

**PENGUJIAN KEMAMPUAN ANTAGONISTIK KHAMIR *Rhodotorula* spp.
ASAL KEBUN RAYA CIBODAS DAN POTENSI *Rhodotorula* sp. UICC
Y-381 SEBAGAI AGEN BIOKONTROL *Aspergillus ochraceus* PADA
TOMAT PASCAPANEN**

ANGGITA RAHMI HAFSARI

0706298874



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
2010**

**PENGUJIAN KEMAMPUAN ANTAGONISTIK KHAMIR *Rhodotorula* spp.
ASAL KEBUN RAYA CIBODAS DAN POTENSI *Rhodotorula* sp. UICC
Y-381 SEBAGAI AGEN BIOKONTROL *Aspergillus ochraceus* PADA
TOMAT PASCAPANEN**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk

memperoleh gelar Magister Sains

Oleh:

ANGGITA RAHMI HAFSARI

0706298874



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM PASCASARJANA
PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPOK
2010

JUDUL : PENGUJIAN KEMAMPUAN ANTAGONISTIK KHAMIR
Rhodotorula spp. ASAL KEBUN RAYA CIBODAS DAN
POTENSI *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 SEBAGAI
AGEN BIOKONTROL *Aspergillus ochraceus* PADA
TOMAT PASCAPANEN

NAMA : ANGGITA RAHMI HAFSARI

NPM : 0706298874

MENYETUJUI :

1. Komisi Pembimbing

Miyautik

Ariyanti Oetari, Ph.D.
Pembimbing I

S. A. Salamah
Dr. Andi Salamah
Pembimbing II

2. Pengaji

S. J. Sjamsuridzal
Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D.
Pengaji I

S. Susiani Purbaningsih
Dr. Susiani Purbaningsih, DEA
Pengaji II

3. Ketua Program Studi Biologi

**4. Ketua Program
Pascasarjana FMIPA UI**

Dr. Luthfiralda Sjahfirdi, M.Biomed

Dr. Adi Basukriadi, M.Sc.

Tanggal Lulus: 23 Desember 2009

Name : Anggita Rahmi Hafsari

Title : STUDY ON THE ANTAGONISTIC ABILITY OF *Rhodotorula* spp. OF CIBODAS BOTANICAL GARDEN AND THE POTENTIAL OF *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 AS A BIOCONTROL AGENT OF *Aspergillus ochraceus* ON POSTHARVEST TOMATOES

Thesis Supervisors : Ariyanti Oetari, Ph.D.

Dr. Andi Salamah

SUMMARY

Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by antagonistic microorganism seems increasingly promising to replace the use of synthetic fungicides which are subjected to some limitation due to development of fungicides-resistant strain of the pathogens and risk for consumers and the environment (Lima *et al.*, 1999). Several species of yeast have been reported to reduce postharvest fungal decay on fruits. One of the antagonistic yeast that has been used as commercial biocontrol is *Metschnikowia fructicola* in Shemer™ product (Vero *et al.*, 2002).

Yeast *Rhodotorula* has been studied for the postharvest biological control various mould pathogens on various fruit (Castoria *et al.*, 1997). University of Indonesia Culture Collection (UICC) have *Rhodotorula* spp. strains from plants of Cibodas Botanical Garden, and moulds from postharvest decayed-tomatoes and plants. The ability of these yeast strains as biocontrol agents against has not been reported.

This thesis consists of two parts. Part 1 is entitled The antagonistic Activity of *Rhodotorula* spp. from Cibodas Botanical Garden Against Tomato Plant Infected-Causing Moulds. Part 2 is entitled The Potential of *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 as Biocontrol Agent of *Aspergillus ochraceus* on Postharvest Tomatoes. The objectives of this research are to obtain a potential *Rhodotorula* sp. with antagonistic activity against tomato infected-causing moulds, and to obtain information on the ability of *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 as a biocontrol agent in reducing the severity of decay by *Aspergillus ochraceus*. The research was carried out in Laboratory of Microbiology, Department of Biology, and Center of Excellence Indigenous Biological Resources-Genome Studies (CoE IBR-GS), Faculty of Mathematics and Natural Sciences, from July 2008-July 2009.

Yeast Malt Agar (YMA) was used for yeast growth medium, and Potato Dextrose Agar (PDA) was used for maintenance of fungi. The media PDA and Potato Dextrose Agar (PDB) were used for antagonistic test.

Six strains of *Rhodotorula* spp. (*Rhodotorula* sp. UICC Y-318, *Rhodotorula* sp. UICC Y-325, *Rhodotorula* sp. UICC Y-332, *Rhodotorula* sp. UICC Y-381, *Rhodotorula* sp. UICC Y-384, and *Rhodotorula* sp. UICC Y-386) were investigated as antagonistic yeasts against *Aspergillus ochraceus* D1.2.2.SSM3, *A. terreus* D2.2.MC, and *Drechslera* sp. D1.3.MC. The yeasts were obtained from plants of Cibodas Botanical Garden, and the moulds were obtained from decayed tomatoes and infected plants, belonging to the University of Indonesia Culture Collection (UICC).

