada medium telah berkurang, sehingga pertumbuhan koloni kapang terhambat. Menurut Fonseca dan Inacio (2006: 289) salah satu karakter khamir epifit adalah dapat memperbanyak diri

dengan cepat. Sipiczki (2006: 6716) melaporkan khamir yang memiliki kemampuan antagonistik dapat menghambat pertumbuhan kapang melalui beberapa mekanisme di antaranya kompetisi ruang dan nutrisi, melakukan parasitisme pada kapang, menghasilkan enzim degradasi dinding sel kapang, dan menginduksi resistensi jaringan inang terhadap kapang.

Kemampuan khamir epifit dalam menghambat pertumbuhan kapang dapat ditunjukkan dengan penghambatan sporulasi pada koloni kapang. Hasil pengujian antagonisme menggunakan *strip method* menunjukkan tidak semua khamir epifit memiliki kemampuan menghambat sporulasi koloni kapang. Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 tidak mampu menghambat terjadinya sporulasi baik pada *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3, *Asp. terreus* D2.2.MC, maupun *Drechslera* sp. D1.3.MC. Khamir *Cr. laurentii* UICC Y-319 dan *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 hanya memiliki kemampuan menghambat terjadinya sporulasi *Drechslera* sp. D1.3.MC. Khamir epifit lainnya yaitu *C. rancensis* UICC Y-326, *M. reukaufii* UICC Y-351, dan *Cr. laurentii* UICC Y-379 memiliki kemampuan menghambat terjadinya sporulasi *Asp. terreus* D2.2.MC dan *Drechslera* sp D1.3.MC. Randhawa dkk. (2002: 864) melaporkan adanya perbedaan kemampuan pada beberapa spesies *Candida* dalam menghambat pertumbuhan kapang *Asp. fumigatus* Fresen secara *in vitro*. Beberapa khamir *C. albicans* (Robin) Berkhout dapat menghambat pertumbuhan dan sporulasi *Asp. fumigatus* setelah inkubasi selama 96 jam, tetapi khamir *C. glabrata* (H.W. Anderson) S.A. Meyer & Yarrow hanya dapat

menghambat pertumbuhan koloni *Asp. fumigatus* tanpa menghambat terjadinya sporulasi.

Informasi mengenai perubahan pada morfologi dan ukuran bagian-bagian kapang setelah ditumbuhkan bersama dengan khamir epifit tidak dapat diperoleh pada hasil pengujian antagonisme menggunakan *strip method*. Informasi tersebut dapat diperoleh dengan melakukan pengujian antagonisme melalui *co-culture*, yaitu menumbuhkan bersama antara khamir epifit dan kapang dalam suatu medium fermentasi. Perubahan ukuran dan morfologi kapang akibat interaksi antagonisme dengan khamir epifit dapat diketahui dengan melakukan pengamatan mikroskopik pada morfologi kapang.

Pengujian antagonisme khamir epifit terhadap kapang genus *Aspergillus* menggunakan *co-culture*

Pengujian antagonisme menggunakan *co-culture* dilakukan berdasarkan Oetari *dkk.* (2007: 37) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan pada selang waktu antara penumbuhan khamir dan inokulasi kapang ke dalam medium, dari 48 jam menjadi 8 jam. Pengujian dilakukan pada enam spesies khamir epifit terhadap dua spesies kapang genus *Aspergillus*. Metode pengujian *co-culture* pengerjaannya sederhana dan morfologi kapang secara mikroskopik dapat diukur dan dikuantifikasikan dalam bentuk persentase.

Setiap biakan khamir epifit ditumbuhkan selama delapan jam lebih awal daripada kapang di dalam medium PDB pH 5,0 dengan pengocokan secara resiprokal 110 rpm pada suhu 30⁰ C. Hal tersebut dilakukan untuk memberikan keuntungan kepada khamir epifit dalam hal adaptasi medium, perolehan nutrien, dan perolehan ruang hidup. Ketika kapang diinokulasikan ke dalam medium yang sudah ditumbuhi oleh biakan khamir epifit, maka nutrien dan ruang yang tersedia telah berkurang. Hal tersebut dapat mengakibatkan pembentukan hifa atau miselium dan sporulasi menjadi terhambat. Zhao *dkk.* (2008: 116) melaporkan bahwa interval waktu yang ada antara inokulasi *Pichia guilliermondii* Wickerham dengan *Rhizopus nigricans* Ehrenberg pada buah tomat dapat berpengaruh pada kemampuan khamir dalam menghambat pertumbuhan kapang. Interval waktu selama 24, 12, dan 6 jam pada inokulasi khamir antagonis sebelum inokulasi kapang memberikan kesempatan kepada khamir untuk beradaptasi pada substrat, memanfaatkan nutrien dan ruang hidup. Inkubasi *P. guilliermondii* selama 24 jam sebelum inokulasi kapang menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan kapang paling baik.

Pengamatan pertumbuhan khamir epifit pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian co-culture

Hasil pengamatan pada medium PDB pH 5,0 selama 6 hari inkubasi yang diinokulasikan khamir epifit tanpa diinokulasikan suspensi spora kapang menunjukkan adanya kekeruhan medium. Pada bagian dasar medium

terdapat endapan yang merupakan lapisan biomassa khamir epifit. Lapisan biomassa setiap spesies khamir epifit menunjukkan warna yang berbeda. Selain endapan biomassa, di lapisan atas medium terlihat ada pembentukan pelikel. Pengamatan serupa ditunjukkan pada medium PDB pH 5,0 yang diinokulasikan khamir epifit dan suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 serta *Asp. terreus* D2.2.MC. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pertumbuhan khamir epifit pada perlakuan tidak terhambat. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel I.7. Yarrow (1998: 81) melaporkan bahwa pertumbuhan khamir dalam medium cair dengan keadaan fermentasi diam dapat ditunjukkan dengan pembentukan endapan di dasar medium dan pelikel di permukaan medium.

Hasil pengamatan mikroskopik sel khamir epifit pada hari ke dua dan ke tiga inkubasi pada kontrol yang tidak diinokulasikan suspensi spora kapang menunjukkan variasi bentuk sel vegetatif, tipe pertunasan, susunan sel, dan ukuran sel. Bentuk sel vegetatif, tipe pertunasan, dan susunan sel setiap khamir epifit pada perlakuan yang diinokulasikan suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus* D2.2.MC menunjukkan pengamatan yang serupa dengan kontrol (Tabel I.8). Secara umum, ukuran sel vegetatif setiap khamir epifit setelah ditumbuhkan bersama spora kapang pada hari ke dua dan ke tiga inkubasi, lebih kecil daripada ukuran sel vegetatif khamir epifit pada kontrol (Tabel I.9). Hal tersebut mengindikasikan adanya gangguan pada ukuran sel khamir epifit oleh kapang.

Pengamatan pertumbuhan kapang Asp. ochraceus D1.22.SS.M3 dan Asp. terreus D2.2.MC dalam medium PDB pH 5,0 pada kontrol dan perlakuan

Hasil pengamatan selama enam hari inkubasi pada pertumbuhan koloni *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dalam medium PDB pH 5,0 yang tidak ditumbuhi oleh khamir epifit menunjukkan adanya pembentukan lapisan miselium dengan warna spora kuning kecokelatan di permukaan medium. Pembentukan miselium tersebut terjadi sejak hari ke dua inkubasi yang terus menebal hingga hari ke enam inkubasi (Tabel I.10). Warna medium yang semula bening berubah menjadi keruh.

Hasil pengamatan makroskopik selama enam hari inkubasi pada pertumbuhan koloni *Asp. terreus* D2.2.MC dalam medium PDB pH 5,0 yang tidak ditumbuhi oleh khamir epifit menunjukkan adanya pembentukan lapisan miselium dengan warna spora coklat tua di permukaan medium. Pembentukan miselium tersebut terjadi sejak hari ke dua inkubasi yang terus menebal hingga hari ke enam inkubasi (Tabel I.11). Medium mengalami perubahan dari bening menjadi keruh. Gandjar (2006: 40) melaporkan bahwa pertumbuhan kapang dalam medium cair yang tidak digoyang dapat ditunjukkan dengan pertumbuhan miselium berupa lapisan yang makin lama makin tebal di permukaan medium. Warna medium yang semula bening berubah menjadi keruh.

Hasil pengamatan makroskopik pada pengujian *co-culture* enam spesies khamir epifit terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus*

D2.2.MC selama enam hari pada medium PDB pH 5,0 menunjukkan adanya penghambatan germinasi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus* D2.2.MC oleh ke enam spesies khamir epifit. Penghambatan tersebut ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi kedua spesies kapang di permukaan medium fermentasi. Penghambatan pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus* D2.2.MC oleh masing-masing spesies khamir epifit terjadi dalam jangka waktu yang berbeda (Tabel I.10 dan I.11). Hal tersebut menunjukkan masing-masing khamir epifit memiliki kemampuan antagonistik yang berbeda terhadap kapang berbeda.

Khamir-khamir epifit, *Candida* sp. UICC Y-328 dan *Cr. laurentii* UICC Y-379 memiliki kemampuan paling potensial dalam menghambat pertumbuhan *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 karena dapat menghambat pembentukan hifa atau miselium dan sporulasi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 hingga hari ke enam inkubasi (Gambar I.4). Khamir epifit lainnya yaitu, *C. rancensis* UICC Y-326, *M. reukaufii* UICC Y-351, dan *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 mampu menghambat pembentukan hifa atau miselium dan sporulasi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 hingga hari ke tiga inkubasi. *Cryptococcus laurentii* UICC Y-319 mampu menghambat pembentukan hifa atau miselium *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 hingga hari ke dua inkubasi dan menghambat sporulasi hingga hari ke tiga inkubasi.

Khamir epifit yang memiliki kemampuan paling potensial dalam menghambat pertumbuhan *Asp. terreus* D2.2.MC adalah *Cr. laurentii* UICC

Y-379 karena mampu menghambat pembentukan hifa atau miselium dan terjadinya sporulasi hingga hari ke enam inkubasi (Gambar I.5). Khamir epifit lainnya yaitu, *C. rancensis* UICC Y-326 dan *Candida* sp. UICC Y-328 mampu menghambat pembentukan hifa atau miselium *Asp. terreus* D2.2.MC hingga hari ke lima inkubasi. Hifa atau miselium *Asp. terreus* D2.2.MC yang mulai tumbuh pada hari ke enam inkubasi, terlihat berwarna putih tanpa warna spora. *Cryptococcus laurentii* UICC Y-319 mampu menghambat pembentukan hifa atau miselium *Asp. terreus* D2.2.MC hingga hari ke empat inkubasi dan menghambat sporulasi hingga hari ke enam inkubasi. *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 mampu menghambat pembentukan hifa atau miselium *Asp. terreus* D2.2.MC hingga hari ke tiga inkubasi dan menghambat sporulasi hingga hari ke lima inkubasi. *Metschnikowia reukaufii* UICC Y-351 mampu menghambat pembentukan hifa atau miselium dan sporulasi *Asp. terreus* D2.2.MC hingga hari ke dua inkubasi.

Pengaruh antagonistik dari khamir epifit terhadap morfologi kapang patogen Asp. ochraceus D1.22.SS.M3 dan Asp. terreus D2.2.MC

Pengamatan mikroskopik pada 30 sampel individu *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus* D2.2.MC yang ditumbuhkan dalam medium PDB pH 5,0 dilakukan pada beberapa karakter morfologi, yaitu bentuk kepala konidia, bentuk vesikel, tipe seriasi, dan susunan fialid dan metula. Gambar I. 6a, I.6b. dan I.6c menunjukkan morfologi kepala konidia dan konidiofor

Asp. ochraceus D1.22.SS.M3. Kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 memiliki hifa fertil yang membawa kepala konidia dengan tipe *radiate*. Bagian dasar hifa fertil mengalami pemanjangan membentuk konidiofor kemudian ujung konidiofor mengalami perluasan membentuk vesikel. Bentuk vesikel *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 adalah semibulat (*pyriform*). Sel pembentuk konidia yang disebut fialid tidak melekat langsung pada vesikel melainkan melekat pada metula, sehingga *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 memiliki tipe seriasi *biseriate*. Susunan fialid dan metula pada vesikel terlihat menutupi seluruh permukaan vesikel (*full fertile*). Pengukuran dilakukan pada diameter kepala konidia dan lebar konidiofor. Rerata ukuran diameter kepala konidia *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada hari ke dua inkubasi menunjukkan 11,08 μm , sedangkan pada hari ke tiga inkubasi menunjukkan 10,38 μm (Tabel I.12). Rerata lebar konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada hari ke dua inkubasi menunjukkan 1,81 μm , sedangkan pada hari ke tiga inkubasi menunjukkan 1,72 μm (Tabel I.12). Klich (2002: 66) melaporkan karakteristik mikroskopik dari *Asp. ochraceus* pada tujuh hari inkubasi dalam medium Czapek Yeast Extract Agar (CYA), CYA dengan penambahan sukrosa 20%, Czapek Dox (CZ), dan Malt Extract Agar (MEA) antara lain memiliki tipe kepala konidia *radiate*, bentuk vesikel bulat (*globose*) hingga *elongate*, dan susunan fialid dan metula *biseriate*.

Hasil pengamatan mikroskopik pada 30 sampel individu *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 yang ditumbuhkan bersama dengan khamir-khamir epifit menunjukkan adanya reduksi pada ukuran diameter kepala

konidia dan lebar konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3. Reduksi ukuran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor oleh masing-masing khamir epifit menunjukkan nilai persentase yang berbeda-beda. *Candida* sp. UICC Y-328 adalah khamir epifit paling potensial dalam menghambat pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3. Khamir tersebut dapat mereduksi diameter kepala konidia tanpa mengakibatkan perubahan pada morfologi kepala konidia, serta dapat mereduksi lebar konidiofor (Gambar I.6d, I.6e, dan I.6f). Reduksi ukuran diameter kepala konidia *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 oleh *Candida* sp. UICC Y-328 mencapai 5,52%, sedangkan reduksi lebar konidiofor mencapai 8,29% (Tabel I.12).

Khamir epifit lain yang memiliki kemampuan antagonistik paling potensial terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 adalah *Cr. laurentii* UICC Y-379. Khamir tersebut dapat mereduksi ukuran diameter kepala konidia *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 hingga 15,07% dan mereduksi lebar konidiofor hingga 11,60% (Tabel I.12). Selain mengalami reduksi pada ukuran diameter, sebanyak empat sampel individu *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 juga mengalami perubahan pada bentuk kepala konidia dan susunan fialid dan metula. Bentuk kepala konidia *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada kontrol adalah *radiate*, sedangkan bentuk kepala konidia *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 yang ditumbuhkan bersama *Cr. laurentii* UICC Y-379 adalah kolumnar. Susunan fialid dan metula *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada kontrol adalah *full fertile*, sedangkan susunan fialid dan metula

Asp. ochraceus D1.22.SS.M3 yang ditumbuhkan bersama *Cr. laurentii* UICC Y-379 adalah 2/3 *fertile* (Gambar 1.7d, 1.7e, dan 1.7f).

Hasil pengamatan mikroskopik pada 30 sampel individu *Asp. terreus* D2.2.MC yang ditumbuhkan dalam medium PDB pH 5,0 menunjukkan beberapa karakter morfologi. Gambar 1.8a, 1.8b, dan 1.8c menunjukkan morfologi kepala konidia dan konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC. Kapang *Asp. terreus* D2.2.MC memiliki hifa fertil yang membawa kepala konidia dengan tipe *radiate*. Bagian dasar hifa fertil mengalami pemanjangan membentuk konidiofor kemudian ujung konidiofor mengalami perluasan membentuk vesikel. Bentuk vesikel *Asp. terreus* D2.2.MC adalah semibulat (*pyriform*). Sel pembentuk konidia yang disebut fialid tidak melekat langsung pada vesikel melainkan melekat pada metula, sehingga *Asp. terreus* D2.2.MC memiliki tipe seriasi *biseriate*. Susunan fialid dan metula pada vesikel terlihat menutupi permukaan vesikel (*full fertile*). Rerata ukuran diameter kepala konidia *Asp. terreus* D2.2.MC pada hari ke dua inkubasi menunjukkan 10,28 μm , sedangkan pada hari ke tiga inkubasi menunjukkan 10,23 μm (Tabel 1.13). Rerata lebar konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada hari ke dua inkubasi menunjukkan 1,96 μm , sedangkan pada hari ke tiga inkubasi menunjukkan 1,88 μm (Tabel 1.13). Klich (2002: 66) melaporkan karakteristik mikroskopik dari *Asp. terreus* yang ditumbuhkan pada tujuh hari inkubasi dalam medium Czapek Yeast Extract Agar (CYA), CYA dengan penambahan sukrosa 20%, Czapek Dox (CZ), dan Malt Extract Agar (MEA) antara lain

memiliki tipe kepala konidia kolumnar, bentuk vesikel semibulat (*pyriform*) atau bulat (*globose*), dan susunan fialid dan metula *biseriate*.

Hasil pengamatan mikroskopik pada 30 sampel individu *Asp. terreus* D2.2.MC yang ditumbuhkan bersama dengan khamir epifit menunjukkan adanya reduksi pada ukuran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC. Reduksi ukuran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor oleh masing-masing khamir epifit menunjukkan nilai persentase yang berbeda-beda. Khamir epifit yang memiliki kemampuan paling potensial dalam menghambat pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi *Asp. terreus* D2.2.MC adalah *Cr. laurentii* UICC Y-379. Khamir tersebut dapat mereduksi ukuran diameter kepala konidia dan konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC, tanpa menyebabkan perubahan morfologi pada kepala konidia (Gambar I.8d, I.8e, dan I.8f). Reduksi ukuran diameter kepala konidia *Asp. terreus* D2.2.MC oleh *Cr. laurentii* UICC Y-379 mencapai 12,35%, sedangkan reduksi lebar konidiofor mencapai 24,47%. (Tabel I.13).

Pengamatan mikroskopik *co-culture* pada hari ke dua dan ke tiga inkubasi menunjukkan sel-sel dari khamir-khamir epifit memiliki kemampuan untuk melekat pada dinding konidiofor kapang. Sel-sel dari khamir epifit, *Cr. laurentii* UICC Y-319, *C. rancensis* UICC Y-326, *M. reukaufii* UICC Y-351, dan *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 terlihat melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus* D2.2.MC pada hari ke dua dan ke tiga inkubasi (Gambar I.9 dan I.10). Sel-sel *Candida* sp. UICC Y-328 terlihat berada di sekitar dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan

Asp. terreus D2.2.MC pada hari ke dua inkubasi dan mulai melekat pada dinding konidiofor pada hari ke tiga inkubasi (Gambar I.11). Sel-sel *Cr. laurentii* UICC Y-379 terlihat tidak memiliki kemampuan melekat pada konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 baik pada pengamatan hari ke dua maupun hari ke tiga inkubasi (Gambar I.12a dan I.12b). Namun demikian, *Cr. laurentii* UICC Y-379 memiliki kemampuan melekat pada konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC pada hari ke dua dan ke tiga inkubasi (Gambar I.12c dan I.12d). Arras *dkk.* (1999: 127--129) melaporkan mekanisme kerja khamir antagonis *C. oleophila* Montrocher 13L, *P. guilliermondii* 5A, dan *R. glutinis* 21A dalam menghambat pertumbuhan kapang *Pen. digitatum* (Pers.) Sacc. Sel-sel khamir tersebut mampu melekat pada hifa kapang, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan kapang tanpa menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat toksik.

