

Tabel II.1 Diameter kebusukan sampel buah tomat pada pengujian *Candida sp.* UICC Y-328 sebagai agen biokontrol *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3

Variasi pengujian : Buah tomat dilukai, disiram suspensi sel *Candida sp.* UICC Y-328, diinokulasi suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3

Ulangan	Diameter kerusakan di sekitar luka "a" (mm)						Diameter kerusakan di sekitar luka "b" (mm)					
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15
1	0	0	0	busuk	busuk	busuk	0	0	0	busuk	busuk	busuk
2	0	0	0	0	busuk	busuk	0	0	0	0	busuk	busuk
3	0	0	0	0	busuk	busuk	0	0	0	0	busuk	busuk
4	0	4,72	15,22	26,38 (busuk)	busuk	busuk	0	0	0	busuk	busuk	busuk
5	0	0	0	0	busuk	busuk	0	0	0	0	busuk	busuk
6	0	0	0	0	0	0 (tidak busuk)	0	0	0	0	0	0 (tidak busuk)
7	0	0	0	1,81 (busuk)	2,7 (busuk)	busuk	0	0	3,09	8,22	14,42	busuk
8	0	0	0	0 (busuk)	0 (busuk)	0 (busuk)	0	0	0	28,42 (busuk)	32,68 (busuk)	33,7 (busuk)
9	0	0	0	0	0	0 (tidak busuk)	0	0	0	0	0	0 (tidak busuk)
10	0	0	0	0	0	busuk	0	0	0	0	0	busuk

Tabel II.1 (lanjutan)

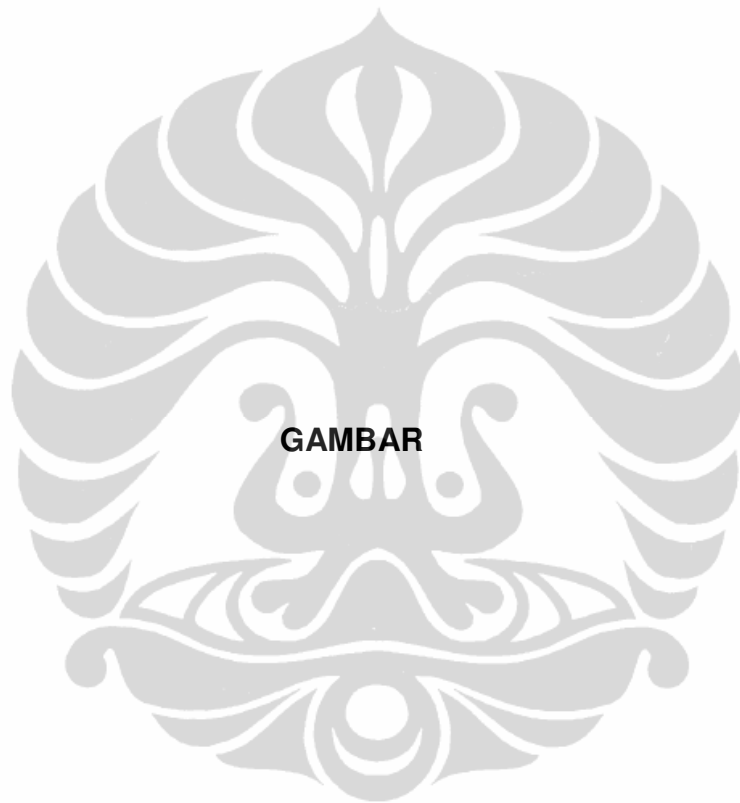
Variasi pengujian : Buah tomat dilukai, disiram akuades steril, diinokulasi suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3