Antagonistic test by strip method was carried out by using concentration of yeast cells at $(1.2\text{--}5.2) \times 10^8$ CFU/ml, and *A. ochraceus* D1.2.2.SSM3 at 4.7×10^9 CFU/ml, *A. terreus* D2.2.MC at 3.2×10^8 CFU/ml, and *Drechslera* sp. D1.3.MC at 5.2×10^4 CFU/ml. Inoculation of the yeast cells on PDA was carried out 4 hours earlier before inoculation of mould spores on petri dishes. Results showed that highest percentage reduction of mould colonies was shown by *Rhodotorula* sp. UICC Y- 325 against *Drechslera* sp. (28.12%–72.14%), followed by *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 against *A. ochraceus* (54.28%–72.46%), and *Rhodotorula* sp. Y-318 against *A. terreus* (21.76% – 58.10%) during 6-day incubation.

Antagonistic test by co-culture method was carried out by using concentration of yeast cells at $(1.58\text{--}5.59) \times 10^8$ CFU/ml, and *Aspergillus ochraceus* D1.2.2.SSM3 at 7×10^7 CFU/ml, *A. terreus* D2.2.MC at 7.5×10^7 CFU/ml. Inoculation of the yeast cells on PDB was carried out 8 hours earlier before inoculation of mould spores on broth medium. Results showed that highest percentage reduction of conidial heads and hyphal width was shown by *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 against *A. ochraceus* (9.45% and 12.43%; 7.10% and 7.51%, after 2- and 3-day incubation, respectively). *Rhodotorula* sp. UICC Y-332 reduced conidial heads of *A. terreus* (10.17% and 9.60% after 2- and 3-day incubation) but, was not able to reduce hyphal width of *A. terreus*. Microscopic observation by slide culture method on PDA showed that there was attachment of *Rhodotorula* spp. cells to the hyphae of

Drechslera sp., however, *Rhodotorula* spp. UICC Y-386 attached more intensively and colonized the hyphae.

The ability of *Rhodotorula* sp. UICC Y-381, which was isolated from plant leaves, as a biocontrol agent against postharvest tomato fruit decay-causing mould *Aspergillus ochraceus* D1.2.2.SSM3 was evaluated. Observation was carried out for 15 days at 25°C - 27°C. Results showed that *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 was able to reduce the severity of decay by *A. ochraceus* with 100% reduction until day-12, when compared to control. The synthetic fungicide Dithane M-45 at a concentration of 0.08% reduced the severity of decay to 100% until 15-day incubation.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis yang berjudul **"PENGUJIAN KEMAMPUAN ANTAGONISTIK KHAMIR *Rhodotorula* spp. ASAL KEBUN RAYA CIBODAS DAN POTENSI *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 SEBAGAI AGEN BIOKONTROL *Aspergillus ochraceus* PADA TOMAT PASCAPANEN".**

Penghargaan, rasa hormat, dan ucapan terima kasih yang tidak terhingga penulis haturkan kepada Ariyanti Oetari, Ph.D. selaku Pembimbing I dan Dr. Andi Salamah selaku Pembimbing II yang tiada hentinya memberikan bekal ilmu, perhatian, arahan, dukungan, waktu, tenaga dan pikiran selama proses penelitian dan penulisan tesis, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik. Terima kasih kepada Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. dan Dr. Susiani Purbaningsih yang telah memberikan banyak masukan dan bantuan dalam menyelesaikan tesis ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Departemen Agama (Depag) yang telah memberikan beasiswa penuh selama menjalankan perkuliahan dan Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat (DRPM) Universitas Indonesia melalui Hibah Riset Unggulan Universitas Indonesia (RUUI) 2007 melalui yang telah memberikan dana selama penulis melaksanakan penelitian.

Terima kasih secara khusus penulis sampaikan kepada orang tuaku, suamiku Taufiq Hadisaputro dan anakku Alexandra Shezan yang selalu memberikan dukungan dan semangat, rekan-rekan Lab Mikrobiologi Departemen Biologi FMIPA dan Pascasarjana FMIPA UI, serta rekan-rekan yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah membantu penelitian maupun penyusunan tesis ini.

Penelitian dan penyusunan tesis ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat diharapkan. Semoga tesis ini berguna dan dapat menambah informasi tentang khamir Indigenous Indonesia yang mempunyai kemampuan antagonistik potensial yang dapat digunakan sebagai agen biokontrol pada buah tomat pascapanen.