Mekanisme yang diduga terlibat dalam kemampuan khamir epifit menghambat pertumbuhan hifa atau miselium kapang adalah kompetisi nutrisi dan ruang hidup. Penyerapan nutrisi oleh sel khamir dengan kepadatan populasi maksimum akan mengakibatkan ketersediaan nutrisi dalam medium berkurang, sehingga ketika spora kapang diinokulasikan ke dalam medium yang sama, ketersediaan nutrisi yang ada tidak cukup untuk mendukung terjadinya germinasi spora. Jijakli dan Lepoivre (1999: 37) melaporkan kemampuan berkompetisi untuk memperoleh nutrisi pada *P. anomala* (Hansen) Kurtzman strain O dan *Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder & Kreger-van Rij strain K yang diujikan pada kapang *B. cinerea*.

Germinasi spora *B. cinerea* terhambat saat populasi sel kedua khamir mencapai kepadatan populasi maksimum yaitu, pada waktu inkubasi 12 jam.

Sel-sel khamir epifit yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kemampuan untuk melekat pada dinding konidiofor kapang. Pelekatan sel-sel khamir epifit pada dinding konidiofor kapang diduga dapat menghalangi penyerapan nutrisi oleh hifa kapang. Hal tersebut dapat mendukung kemampuan khamir dalam berkompetisi memperoleh nutrisi dibandingkan kapang. Menurut El Ghouth *dkk.* (2002: 344) khamir antagonis memiliki kemampuan untuk melekat pada dinding sel fungi. Widyastuti (2008:30) melaporkan pelekatan sel-sel khamir pada dinding hifa dapat menghalangi penyerapan nutrisi ke dalam hifa, bahkan dapat menghalangi sekresi enzim hidrolitik yang digunakan oleh kapang untuk mendegradasi substrat.

Pada penelitian ini, khamir epifit yang digunakan berasal dari lima spesies yang berbeda. Setiap khamir epifit ditumbuhkan dalam medium fermentasi selama delapan jam lebih awal daripada kapang. Selang waktu inkubasi selama 8 jam antara khamir epifit dengan kapang diduga cukup bagi beberapa khamir epifit untuk mencapai jumlah sel yang maksimum, sehingga mampu menghambat germinasi spora. Namun, selang waktu tersebut pada khamir epifit lainnya diduga belum cukup untuk mencapai jumlah sel maksimum. Spesies khamir yang berbeda diduga memiliki kemampuan berbeda dalam beradaptasi pada suatu medium. Hal tersebut menyebabkan kemampuan setiap khamir epifit dalam memanfaatkan nutrisi berbeda-beda.

Perubahan yang terjadi pada ukuran dan morfologi kepala konidia serta konidiofor kapang yang disebabkan oleh khamir epifit, diduga belum menunjukkan hasil yang representatif. Hal tersebut disebabkan analisis perubahan ukuran dan morfologi kapang oleh khamir epifit dilakukan berdasarkan pengamatan mikroskopik pada 30 sampel individu *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus* D2.2.MC. Oleh karena itu, hasil pengamatan mikroskopik pada *co-culture* tidak digunakan sebagai dasar utama pemilihan khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial. Beberapa peneliti melakukan analisis kemampuan antagonistik khamir terhadap kapang berdasarkan pada pengamatan secara mikroskopik pada spora atau hifa kapang dalam jumlah yang lebih banyak. Spadaro (2002: 30) melakukan *co-culture* untuk mengetahui kemampuan khamir antagonis *M. pulcherrima* dalam menghambat germinasi spora *B. cinerea*. Pengujian dilakukan dalam tiga ulangan dan pengamatan mikroskopik dilakukan pada 100 sampel spora untuk setiap ulangan. Coelho dkk. (2007: 726) melakukan *co-culture* untuk mengetahui pengaruh supernatan dari *C. guilliermondii* (Castellani) Berkhout P3 dan *P. ohmeri* (Etchells & T.A. Bell) Kreger van Rij 158 terhadap pertumbuhan hifa *Pen. expansum*. Pengujian dilakukan dalam tiga ulangan dan pengamatan mikroskopik dilakukan pada 40 sampel hifa untuk setiap ulangan.

Pengujian antagonisme menggunakan *co-culture* tidak dapat dilakukan pada khamir-khamir epifit terhadap *Drechslera* sp. D1.3.MC. Hal tersebut disebabkan *Drechslera* sp. D1.3.MC pada medium Potato Dextrose Broth

tidak menunjukkan pertumbuhan yang baik, berdasarkan hasil uji pendahuluan. Untuk itu, pengujian antagonisme enam khamir-khamir epifit terhadap *Drechslera* sp. D1.3.MC dilakukan melalui metode *slide culture*.

Pengujian antagonisme khamir epifit terhadap kapang genus *Drechslera* menggunakan *slide culture*

Pengujian antagonisme menggunakan *slide culture* dilakukan berdasarkan Yarrow (1998: 83) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan pada tujuan penggunaan metode *slide culture* dari tujuan mengamati pembentukan filamen pada khamir menjadi mengamati interaksi antagonisme antara khamir epifit dan kapang. Pengujian dilakukan pada enam spesies khamir epifit terhadap *Drechslera* sp. D1.3.MC. Interaksi antagonisme antara khamir epifit dan kapang dapat diketahui dengan adanya perubahan struktur hifa kapang yang ada di dekat koloni khamir dan terjadinya pelekatan sel pada dinding hifa-hifa kapang. Metode pengujian *slide culture* pengerjaannya sederhana, namun data yang diperoleh bersifat deskriptif.

Pengamatan mikroskopik pada *slide culture* khamir-khamir epifit terhadap *Drechslera* sp. D1.3.MC dilakukan pada hari ke tiga dan empat inkubasi. Hal tersebut dilakukan karena interaksi antagonisme antara khamir epifit dan *Drechslera* sp. D1.3.MC hanya dapat diamati saat pertumbuhan hifa atau miselium kapang mulai mendekati koloni khamir. Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC yang berada

di dekat koloni khamir epifit tidak mengalami perubahan morfologi. Meskipun demikian, sel-sel dari khamir epifit, *Cr. laurentii* UICC Y-319, *C. rancensis* UICC Y-326, *M. reukaufii* UICC Y-351, dan *Cr. laurentii* UICC Y-379 terlihat melekat pada dinding hifa vegetatif D1.3.MC pada hari ke tiga dan ke empat inkubasi (Gambar I.13 dan I.14). Sel-sel *Candida* sp. UICC Y-328 terlihat berada di sekitar dinding hifa vegetatif D1.3.MC pada hari ke tiga inkubasi dan mulai melekat pada dinding hifa pada hari ke tiga inkubasi (Gambar I.15c1 dan I.15c2). Tidak semua sel-sel khamir epifit terlihat melekat pada dinding hifa. Sel-sel dari *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 tidak memiliki kemampuan melekat pada dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC baik pada hari ke tiga maupun hari ke empat inkubasi (Gambar I.15d1 dan I.15d2).

Pelekatan sel khamir epifit pada dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC tidak disertai oleh perubahan morfologi pada hifa kapang tersebut. El Ghouth *dkk.* (2002: 344) melaporkan bahwa khamir antagonis memiliki kemampuan untuk melekat pada dinding sel fungi. Saligkarias (2002: 155) melaporkan kemampuan sel-sel khamir *C. guilliermondii* strain US 7 dan strain 101 dan *C. pelliculosa* I-182 dalam melekat pada hifa kapang *B. cinerea* tanpa melihat adanya perubahan morfologi pada hifa kapang tersebut.

Pengamatan mikroskopik dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya, sehingga hasil pengamatan yang diperoleh terbatas pada kemampuan sel-sel khamir melekat pada dinding hifa kapang. Pengamatan lebih lanjut menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

diperlukan untuk mengetahui ada tidaknya perubahan struktur pada hifa *Drechslera* sp. D1.3.MC akibat pelekatan sel-sel khamir epifit. Chan dan Tian (2005: 218) melakukan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya pada sel khamir *Cr. albidus* dan *P. membranifaciens* (E.C. Hansen) E.C. Hansen dan kapang *Moniliella fruticola* (G. Winter) Honey dan *Pen. expansum* yang ditumbuhkan bersama pada medium jus apel agar. Hasil pengamatan menunjukkan kemampuan sel-sel khamir *C. albidus* dan *P. membranifaciens* melekat pada dinding hifa kedua kapang. Pengamatan lebih lanjut menggunakan SEM menunjukkan adanya akumulasi matriks ekstraseluler dari khamir *C. albidus* dan *P. membranifaciens* di sekitar hifa kedua kapang, bahkan hifa *Mon. fruticola* terlihat mengalami pembengkakan. Pengamatan lebih dekat pada hifa *Mon. fruticola* yang dilekati oleh sel khamir *P. membranifaciens* menunjukkan adanya cekungan pada bagian dinding hifa kapang yang dilekati oleh sel khamir. Pelekatan sel khamir *P. membranifaciens* diduga dapat mengakibatkan hifa kapang menjadi berlubang.

Pengujian antagonisme menggunakan *strip method*, *co-culture* dan *slide culture* menunjukkan masing-masing khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas memiliki kemampuan antagonistik yang berbeda terhadap kapang berbeda. Kemampuan khamir-khamir epifit dalam menghambat pertumbuhan kapang diduga melibatkan mekanisme kompetisi untuk memperoleh nutrisi dan ruang hidup. Hal tersebut dilakukan khamir dengan cara beradaptasi dalam medium lebih awal daripada kapang, melakukan perbanyakan sel lebih

awal dan cepat daripada kapang, memanfaatkan nutrien dan ruang hidup lebih banyak daripada kapang, serta melakukan pelekatan sel-sel khamir pada dinding kapang untuk menghalangi penyerapan nutrien oleh hifa kapang.

Pemilihan khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial

Pemilihan khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial dilakukan berdasarkan hasil pengujian antagonisme menggunakan *strip method* dan *co-culture*. Data hasil pengujian antagonisme menggunakan *slide culture* tidak digunakan sebagai dasar pemilihan karena bersifat deskriptif dan menyebabkan khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial tidak dapat ditentukan.

Pengujian antagonisme menggunakan *strip method* memperoleh dua spesies khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial yaitu, *Candida* sp. UICC Y-328 dan *M. reukaufii* UICC Y-351. *Candida* sp. UICC Y-328 dipilih sebagai khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial dibandingkan *M. reukaufii* UICC Y-351 karena *Candida* sp. UICC Y-328 memiliki kemampuan antagonistik yang konsisten. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai persentase reduksi lebar koloni *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 oleh *Candida* sp. UICC Y-328 yang tidak fluktuatif mulai hari ke dua hingga hari ke enam inkubasi. *Metschnikowia reukaufii* UICC Y-351 tidak menunjukkan kemampuan antagonistik yang konsisten. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai persentase reduksi lebar koloni *Asp. terreus*

D2.2.MC dan *Drechslera* D1.3.MC oleh *M. reukaufii* UICC Y-351 yang fluktuatif mulai hari ke dua hingga hari ke enam inkubasi.

Pengujian antagonisme menggunakan *co-culture* memperoleh dua spesies khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial terhadap kapang yang berbeda, yaitu *Candida* sp. UICC Y-328 terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Cr. laurentii* UICC Y-379 terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus* D2.2.MC. *Candida* sp. UICC Y-328 merupakan khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial pada hasil pengujian antagonisme *strip method* dan *co-culture*. Oleh karena itu, *Candida* sp. UICC Y-328 dipilih sebagai khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial dibandingkan *Cr. laurentii* UICC Y-379.

Penelitian ini memberikan informasi mengenai kemampuan antagonistik khamir epifit dari genus *Candida*, *Cryptococcus*, dan *Metschnikowia* asal Kebun Raya Cibodas terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi yang belum pernah dilaporkan sebelumnya. Informasi tersebut diharapkan dapat menambah pengetahuan yang masih terbatas tentang kemampuan antagonistik khamir indigenos Indonesia. Khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial dapat dimanfaatkan sebagai agen biokontrol kapang, pengganti fungisida sintetik. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui potensi khamir epifit sebagai biokontrol kapang dari tanaman tomat terinfeksi.

KESIMPULAN

Pengujian antagonisme menggunakan *strip method* menunjukkan khamir *Candida* sp. UICC Y-328 paling potensial dalam mereduksi lebar koloni kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 (56,45%) sedangkan khamir *M. reukaufii* UICC Y-351 paling potensial dalam mereduksi lebar koloni kapang *Asp. terreus* D2.2.MC (25,42%) dan *Drechslera* sp. D1.3.MC (51,28%).

Pengujian antagonisme menggunakan *co culture* menunjukkan *Candida* sp. UICC Y-328 paling potensial menghambat pembentukan hifa atau miselium dan sporulasi kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 hingga enam hari inkubasi. *Cryptococcus* sp. UICC Y-379 paling potensial menghambat pembentukan hifa atau miselium dan sporulasi kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus* D2.2.MC hingga enam hari inkubasi

Candida sp. UICC Y-328 memiliki kemampuan antagonistik paling potensial dan kapang paling sensitif terhadap *Candida* sp. UICC Y-328 adalah *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.

SARAN

Penambahan selang waktu inkubasi antara khamir dan kapang, perlu dilakukan untuk memberikan kesempatan adaptasi pada medium, perolehan

nutrien, dan perolehan ruang lebih banyak kepada khamir epifit, sehingga kemampuan antagonistik khamir epifit diharapkan dapat lebih optimum.

Penelitian lebih lanjut menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) atau *Transmission Electron Microscopy* (TEM) perlu dilakukan untuk mengamati perubahan morfologi kapang akibat interaksi antagonisme dengan khamir epifit.

Khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial dapat dimanfaatkan sebagai biokontrol kapang pada produk pascapanen. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui potensi *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai biokontrol kapang pada produk pascapanen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada hibah Riset Unggulan Universitas Indonesia tahun 2007 atas nama Ariyanti Oetari Ph.D. yang telah memberikan dukungan dana penelitian.

DAFTAR ACUAN

- Al-Kassim, M.Y. & M.N. Monawar. 2000. Seed-borne fungi of some vegetable seeds in Gazan province and their chemical control. *Saudi J. Biol. Sci.* **7**(2): 179--184.
- Andersen, B. & J.C. Frisvad. 2004. Natural occurrence of fungi and fungal metabolites in moldy tomatoes. *J. Agr. Food Chem.* **52**: 7507--7513.
- Ameriana, M. 1997. Produksi dan konsumsi tomat. *Dalam*: Duriyat, A.S., W.W. Hadisoeganda, A.H. Permadi, R.M. Sinaga, Y. Hilman, R.S. Basuki & S. Sastrosiswojo (Eds.). 1997. *Teknologi produksi tomat*. Balai Penelitian Tanaman Sayuran, Bandung: 9--19.
- Arras, G., P. Nicolussi & C. Ligios. 1999. Non-toxicity of some antifungal yeasts (*Pichia guilliermondii*, *Rhodotorula glutinis* and *Candida oleophila*) in laboratory animals. *Annali di Microbiologia ed Enzimologia* **49**: 125--131.
- Azizmohseni, F., L.A. Hejri & M. Azar. 2007. The potential of yeast, *Pseudozyma fusiformata* strain Y76 to control *Aspergillus flavus* for reducing aflatoxin in Pistachio. Proceedings of the 11th International Conference on Culture Collections: Connections between collections. 7--11 October 2007, Goslar Germany: 66--69.
- Batzing, B.L., 2002. *Microbiology: An introduction*. Brooks/Cole Thomson Learning, Inc., London: xx + 780 hlm.

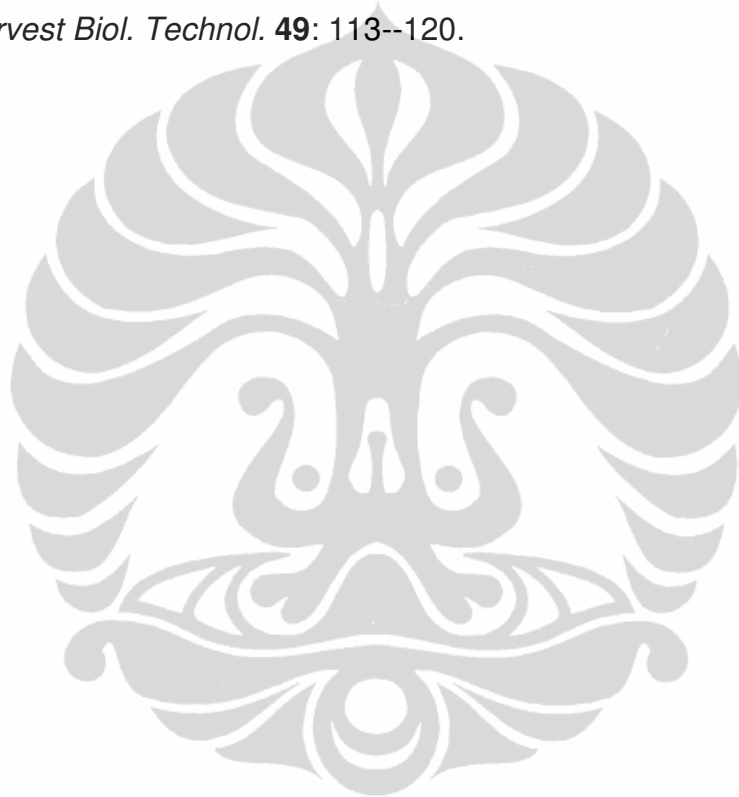
- Chan, Z & S. Tian. 2005. Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action. *Postharvest Biol. Technol.* **36**: 215--223.
- Coelho, A.R., M.G. Celii, E.Y.S. Ono, G. Wosiacki, F.L. Hoffmann, F.C. Pagnocca & E.Y. Hirooka. 2007. *Penicillium expansum* versus antagonist yeast and patulin degradation in vitro. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **50** (4): 725--733.
- Dal Bello. G., C. Monaco, M.C. Rollan, G. Lampugnani, N. Arteta, C. Abramoff, L. Ronco & M. Stocco. 2008. Biocontrol of postharvest grey
- Dik, A.J., G. Koning & J. Kohl. 1999. Evaluation of microbial antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* stem infection in cucumber and tomato. *Eur. J. Plant. Pathol.* **105**: 115--122.
- Druvefors, U.A. 2004. Yeast biocontrol of grain spoilage moulds: mode of action of *Pichia anomala*. Doctoral Thesis, Department of Biology, Swedish University of Agricultural Science, Uppsala: 44 hlm.
- El Ghouth, A., C.L. Wilson & M. Wisniewski. 2002. Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense responses. *Phytopathology* **93**: 344--348.
- Filtborg, O., J.C. Frisvad & R.A. Samson. 2004. Specific association of fungi to foods and influence of physical environmental factors. *Dalam*: Samson, R.A & E.S. Hoekstra (Eds.). 2004. *Introduction to food and airborne fungi*. Centraalbureau voor schimmecultures, Utrecht: 383 hlm.