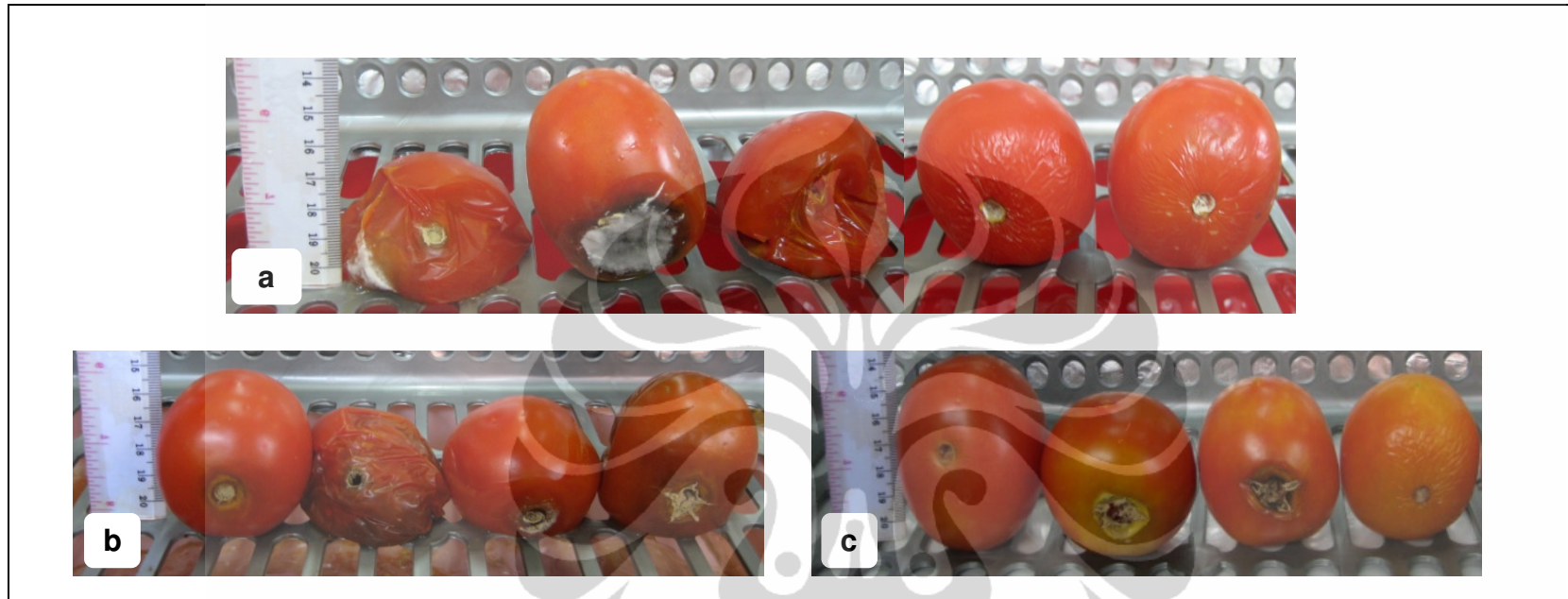
Ulangan	Diameter kerusakan di sekitar luka "a" (mm)						Diameter kerusakan di sekitar luka "b" (mm)					
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15
1	0	0	0	0	0	busuk	0	0	0	0	0	busuk
2	0	0	0	0	0	busuk	0	0	0	0	0	busuk
3	busuk	busuk	busuk	busuk	busuk	busuk	busuk	busuk	busuk	busuk	busuk	busuk
4	0	0	4,44	8,49	17,44	0	0	0	0	0 (busuk)	0 (busuk)	busuk
5	2,65	3,55 (busuk)	17,99 (busuk)	19,42 (busuk)	busuk	0	3,80	3,4 (busuk)	4,30	5,28	busuk	busuk
6	0	1,62	1,88	2,88	busuk	busuk	0	2,13	3,02	5,88	7,17 (busuk)	busuk
7	0	3,64	4,41 (busuk)	busuk	busuk	busuk	0	0	1,69	busuk	busuk	busuk
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	3,54	4,09	busuk	busuk	busuk	0	3,99	6,78	8,20	busuk	busuk
10	0	8,00	12,00 (busuk)	12,73:	busuk	busuk	0	2,46	4,27	0 (busuk)	busuk	busuk