Depok, 14 Desember 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
SUMMARY	iii
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
PENGANTAR PARIPURNA	1
MAKALAH I: PENGUJIAN KEMAMPUAN ANTAGONISTIK <i>Rhodotorula</i> spp. ASAL KEBUN RAYA CIBODAS TERHADAP KAPANG DARI TANAMAN TOMAT TERINFEKSI	
Pendahuluan	5
Lokasi dan Waktu penelitian.....	8
Alat, Bahan dan Cara Kerja	9
Hasil dan Pembahasan	15
Kesimpulan dan Saran	29
Daftar Acuan	30
Gambar	36
Tabel	43
MAKALAH II: POTENSI <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381 SEBAGAI AGEN BIOKONTROL <i>Aspergillus</i> <i>ochraceus</i> PADA TOMAT PASCAPANEN	
Pendahuluan	72
Lokasi dan Waktu penelitian.....	74
Alat, Bahan dan Cara Kerja	75
Hasil dan Pembahasan	82
Kesimpulan dan Saran	92
Daftar Acuan	94
Gambar	99
Tabel	101
DISKUSI PARIPURNA	103
RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN	113
DAFTAR ACUAN	115

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar I.1. Khamir-khamir <i>Rhodotorula</i> spp. yang berasal dari tumbuhan di Kebun Raya Cibodas pada medium PDA, umur 1 minggu.....	36
Gambar I.2 Spesies kapang yang berasal dari tanaman tomat terinfeksi pada medium PDA, umur 2 minggu	36
Gambar I.3. Tiga strain khamir <i>Rhodotorula</i> sp. yang memiliki persentase reduksi dengan nilai kisaran terbesar pada <i>strip method</i> , inkubasi hari ke-2 pada suhu 25—27 °C, di medium PDA	37
Gambar I.4. Ko-kultur koloni kapang <i>Aspergillus ochraceus</i> dan <i>Aspergillus terreus</i> umur 6 hari pada medium PDB pH 5 pada suhu 25—27 °C	38
Gambar I.5. Ko-kultur koloni kapang <i>Aspergillus ochraceus</i> umur 6 hari dengan khamir <i>Rhodotorula</i> sp., pada medium PDB pH 5 pada suhu 25—27 °C.....	39
Gambar I.6. Ko-kultur khamir <i>Rhodotorula</i> sp koloni kapang <i>Aspergillus terreus</i> umur 6 hari dengan., pada medium PDB pH 5 pada suhu 25—27 °C.....	39
Gambar I.7. Pengamatan mikroskopis kapang <i>Aspergillus ochraceus</i> dan <i>Aspergillus terreus</i> pada kontrol dan perlakuan pada hari ke-3 inkubasi, pada suhu 25—27 °C	40
Gambar I.8 Pengamatan mikroskopis enam strain <i>Rhodotorula</i> sp. yang menempel pada <i>Drechslera</i> sp. pada <i>slide culture</i> , inkubasi 3 hari, suhu 25—27 °C	41
Gambar II.1 Buah tomat yang dilukai pada berbagai perlakuan, inkubasi 15 hari, pada suhu 25—27 °C	101
Gambar II.2 Buah tomat yang tidak dilukai pada berbagai perlakuan, inkubasi hari ke-15, pada suhu 25—27°C	101

DAFTAR TABEL

Tabel I.1	Data asal dan identitas strain khamir UICC dari Kebun Raya Cibodas	43
Tabel I.2.	Data asal isolat dan identitas kapang patogen.....	43
Tabel I.3	Hasil penghitungan jumlah sel khamir dalam inokulum yang digunakan untuk uji antagonisme dengan <i>strip method</i> , dihitung setelah umur 48 jam pada medium PCA dengan metode <i>Total Plate Count (TPC)</i>	43
Tabel I.4	Hasil penghitungan jumlah sel kapang dalam inokulum yang digunakan untuk uji antagonisme dengan <i>strip method</i> , dihitung setelah umur 48 jam pada medium PCA dengan metode <i>Total Plate Count (TPC)</i>	44
Tabel I.5.	Hasil pengukuran lebar kapang <i>Drechslera sp.</i> pada medium kontrol selama 6 hari, suhu 25—27 °C, pada medium PDA	44
Tabel I.6.	Persentase reduksi lebar koloni kapang <i>Drechslera sp.</i> oleh khamir <i>Rhodotoula spp.</i> pada pengujian antagonisme dengan <i>strip method</i> dari hari ke-2 hingga hari ke-6, pada medium PDA, suhu 25—27 °C	45
Tabel I.7.	Hasil pengukuran lebar kapang <i>Aspergillus ochraceus</i> pada medium kontrol selama 6 hari, suhu ruang (25—27 °C), pada medium PDA	47
Tabel I.8.	Persentase reduksi lebar koloni kapang <i>Aspergillus ochraceus</i> oleh khamir <i>Rhodotoula spp.</i> pada pengujian antagonisme dengan <i>strip method</i> dari hari ke-2 hingga hari ke-6, pada medium PDA, suhu 25—27 °C	48
Tabel I.9.	Hasil pengukuran lebar kapang <i>Aspergillus terreus</i> pada medium kontrol selama 6 hari, suhu ruang (25—27 °C), pada medium PDA	50
Tabel I.10.	Persentase reduksi lebar koloni kapang <i>Aspergillus terreus</i> oleh khamir <i>Rhodotoula spp.</i> pada pengujian antagonisme dengan <i>strip method</i> dari hari ke-2 hingga hari ke-6, pada medium PDA, suhu 25—27 °C.....	51