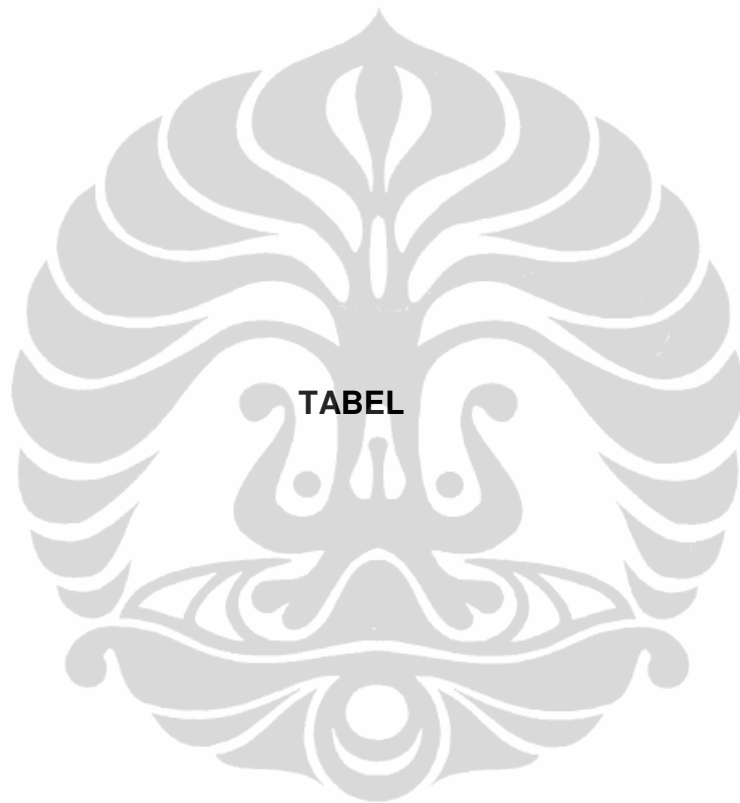
- Fonseca, Á. & J. Inácio. 2006. Phylloplane yeast. *Dalam*: Peter, G. & C. Rosa. 2006. *The yeast handbook: Biodiversity and ecophysiology of yeasts*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: 263--301.
- Gandjar, I. 2006. Pertumbuhan fungi. *Dalam*: Roosheroe, I.G., W. Sjamsuridzal (eds.). 2006. *Mikologi dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: 36--46.
- Gomori, G. 1995. Preparation of buffers for use in the enzyme studies. *Dalam*: Colowick, S.P. & N.O. Kaplan. 1995. *Methods in enzymology*. Academic Press Inc., New York: 138--146.
- Jijakli, M.H. & P. Lepoivre. 1998. Characterization of an exo-b-1,3-glucanase produced by *Pichia anomala* strain K, antagonist of *Botrytis cinerea* on apples. *Phytopathology* **88**(4): 335--343.
- Klich, M.A. 2002. *Identification of common Aspergillus species*. Centraalbureau voor schimmelcultures, Utrecht: v + 115 hlm.
- Lima, G., S. Arru, F. De Curtis & G. Arras. 1999. Influence of antagonist, host fruit and pathogen on the biological control of postharvest fungal diseases by yeasts. *J.I of Ind. Microbiol. Biotechnol.* **23**: 223--229.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko & J. Parker. 2002. *Brock biology of microorganism*. 10th ed. Prentice Hall, London: xxv + 1019 hlm.
- Mari, M. & M. Guizzardi. 1998. The postharvest phase: Emerging technologies for the control of fungal diseases. *Phytoparasitica* **26**(1): 59--66.

- Oetari, A., A. Salamah & W. Sjamsuridzal. 2007. Bioprospek mikosin dari khamir *indigenus* Indonesia (asal Kebun Raya Cibodas) sebagai biokontrol jamur patogen pada tanaman pangan. Laporan akhir riset unggulan universitas indonesia tahun 2007, Depok: xii + 86 hlm.
- Pitt. J. I. & A. D. Hocking. 1985. *Fungi and food spoilage*. Academic Press, Sydney: xi + 413 hlm.
- Saligkarias, I.D., F.T. Gravanis & H.A.S. Epton. 2002. Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato plants by use of epiphytic yeasts *Candida guilliermondii* strains 101 and US 7 and *Candida oleophila* I-182: II a study on mode of action. *Biol. Control* **25** : 151-161.
- Randhawa, H.S., R. S. Sandhu & T. Kowshik. 2002. *In vitro* inhibition of *Aspergillus fumigatus* by *Candida* species, especially *C. albicans* and *C. glabrata*. *Curr. Sci.* **82** (10): 860--865.
- Sipiczki, M. 2006. *Metschnikowia* strains isolated from botrytized grapes antagonize fungal and bacterial growth by iron depletion. *Appl. Env. Microbiol.* **72** (10): 6716--6724.
- Spadaro, D. 2003. Biological control of postharvest diseases of pome fruit using yeast antagonist. Doctoral Thesis, Plant Pathology Sector, University of Turin, Turin: 126 hlm.
- Widyastuti, S. 2008. Physical interactions between yeast *Pichia guilliermondii* and post-harvest fruit pathogen *Penicillium expansum*. *Hayati J. Biosci.* **15** (1): 27--31.

Yarrow, D. 1998. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. *Dalam: Kurtzman, C.P & J.W. Fell (eds.). 1998. The yeast a taxonomic study.* 4th Ed. Elsevier, Amsterdam: 77--100.

Zhao Y., K. Tu, X. Shao, W. Jing & Z. Su. 2008. Effects of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* **49**: 113--120.





Tabel I.1. Khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas koleksi UICC yang digunakan dalam penelitian

No	Kode UICC	Spesies (berdasarkan D1/D2 LSU rDNA)	Asal substrat
1	UICC Y-319	<i>Cryptococcus laurentii</i>	Bunga <i>Lantana camara</i>
2	UICC Y-326	<i>Candida rancensis</i>	Bunga <i>Rhodomyrtus tomentosa</i>
3	UICC Y-328	<i>Candida</i> sp.	Bunga <i>Rhodomyrtus tomentosa</i>
4	UICC Y-351	<i>Metschnikowia reukaufii</i>	Bunga <i>Brunfelsia americana</i>
5	UICC Y-379	<i>Cryptococcus laurentii</i>	Daun <i>Castanopsis acuminatissima</i>
6	UICC Y-385	<i>Cryptococcus</i> sp.	Daun <i>Itea macrophyla</i>

Tabel I.2. Hasil penghitungan menggunakan metode Total Plate Count (TPC) pada jumlah sel khamir epifit umur 48 jam yang ditumbuhkan dalam medium YMA

Spesies khamir epifit	Nilai absor bansi	Jumlah sel (CFU/ml) x10 ⁸			Kisaran
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-319	0,745	1,33	1,3	1,5	1,3--1,5
<i>C. rancensis</i> UICC Y-326	0,802	1,17	0,7	1,7	0,7--1,7
<i>Candida</i> sp. UICC Y-328	0,998	3,25	4,45	2,5	2,5--4,45
<i>M. reukaufii</i> UICC Y-351	0,890	0,79	0,65	2,0	0,65--2,0
<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-379	0,715	0,95	1,35	1,0	0,95--1,35
<i>Cryptococcus</i> sp. UICC Y-385	0,697	0,92	0,95	1,0	0,92--1,0

Tabel I.3. Hasil penghitungan menggunakan metode Total Plate Count (TPC) pada jumlah hifa/spora kapang umur 48 jam yang ditumbuhkan dalam medium PDA

Spesies kapang	Jumlah hifa/spora (CFU/ml)			Kisaran
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
<i>Aspergillus ochraceus</i> D1.22.SS.M3	-	$7,0 \times 10^7$	$8,1 \times 10^7$	$(7,0--8,1) \times 10^7$
<i>Aspergillus terreus</i> D2.2.MC	-	$7,7 \times 10^7$	$8,5 \times 10^7$	$(7,7--8,5) \times 10^7$
<i>Drechslera</i> sp. D1.3.MC	$0,45 \times 10^5$	$0,45 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$(0,45--3,5) \times 10^5$

Tabel I.4 Hasil penghitungan menggunakan metode Total Plate Count (TPC) pada jumlah hifa/spora kapang umur 72 jam yang ditumbuhkan dalam medium PDA

Spesies kapang	Jumlah hifa/spora (CFU/ml)			Kisaran
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
<i>Aspergillus ochraceus</i> D1.22.SS.M3	-	$6,0 \times 10^7$	$8,6 \times 10^7$	$(6--8,6) \times 10^7$
<i>Aspergillus terreus</i> D2.2.MC	-	$4,6 \times 10^7$	$9,5 \times 10^7$	$(4,6--9,5) \times 10^7$

Tabel I.5 Persentase reduksi lebar koloni kapang genus *Aspergillus* oleh khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas

Spesies khamir epifit	Hari ke-	Reduksi lebar koloni <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 (%)	Keterangan sporulasi		Hari ke-	Reduksi lebar koloni <i>Asp. terreus</i> D2.2MC (%)	Keterangan sporulasi	
			Kontrol	Perlakuan			Kontrol	Perlakuan
<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-319	1	0			1	0		
	2	46,85	+	+	2	31,28	+	+
	3	66,62	+	+	3	58,84	+	+
	4	40,18	+	+	4	25,72	+	+
	5	28,26	+	+	5	11,02	+	+
	6	23,86	+	+	6	4,88	+	+
<i>C. rancensis</i> UICC Y-326	1	0			1	0		
	2	42,49	+	+	2	20,76	+	-
	3	67,55	+	+	3	57,12	+	-
	4	74,57	+	+	4	72,38	+	+
	5	40,22	+	+	5	28,25	+	+
	6	27,67	+	+	6	18,07	+	+
<i>Candida</i> sp. UICCY-328	1	0			1	0		
	2	57,51	+	+	2	43,11	+	+
	3	61,20	+	+	3	56,03	+	+
	4	61,37	+	+	4	57,26	+	+
	5	60,01	+	+	5	26,10	+	+
	6	56,45	+	+	6	24,73	+	+

Tabel I.5 (lanjutan)

Strain khamir epifit	Hari ke-	Reduksi lebar koloni <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 (%)		Keterangan sporulasi		Hari ke-	Reduksi lebar koloni <i>Asp. terreus</i> D2.2.MC (%)		Keterangan sporulasi	
		Kontrol	Perlakuan	Kontrol	Perlakuan		Kontrol	Perlakuan		
<i>M. reukaufii</i> UICC Y-351	1	0				1	0			
	2	55,08	+	+		2	60,87	+	-	
	3	72,02	+	+		3	53,23	+	+	
	4	64,50	+	+		4	56,55	+	+	
	5	59,91	+	+		5	38,08	+	+	
	6	44,01	+	+		6	25,42	+	+	
<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-379	1	0				1	0			
	2	56,00	+	+		2	34,93	+	-	
	3	62,99	+	+		3	60,93	+	-	
	4	13,87	+	+		4	10,90	+	+	
	5	27,33	+	+		5	9,01	+	+	
	6	24,19	+	+		6	10,96	+	+	
<i>Cryptococcus</i> sp. UICC Y-385	1	0				1	0			
	2	45,16	+	+		2	29,75	+	+	
	3	73,24	+	+		3	59,87	+	+	
	4	71,20	+	+		4	62,34	+	+	
	5	37,54	+	+		5	27,31	+	+	
	6	29,25	+	+		6	16,92	+	+	

Keterangan :

Tanda (+) menunjukkan koloni kapang sudah bersporulasi

Tanda (-) menunjukkan koloni kapang belum bersporulasi

Tabel I.6 Persentase reduksi lebar koloni kapang *Drechslera* sp. D1.3.MC oleh khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas

Spesies khamir epifit	Hari ke-	Reduksi lebar koloni	Keterangan sporulasi		Spesies khamir epifit	Hari ke-	Reduksi lebar koloni	Keterangan sporulasi	
		<i>Drechslera</i> sp. D1.3.MC (%)	Kontrol	Perlakuan			<i>Drechslera</i> sp. D1.3.MC (%)	Kontrol	Perlakuan
<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-319	1	0			<i>M. reukaufii</i> UICC Y-351	1	0		
	2	47,81	+	-		2	55,98	+	-
	3	60,48	+	-		3	61,40	+	-
	4	72,93	+	+		4	72,87	+	-
	5	26,26	+	+		5	64,84	+	+
	6	36,06	+	+		6	51,28	+	+
<i>C. rancensis</i> UICC Y-326	1	0			<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-379	1	0		
	2	34,14	+	-		2	36,41	+	-
	3	55,62	+	-		3	63,25	+	-
	4	39,18	+	-		4	72,91	+	+
	5	2,75	+	+		5	7,48	+	+
	6	19,61	+	+		6	12,52	+	+
<i>Candida</i> sp. UICC Y-328	1	0			<i>Cryptococcus</i> sp. UICC Y-385	1	0		
	2	47,51	+	-		2	45,14	+	-
	3	65,39	+	+		3	26,06	+	-
	4	45,40	+	+		4	0,13	+	+
	5	4,43	+	+		5	-17,71	+	+
	6	7,36	+	+		6	-4,46	+	+

Keterangan :

Tanda (+) menunjukkan koloni kapang sudah bersporulasi

Tanda (-) menunjukkan koloni kapang belum bersporulasi

Tabel I.7 Pengamatan pertumbuhan koloni khamir epifit pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian *co-culture*

Pengamatan	<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-319 pada kontrol hari ke-						<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-319 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-319 vs <i>Asp. terreus</i> D2.2.MC hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Endapan biomassa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna Endapan	Krem						Krem						Krem					
Pembentukan pelikel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
	<i>C. rancensis</i> UICC Y-326 pada kontrol hari ke-						<i>C. rancensis</i> UICC Y-326 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						<i>C. rancensis</i> UICC Y-326 vs <i>Asp. terreus</i> D2.2.MC hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Endapan biomassa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	Krem						Krem						Krem					
Pembentukan pelikel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Tabel I.7 (lanjutan)

Pengamatan	<i>Candida</i> sp. UICC Y-328 pada kontrol hari ke-						<i>Candida</i> sp. UICC Y-328 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						<i>Candida</i> sp. UICC Y-328 vs <i>Asp. terreus</i> D2.2.MC hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Endapan biomassa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	Putih						Putih						Putih					
Pembentukan pelikel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
	<i>M. reukaufii</i> UICC Y-351 hari ke-						<i>M. reukaufii</i> UICC Y-351 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						<i>M. reukaufii</i> UICC Y-351 vs <i>Asp. terreus</i> D2.2.MC hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Endapan biomassa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	Krem kecokelatan						Krem kecokelatan						Krem kecokelatan					
Pembentukan pelikel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Tabel I.7 (lanjutan)

Pengamatan	<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-379 pada kontrol hari ke-						<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-379 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-379 vs <i>Asp. terreus</i> D2.2.MC hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Endapan biomassa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	Krem						Krem						Krem					
Pembentukan pelikel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
	<i>Cryptococcus</i> sp. UICC Y-385 pada kontrol hari ke-						<i>Cryptococcus</i> sp. UICC Y-385 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						<i>Cryptococcus</i> sp. UICC Y-385 vs <i>Asp. terreus</i> D2.2.MC hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Endapan biomassa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	Krem						Krem						Krem					
Pembentukan pelikel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Keterangan :

Tanda (+) : ada endapan biomassa khamir/ pelikel Tanda (-) : tidak ada endapan biomassa khamir/pelikel

Tabel I.8 Morfologi sel khamir epifit pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian *co- culture*Medium : *Potato Dextrose Broth* (PDB) pH 5,0

Kontrol Perlakuan	Tipe pertunasan, hari ke-		Bentuk sel, hari ke-		Susunan Sel, hari ke-	
	2	3	2	3	2	3
Kontrol UICC Y-319	Monopolar	Monopolar	Bulat hingga bulat telur	Bulat hingga bulat telur	Tunggal, berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan, rantai pendek
UICC Y-319 vs D1.22.SS.M3	Monopolar	Monopolar	Bulat hingga bulat telur	Bulat hingga bulat telur	Tunggal, berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan, rantai pendek
UICC Y-319 vs D2.2MC	Monopolar	Monopolar	Bulat hingga bulat telur	Bulat hingga bulat telur	Tunggal, berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan, rantai pendek
Kontrol UICC Y-326	Multilateral	Multilateral	Bulat, bulat telur hingga elips	Bulat, bulat telur hingga elips	Tunggal, berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan, rantai pendek
UICC Y-326 vs D1.22.SS.M3	Multilateral	Multilateral	Bulat, bulat telur hingga elips	Bulat, bulat telur hingga elips	Tunggal, berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan, rantai pendek
UICC Y-326 vs D2.2MC	Multilateral	Multilateral	Bulat, bulat telur hingga elips	Bulat, bulat telur hingga elips	Tunggal, berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan, rantai pendek
Kontrol UICC Y-328	Multilateral	Multilateral	Bulat hingga bulat telur	Bulat hingga bulat telur	Tunggal, berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan, rantai pendek
UICC Y-328 vs D1.22.SS.M3	Multilateral	Multilateral	Bulat hingga bulat telur	Bulat hingga bulat telur	Tunggal, berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan, rantai pendek
UICC Y-328 vs D2.2MC	Multilateral	Multilateral	Bulat hingga bulat telur	Bulat hingga bulat telur	Tunggal, berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan, rantai pendek

Tabel I.8 (lanjutan)

Kontrol	Tipe pertunasan, hari ke-		Bentuk sel, hari ke-		Susunan Sel, hari ke-	
	2	3	2	3	2	3
Kontrol UICC Y-351	Multilateral	Multilateral	Bulat telur,elips hingga silindris	Bulat telur,elips hingga silindris	Tunggal, berpasangan,rantai pendek	Tunggal, berpasangan,rantai pendek
UICC Y-351 vs D1.22.SS.M3	Multilateral	Multilateral	Bulat telur,elips hingga silindris	Bulat telur,elips hingga silindris	Tunggal,berpasangan, rantai pendek	Tunggal, berpasangan,rantai pendek
UICC Y-351 vs D2.2MC	Multilateral	Multilateral	Bulat telur,elips hingga silindris	Bulat telur,elips hingga silindris	Tunggal, berpasangan,rantai pendek	Tunggal, berpasangan,rantai pendek
UICC Y-379 vs D1.22.SS.M3	Multilateral	Multilateral	Bulat, bulat telur hingga elips	Bulat, bulat telur hingga elips	Tunggal, berpasangan,rantai pendek	Tunggal, berpasangan,rantai pendek
UICC Y-379 vs D2.2MC	Multilateral	Multilateral	Bulat, bulat telur hingga elips	Bulat, bulat telur hingga elips	Tunggal, berpasangan,rantai pendek	Tunggal, berpasangan,rantai pendek
Kontrol UICC Y-385	Multilateral	Multilateral	Bulat,bulat telur hingga elips	Bulat, bulat telur hingga elips	Tunggal, berpasangan,rantai pendek	Tunggal, berpasangan,rantai pendek
UICC Y-385 vs D1.22.SS.M3	Multilateral	Multilateral	Bulat, bulat telur hingga elips	Bulat, bulat telur hingga elips	Tunggal, berpasangan,rantai pendek	Tunggal, berpasangan,rantai pendek
UICC Y-385 vs D2.2MC	Multilateral	Multilateral	Bulat, bulat telur hingga elips	Bulat, bulat telur hingga elips	Tunggal, berpasangan,rantai pendek	Tunggal, berpasangan,rantai pendek