Tabel II.1 (lanjutan)

Variasi pengujian : Buah tomat dilukai, disiram fungisida Dithane M-45 0,08%, diinokulasi suspensi spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3

Ulangan	Diameter kerusakan di sekitar luka "a" (mm)						Diameter kerusakan di sekitar luka "b" (mm)					
	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15	Hari ke-0	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	Hari ke-12	Hari ke-15
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0 (busuk)	0	0	0	0	5,28	13,48 (busuk)
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	3,44	2,88	3,45	4,93 (busuk)	0	0	0	3,53	4,23	6,07 (busuk)
8	0	0	0	0	1,36	1,38 (busuk)	0	0	0	0	0	0 (busuk)
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0





Gambar II.2 Buah tomat busuk dan tidak busuk pada tiga variasi pengujian (pengamatan hari ke-15)

- Keterangan :**
- a. sampel buah tomat dilukai pada pengujian aplikasi *Candida* sp. UICC Y-328 dan spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.
 - b. sampel buah tomat pada pengujian aplikasi akuades steril dan spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.
 - c. sampel buah tomat pada pengujian aplikasi fungisida sintetik Dithane M-45 0,08% dan spora *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3.

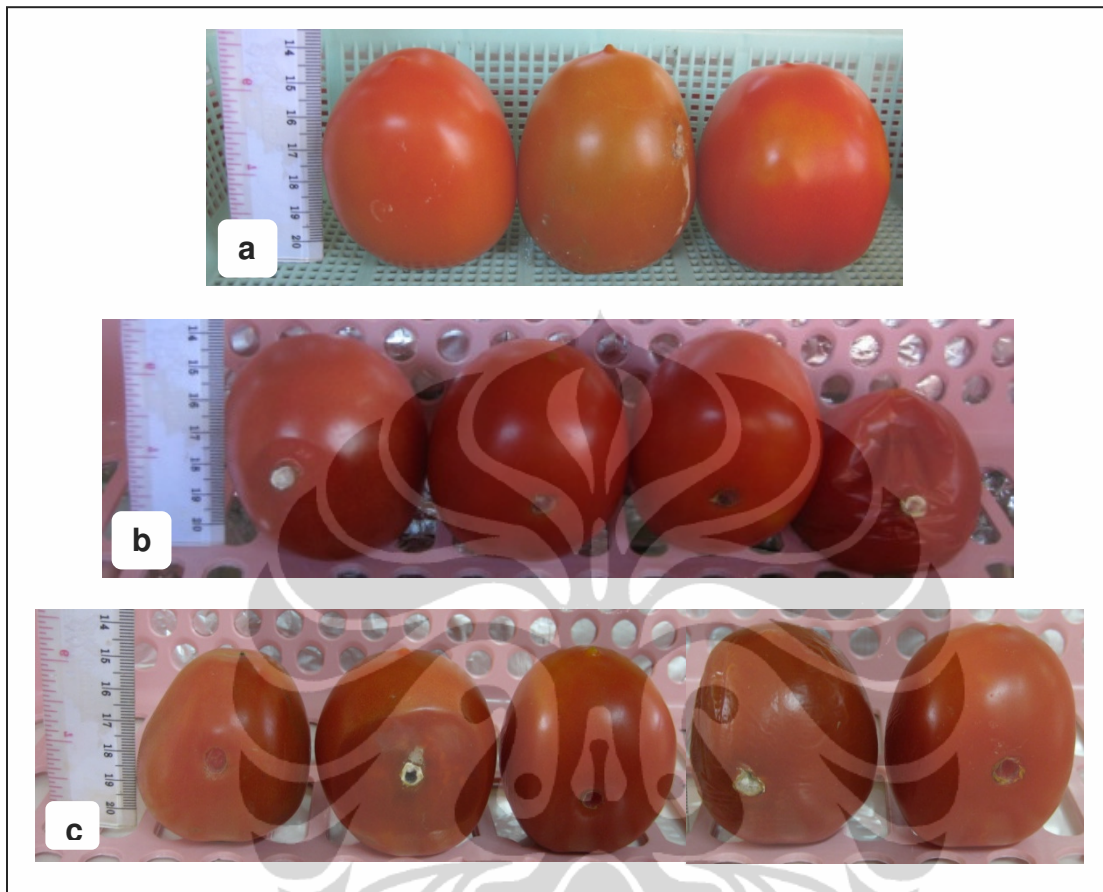


Gambar II.3 Buah tomat tidak dilukai dengan aplikasi suspensi sel *Candida* sp. UICC Y-328 tidak mengalami kebusukan serupa dengan buah tomat tanpa perlakuan (pengamatan hari ke-15)

Keterangan : a. sampel buah tomat tidak dilukai, disiram suspensi sel *Candida* sp. UICC Y-328
b. sampel buah tomat tanpa perlakuan



Gambar II.4 Buah tomat dilukai dengan aplikasi suspensi sel *Candida* sp. UICC Y-328 mengalami kebusukan (pengamatan hari ke-15)



Gambar II.5 Buah tomat dengan aplikasi luka dan akuades steril mengalami kebusukan (pengamatan hari ke-15)

Keterangan : a. sampel buah tomat tidak dilukai dan disiram akuades steril
b. sampel buah tomat dilukai dan diinokulasi akuades steril