Tabel I.11	Hasil penghitungan jumlah sel khamir dan kapang dalam inokulum yang digunakan untuk uji antagonisme dengan ko-kultur, dihitung setelah umur 48 jam pada medium PCA dengan metode <i>Total Plate Count (TPC)</i>	53
Tabel I.12	Hasil penghitungan jumlah sel kapang dalam inokulum yang digunakan untuk uji antagonisme dengan ko-kultur, dihitung setelah umur 48 jam pada medium PCA dengan metode <i>Total Plate Count (TPC)</i>	53
Tabel I.13	Hasil pengamatan makroskopis uji antagonisme khamir <i>Rhodotorula</i> spp. terhadap kapang <i>Aspergillus ochraceus</i> dengan metode ko kultur pada medium PDB pH 5	54
Tabel I.14.	Hasil pengamatan makroskopis uji antagonisme khamir <i>Rhodotorula</i> spp. terhadap kapang <i>Aspergillus terreus</i> dengan metode ko kultur pada medium PDB pH 5	54
Tabel I.15.	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa kontrol <i>A.ochraceus</i> pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.....	55
Tabel I.16	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>A.ochraceus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-318 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	56
Tabel I.17	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>A.ochraceus Rhodotorula</i> sp. yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-325 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.....	57
Tabel I.18	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>A.ochraceus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-332 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	58
Tabel I.19.	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>A.ochraceus</i> . yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp UICC Y-381 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.....	59

Tabel I.20.	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>A.ochraceus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-384 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	60
Tabel I.21.	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>A.ochraceus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-386 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	61
Tabel I.22.	Persentase reduksi kepala konidia dan lebar hifa kapang <i>Aspergillus ochraceus</i> oleh khamir <i>Rhodotorula</i> sp. pada inkubasi hari ke-2 dan ke-3	62
Tabel I.23.	Hasil penghitungan jumlah khamir <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381 dan <i>A. ochraeus</i> sp. dalam uji antagonisme dengan metode ko-kultur, inkubasi hari ke-3 dan ke-6, dihitung setelah umur 48 jam dalam medium PDB pH 5, dengan metode TPC	63
Tabel I.24	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa kontrol <i>Aspergillus terreus</i> pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	64
Tabel I.25.	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>Aspergillus terreus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-318 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	65
Tabel I.26	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>Aspergillus terreus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-325 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	66
Tabel I.27	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>Aspergillus terreus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-332 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	67
Tabel I.28	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>Aspergillus terreus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	68

Tabel I.29	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>Aspergillus terreus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-384 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.....	69
Tabel I.30	Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa <i>Aspergillus terreus</i> yang di ko-kultur dengan <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-386 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi	70
Tabel I.31	Persentase reduksi kepala konidia dan lebar hifa kapang <i>Aspergillus terreus</i> oleh khamir <i>Rhodotorula</i> sp. pada inkubasi hari ke-2 dan ke-3	71
Tabel II.1	Persentase jumlah kebusukan luka pada buah tomat	101
Tabel II.2	Persentase reduksi jumlah kebusukan pada buah tomat di berbagai perlakuan dibandingkan dengan persentase kebusukan pada kontrol kapang.....	102

PENGANTAR PARIPURNA

Biokontrol merupakan cara untuk mengontrol suatu organisme oleh organisme lain yang merupakan musuh alaminya dengan kemampuan antagonistik (Moore & Landecker 1996). Kemampuan antagonistik adalah kemampuan suatu mikroorganisme untuk mengganggu pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain (Ray, 2004). Salah satu mikroorganisme antagonistik yang dapat digunakan sebagai biokontrol adalah khamir (Vero dkk., 2002).

Khamir dapat digunakan sebagai biokontrol karena memiliki karakteristik bereproduksi dengan cepat sehingga cepat menguasai nutrien dan ruang (Droby dkk. 1993). Karakteristik lainnya adalah khamir tidak menyebabkan resistensi dan mampu menghasilkan enzim hidrolitik yang dapat mendegradasi dinding sel kapang. Walaupun khamir mampu menghasilkan metabolit sekunder, namun tidak berbahaya bagi manusia (Lima dkk. 1999). Selain itu, khamir dapat bertahan terhadap kekeringan dan cahaya matahari yang kuat (Fonseca & Inacio, 2006). Kemampuan yang dimiliki khamir tersebut dapat memberikan keuntungan kompetitif untuk melawan kapang patogen penyebab kebusukan pada buah tomat pascapanen.

Beberapa penelitian terdahulu telah meneliti kemampuan khamir untuk menghambat pertumbuhan kapang. Kalogiannis dkk. (2006) melaporkan *Rhodotorula glutinis* Y-44 dapat mengurangi penyakit *grey mould* pada tomat

yang disebabkan oleh *Botrytis cinerea* sebesar 52% bila dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan khamir. Bar-Shimon dkk. (2000) melaporkan *Candida oleophila* mampu menghambat germinasi dan pemanjangan hifa dari *Penicillium digitatum* dengan menyekresikan enzim β -1,3 glukanase, kitinase dan protease pada penelitian secara *in vitro*. Saravanakumar dkk. (2008) menunjukkan bahwa *Metchnikowia pulcherrima* Pitt & M. W. Miller strain MACH1 dapat menghambat produksi spora kapang *B. cinerea* dengan menyekresikan enzim kitinase pada penelitian secara *in vitro*.