Tabel I.9 Ukuran sel vegetatif khamir-khamir epifit pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian *co-culture*

Medium : PDB pH 5,0

Kontrol	Perlakuan	kisaran ukuran sel vegetatif khamir pada hari ke- 2 (μm)		kisaran ukuran lebar (μm)sel vegetatif khamir pada hari ke-	
		Panjang	Lebar	Panjang	Lebar
Kontrol <i>Cr. laurentii</i> UICC Y-319		(0,78--1,09)	(0,72--1,06)	(0,76--1,12)	(0,73--0,95)
<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-319 vs <i>A. ochraceus</i> D122SSM3		(0,73--0,95)	(0,64--0,90)	(0,70--1,02)	(0,64--0,87)
<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-319 vs <i>A. terreus</i> D2.2.MC		(0,59--0,91)	(0,58--0,86)	(0,70--0,98)	(0,63--0,85)
Kontrol <i>C. rancensis</i> UICC Y-326		(0,79--1,15)	(0,65--1,15)	(0,77--1,26)	(0,63--1,22)
<i>C. rancensis</i> UICC Y-326 vs <i>A. ochraceus</i> D1.22.SS.M3		(0,63--1,23)	(0,61--1,18)	(0,69--1,04)	(0,63--0,98)
<i>C. rancensis</i> UICC Y-326 vs <i>A. terreus</i> D2.2MC		(0,69--1,04)	(0,64--0,96)	(0,72--1,49)	(0,65--1,22)
Kontrol <i>Candida</i> sp.UICC Y-328		(0,71--1,35)	(0,65--1,26)	(0,7--1,09)	(0,64--0,96)
<i>Candida</i> sp.UICC Y-328 vs <i>A. ochraceus</i> D1.22.SS.M3		(0,64--1,35)	(0,58--1,13)	(0,61--1,04)	(0,53--1,04)
<i>Candida</i> sp. UICC Y-328 vs <i>A. terreus</i> D2.2MC		(0,57--1,04)	(0,50--0,93)	(0,64--0,96)	(0,57--0,86)
Kontrol <i>M. reukaufii</i> UICC Y-351		(1,21--2,09)	(0,53--1,31)	(1,17--1,70)	(0,54--1,08)
<i>M. reukaufii</i> UICC Y-351 vs <i>A. ochraceus</i> D1.22.SS.M3		(1,12--1,96)	(0,57--1,09)	(0,80--1,90)	(0,58--1,33)
<i>M. reukaufii</i> UICC Y-351 vs <i>A. terreus</i> D2.2MC		(1,00--1,92)	(0,43--1,03)	(1,05--1,98)	(0,51--1,02)
Kontrol <i>Cr. laurentii</i> UICC Y-379		(0,79--1,29)	(0,65--1,05)	(0,80--1,31)	(0,64--1,15)
<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-379 vs <i>A. ochraceus</i> D1.22.SS.M3		(0,77--1,21)	(0,68--1,09)	(0,77--1,60)	(0,59--1,37)
<i>Cr. laurentii</i> UICC Y-379 vs <i>A. terreus</i> D2.2MC		(0,84--1,26)	(0,61--1,08)	(0,88--1,34)	(0,71--1,02)
Kontrol <i>Cryptococcus</i> sp. UICC Y-385		(0,77--1,40)	(0,65--0,96)	(0,71--1,19)	(0,61--0,99)
<i>Cryptococcus</i> sp. UICC Y-385 vs <i>A. ochraceus</i> D122SSM3		(0,61--1,12)	(0,59--1,03)	(0,71--1,13)	(0,59--0,99)
<i>Cryptococcus</i> sp. UICC Y-385 vs <i>A. terreus</i> D2.2MC		(0,72--1,27)	(0,63--0,91)	(0,72--1,12)	(0,60--0,89)

Tabel I.10 Pengamatan pertumbuhan koloni kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian *co-culture*

Medium : PDB pH 5,0																			
Pengamatan	<i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 pada kontrol hari ke-						UICC Y-319 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						UICC Y-326 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
Pertumbuhan hifa/miselium	-	+	++	++	++	++	-	-	+	++	++	++	-	-	-	+	+	+++	
Sporulasi	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	
Warna koloni Kapang	Kuning kecokelatan						Kuning kecokelatan						Belum ada pertumbuhan koloni		Putih	Cokelat muda			
pH medium	5,0	5,0	5,3	5,3	5,3	5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	

Keterangan :

UICC Y-319 : *Cryptococcus laurentii*

UICC Y-326 : *Candida rancensis*

Tanda (+) : ada pertumbuhan hifa atau miselium/terjadi sporulasi

Tanda (-) : tidak ada pertumbuhan hifa atau miselium/tidak terjadi sporulasi

Tabel I.10 (lanjutan)

Pengamatan	<i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 pada kontrol hari ke-						UICC Y-328 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						UICC Y-351 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Pertumbuhan hifa/miselium	-	+	++	++ +	++ ++	++ ++ +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++
Sporulasi	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Warna koloni kapang	Kuning kecokelatan						Tidak terlihat ada pertumbuhan koloni						Belum ada pertumbuhan koloni		Putih	Kuning kecokelatan		
pH medium	5,0	5,0	5,3	5,3	5,3	5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

Keterangan :UICC Y-328 : *Candida* sp.UICC Y-351 : *Metschnikowia reukaufii*

Tanda (+) : ada pertumbuhan hifa atau miselium/terjadi sporulasi

Tanda (-) : tidak ada pertumbuhan hifa atau miselium/tidak terjadi sporulasi

Tabel I.10 (lanjutan)

Pengamatan	<i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 pada kontrol hari ke-						UICC Y-379 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-						UICC Y-385 vs <i>Asp. ochraceus</i> D1.22.SS.M3 hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Pertumbuhan hifa/miselium	-	+	++	++ +	++ ++	++ +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++ +	++++
Sporulasi	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Warna koloni kapang	Kuning kecokelatan						Tidak terlihat ada pertumbuhan koloni kapang						Belum ada pertumbuhan koloni		Putih		Kuning kecokelatan	
pH medium	5,0	5,0	5,3	5,3	5,3	5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

Keterangan :UICC Y-379 : *Cryptococcus laurentii*UICC Y-385 : *Cryptococcus* sp.

Tanda (+) : ada pertumbuhan hifa atau miselium/terjadi sporulasi

Tanda (-) : tidak ada pertumbuhan hifa atau miselium/tidak terjadi sporulasi

Tabel I.11 Pengamatan pertumbuhan koloni kapang *Asp. terreus* D2.2MC pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian *co-culture*

Medium : *Potato Dextrose Broth* (PDB)

Pengamatan	<i>Asp. terreus</i> D2.2.MC pada kontrol hari ke-						UICC Y-319 vs <i>Asp. terreus</i> D2.2.MC hari ke-						UICC Y-326 vs <i>Asp. terreus</i> D2.2.MC hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Pertumbuhan hifa/miselium	-	+	++	++	++	++	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	-	++++
Sporulasi	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni kapang	Cokelat tua						Belum ada pertumbuhan koloni kapang						Putih					
pH medium	5,0	5,0	5,3	5,3	5,3	5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

Keterangan :

UICC Y-319 : *Cryptococcus laurentii*

UICC Y-326 : *Candida rancensis*

Tanda (+) : ada pertumbuhan hifa atau miselium/terjadi sporulasi

Tanda (-) : tidak ada pertumbuhan hifa atau miselium/tidak terjadi sporulasi

Tabel I.11 (lanjutan)

Pengamatan	<i>Asp. terreus</i> D22.MC pada kontrol hari ke-						UICC Y-328 vs <i>Asp. terreus</i> D22.MC hari ke-						UICC Y-351 vs <i>Asp. terreus</i> D22.MC hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Pertumbuhan hifa/miselium	-	+	++	++	++	+++	-	-	-	-	-	++	-	-	++	++	++	++
Sporulasi	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Warna koloni kapang	Cokelat tua						Belum ada pertumbuhan koloni						Putih					
							Belum ada pertumbuhan koloni						Cokelat tua					
pH medium	5,0	5,0	5,3	5,3	5,3	5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

Keterangan :UICC Y-328 : *Candida* sp.UICC Y-351 : *Metschnikowia reukaufii*

Tanda (+) : ada pertumbuhan hifa atau miselium/terjadi sporulasi

Tanda (-) : tidak ada pertumbuhan hifa atau miselium/tidak terjadi sporulasi

Tabel I.11 (lanjutan)

Pengamatan	Koloni <i>Asp. terreus</i> D22.MC pada kontrol, hari ke-						UICC Y-379 vs <i>Asp. terreus</i> D22.MC hari ke-						UICC Y-385 vs <i>Asp. terreus</i> D22.MC hari ke-					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Pertumbuhan hifa/miselium	-	+	++	++	++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++
Sporulasi	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Warna koloni kapang	Cokelat tua						Tidak terlihat ada pertumbuhan koloni kapang						Belum ada pertumbuhan koloni		Putih		Cokelat muda	
pH medium	5,0	5,0	5,3	5,3	5,3	5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0

Keterangan :UICC Y-379 : *Cryptococcus laurentii*UICC Y-351 : *Cryptococcus* sp.

Tanda (+) : ada pertumbuhan hifa atau miselium/terjadi sporulasi

Tanda (-) : tidak ada pertumbuhan hifa atau miselium/tidak terjadi sporulasi

Tabel I.12 Reduksi ukuran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 oleh khamir epifit pada pengujian *co-culture*

Nama Perlakuan	Hari Ke-	Ø kepala konidia (µm)		Persen-tase reduksi (%)	lebar konidiofor (µm)		Persen-tase reduksi (%)
		Kontrol	Perlakuan		Kontrol	Perlakuan	
UICC Y-319 vs D122SSM3	2	11,08	10,13	8,57	1,81	1,95	-7,73
	3	10,32	9,92	3,88	1,72	1,55	9,88
UICC Y-326 vs D122SSM3	2	11,08	10,16	8,30	1,81	1,65	8,84
	3	10,32	10,94	-6,01	1,72	1,88	-9,30
UICC Y-328 vs D122SSM3	2	11,08	10,64	3,97	1,81	1,66	8,29
	3	10,32	9,75	5,52	1,72	1,61	6,40
UICC Y-351 vs D122SSM3	2	11,08	8,94	19,31	1,81	1,80	0,55
	3	10,32	9,89	4,17	1,72	1,61	6,40
UICC Y-379 vs D122SSM3	2	11,08	9,41	15,07	1,81	1,60	11,60
	3	10,32	9,28	10,08	1,72	1,57	8,72
UICC Y-385 vs D122SSM3	2	11,08	9,35	15,61	1,81	1,65	8,84
	3	10,32	10,13	8,57	1,81	1,95	-7,73

Keterangan :

UICC Y-319 : *Cryptococcus laurentii*
 UICC Y-326 : *Candida rancensis*
 UICC Y-328 : *Candida* sp.
 UICC Y-351 : *Metschnikowia reukaufii*
 UICC Y-379 : *Cryptococcus laurentii*
 UICC Y-385 : *Cryptococcus* sp.

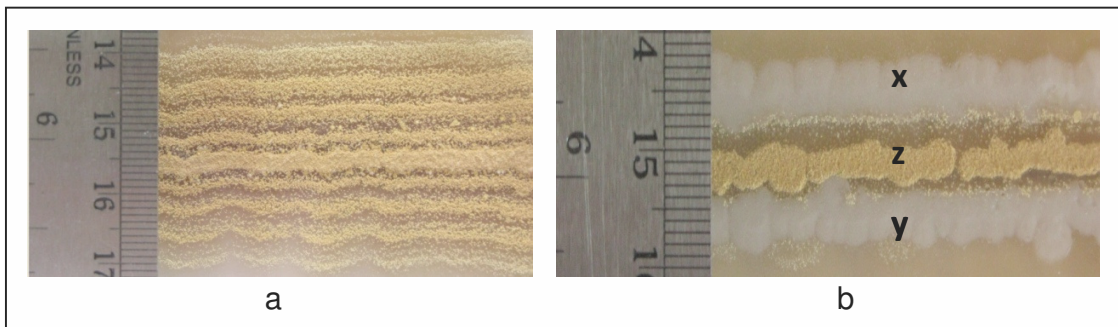
Tabel I.13 Reduksi ukuran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC oleh khamir epifit pada pengujian *co-culture*

Perlakuan	Hari Ke-	Ø kepala konidia (µm)		Persentase reduksi (%)	lebar konidiofor (µm)		Persentase reduksi (%)
		Kontrol	Perlakuan		Kontrol	Perlakuan	
UICC Y-319 vs D2.2MC	2	10,23	10,38	-1,47	1,96	1,59	18,88
	3	10,28	11,25	-9,44	1,88	1,81	3,72
UICC Y-326 vs D2.2MC	2	10,23	10,42	-1,86	1,96	1,83	6,63
	3	10,28	10,95	-6,52	1,88	1,87	0,53
UICC Y-328 vs D2.2MC	2	10,23	10,06	1,66	1,96	1,75	10,71
	3	10,28	10,19	0,88	1,88	1,76	6,38
UICC Y-351 vs D2.2MC	2	10,23	10,08	1,47	1,96	1,79	8,67
	3	10,28	10,03	2,43	1,88	1,82	3,19
UICC Y-379 vs D2.2MC	2	10,23	10,04	1,86	1,96	1,52	22,45
	3	10,28	9,01	12,35	1,88	1,42	24,47
UICC Y-385 vs D2.2MC	2	10,23	9,91	3,13	1,96	1,55	20,92
	3	10,28	9,89	3,79	1,88	1,60	14,89

Keterangan :

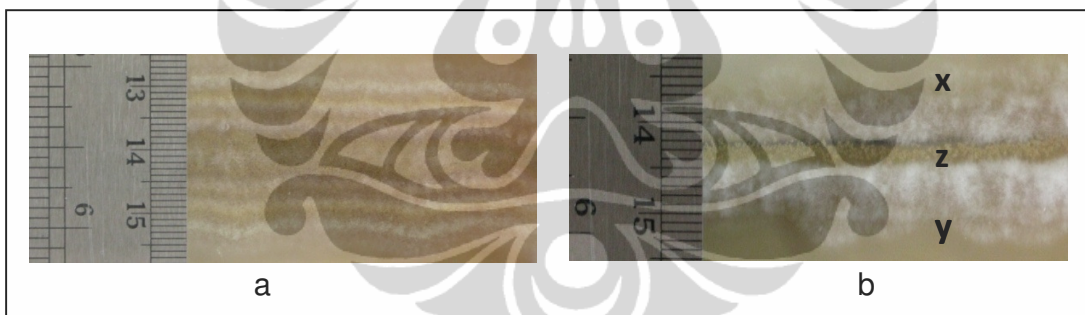
- UICC Y-319 : *Cryptococcus laurentii*
 UICC Y-326 : *Candida rancensis*
 UICC Y-328 : *Candida* sp.
 UICC Y-351 : *Metschnikowia reukaufii*
 UICC Y-379 : *Cryptococcus laurentii*
 UICC Y-385 : *Cryptococcus* sp.





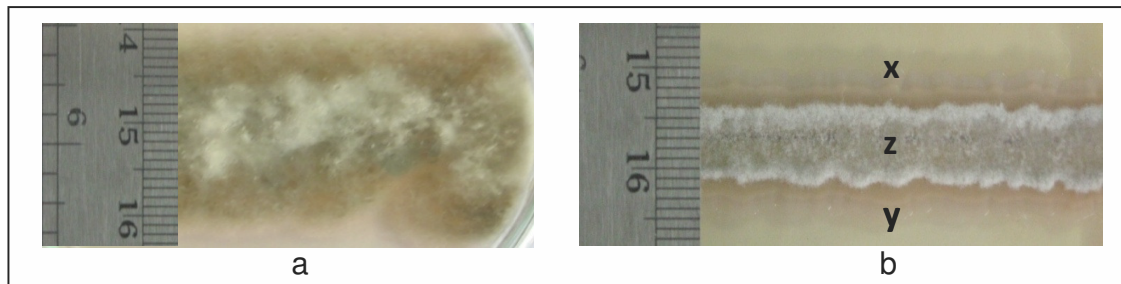
Gambar I.1 Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 menghambat pertumbuhan koloni kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada pengujian *strip method*

- Keterangan :** a. Kontrol *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 setelah inkubasi selama 6 hari pada medium PDA
 b. Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 dan *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 setelah inkubasi selama 6 hari pada medium PDA
 x -y. Garis inokulasi khamir *Candida* sp. UICC Y-328
 z. Garis inokulasi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3



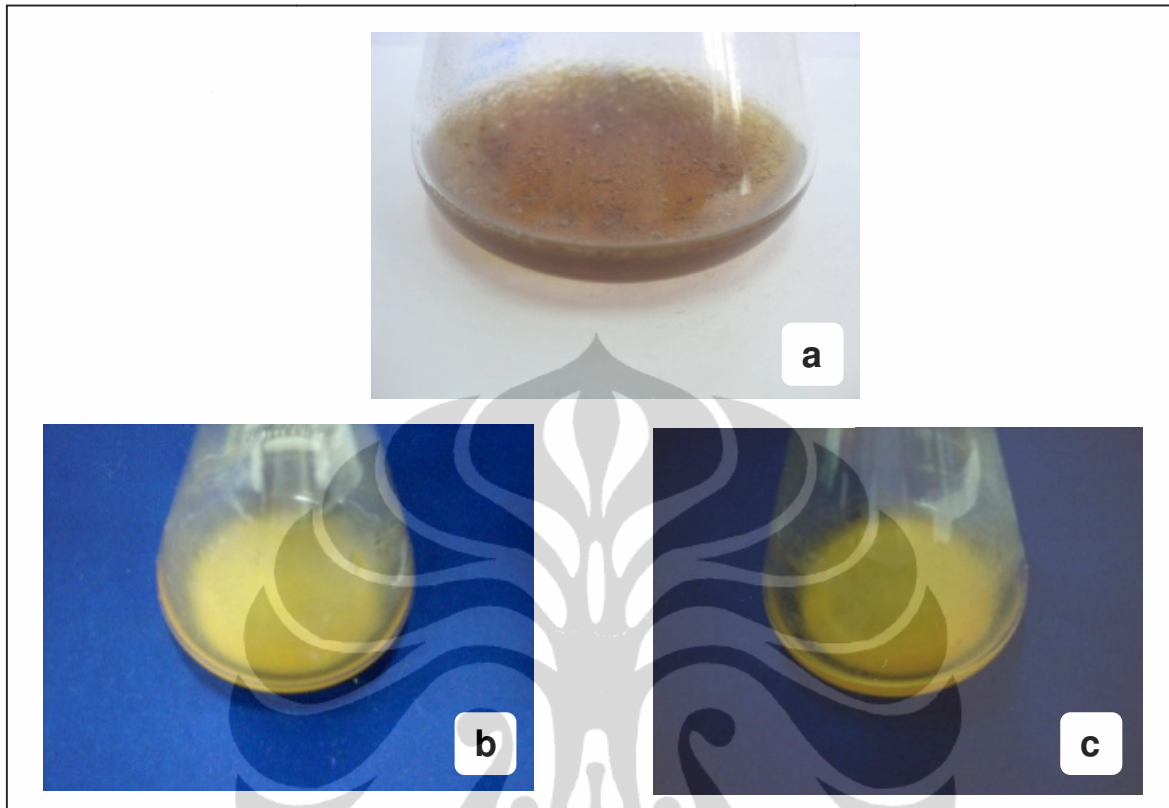
Gambar I.2 Khamir *M. reukaufii* UICC Y-351 menghambat pertumbuhan koloni kapang *Asp. terreus* D2.2.MC pada pengujian *strip method*