c. sampel buah tomat hanya dilukai

DISKUSI PARIPURNA

Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill) merupakan salah satu komoditas buah yang rentan terhadap kerusakan akibat fungi. Dal Bello *dkk.* (2007: 257) melaporkan fungi dapat menginfeksi buah tomat melalui luka pada bagian permukaan yang timbul akibat aktivitas pascapanen yang buruk. Selama tahap penyimpanan, infeksi tersebut berkembang, hingga akhirnya mengakibatkan kebusukan pada buah. Kerugian pascapanen akibat infeksi fungi dapat berkisar 5--20%, bahkan di negara berkembang kerugian tersebut dapat mencapai 50% (Pimenta *dkk.* 2007: 85).

Penggunaan fungisida sintetik merupakan tindakan paling efektif dalam mengontrol infeksi fungi pada buah. Namun, penggunaan fungisida dalam jangka waktu lama dapat mengakibatkan resistensi fungi dan meninggalkan residu yang mencemari lingkungan. Kesadaran manusia terhadap hal tersebut, mendorong ditemukannya alternatif pengganti fungisida dalam mengontrol infeksi fungi pada buah (Thonglem *dkk.* 2007: 208).

Penggunaan biokontrol merupakan salah satu alternatif fungisida sintetik yang mulai dikembangkan. Secara umum, biokontrol didefinisikan sebagai penggunaan suatu organisme untuk mengontrol organisme lain (Drufevors 2004: 8). Dalam ruang lingkup patologi tumbuhan, biokontrol didefinisikan sebagai penggunaan suatu mikroorganisme antagonis untuk mengontrol mikroorganisme patogen pada tumbuhan. Mikroorganisme

antagonis tersebut dinamakan agen biokontrol (Pal & McSpadden Gardener 2006: 1).

Khamir epifit merupakan salah satu agen biokontrol potensial.

Khamir epifit merupakan khamir yang secara alami tumbuh di permukaan bagian tumbuhan seperti akar, batang, daun, bunga, atau buah. Pimenta *dkk.* (2008: 85) melaporkan bahwa khamir epifit memiliki karakter dapat berkolonisasi dengan cepat dan dapat bertahan hidup pada permukaan buah dalam jangka waktu lama. Karakter-karakter tersebut dapat memberikan kemampuan kepada khamir untuk berkompetisi dengan fungi patogen pada tumbuhan.