Janisiewicz dkk. (2008) melaporkan beberapa khamir antagonistik telah diproduksi secara komersial sebagai produk biokontrol terhadap kapang patogen pada buah-buahan. YieldPlusTM yang dipasarkan di Cape Town, Afrika Selatan, mengandung khamir *Cryptococcus albidus* yang digunakan sebagai biokontrol kapang *Botrytis*, *Penicillium*, *Mucor* pada buah apel dan pir. ShemerTM yang dipasarkan di Israel, mengandung khamir *Monilinia fructicola* yang digunakan sebagai biokontrol pada buah anggur dan stoberi. AspireTM yang dipasarkan di Amerika Serikat, mengandung *Candida oleophila* yang digunakan untuk membunuh kapang patogen pada buah delima dan jeruk.

University of Indonesia Culture Collection (UICC) memiliki koleksi strain-strain khamir *Rhodotorula* spp. yang berasal dari bunga dan daun di Kebun Raya Cibodas dan isolat kapang patogen dari buah tomat yang termasuk ke dalam genus *Aspergillus*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Galactomyces*,

Moniliela, *Penicillium* dan *Rhizopus* yang berasal dari buah dan daun tanaman tomat terinfeksi di Bogor, Depok, dan Tangerang. Oetari, dkk.(2007) melaporkan genus *Aspergillus* dan *Drechslera* paling banyak ditemukan pada buah tomat busuk. Kemampuan antagonistik dan biokontrol khamir *Rhodotorula* spp. untuk menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus* dan *Drechslera* koleksi UICC tersebut hingga saat ini belum diketahui. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan informasi mengenai kemampuan antagonistik dan biokontrol khamir *Rhodotorula* spp. terhadap kapang *Aspergillus* dan *Drechslera* sp.

Kemampuan biokontrol khamir dapat diketahui melalui pengujian antagonistik dan pengujian biokontrol terhadap kapang patogen pada tomat. Pengujian antagonistik dilakukan dengan *strip method* berdasarkan Azizmohseni dkk. (2007) dan metode ko-kultur berdasarkan Oetari dkk. (2007). Pengujian biokontrol dilakukan dengan aplikasi langsung pada buah tomat pascapanen berdasarkan Kalogiannis dkk. (2006). Penelitian mengenai pengujian kemampuan antagonistik khamir *Rhodotorula* spp. dan potensinya sebagai biokontrol kapang patogen pada tomat pascapanen disusun menjadi dua makalah. Makalah I berjudul: Pengujian kemampuan antagonistik *Rhodotorula* spp. asal Kebun Raya Cibodas terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi dan makalah II berjudul: Potensi *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 sebagai agen biokontrol *Aspergillus ochraceus* pada tomat pascapanen.

Penelitian bertujuan memperoleh strain khamir *Rhodotorula* spp.

potensial yang mempunyai kemampuan antagonistik terhadap kapang patogen dari tanaman tomat terinfeksi dan mengetahui kemampuan strain khamir *Rhodotorula* spp. antagonistik potensial sebagai biokontrol terhadap kapang *A. ochraceus* pada tomat pascapanen.

Data hasil pengujian kemampuan antagonistik khamir *Rhodotorula* spp. diharapkan dapat memberikan informasi tentang strain khamir *Rhodotorula* yang potensial sebagai agen biokontrol terhadap kapang patogen pada tomat pascapanen. Agen biokontrol yang dihasilkan diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai produk komersial yang bermanfaat di bidang pertanian.



Makalah 1

PENGUJIAN KEMAMPUAN ANTAGONISTIK *Rhodotorula* spp. ASAL KEBUN RAYA CIBODAS TERHADAP KAPANG DARI TANAMAN TOMAT TERINFEKSI

Anggita Rahmi Hafsari

anggitarahmi@gmail.com

ABSTRACT

Six strains of *Rhodotorula* spp. (UICC Y-318, UICC Y-325, UICC Y-332, UICC Y-381, UICC Y-384, and UICC Y-386), from Cibodas Botanical Garden, were investigated as antagonistic yeasts against *Aspergillus ochraceus* D1.2.2.SSM3, *A. terreus* D2.2.MC, and *Drechslera* sp. D1.3.MC., which were isolated from decayed tomatoes and infected plants. Antagonistic test using strip method showed that highest percentage reduction of mould colonies was shown by *Rhodotorula* sp. UICC Y-325 against *Drechslera* sp. (28.12%—72.14%), followed by *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 against *A. ochraceus* (54.28%—72.46%), and *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 against *A. terreus* (21.76%—58.10%) during 6 day-incubation. Antagonistic test by co-culture method showed that highest percentage reduction of conidial heads and hyphal width was shown by *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 against *A. ochraceus* (9.45% and 12.43%; 7.10% and 7.51%, after 2- and 3-day incubation, respectively). Observation by slide culture method showed that all *Rhodotorula* spp. cells were able to attach to the hyphae of *Drechslera* sp., however, *Rhodotorula* spp. UICC Y-386 attached more intensively and colonized the hyphae. *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 was the most potential antagonist showed by the results from strip method and co-culture.