- Keterangan :** a. Kontrol *Asp. terreus* D2.2.MC setelah inkubasi selama 6 hari pada medium PDA
 b. Khamir *M. reukaufii* UICC Y-351 dan *Asp. terreus* D2.2.MC setelah inkubasi selama 6 hari pada medium PDA
 x -y. Garis inokulasi khamir *M. reukaufii* UICC Y-351
 z. Garis inokulasi *Asp. terreus* D2.2.MC



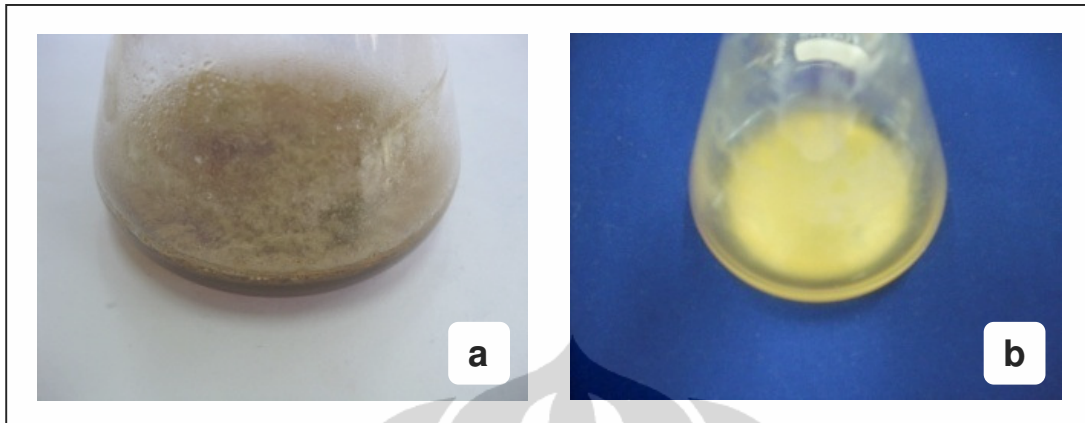
Gambar I.3 Khamir *M. reukaufii* UICC Y-351 menghambat pertumbuhan koloni kapang *Drechslera* sp. D1.3MC pada pengujian *strip method*

- Keterangan :**
- a. Kontrol *Drechslera* sp. D1.3MC setelah inkubasi selama 6 hari pada medium PDA
 - b. Khamir *M. reukaufii* UICC Y-351 dan *Drechslera* sp. D1.3MC setelah inkubasi selama 6 hari pada medium PDA
 - x -y. Garis inokulasi khamir *M. reukaufii* UICC Y-351
 - z. Garis inokulasi *Drechslera* sp. D1.3MC



Gambar I.4 Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 dan *Cr. laurentii* UICC Y-379 menghambat pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada pengujian *co-culture*

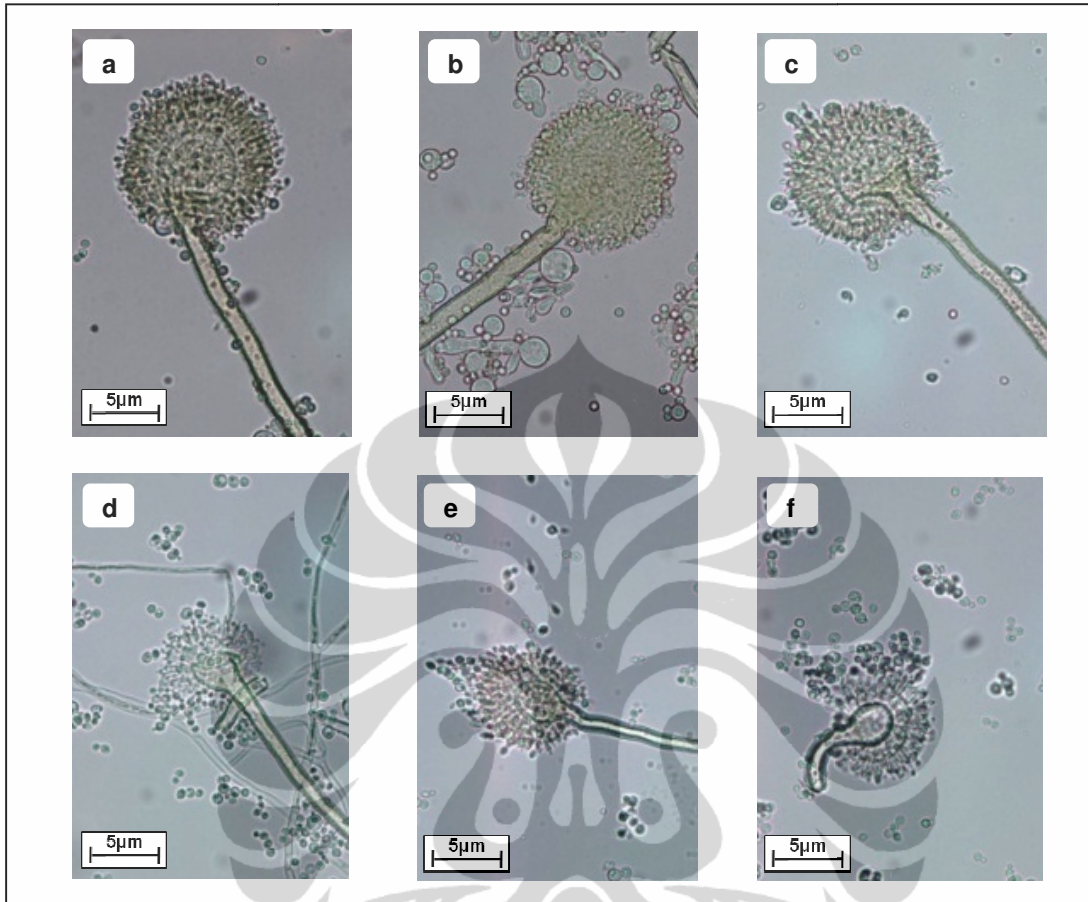
- Keterangan :**
- a. Kontrol *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 setelah inkubasi selama enam hari di dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 30⁰ C dalam keadaan fermentasi diam.
 - b. *Candida* sp. UICC Y-328 dan *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada hari ke enam inkubasi dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 30⁰ C dalam keadaan fermentasi diam.
 - c. *Cryptococcus laurentii* UICC Y-379 dan *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada hari ke enam inkubasi di dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 30⁰ C dalam keadaan fermentasi diam.



Gambar 1.5 Khamir *Cr. laurentii* UICC Y-379 menghambat pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi kapang *Asp. terreus* D2.2.MC pada pengujian *co-culture*

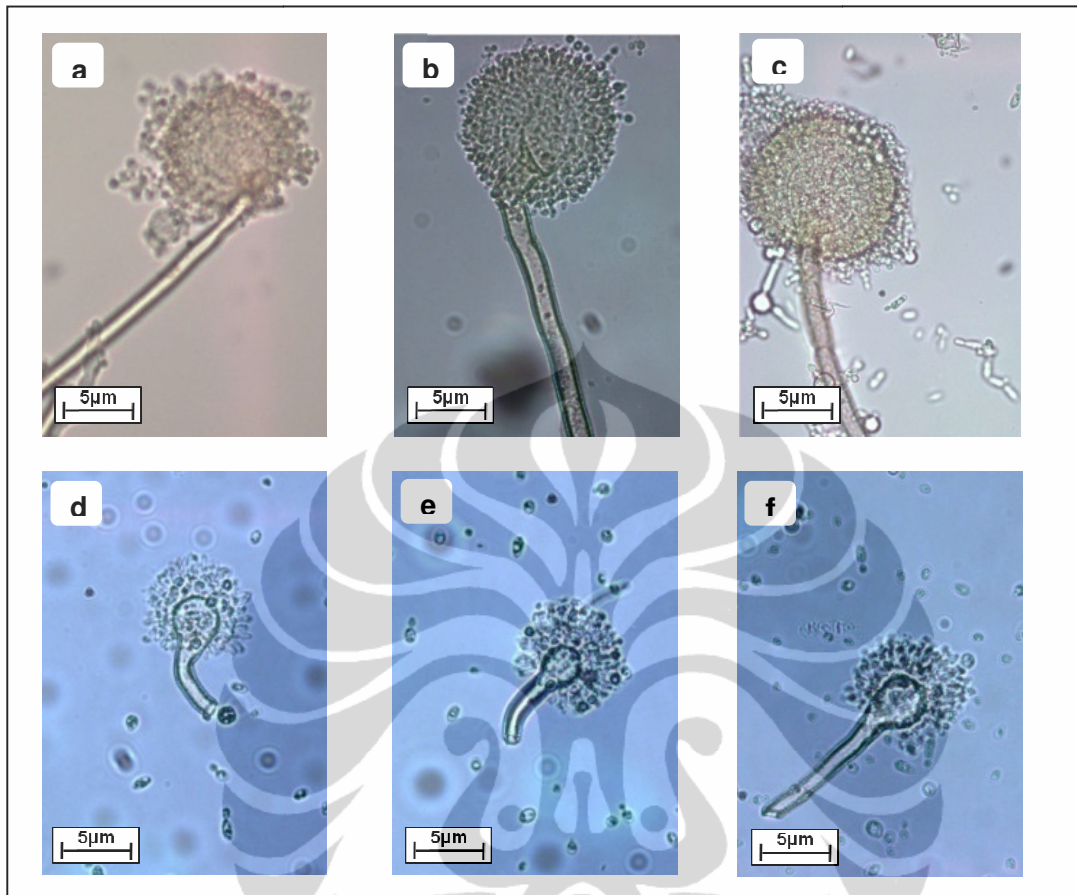
Keterangan : a. Kontrol *Asp. terreus* D2.2.MC setelah inkubasi selama enam hari di dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 30⁰ C dalam keadaan fermentasi diam.

b. *Cryptococcus laurentii* UICC Y-379 dan *Asp. terreus* D2.2.MC pada hari ke enam inkubasi dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 30⁰ C dalam keadaan fermentasi diam.



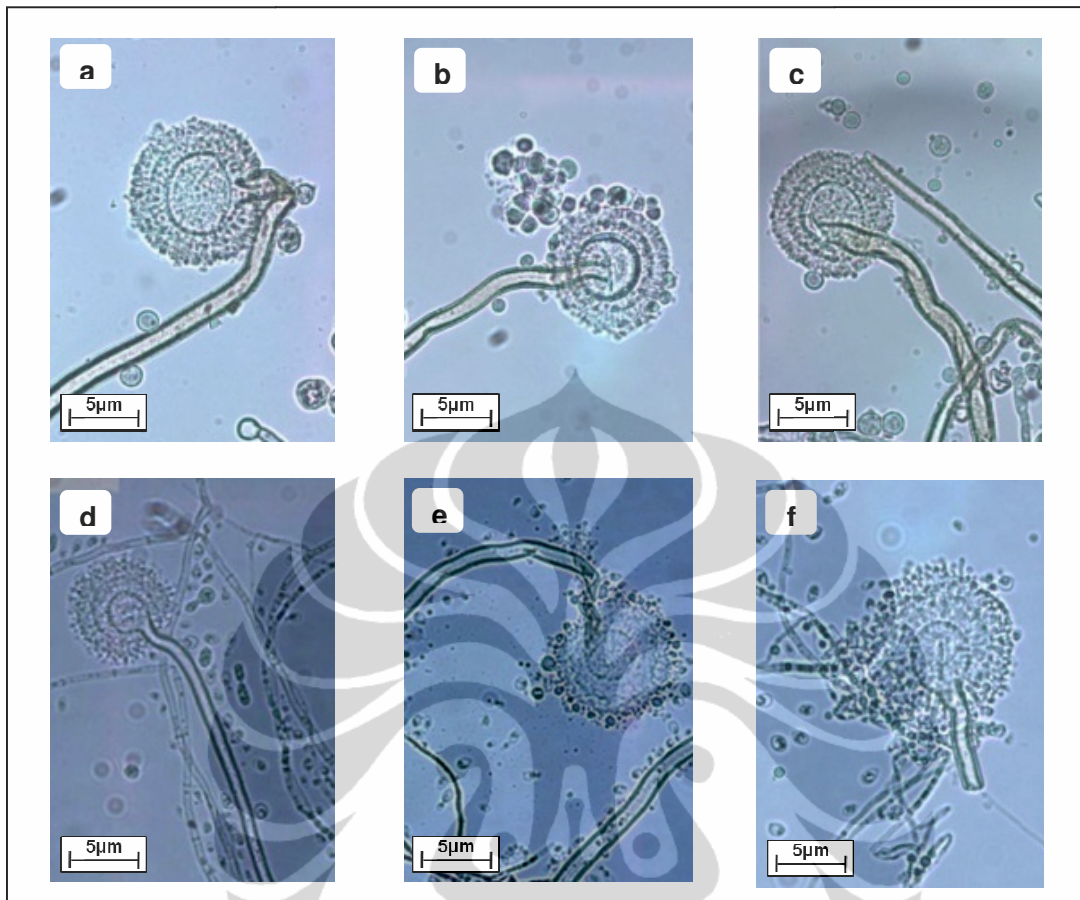
Gambar I.6 Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 mereduksi ukuran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 tanpa mengakibatkan perubahan morfologi kepala konidia pada pengujian *co-culture* (perbesaran 400x)

Keterangan : a--c Morfologi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada kontrol dalam medium PDB pH 5,0.
 d--f Morfologi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 setelah ditumbuhkan bersama *Candida* sp. UICC Y-328 dalam medium PDB pH 5,0.



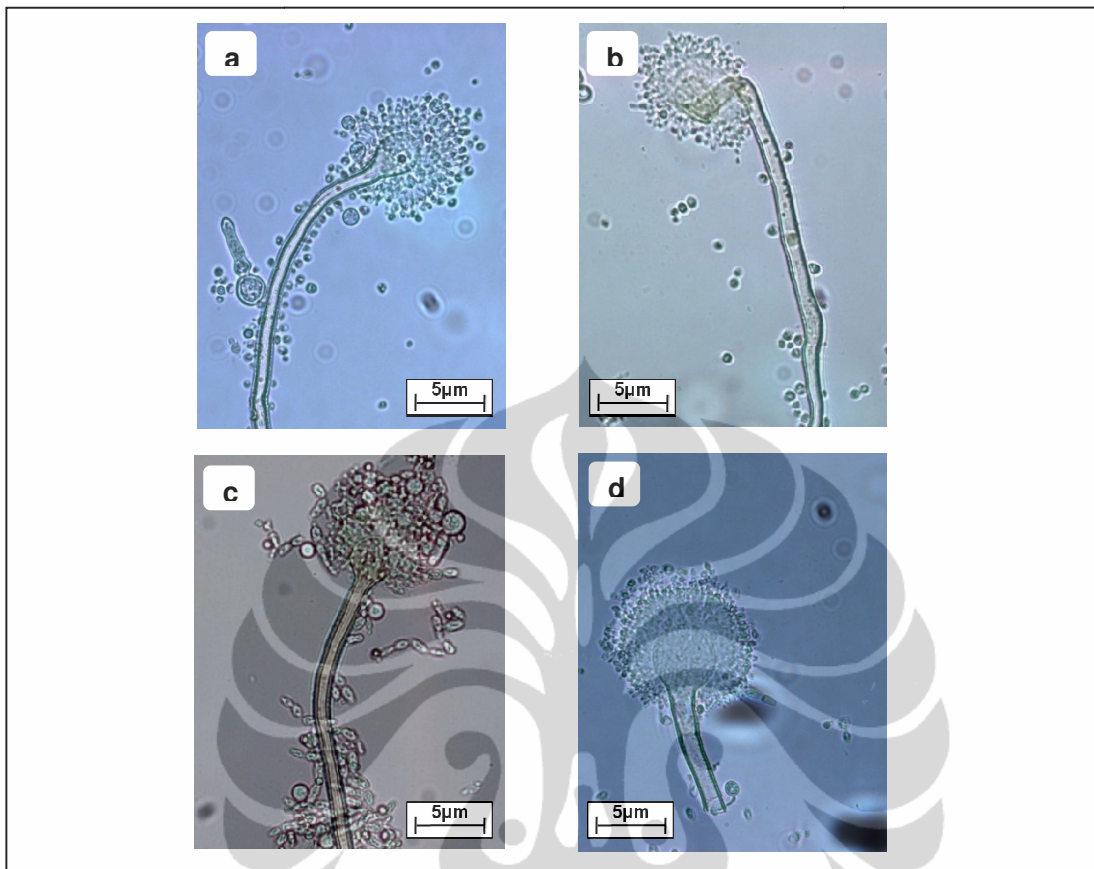
Gambar 1.7 Khamir *Cr. laurentii* UICC Y-379 mereduksi ukuran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor sekaligus mengakibatkan perubahan morfologi kepala konidia *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada pengujian *co-culture* (perbesaran 400x)

Keterangan : a--c Morfologi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada kontrol dalam medium PDB pH 5,0.
 d--f Morfologi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 setelah ditumbuhkan bersama *Cr. laurentii* UICC Y-379 dalam medium PDB pH 5,0.