Khamir epifit yang berpotensi sebagai biokontrol dapat berinteraksi antagonisme dengan fungi patogen pada tumbuhan. Menurut Batzing (2002: 696) antagonisme didefinisikan sebagai interaksi yang menimbulkan efek merugikan pada pertumbuhan salah satu mikroorganisme, sedangkan mikroorganisme lain diuntungkan. Kemampuan mikroorganisme dalam menekan pertumbuhan mikroorganisme lain disebut sebagai kemampuan antagonistik. Mikroorganisme yang memiliki kemampuan antagonistik disebut sebagai mikroorganisme antagonis.

University Indonesia Culture Collection (UICC) memiliki koleksi khamir epifit yang diisolasi dari daun, bunga dan polen tumbuhan di Kebun Raya Cibodas. Informasi mengenai kemampuan antagonistik khamir epifit dari genus *Candida*, *Cryptococcus*, dan *Metschnikowia* dan potensinya sebagai biokontrol kapang pada tomat pascapanen belum diketahui.

Pengujian antagonisme secara *in vitro* menggunakan *strip method* menunjukkan khamir-khamir epifit memiliki kemampuan antagonistik terhadap kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3, *Asp. terreus* D2.2.MC, dan *Drechslera* sp. D1.3.MC. Hasil pengamatan selama enam hari menunjukkan adanya reduksi lebar koloni kapang setelah ditumbuhkan dalam medium yang sama dengan masing-masing khamir epifit. Persentase reduksi lebar koloni kapang oleh masing-masing khamir epifit menunjukkan nilai yang berbeda. Hal tersebut mengindikasikan masing-masing khamir epifit memiliki kemampuan antagonistik berbeda terhadap kapang yang berbeda. *Candida* sp. UICC Y-328 adalah khamir epifit yang memiliki kemampuan antagonistik paling potensial terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 karena dapat mereduksi lebar koloni *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 hingga 56,45% setelah enam hari inkubasi. *Metschnikowia reukaufii* UICC Y-351 merupakan khamir epifit yang memiliki kemampuan antagonistik paling potensial terhadap *Asp. terreus* D2.2.MC dan *Drechslera* sp. D1.3.MC karena dapat mereduksi lebar koloni *Asp. terreus* D2.2.MC hingga 25,42% dan mereduksi lebar koloni *Drechslera* sp. D1.3.MC hingga 51,28% setelah enam hari inkubasi. Spadaro (2002: 32--34) melaporkan empat strain berbeda dari khamir *Metschnikowia pulcherrima* memiliki kemampuan yang berbeda dalam mereduksi diameter miselium kapang yang berbeda.

Mekanisme yang diduga terlibat dalam kemampuan khamir epifit untuk menghambat pertumbuhan hifa atau miselium kapang adalah kompetisi nutrisi dan ruang hidup. Khamir epifit dengan jumlah sel lebih tinggi

daripada jumlah sel kapang akan menyerap nutrisi dalam medium lebih banyak. Hal tersebut menyebabkan spora kapang yang diinokulasikan setelah khamir melakukan pertumbuhan, akan mengalami kekurangan nutrisi dan ruang dan dapat menyebabkan pertumbuhan koloni kapang terhambat. Menurut Fonseca dan Inacio (2006: 289) salah satu karakteristik khamir epifit adalah dapat memperbanyak diri secara cepat. Spadaro (2002: 37) melaporkan kemampuan empat strain *M. pulcherrima* dalam menghambat pertumbuhan koloni kapang *Alternaria* sp., *Botrytis cinerea*, *Monilia* sp., dan *Penicillium expansum* melibatkan kompetisi nutrisi dan ruang.