Keywords: Antagonistic test, *Aspergillus ochraceus*, *A. terreus*, colony reduction, *Drechslera* sp., hyphal attachment, *Rhodotorula* spp.

PENDAHULUAN

Kemampuan antagonistik adalah kemampuan suatu mikroorganisme untuk mengganggu pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain (Ray, 2004). Sementara itu, interaksi yang terjadi antara organisme antagonistik

dan organisme lain yang dihambatnya dinamakan antagonisme (Moore & Landecker 1996). Salah satu mikroorganisme antagonistik yang dapat dimanfaatkan untuk menghambat pertumbuhan kapang patogen yang menyerang buah dan sayuran pascapanen adalah khamir (Mari & Guizzardi, 1998).

Khamir dapat menghambat pertumbuhan kapang patogen melalui beberapa mekanisme seperti (1). kompetisi untuk nutrien dan ruang, (2). memproduksi enzim pendegradasi dinding sel seperti β -1,3 glukanase dan kitinase dan (3). dapat memproduksi metabolit sekunder yang tidak berbahaya bagi manusia (El-Tarably & Sivasithamparam, 2006).

Fonseca & Inacio (2006), melaporkan salah satu khamir yang berkemampuan antagonistik adalah *Rhodotorula*, yang umumnya ditemukan pada permukaan tumbuhan seperti bunga, buah, batang, dan daun. *Rhodotorula* bersifat oligotropik yaitu (1). mampu tumbuh pada kondisi miskin nutrien, (2). menghasilkan *extracellular polysaccharide* (EPS) yang berfungsi untuk mendukung kemampuannya bertahan hidup dan tumbuh pada lingkungan yang kekurangan air dan nutrien, (3). memproduksi enzim hidrolitik seperti kitinase, pektinase, (4). serta menghasilkan pigmen yang berfungsi untuk melindungi sel dari radiasi sinar UV. Karakteristik *Rhodotorula* tersebut dapat mendukung kemampuannya dalam melawan kapang patogen yang menyerang buah dan sayuran pascapanen.

Kemampuan antagonistik *Rhodotorula* telah diteliti terhadap beberapa kapang patogen. Coelho dkk. (2007) melaporkan *R. mucilaginosa* secara *in*

buah anggur dengan berkompetisi untuk nutrien dan ruang. Saravanakumar dkk. (2008) melaporkan *Rhodotorula* sp. PW34 secara *in vitro* mempunyai kemampuan antagonistik terhadap *B. cinerea* dengan menghambat produksi spora *B. cinerea* dengan menyekresikan enzim kitinase. Helbig (2008) melaporkan bahwa suspensi sel *R. glutinis* dapat menghambat laju germinasi sebesar 1% dan menghambat pertumbuhan konidia sebesar 53,2% apabila dibandingkan dengan kontrol pada percobaan menggunakan medium jus stroberi.

Oetari, dkk.(2007) melaporkan *Aspergillus*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Galactomyces*, *Moniliella*, *Penicillium* ditemukan pada buah dan tanaman tomat, genus *Aspergillus* dan *Drechslera* paling banyak ditemukan pada buah tomat busuk. *University of Indonesia Culture Collection* (UICC) memiliki koleksi enam strain khamir *Rhodotorula* spp. yang berasal dari bunga dan daun di Kebun Raya Cibodas. Kemampuan khamir *Rhodotorula* spp. untuk menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus* dan *Drechslera* koleksi UICC tersebut hingga saat ini belum diketahui. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan informasi mengenai kemampuan antagonistik khamir *Rhodotorula* spp. terhadap kapang *Aspergillus* dan *Drechslera*. Penelitian bertujuan memperoleh strain khamir *Rhodotorula* spp. potensial yang mempunyai kemampuan antagonistik terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi.

Kemampuan antagonistik khamir dapat diketahui melalui pengujian antagonisme.

Pengujian antagonisme dengan *strip method* berdasarkan Azizmohseni dkk. (2007). Kemampuan antagonistik khamir ditandai dengan terhambatnya pertumbuhan dan sporulasi kapang dibandingkan kapang kontrol. Pengujian antagonisme dengan ko-kultur berdasarkan Oetari dkk. (2007). Kemampuan antagonistik khamir ditandai dengan perubahan morfologi kapang dibandingkan kontrol. Pengujian antagonisme dengan *slide culture* berdasarkan Yarrow (1998) untuk melihat pembentukan miselium pada khamir. Metode tersebut dimodifikasi untuk melihat interaksi antara khamir *Rhodotorula* sp. dan kapang secara mikroskopis.

LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi FMIPA-UI Depok dan Center of Excellence Indigenous Biological Resources-Genome Studies (CoE IBR-GS) FMIPA UI, dari bulan Juli 2008 hingga Februari 2009.