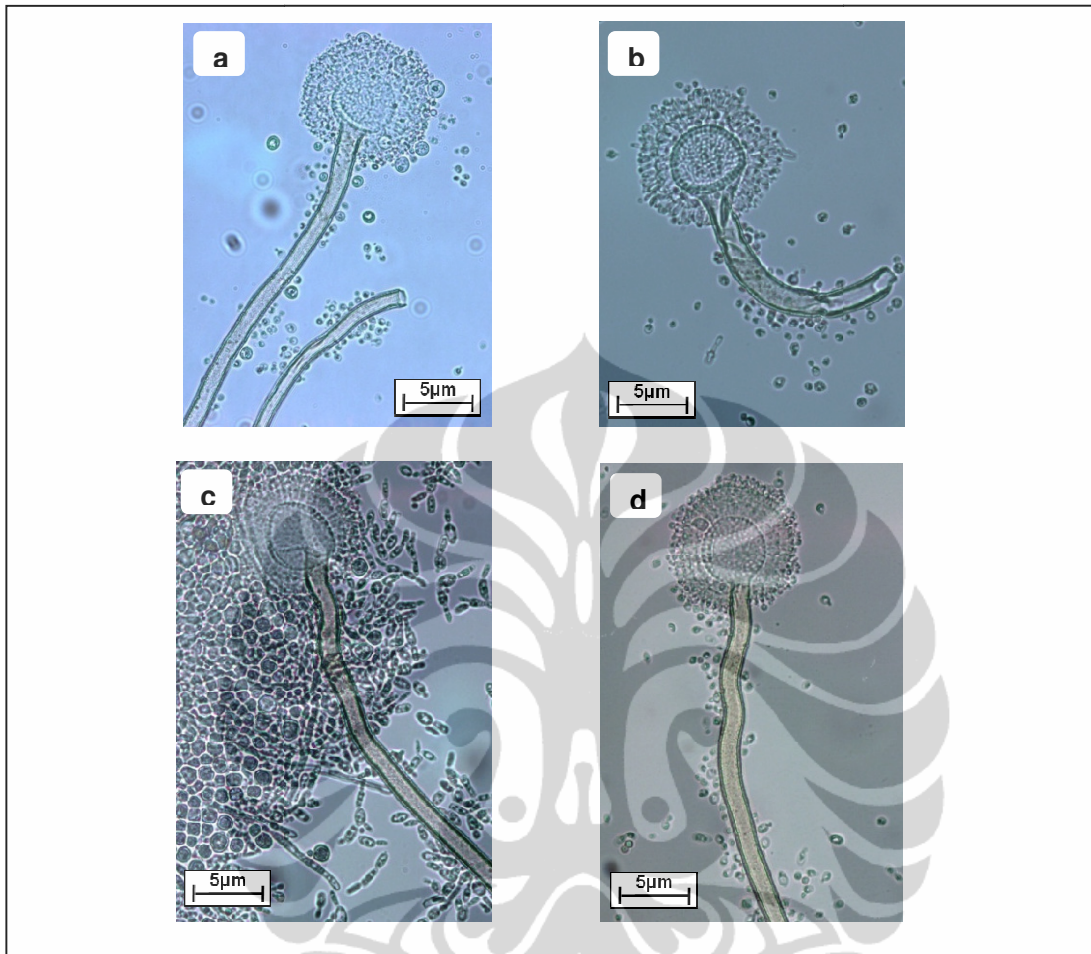
Gambar I.8 Khamir *Cr. laurentii* UICC Y-379 mereduksi ukuran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor tanpa mengakibatkan perubahan morfologi kepala konidia *Asp. terreus* D2.2.MC pada pengujian *co-culture* (perbesaran 400x)

Keterangan : a--c Morfologi *Asp. terreus* D2.2.MC pada kontrol dalam medium PDB pH 5,0.
 d--f Morfologi *Asp. terreus* D2.2.MC setelah ditumbuhkan bersama *Cr. laurentii* UICC Y-379 dalam medium PDB pH 5,0.



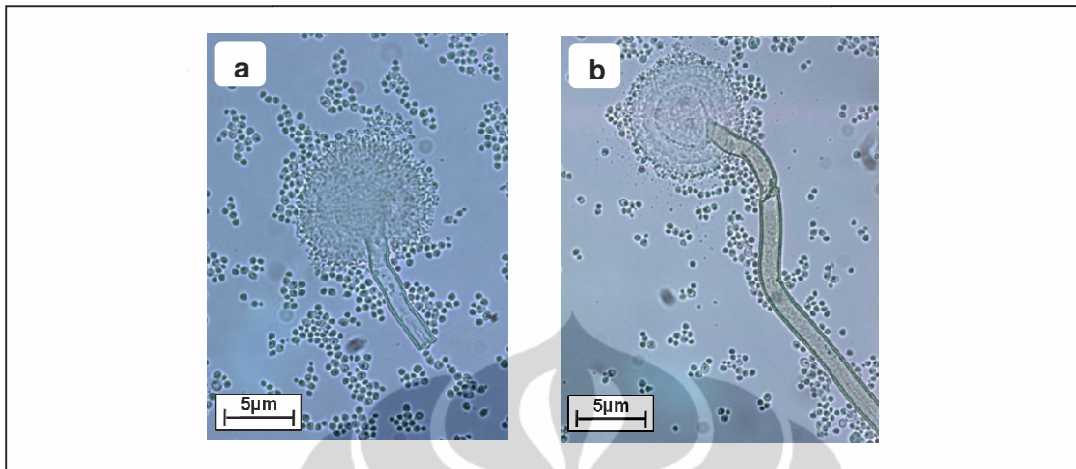
Gambar I.9 Kemampuan sel-sel dari empat spesies khamir epifit melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 mulai hari ke dua inkubasi (perbesaran 400x)

- Keterangan :**
- a. Sel-sel *Cr. laurentii* UICC Y-319 melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.
 - b. Sel-sel *C. rancensis* UICC Y-326 melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.
 - c. Sel-sel *M. reukaufii* UICC Y-351 melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.
 - d. Sel-sel *Cryptococcus* sp.UICC Y-385 melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.



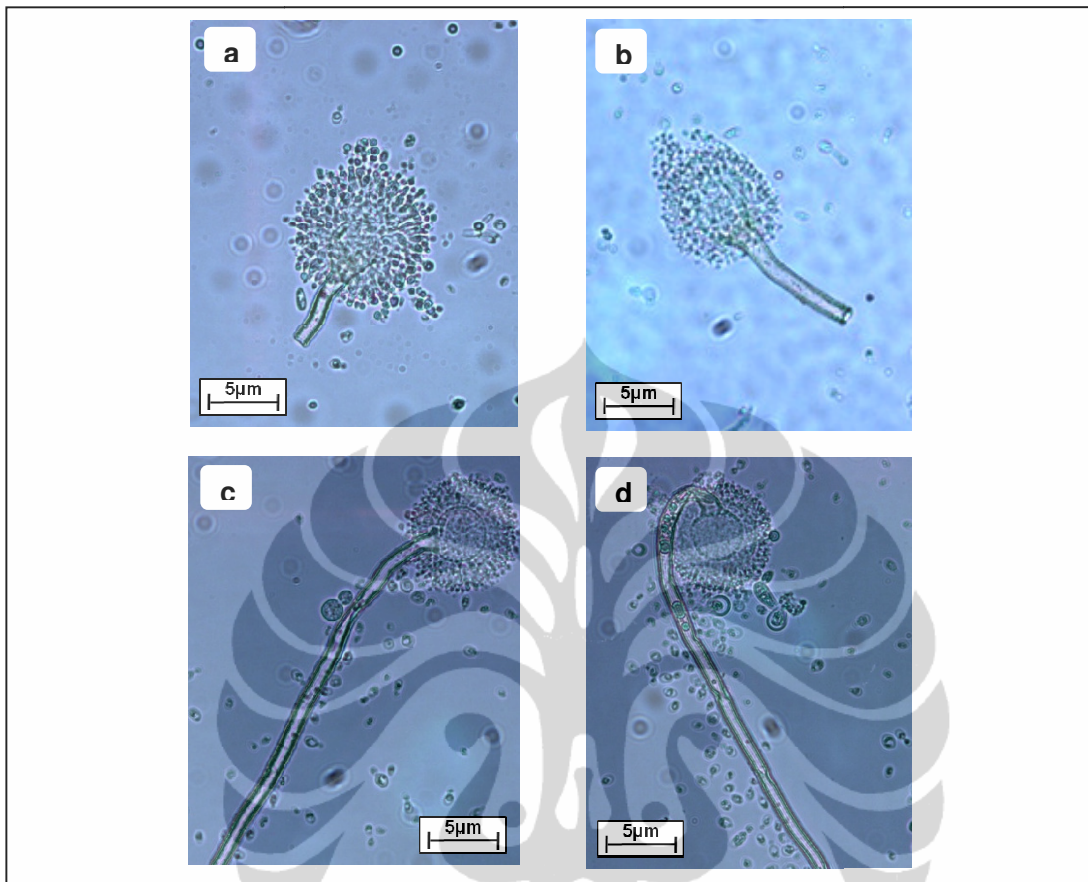
Gambar I.10 Kemampuan sel-sel dari empat spesies khamir epifit melekat pada dinding konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC mulai hari ke dua inkubasi (perbesaran 400x)

- Keterangan :**
- a. Sel-sel *Cr. laurentii* UICC Y-319 melekat pada dinding konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC.
 - b. Sel-sel *C. rancensis* UICC Y-326 melekat pada dinding konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC.
 - c. Sel-sel *M. reukaufii* UICC Y-351 melekat pada dinding konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC.
 - d. Sel-sel *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 melekat pada dinding konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC.



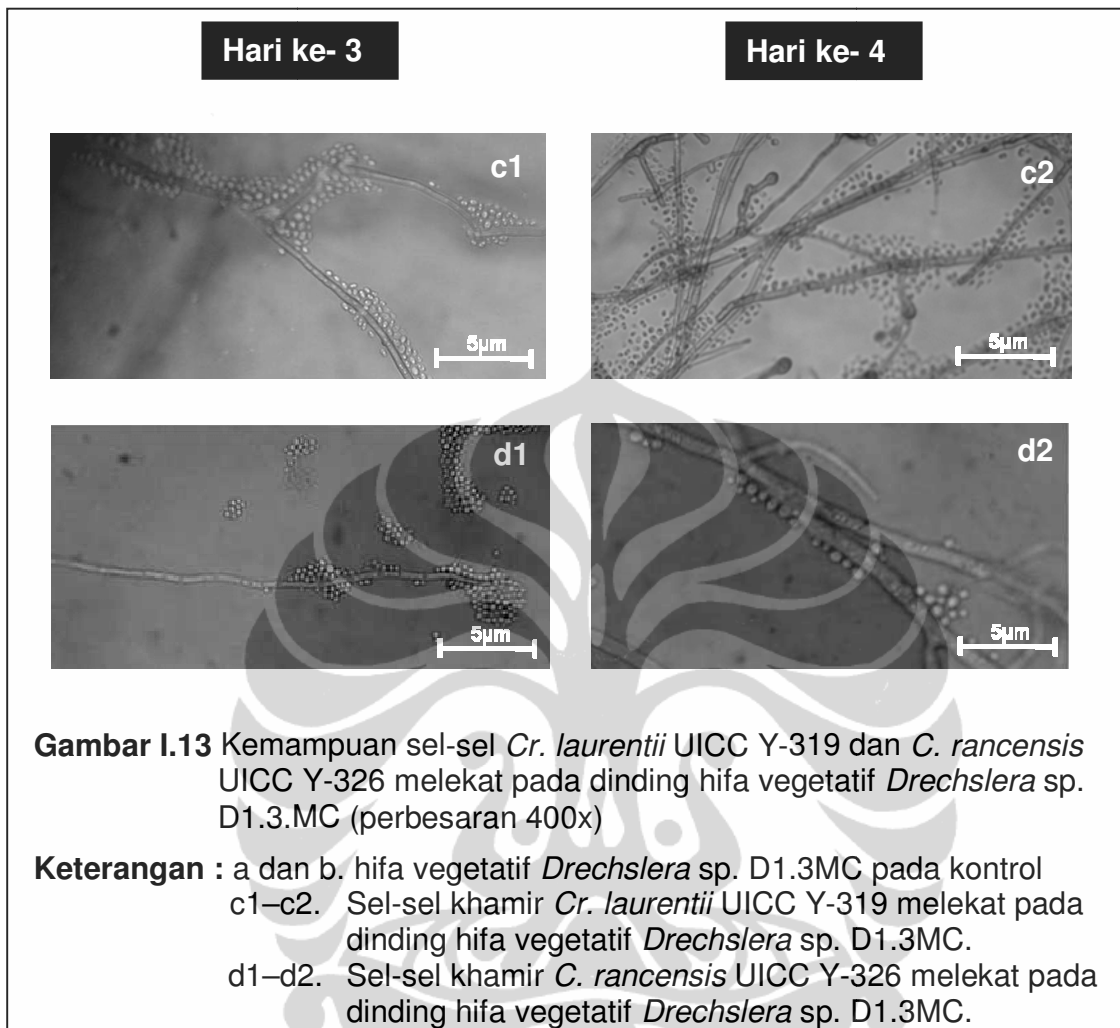
Gambar I.11 Kemampuan sel-sel *Candida* sp. UICC Y-328 melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dan *Asp. terreus* D2.2.MC mulai hari ke tiga inkubasi (perbesaran 400x)

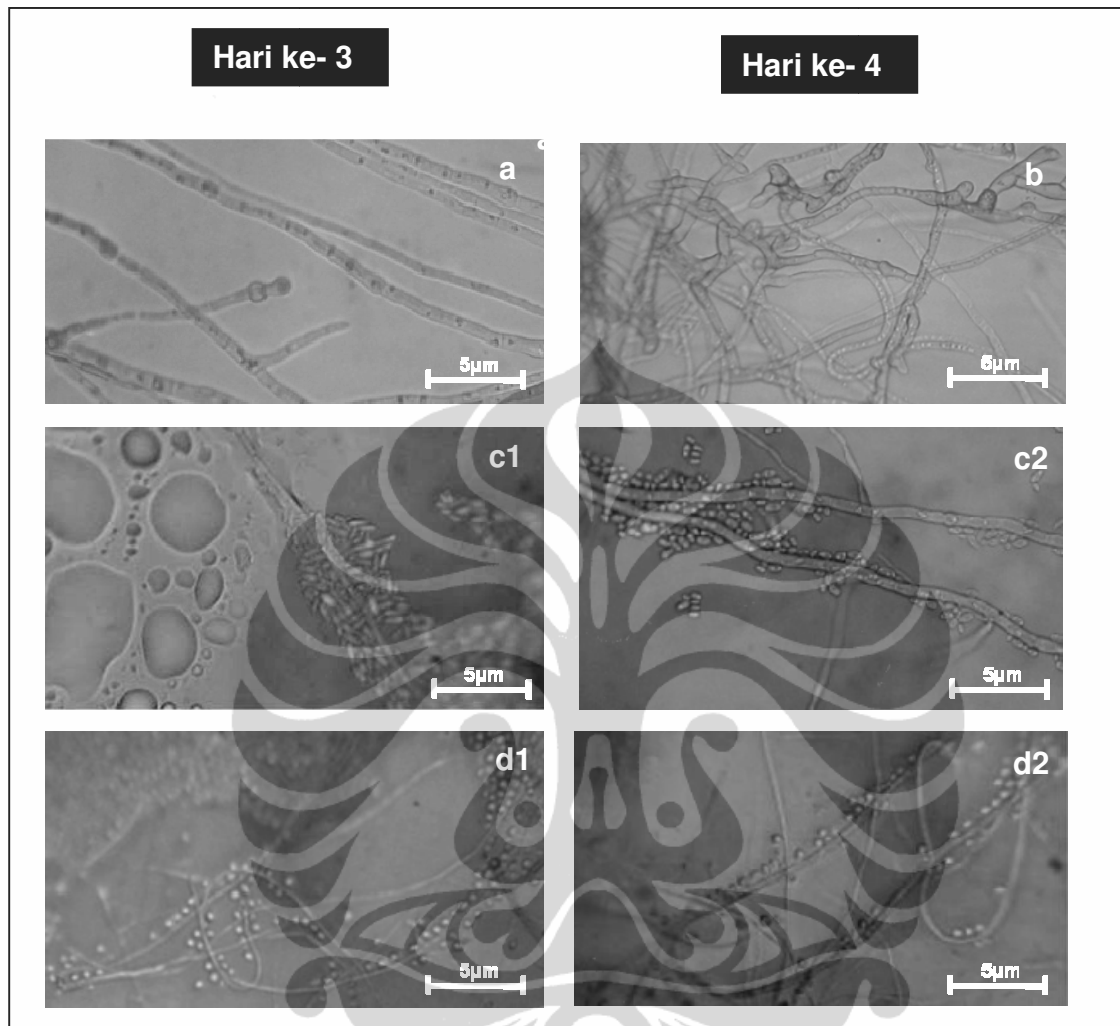
Keterangan : a. Sel-sel *Candida* sp. UICC Y-328 melekat pada konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3
b. Sel-sel *Candida* sp. UICC Y-328 melekat pada konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC



Gambar I.12 Sel-sel dari *Cr. laurentii* UICC Y-379 tidak melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 namun melekat pada dinding konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC (perbesaran 400x)

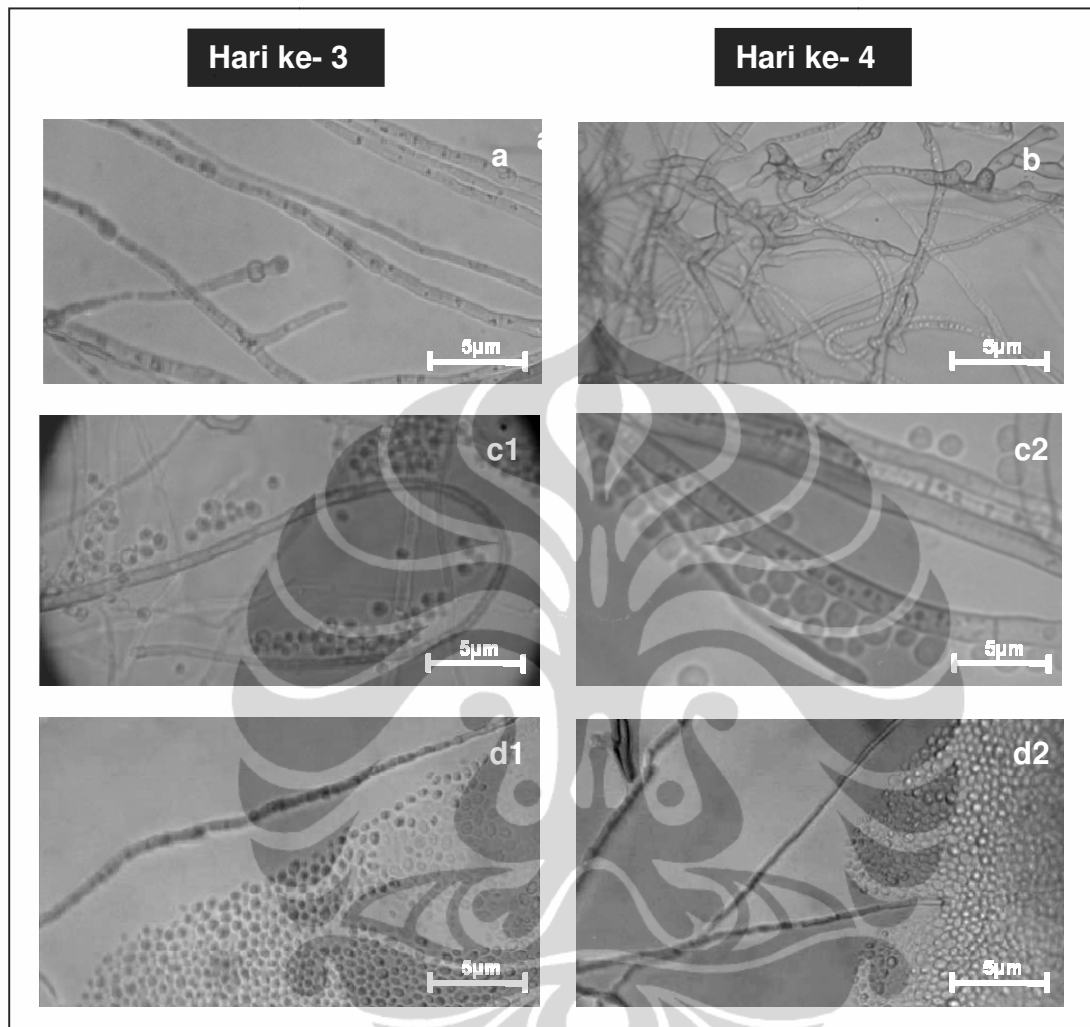
- Keterangan :**
- a. Sel-sel *Cr. laurentii* UICC Y-379 tidak melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.2.2SS.M3 pada hari ke dua inkubasi.
 - b. Sel-sel *Cr. laurentii* UICC Y-379 tidak melekat pada dinding konidiofor *Asp. ochraceus* D1.2.2SS.M3 pada hari ke tiga inkubasi.
 - c. Sel-sel *Cr. laurentii* UICC Y-379 melekat pada dinding konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC pada hari ke dua inkubasi.
 - d. Sel-sel *Cr. laurentii* UICC Y-379 melekat pada dinding konidiofor *Asp. terreus* D2.2.MC pada hari ke tiga inkubasi.