Pengujian antagonisme secara *in vitro* menggunakan *co-culture* menunjukkan khamir epifit memiliki kemampuan antagonistik terhadap kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 serta *Asp. terreus* D2.2.MC. Kemampuan antagonistik khamir epifit ditunjukkan dengan adanya penghambatan pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi kapang tersebut oleh setiap khamir epifit. Penghambatan pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi kapang-kapang tersebut oleh masing-masing khamir epifit terjadi dalam jangka waktu yang berbeda. Hal tersebut mengindikasikan khamir epifit memiliki kemampuan antagonistik yang berbeda terhadap kapang yang berbeda. Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 dan *Cryptococcus laurentii* UICC Y-379 memiliki kemampuan antagonistik paling potensial terhadap *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 karena dapat menghambat pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi hingga hari ke

enam inkubasi. *Cryptococcus laurentii* UICC Y-379 juga memiliki kemampuan antagonistik paling potensial terhadap *Asp. terreus* D2.2.MC karena dapat menghambat pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi hingga hari keenam inkubasi.

Khamir antagonis diduga lebih banyak menyerap nutrisi dalam medium, sehingga ketika spora kapang diinokulasikan ke dalam medium yang sama, ketersediaan nutrisi yang ada tidak cukup untuk mendukung terjadinya germinasi spora. Janisiewicz *dkk.* (2000: 1198--1200) melaporkan kemampuan khamir antagonis *Aureobasidium pullulans* dalam berkompetisi memperoleh nutrisi dengan kapang *Penicillium expansum*. Spora *Pen. expansum* tidak mengalami germinasi saat ditumbuhkan pada medium jus apel yang ditumbuhi oleh khamir antagonis. Spora kapang tersebut mulai mengalami germinasi setelah ditumbuhkan dalam medium jus apel yang tidak ditumbuhi oleh khamir antagonis.

Hasil pengujian antagonisme menggunakan *slide culture* menunjukkan sel-sel dari lima spesies khamir epifit memiliki kemampuan melekat pada dinding hifa vegetatif kapang *Drechslera* sp. D1.3.MC. Hanya sel-sel *Cryptococcus* sp. UICC Y-385 tidak memiliki kemampuan untuk melekat pada dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC. El Ghouth *dkk.* (2002: 344) melaporkan bahwa khamir antagonis memiliki kemampuan untuk melekat pada dinding sel fungi.

Pelekatan sel khamir epifit pada dinding hifa vegetatif *Drechslera* sp. D1.3.MC tidak disertai oleh perubahan morfologi pada hifa kapang tersebut.

Saligkarias *dkk.* (2002: 155) melaporkan kemampuan khamir epifit *Candida guilliermondii* strain 101, *C. guilliermondii* strain US 7, dan *C. oleophila* strain I-182: II dalam melekat pada dinding hifa *B. cinerea* tanpa adanya perubahan morfologi pada hifa kapang tersebut.

Pengamatan mikroskopik pada pengujian *slide culture* 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 *Pichia membranifaciens*; kapang *Moniliella fruticola* dan *Pen. expansum* yang ditumbuhkan bersama pada medium jus apel agar. Hasil pengamatan menunjukkan kemampuan sel-sel khamir *Cr. albidus* dan *P. membranifaciens* melekat pada dinding hifa kedua kapang. Pengamatan lebih lanjut menggunakan SEM menunjukkan adanya akumulasi matriks ekstraseluler dari khamir *Cr. 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* dan *co-culture* menghasilkan *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai khamir epifit dengan kemampuan antagonistik paling potensial. Kapang paling sensitif terhadap khamir tersebut adalah *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3. *Candida* sp. UICC Y-328 kemudian digunakan dalam penelitian potensi khamir epifit sebagai agen biokontrol kapang pada buah tomat. *Candida* sp. UICC Y-328 merupakan khamir yang diisolasi dari permukaan bunga *Rhodomyrtus tomentosa*. Dal Bello (2008: 261) melaporkan bahwa khamir yang diisolasi dari permukaan bagian tumbuhan secara alami memiliki kemampuan tumbuh pada substrat dengan keterbatasan nutrien, dan mampu berkolonisasi dengan cepat pada permukaan substrat.