ALAT

Peralatan yang digunakan adalah autoklaf [Hirayama HA 240 MIV], autoklaf [Hirayama HL 36 AE], mikropipet [Gilson], timbangan analitik [Sartorius], timbangan digital [And EW-300G], dispenser, lemari pendingin [Sharp], kompor listrik [Tanita], oven [Blue M], pemanas air [Phillips dan Kenwood], vorteks [Thermolyne tipe Maxi Mix II], shaker incubator [Riko RS-

12 TE], inkubator [Imperial III], tabung Eppendorf [Eppendorf], jarum tanam panjang, jarum tanam bulat, labu ukur, labu Erlenmeyer, cawan petri, spatel Drygalski, Digital Caliper dan peralatan gelas yang umum digunakan dalam Laboratorium Mikrobiologi. Peralatan habis pakai yang digunakan adalah kertas saring, kertas indikator pH universal [Merck], lembar parafin, sarung tangan plastik, kapas dan tisu.

BAHAN DAN CARA KERJA

BAHAN

Khamir dan Kapang

Khamir yang digunakan dalam penelitian adalah enam strain khamir *Rhodotorula* spp. koleksi *University of Indonesia Culture Collection* (UICC), dengan kode UICC-Y 318, UICC-Y 325, UICC-Y 332, UICC-Y 381, UICC-Y 384, dan UICC-Y 386 (Gambar I.1). Keenam strain khamir tersebut berasal dari bunga dan daun tanaman di Kebun Raya Cibodas (Tabel I.1). Kapang koleksi UICC yang digunakan adalah *Aspergillus ochraceus* D.1.2.2.SSM3, *A. terreus* D.2.2MC dan *Drechslera* sp. D.1.3.MC (Gambar I.2). Ketiga spesies kapang tersebut diisolasi dari daun tanaman tomat terinfeksi di Bogor dan Tangerang (Tabel I.2)

Medium

Medium Potato Dextrose Agar (PDA) yang ditambah antibiotik tetrasi^{klin} digunakan untuk pemeliharaan kapang dan khamir serta untuk uji antagonisme dengan *strip method*. Medium Yeast Malt Agar (YMA) yang ditambah antibiotik tetrasi^{klin} digunakan untuk pertumbuhan dan pemurnian khamir. Medium Potato Dextrose Broth (PDB) pH 5 digunakan untuk uji antagonisme dengan metode ko-kultur. Medium Plate Count Agar (PCA) yang ditambahkan antibiotik tetrasi^{klin} untuk menghitung total koloni khamir dan kapang dengan *Total Plate Count* (TPC).

Bahan kimia

Bahan-bahan kimia dari Difco yang digunakan adalah *yeast-extract*, *malt-extract*, pepton, bacto agar dan PDA. Bahan kimia dari Britania yang digunakan adalah PCA. Bahan kimia lain yang digunakan adalah antibiotik, tetrasi^{klin}, aseton teknis, alkohol teknis, spiritus teknis, dan akuades.

CARA KERJA

Pembuatan medium

Medium PDA dan PCA dibuat berdasarkan petunjuk yang terdapat pada kemasan. Medium YMA dibuat berdasarkan Yarrow (1998). Medium PDA steril untuk uji antagonisme ditambahkan tetrasi^{klin} sebanyak 500mg/l

pada saat suhu medium sekitar 40–50 °C

Medium Potato Dextrose Broth (PDB) pH 5

Pembuatan medium PDB berdasarkan petunjuk yang terdapat pada kemasan.

Larutan Buffer Sitrat-Fosfat 0,3 M pH 5

Pembuatan larutan buffer sitrat-fosfat 0,1 M pH 4,4 berdasarkan Colowick & Kaplan (1955).

Pembuatan suspensi

Satu ose khamir atau kapang diinokulasikan ke dalam medium YMA/PDA miring sebanyak 15 gores, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang (25–27 °C). Biakan ditambah dengan 5 ml akuades steril sehingga diperoleh 5 ml suspensi sel dengan jumlah sel yang setara dengan 10^8 cfu/ml. Biakan dikerik dengan jarum tanam bulat steril dan dihomogenkan dengan menggunakan vorteks.

Enumerasi sel khamir dan spora kapang

Penghitungan jumlah sel berdasarkan Cappuccino & Sherman (2002). Jumlah sel khamir atau kapang yang terdapat dalam suspensi sel dihitung menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan pengenceran berseri.

Suspensi sel atau spora diencerkan dengan akuades steril hingga faktor pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} dengan tiga kali pengulangan pada tiap pengenceran. Suspensi sel sebanyak 0,1 ml dari masing-masing faktor pengenceran diambil dengan menggunakan mikropipet dan disebar merata menggunakan spatel Drygalski pada permukaan medium PCA petri yang ditambahkan tefrasiklin 500mg/l. Biakan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang ($25-27^{\circ}\text{C}$), kemudian jumlah koloni sel dihitung.