Gambar I.14 Kemampuan sel-sel *M. reukaufii* UICC Y-351 dan *Cr. laurentii* UICC Y-379 melekat pada dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC (perbesaran 400x)

Keterangan : a dan b. Hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1. 3.MC pada kontrol.
 c1–c2. Sel-sel khamir *M. reukaufii* UICC Y-351 melekat pada dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC.
 d1–d2. Sel-sel khamir *Cr. laurentii* UICC Y-379 melekat pada dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC.



Gambar I.15 Hasil pengujian antagonisme *Candida* sp. UICC Y-328 dan *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 terhadap *Drechslera* sp. D1.3.MC menggunakan *slide culture* (perbesaran 400x)

- Keterangan :** a–b. Hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1. 3.MC pada kontrol.
 c1. Sel-sel khamir *Candida* sp. UICC Y-328 mendekati dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC.
 c2. Sel-sel khamir *Candida* sp. UICC Y-328 melekat pada dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC.
 d1–d2. Sel-sel khamir *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 tidak melekat pada dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC.

Makalah II

POTENSI *Candida* sp. Berkhout UICC Y-328 SEBAGAI AGEN BIOKONTROL *Aspergillus ochraceus* Wilhelm PADA TOMAT PASCAPANEN

Handarini
e-mail: handa.rini@yahoo.com

ABSTRACT

The potential of an epiphytic yeast *Candida* sp. UICC Y-328 as a biocontrol agent in reducing postharvest tomato spoilage caused by *Aspergillus ochraceus* D1.22.SS.M3 was investigated. The fungi were collection of University of Indonesia Culture Collection (UICC). *Candida* sp. UICC Y-328 was isolated from plants of Cibodas Botanical Garden, and *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 was isolated from infected tomato plant. Results showed that incidence of spoilage in postharvest tomatoes, wounded and inoculated with *Candida* sp. and *Asp. ochraceus*, were reduced by 20% after 15-day incubation at room temperature. All postharvest tomatoes, wounded and inoculated with *Asp. ochraceus* as control, were spoiled (100%). Synthetic fungicide Dithane M-45 reduced spoilage incidence by 70%. *Candida* sp. UICC Y-328 was not effective as biofungicide in reducing spoilage incidence.

Keywords: *Aspergillus ochraceus*, Biocontrol agent, *Candida*, epiphytic yeast, omatot

PENDAHULUAN

Tomat merupakan salah satu komoditas buah yang rentan terhadap kerusakan mekanis setelah masa panen. Hal tersebut disebabkan buah tomat memiliki lapisan kulit yang tipis (Andersen & Frisvad 2004: 7507). Buah tomat memiliki kisaran pH 4,5--5,0 yang cocok untuk mendukung pertumbuhan fungi (Pitt & Hocking 1985: 366). Kerusakan mekanis yang terjadi saat proses pemanenan, penyimpanan, atau transportasi akan memudahkan terjadinya infeksi fungi pada buah (Spadaro 2003: 4).

Fungi penyebab kerusakan pada tomat pascapanen umumnya berasal dari kelompok kapang. Menurut Black (1999: 29) kapang memiliki kemampuan untuk melakukan penetrasi pada sel tumbuhan melalui pembentukan hifa yang menekan dinding sel tumbuhan. Valentyn (2007: 4) melaporkan bahwa adanya luka atau bagian tumbuhan yang secara alami terbuka dapat mempermudah penetrasi kapang pada bagian tumbuhan tersebut. Selain itu, menurut Filtenborg *dkk.* (2004: 307) kapang dapat menghasilkan berbagai enzim seperti karbohidrase, lipase, dan protease. Hal tersebut memungkinkan kapang untuk mendegradasi bagian-bagian tumbuhan.

Beberapa peneliti telah melaporkan kapang penyebab kerusakan pada buah tomat. Abdel-Mallek *dkk.* (1995: 112) melaporkan *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) G.A. de Vries, *Rhizopus stolonifer* (Ehrenberg: Fresen) Vuill., *Aspergillus niger* van Tieghem, *Asp. flavus* Link, *Drechslera spicifera* Nelson, *Fusarium moniliforme* J. Sheld., *F. oxysporum* Schltld., *F. solani* (F.R. Jones) W.C. Snyder & H.N. Hansen, *Geotrichum candidum* Link dan *Penicillium funiculosum* Thom merupakan spesies kapang yang ditemukan dari buah tomat busuk di pasar kota Assiut, Mesir. Kalogiannis *dkk.* (2006: 69) melaporkan *Botrytis cinerea* Pers. Ex Nocca & Balb merupakan kapang yang banyak menyerang buah tomat ketika proses penyimpanan. Oetari *dkk.* (2007: 44) telah mengisolasi dan mengidentifikasi isolat kapang dari tanaman tomat terinfeksi di Bogor dan Tangerang, serta dari buah tomat busuk dari

pasar daerah Jakarta Timur, Depok, dan Tangerang. Identifikasi menunjukkan 11 spesies dari 7 genus kapang yaitu, *Asp. niger*, *Asp. ochraceus*, *Asp. oryzae* (Ahlburg) E. Cohn, *Asp. parasiticus* Speare, *Asp. terreus* Thom, *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, *Drechslera* sp. Ito, *Galactomyces* sp. Redhead & Malloch, *Moniliella suaveolens* (Lindner) von Arx, *Penicillium glabrum* (Wehmer) Westling, dan *Rhizopus oryzae* Went & Prins. Menurut Andersen dan Frisvad (2007: 7510) perbedaan iklim dan kondisi geografis dapat menyebabkan perbedaan komposisi kapang penyebab kerusakan pada buah tomat.

Penggunaan fungisida merupakan salah satu tindakan yang dilakukan untuk menghindari infeksi kapang pada buah saat pascapanen. Namun, Dal Bello *dkk.* melaporkan bahwa hampir 90% fungisida yang diaplikasikan pada buah diketahui mengandung sembilan senyawa kimia yang bersifat onkogenik, sehingga dapat membahayakan kesehatan manusia yang mengkonsumsi buah. Menurut Jijakli dan Lepoivre (1999: 31) kesadaran konsumen terhadap bahaya residu fungisida bagi kesehatan mendorong ditemukannya metode alternatif pengganti fungisida.

Salah satu alternatif pengganti fungisida yang mulai dikembangkan adalah penggunaan biokontrol yaitu, penggunaan suatu organisme untuk mengontrol organisme lain (Druvefors 2004: 8). Pimenta *dkk.* (2008: 85) melaporkan khamir epifit merupakan salah satu agen biokontrol potensial pada produk pascapanen karena dapat berkolonisasi dengan cepat dan mampu bertahan hidup pada permukaan buah dalam jangka waktu lama.

Beberapa peneliti telah mempelajari khamir sebagai biokontrol kapang pada substrat buah. Sugar dan Roberts (1999: 156--157) melaporkan *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) C.E. Skinner HRA5, *Rhodotorula glutinis* (Fresenius) F.C. Harrison HRB6, *Cr. infirmo-miniatus* (Okunuki) Phaff & Fell YY6, dan *Cr. laurentii* 87-106 dapat mengurangi perluasan luka akibat infeksi *Pen. expansum* pada buah *pear* sekitar 62,9%--100%. El Ghaouth *dkk.* (2002: 345) melaporkan *Candida saitoana* Nakase & M. Suzuki yang diaplikasikan pada buah apel dapat mengurangi perluasan luka akibat infeksi *B. cinerea* hingga 70%.

Potensi khamir epifit sebagai agen biokontrol dapat diketahui dengan melakukan pengujian secara *in vivo* pada produk pascapanen. Kalogiannis *dkk.* (2006: 72) melakukan pengujian secara *in vivo* untuk mengetahui kemampuan *R. glutinis* Y-44 sebagai biokontrol *B. cinerea* pada buah tomat. Kemampuan *R. glutinis* Y-44 sebagai biokontrol *B. cinerea* ditunjukkan dengan reduksi kebusukan akibat infeksi kapang pada buah tomat yang direndam suspensi sel *R. glutinis* Y-44 setelah dibandingkan dengan kebusukan pada buah tomat kontrol yang tidak direndam suspensi sel *R. glutinis* Y-44.

Pada makalah I, pengujian kemampuan antagonistik enam spesies khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas, koleksi UICC menunjukkan *Candida* sp. UICC Y-328 memiliki kemampuan antagonistik paling potensial. Kapang paling sensitif terhadap khamir tersebut adalah *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3. Potensi khamir tersebut sebagai agen biokontrol

Asp. ochraceus D1.22.SS.M3 pada buah tomat belum diketahui. Pengujian biokontrol khamir *Candida* sp. UICC Y-328 dilakukan untuk mengetahui potensi khamir tersebut sebagai agen biokontrol *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat.

LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, FMIPA-UI, Depok dan Center of Excellence Indigenous Biological Resources-Genome Studies UI, selama tiga bulan (Maret 2009 hingga Mei 2009).

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan dalam pengujian biokontrol adalah khamir *Candida* sp. UICC Y-328 dan kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3. *Candida* sp. UICC Y-328 memiliki kemampuan antagonistik paling potensial terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 berdasarkan hasil pengujian antagonisme dengan *strip method* dan *co-culture* pada Makalah I.

Buah Tomat

Buah tomat varietas Hybrida TW digunakan untuk pengujian kemampuan khamir *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai agen biokontrol *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada tomat pascapanen. Sampel buah tomat diperoleh dari supermarket. Buah tomat dipilih dengan tingkat kematangan yang sama berdasarkan tekstur, warna, dan kisaran bobot per buah. Tekstur buah tidak mengerut atau tidak lunak, buah berwarna merah yang merata pada semua sisi, dan kisaran bobot per buah 80--100 g.

Medium

Potato Dextrose Agar (PDA) digunakan sebagai medium pertumbuhan kapang yang akan diujikan. Yeast Malt Agar (YMA) digunakan sebagai medium pertumbuhan khamir epifit yang akan diujikan.

Bahan Kimia

Bahan-bahan kimia dari Difco antara lain yeast extract, malt extract, pepton, dan Potato Dextrose Broth (PDB). Bahan-bahan kimia lain adalah glukosa [Merck], Agar [Britania], desinfektan yang mengandung sodium hipoklorit 5%, fungisida *ethylenebisdithiocarbamate* [Dithane M-45], dan alkohol.

CARA KERJA

Pengujian *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai agen biokontrol

Asp. ochraceus D1.22.SS.M3 pada buah tomat

Pengujian *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai agen biokontrol *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat dilakukan dengan *post-harvest biocontrol efficacy test* berdasarkan Kalogiannis *dkk.* (2006: 72) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan pada tiga hal yaitu variasi perlakuan, frekuensi pengamatan, dan diameter luka pada buah tomat. Variasi perlakuan dimodifikasi dari dua variasi menjadi sembilan variasi, frekuensi pengamatan dimodifikasi dari setiap dua hari selama sebelas hari menjadi setiap tiga hari selama limabelas hari, dan diameter luka dimodifikasi dari diameter 3 mm menjadi diameter 5 mm dengan kedalaman 3 mm.

Sebanyak satu ose biakan khamir epifit digoreskan sebanyak 15 gores pada medium YMA miring, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama dua hari. Biakan khamir epifit dikerik dan disuspensikan dalam 5 ml akudes steril, lalu dihomogenkan menggunakan vorteks. Suspensi sel khamir epifit dengan kepadatan 10^8 sel/ml disiapkan sebanyak 30 ml. Sebanyak satu ose biakan kapang digoreskan sebanyak 15 gores pada medium PDA miring, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama tiga hari. Biakan kapang dikerik dan disuspensikan dalam 5 ml akuades steril, lalu dihomogenkan menggunakan vorteks. Suspensi spora kapang dengan kepadatan 10^8 spora/ml disiapkan sebanyak 2 ml.

Sampel buah tomat sehat dan segar varietas Hybrida TW dicuci bersih menggunakan air keran. Permukaan buah tomat disterilkan menggunakan sodium hipoklorit (NaClO) 0,5 % selama lima menit untuk menghilangkan mikroorganisme yang ada di permukaan buah tomat. Selanjutnya buah dibilas sebanyak tiga kali menggunakan akuades steril. Buah tomat dilukai menggunakan sedotan steril dengan diameter luka 5 mm dan kedalaman 3 mm. Tiap buah tomat dilukai pada bagian ekuator sisi kiri dan kanan.

Pengujian dilakukan dengan sembilan variasi yaitu :

1. Buah tomat dilukai, disiram suspensi sel khamir, dan diinokulasikan suspensi spora kapang. Buah tomat yang telah dilukai, ditampung dalam gelas kimia steril, kemudian suspensi sel khamir epifit dituangkan ke permukaan buah tomat hingga seluruh permukaan buah tertutupi oleh suspensi sel. Buah tomat dikeluarkan dari gelas kimia dan dikering anginkan pada suhu ruang selama satu hari. Sebanyak 25 μ l suspensi spora kapang diinokulasikan ke dalam luka pada buah tomat. Buah tomat diinkubasi pada suhu 28⁰ C selama 15 hari.
2. Buah tomat dilukai, tidak disiram suspensi sel khamir, namun diinokulasikan suspensi spora kapang. Buah tomat yang telah dilukai, ditampung dalam gelas kimia steril, kemudian sebanyak 25 μ l suspensi spora kapang diinokulasikan ke dalam luka pada buah tomat. Buah tomat dikeluarkan dari gelas kimia dan diinkubasi pada suhu 28⁰ C selama 15 hari.

3. Buah tomat dilukai, disiram fungisida Dithane M-45 0,08%, dan diinokulasikan suspensi spora kapang. Buah tomat yang telah dilukai, ditampung dalam gelas kimia steril, kemudian larutan fungisida Dithane M-45 0,08% dituangkan ke permukaan buah tomat hingga seluruh permukaan buah tertutupi oleh larutan fungisida. Buah tomat dikeluarkan dari gelas kimia dan dikeringanginkan pada suhu ruang selama satu hari. Sebanyak 25 μ l suspensi spora kapang diinokulasikan ke dalam luka pada buah tomat. Buah tomat diinkubasi pada suhu 28⁰ C selama 15 hari.
4. Buah tomat tidak dilukai, disiram suspensi sel khamir, tidak diinokulasikan suspensi spora kapang. Buah tomat yang tidak dilukai, ditampung dalam gelas kimia steril, kemudian suspensi sel khamir epifit dituangkan ke permukaan buah tomat hingga menutupi seluruh permukaan buah. Buah tomat dikeluarkan dari gelas kimia dan diinkubasi pada suhu 28⁰ C selama 15 hari.
5. Buah tomat tidak dilukai, tidak disiram suspensi sel khamir, tidak diinokulasikan suspensi spora kapang (tanpa perlakuan). Buah tomat yang telah dicuci bersih dan disterilkan permukaannya diinkubasi pada suhu 28⁰ C selama 15 hari.
6. Buah tomat dilukai, disiram suspensi sel khamir, dan diinokulasikan akuades steril. Buah tomat yang telah dilukai, ditampung dalam gelas kimia steril, kemudian suspensi sel khamir epifit dituangkan ke permukaan buah tomat hingga seluruh permukaan buah tertutupi oleh

suspensi sel. Buah tomat dikeluarkan dari gelas kimia dan dikering anginkan pada suhu ruang selama satu hari. Sebanyak 25 µl akuades steril diinokulasikan ke dalam luka pada buah tomat. Buah tomat diinkubasi pada suhu 28⁰ C selama 15 hari.

7. Buah tomat tidak dilukai, disiram akuades steril. Buah tomat yang telah dicuci bersih dan disterilkan permukaannya, disiram oleh akuades steril, lalu diinkubasi pada suhu 28⁰ C selama 15 hari.
8. Buah tomat dilukai, tidak disiram suspensi sel khamir, namun diinokulasikan akuades steril . Buah tomat yang telah dilukai, ditampung dalam gelas kimia steril, kemudian sebanyak 25 µl akuades steril diinokulasikan ke dalam luka pada buah tomat. Buah tomat dikeluarkan dari gelas kimia dan diinkubasi pada suhu 28⁰ C selama 15 hari.
9. Buah tomat hanya dilukai. Buah tomat yang telah dicuci bersih dan disterilkan permukaannya, dilukai menggunakan sedotan steril. Kemudian buah tersebut diinkubasi pada suhu 28⁰ C selama 15 hari.

Selisih volume suspensi sel khamir atau larutan fungisida dihitung dengan mengukur volume sebelum dituang dengan volume setelah dituang. Pengamatan dilakukan setiap tiga hari dengan mengukur diameter luka, menghitung jumlah buah tomat yang tidak busuk, dan mengamati gejala kerusakan pada buah tomat perlakuan dan kontrol.