Hasil pengujian biokontrol menunjukkan aplikasi *Candida* sp. UICC Y-328 dapat mereduksi kebusukan buah tomat akibat infeksi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 hingga 20% sampai dengan 15 hari. Aplikasi fungisida sintetik Dithane M-45 0,08% dapat mereduksi kebusukan buah tomat akibat infeksi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 hingga 70% sampai dengan 15 hari. Hal tersebut mengindikasikan bahwa kemampuan *Candida* sp. UICC Y-328 dalam mereduksi kebusukan akibat infeksi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat belum setara dengan kemampuan fungisida sintetik Dithane M-45 0,08%. Dal Bello (2008: 259) melaporkan kemampuan *C. pelliculosa* yang dapat mereduksi kebusukan buah tomat akibat infeksi kapang *B. cinerea* pada kisaran 55--100%.

Kemampuan 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 nutrisi dan ruang hidup lebih banyak daripada kapang, serta melakukan pelekatan sel-sel khamir pada dinding kapang untuk menghalangi penyerapan nutrisi oleh hifa kapang.

Penggunaan khamir *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai agen biokontrol kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 belum dapat diaplikasikan dalam dunia pertanian sebagai alternatif pengganti fungisida sintetik. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk menyeleksi kandidat khamir antagonis lain yang memiliki potensi lebih besar dibandingkan *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai biokontrol kapang pada buah tomat.

RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN

Pengujian antagonisme menggunakan *strip method*, *co-culture* dan *slide culture* menunjukkan enam spesies khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas, Jawa Barat memiliki kemampuan antagonistik yang berbeda terhadap kapang yang berbeda. Kemampuan enam spesies khamir epifit dalam menghambat pertumbuhan kapang diduga melibatkan mekanisme kompetisi untuk memperoleh nutrisi dan ruang hidup dengan cara beradaptasi dalam medium lebih cepat, melakukan perbanyakan sel lebih cepat, memanfaatkan nutrisi dan ruang hidup lebih banyak, dan melakukan pelekatan sel pada dinding hifa kapang.

Khamir epifit *Candida* sp. UICC Y-328 memiliki kemampuan antagonistik paling potensial berdasarkan pengujian antagonisme menggunakan *strip method* dan *co-culture*. Pengujian *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai agen biokontrol pada buah tomat pascapanen memperlihatkan *Candida* sp. UICC Y-328 dapat mereduksi kebusukan akibat infeksi *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat hingga 20% dalam jangka waktu 15 hari. Kemampuan *Candida* sp. UICC Y-328 dalam mereduksi kebusukan akibat infeksi kapang *Asp. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat belum menyamai kemampuan fungisida sintetik Dithane M-45 0,08%, sehingga *Candida* sp. UICC Y-328 belum dapat digunakan sebagai alternatif fungisida sintetik.

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan adanya penambahan selang waktu inkubasi antara khamir dan kapang untuk memberikan kesempatan adaptasi dalam medium, perolehan nutrien, dan perolehan ruang lebih banyak kepada khamir epifit. Dengan demikian, kemampuan antagonistik khamir epifit diharapkan dapat lebih optimum. Selain itu, penggunaan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) atau *Transmission Electron Microscopy* (TEM) juga perlu dilakukan untuk mengamati lebih jelas perubahan morfologi kapang akibat interaksi antagonisme dengan khamir epifit. Perlu dilakukan seleksi kandidat khamir antagonis lain yang memiliki potensi lebih besar dibandingkan *Candida* sp. UICC Y-328 sebagai agen biokontrol kapang pada buah tomat. Seleksi perlu memerhatikan kemampuan khamir epifit dalam menyebabkan perubahan morfologi kapang sebagai dasar pemilihan utama.