Kemampuan khamir *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai agen biokontrol *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada tomat pascapanen diketahui dengan membandingkan jumlah buah tomat tidak busuk antara perlakuan dan

kontrol, gejala kebusukan antara buah tomat perlakuan dan kontrol, dan diameter kerusakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian biokontrol khamir *Candida* sp. UICC Y-328 terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat dilakukan berdasarkan Kalogiannis *dkk.* (2006: 72) yang dimodifikasi. Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 diaplikasikan dalam bentuk suspensi sel, sedangkan kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 diaplikasikan dalam bentuk suspensi spora pada buah tomat. Berdasarkan hasil penghitungan jumlah sel menggunakan metode Total Plate Count (TPC), jumlah sel khamir *Candida* sp. UICC Y-328 adalah $(2,5--4,45) \times 10^8$ CFU/ml dan jumlah spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 adalah $(6--8,6) \times 10^7$ spora/ml (Tabel I.2 dan I.4). Penggunaan khamir *Candida* sp. UICC Y-328 dengan jumlah sel yang lebih tinggi dengan jumlah spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 bertujuan untuk memberikan keuntungan kompetisi kepada khamir dalam memperoleh nutrisi dan ruang hidup terhadap kapang. Zhang *dkk.* (2004: 85) melaporkan semakin tinggi jumlah sel khamir antagonis *Cr. laurentii* maka semakin tinggi kemampuan khamir tersebut dalam mengontrol gejala kebusukan yang disebabkan oleh *B. cinerea* pada buah *pear*.

Penggunaan jumlah spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dalam penelitian ini lebih banyak dibandingkan dengan jumlah spora yang

digunakan dalam beberapa penelitian yang telah dilaporkan. Beberapa peneliti melakukan pengujian biokontrol menggunakan spora kapang pada jumlah yang lebih rendah daripada jumlah sel khamir antagonis. El Ghouth *dkk.* (2002: 345) melakukan pengujian biokontrol pada khamir *C. saitoana* terhadap *B. cinerea* pada buah apel. Jumlah sel *C. saitoana* yang digunakan adalah 10^8 CFU/ml, sedangkan jumlah spora *B. cinerea* yang digunakan adalah 10^4 spora/ml. Janisiewicz *dkk.* (2001: 1099) melakukan pengujian biokontrol pada khamir *Metschnikowia pulcherrima* Pitt & M.W. Miller terhadap *B. cinerea* pada buah apel. Jumlah sel *M. pulcherrima* yang digunakan adalah 10^7 CFU/ml, sedangkan jumlah spora *B. cinerea* yang digunakan adalah 10^5 spora/ml.

Pada penelitian ini terdapat sembilan variasi pengujian. Setiap variasi pengujian dilakukan dalam dua ulangan periode. Pengamatan pada setiap periode pengujian dilakukan selama 15 hari. Jumlah sampel buah tomat yang digunakan dalam setiap periode untuk masing-masing perlakuan adalah sebanyak 5 sampel, sehingga total sampel buah tomat yang diamati selama dua periode untuk setiap perlakuan adalah 10 sampel. Hal tersebut dilakukan untuk memperoleh hasil pengujian yang representatif.

Kemampuan khamir *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai agen biokontrol *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat diketahui dengan membandingkan jumlah buah tomat busuk, gejala kebusukan, dan diameter kebusukan pada buah tomat antar variasi pengujian. Parameter gejala kebusukan buah tomat akibat infeksi kapang yang digunakan dalam

penelitian ini mengacu pada gejala kebusukan yang telah dilaporkan. Kennely (2009: 2) melaporkan gejala kebusukan akibat infeksi kapang *Colletotrichum* pada buah tomat matang yaitu, terdapat bagian berwarna coklat hingga hitam mengikuti pola konsentris di permukaan buah. Pada kondisi lembap, buah tomat akan menjadi lunak dan berair.

Pengujian *Candida sp.* UICC Y-328 sebagai agen biokontrol

***Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat**

Potensi khamir epifit *Candida sp.* UICC Y-328 sebagai biokontrol *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat diketahui dengan melakukan pengamatan pada variasi pengujian buah tomat dilukai, disiram suspensi sel khamir *Candida sp.* UICC Y-328 dan luka diinokulasi suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3. Hasil pengamatan pada variasi tersebut dibandingkan dengan dua variasi pengujian lain yaitu, buah tomat dilukai, disiram akuades steril, dan luka diinokulasi suspensi spora *Asp. ochraceus* serta buah tomat dilukai, disiram fungisida Dithane M-45 0,08 % dan luka diinokulasi suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.

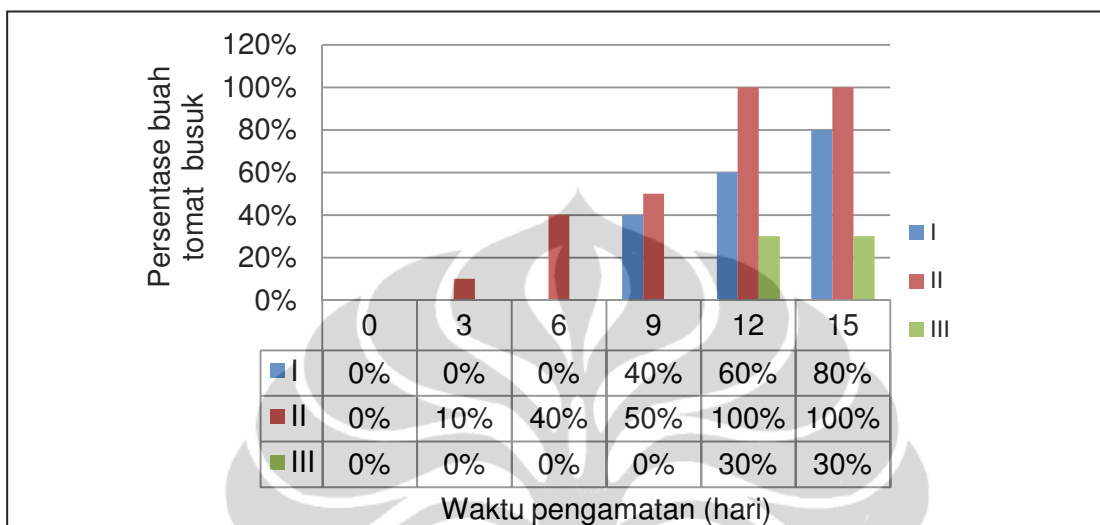
Hasil pengamatan pada buah tomat dengan aplikasi suspensi sel khamir *Candida sp.* UICC Y-328 dan suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 sampai dengan 15 hari, menunjukkan 80% sampel buah tomat mengalami kebusukan (Gambar II.1). Buah tomat busuk pada perlakuan tersebut menunjukkan gejala adanya bagian yang menghitam dan terus meluas di sekitar luka, terdapat pertumbuhan miselium *Asp. ochraceus*

D1.22.SS.M3 dengan warna spora kuning kecokelatan menutupi sebagian permukaan buah, dan buah tomat menjadi lunak serta berair (Gambar II.2). Perluasan bagian yang menghitam terjadi dari hari ke-9 hingga hari ke-15 dengan kisaran diameter 1,81 mm--33,70 mm (Tabel II.1).

Hasil pengamatan pada buah tomat dengan aplikasi akuades steril dan suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 sampai dengan 15 hari menunjukkan 100% sampel buah tomat mengalami kebusukan (Gambar II.1). Buah tomat busuk pada perlakuan tersebut menunjukkan gejala yang sama dengan buah tomat yang diaplikasikan suspensi sel *Candida* sp. UICC Y-328 yaitu, terdapat bagian yang menghitam dan terus meluas di sekitar luka, terdapat pertumbuhan miselium *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 dengan warna spora kuning kecokelatan menutupi permukaan buah, dan buah tomat menjadi lunak serta berair (Gambar II.2). Bagian yang menghitam di sekitar luka meluas dari hari ke-3 hingga hari ke-15 dengan kisaran diameter 1,62--19,42 mm (Tabel II.1).

Hasil pengamatan pada buah tomat dengan aplikasi fungisida Dithane M-45 0,08 % dan suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 sampai dengan 15 hari menunjukkan 30% buah tomat mengalami kebusukan (Gambar II.1). Gejala buah tomat busuk pada perlakuan fungisida Dithane M-45 0,08% antara lain, terdapat bagian yang menghitam dan terus meluas di sekitar luka, namun pertumbuhan koloni *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 menjadi terbatas pada luka, buah tomat tidak lunak dan tidak berair (Gambar II.2). Buah tomat busuk pada perlakuan tersebut menunjukkan gejala yang

berbeda dengan gejala buah tomat busuk yang diaplikasikan suspensi sel *Candida* sp. UICC Y-328 dan akuades steril



Gambar II.1 Grafik persentase buah tomat busuk pada tiga variasi pengujian

Keterangan : I . Buah tomat dilukai dengan aplikasi suspensi sel *Candida* sp. dan spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3
 II. Buah tomat dilukai dengan aplikasi akuades steril dan spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3
 III. Buah tomat dilukai dengan aplikasi fungisida Dithane M-45 0,08% dan spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3

Perbandingan hasil pengamatan pada persentase buah tomat busuk tiga variasi pengujian di atas menunjukkan *Candida* sp. UICC Y-328 dapat mereduksi kebusukan akibat infeksi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 hingga 20%. Kemampuan *Candida* sp. UICC Y-328 dalam mereduksi jumlah buah tomat busuk akibat infeksi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 belum setara dengan kemampuan fungisida sintetik Dithane M-45 0,08%. Kisaran diameter kebusukan pada buah tomat yang diaplikasikan suspensi sel *Candida* sp.

UICC Y-328 lebih besar daripada kisaran diameter kebusukan pada buah tomat yang diaplikasikan akuades steril dan fungisida Dithane M-45 0,08%. Hal tersebut mengindikasikan bahwa *Candida* sp. UICC Y-328 belum dapat mereduksi gejala kebusukan akibat infeksi kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3. Secara umum, buah tomat busuk pada ke tiga variasi pengujian menunjukkan gejala yang sama. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kebusukan yang terjadi disebabkan oleh infeksi kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.

Mekanisme *Candida* sp. UICC Y-328 dalam menghambat pertumbuhan *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat diduga berupa kompetisi untuk memperoleh nutrisi dan ruang. *Candida* sp. UICC Y-328 merupakan khamir yang diisolasi dari permukaan bunga *Rhodomyrtus tomentosa*. Menurut El Tarabily (2003: 70) khamir yang diisolasi dari permukaan bagian tumbuhan secara alami memiliki kemampuan berkompetisi untuk memperoleh nutrisi, dan mampu berkolonisasi dengan cepat pada permukaan substrat. Spadaro (2002: 31) melaporkan bahwa aplikasi sel hidup dari khamir antagonis sebagai biokontrol kapang lebih efektif daripada aplikasi berupa filtrat dari kultur khamir. Sel hidup dari khamir antagonis dapat memperbanyak diri secara cepat dan mengkolonisasi luka pada buah, sehingga dapat memenangkan kompetisi nutrisi dan ruang pada lokasi yang sama. Dal Bello (2008: 259) melaporkan *R. rubra* (Demme) Lodder dan *C. pelliculosa* Redaelli yang diaplikasikan sebagai biokontrol

B. cinerea pada buah tomat, dapat mereduksi pemanjangan *germ tube* saat spora *B. cinerea* bergerminasi.

Kemampuan suspensi sel khamir *Candida* sp. UICC Y-328 belum setara dengan kemampuan fungisida sintetik Dithane-M45 0,08% dalam mencegah terjadinya kebusukan akibat infeksi kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan antara mekanisme fungisida sintetik Dithane-M45 dan mekanisme khamir dalam menghambat infeksi kapang pada buah tomat. Damicone *dkk.* (2003: 3--4) melaporkan bahwa fungisida sintetik dengan nama dagang dithane termasuk ke dalam golongan fungisida protektan yang mengandung senyawa *dithiocarbamate*. Menurut McMullen dan Lamey (2001: 11) fungisida protektan bekerja menghambat germinasi spora atau membunuh hifa sebelum terjadi penetrasi ke dalam jaringan inang. Spadaro (2002: 7) melaporkan bahwa khamir melakukan kompetisi nutrisi untuk menghambat pertumbuhan kapang bukan membunuh kapang tersebut.

Berdasarkan hasil pengujian antagonisme secara *in vitro* pada makalah I, *Candida* sp. UICC Y-328 merupakan khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3. Meskipun demikian, khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial pada pengujian antagonisme secara *in vitro* belum tentu memiliki potensi yang sama pada pengujian biokontrol secara *in vivo*. Perbedaan jenis substrat yang digunakan pada pengujian secara *in vitro* dan *in vivo* menyebabkan perbedaan kandungan nutrisi. Hal tersebut

diduga berpengaruh pada kemampuan khamir antagonis dan kapang dalam beradaptasi pada medium/substrat. Pada tahun 1994, Gullino (*lihat Spadaro 2002: 39*) melaporkan bahwa mikroorganisme antagonis dapat menunjukkan kemampuan yang berbeda saat digunakan pada pengujian antagonisme secara *in vitro* dan pada pengujian biokontrol secara *in vivo*. Kemampuan kapang dalam menghasilkan enzim ekstraselular diduga memungkinkan kapang untuk mendegradasi jaringan buah dan memanfaatkan nutrisi lebih banyak dibandingkan khamir. Spadaro (2002: 39) melaporkan bahwa penggunaan medium sintetik pada pengujian antagonisme secara *in vitro*, memungkinkan khamir antagonis untuk mensekresi metabolit sekunder tertentu yang bersifat toksik pada kapang. Sekresi metabolit sekunder oleh khamir antagonis belum tentu dapat terjadi pada pengujian biokontrol secara *in vivo*. Filtenborg *dkk.* (2004: 37) melaporkan kapang dapat menghasilkan berbagai enzim ekstraselular seperti karbohidrase, lipase, dan protease. Hal tersebut memungkinkan kapang untuk mendegradasi bagian-bagian tumbuhan.

Pengujian *Candida* sp. UICC Y-328 pada buah tomat pascapanen yang tidak dilukai dan dilukai

Hasil pengamatan pada buah tomat tanpa luka dengan aplikasi suspensi sel *Candida* sp. UICC Y-328 sampai dengan 15 hari menunjukkan tidak ada buah tomat yang busuk. Pengamatan serupa ditunjukkan pada buah tomat tanpa perlakuan (Gambar II.3). Hal tersebut mengindikasikan

bahwa *Candida* sp. UICC Y-328 tidak menggunakan nutrisi pada permukaan buah tomat, sehingga tidak mengakibatkan busukan. Pimenta *dkk.* (2008: 86 & 88) mengaplikasikan suspensi sel khamir *Saccharomyces schoenii* (Nadson & Krasil'nikov) Kurtzman & Robnett pada buah jeruk yang tidak dilukai. Buah jeruk yang telah diaplikasikan khamir tersebut tidak menunjukkan gejala kerusakan seperti nekrosis atau klorosis. Hasil pengujian dinamika populasi selama 3 minggu menunjukkan khamir *S. schoenii* tetap ada di permukaan buah jeruk dalam kepadatan populasi yang tinggi.

Hasil pengamatan sampai dengan 15 hari pada buah tomat dilukai dengan aplikasi suspensi sel *Candida* sp. UICC Y-328 dan akuades steril menunjukkan 100% buah tomat menjadi busuk (Gambar II.4). Adanya luka pada buah diduga memicu *Candida* sp. UICC Y-328 untuk memanfaatkan nutrisi yang ada di dalam jaringan buah tomat, sehingga mengakibatkan busukan. Hal tersebut mengindikasikan kelemahan penggunaan mikroorganisme sebagai biokontrol. Buah tomat yang sudah matang dapat menjadi substrat bagi pertumbuhan *Candida* sp. UICC Y-328 dan khamir tersebut diduga melakukan fermentasi pada buah tomat. Deák (2008: 118) melaporkan bahwa pada umumnya buah memiliki kisaran pH 3--5 dan kadar gula yang tinggi, sehingga buah dapat menjadi substrat yang cocok bagi pertumbuhan khamir dan kapang. Menurut Kurtzman (1998: 115) khamir dari genus *Candida* termasuk ke dalam kelompok *ascomycetous*. Gandjar dan Oetari (2006: 166) melaporkan khamir yang termasuk ke dalam kelompok

Ascomycetes umumnya menyukai gula dan melakukan fermentasi aktif. Meyer *dkk.* (1998: 459--475) melaporkan bahwa khamir dari genus *Candida* dapat memfermentasi sukrosa. Pada tahun 1987, Turza (*lihat* Yilmaz 2001: 150) melaporkan bahwa buah tomat mengandung 25% sukrosa, 22% glukosa, dan 1% sakarosa.

Goettel *dkk.* (2001: 352) melaporkan bahwa penggunaan agen biokontrol untuk mengendalikan organisme penyebab penyakit atau kerusakan, memungkinkan adanya gangguan pada substrat yang diaplikasikan agen biokontrol tersebut. Sebagai makhluk hidup, agen biokontrol dapat memanfaatkan nutrisi yang terkandung dalam substrat untuk kelangsungan hidupnya. Janisiewicz dan Korsten (2003: 1) melaporkan bahwa penggunaan mikroorganisme sebagai agen biokontrol tetap menjadi salah satu alternatif pengganti fungisida sintetik yang potensial. Menurut Chanchaichavivat *dkk.* (2007: 326) mikroorganisme, khususnya khamir memiliki beberapa karakteristik yang sesuai untuk tujuan biokontrol. Karakteristik tersebut antara lain tidak menghasilkan toksin, antibiotik, dan spora yang dapat menimbulkan alergi pada manusia.

Pengaruh luka dan akuades steril pada buah tomat pascapanen yang dilukai dan tidak dilukai

Pengamatan pada tiga variasi pengujian yaitu buah tomat tanpa luka dan disiram akuades steril, buah tomat dilukai dan diinokulasi akuades steril, serta buah tomat hanya dilukai menunjukkan hasil yang sama. Sebanyak

30% sampel buah tomat menjadi busuk sampai dengan hari ke-15. Buah tomat busuk menunjukkan gejala bagian bawah buah berair dan jaringan buah melunak, sampai dengan pengamatan hari ke-15 (Gambar II.5). Hasil tersebut menunjukkan bahwa adanya luka dan kondisi lembap pada buah diduga mendukung terjadinya kebusukan buah. Menurut Valentyn (2007: 4) adanya luka atau bagian tumbuhan yang secara alami terbuka dapat mempermudah penetrasi kapang pada bagian tumbuhan tersebut Hong *dkk.* (1998: 1213) melakukan pengujian pengaruh luka dan jumlah spora kapang *Moniliela fruticola* pada kebusukan buah *peach* dan buah *plum*. Gejala kebusukan terlihat pada buah *peach* dan *plum* yang dilukai dan diaplikasikan spora *Mon. fruticola*, pada beberapa variasi jumlah spora kapang tersebut ($10^2, 10^3, 10^4, 10^5, 10^6$ spora/ml). Pada buah *peach* dan *plum* yang tidak dilukai tidak menunjukkan adanya gejala kebusukan meskipun telah diaplikasikan suspensi spora kapang dalam jumlah yang tinggi (10^6 spora/ml).

Penelitian ini memberikan informasi mengenai potensi khamir epifit *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai biokontrol kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat. Informasi tersebut diharapkan dapat menambah pengetahuan yang masih terbatas mengenai potensi khamir epifit indigenos Indonesia sebagai biokontrol terhadap kapang pada tanaman.