Penghitungan jumlah *Colony Forming Unit* (CFU) dilakukan berdasarkan Gandjar dkk. (1992) menggunakan rumus :

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

Pengujian antagonisme khamir *Rhodotorula* spp. melawan kapang dari tanaman tomat terinfeksi dengan *strip method*

Pengujian antagonisme dengan *strip method* berdasarkan Azizmohseni dkk. (2007). Bagian bawah petri berisi medium PDA ditandai dengan dua garis paralel berjarak 1 cm. Sebanyak 20 μl suspensi sel khamir diinokulasikan sepanjang garis. Biakan diinkubasi selama 4 jam pada suhu $25-27^{\circ}\text{C}$. Sebanyak 20 μl suspensi spora kapang diinokulasikan di antara dua garis paralel suspensi sel khamir. Sebagai kontrol kapang adalah kapang yang diinokulasikan tanpa khamir, sedangkan sebagai kontrol khamir adalah khamir yang diinokulasikan tanpa kapang. Setiap perlakuan diulang

sebanyak tiga kali. Lebar koloni kapang diukur setiap hari hingga hari ke-6 menggunakan kaliper digital. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali untuk setiap cawan petri

Kemampuan antagonistik khamir untuk menghambat pertumbuhan kapang dilihat dengan tereduksinya pertumbuhan lebar koloni dan sporulasi kapang pada perlakuan dibandingkan kapang kontrol. Persentase reduksi lebar koloni kapang kemudian dihitung dengan persamaan berikut :

$$\% \text{ reduksi lebar koloni} = \frac{\text{Lebar koloni kapang (kontrol-perlakuan)} \times 100\%}{\text{Lebar koloni kapang kontrol}}$$

Pengujian antagonisme antara khamir *Rhodotorula* spp. terhadap *Aspergillus* dalam medium PDB cair secara ko-kultur

Pengujian antagonisme dengan ko-kultur berdasarkan Oetari dkk. (2007). Sebanyak 1 ml suspensi khamir dituangkan ke dalam 18 ml medium PDB steril kemudian difermentasi secara kocok resiprokal pada 110 rpm pada suhu 30 °C selama 8 jam. Biakan khamir *Rhodotorula* spp. ditambahkan dengan 1 ml suspensi spora kapang , diinkubasi tanpa pengocokan pada suhu 30 °C selama 6 hari dan diamati setiap hari. Sebagai kontrol kapang adalah kapang yang diinokulasikan tanpa khamir ,sedangkan sebagai kontrol khamir adalah khamir yang diinokulasikan tanpa kapang dalam medium.

Kemampuan antagonistik *Rhodotorula* untuk menghambat pertumbuhan kapang diamati secara makroskopis dan mikroskopis.

Pengamatan makroskopis dilakukan setiap hari selama 6 hari terhadap kapang dengan melihat pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi.

Pengamatan mikroskopis dilakukan pada hari ke-2 dan ke-3 untuk melihat interaksi yang terjadi antara *Aspergillus* dan *Rhodotorula*.

Pengukuran dilakukan pada diameter kepala konidia dan hifa *Aspergillus* pada kontrol dan perlakuan. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop pada perbesaran 400 kali, kemudian kepala konidia dan sel khamir diukur menggunakan software Axiovision dari Carl Zeiss.

Pengujian antagonisme antara khamir *Rhodotorula* spp. dengan kapang *Drechslera* sp. melalui metode *slide culture*

Pengujian kemampuan antagonistik khamir terhadap *Drechslera* sp. menggunakan metode *slide culture* berdasarkan Yarrow (1998). Gelas preparat dimasukkan ke dalam petri steril. Pada bagian sisi kanan dan kiri gelas preparat diletakkan kertas saring. Pada bagian tengah gelas preparat dituangkan PDA cair dan dibiarkan hingga mengeras. Medium agar yang telah mengeras digoresi khamir menggunakan jarum tanam bulat. Kapang digoreskan pada sisi yang berlawanan dengan khamir menggunakan jarum tanam tajam. Agar yang telah berisi koloni khamir dan kapang ditutup dengan gelas penutup. Akuades steril diteteskan pada kertas saring yang berada di dalam cawan petri untuk mencegah medium agar menjadi kering.

Kemampuan antagonistik *Rhodotorula* spp. untuk menghambat

pertumbuhan *Drechslera* sp. diamati secara mikroskopis pada hari ke-2 dan ke-3 dengan mengamati pertumbuhan dan bentuk hifa *Drechslera* sp.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian kemampuan antagonistik khamir *Rhodotorula* spp. terhadap kapang dari tanaman dengan *strip method*

Jumlah sel *Rhodotorula* spp. yang digunakan dalam pengujian berkisar $(1,2—5,2) \times 10^8$ cfu/ml (Tabel I.3). Jumlah spora *Drechslera* sp. adalah $5,2 \times 10^4$ cfu/ml, jumlah spora *A. ochraceus* adalah $4,7 \times 10^9$ cfu/ml, dan jumlah spora *A. terreus* adalah $3,2 \times 10^8$ cfu/ml (Tabel I.4). Enumerasi bertujuan untuk mengetahui jumlah sel khamir dan jumlah spora kapang dalam inokulum yang digunakan di dalam pengujian. Sel khamir dengan jumlah yang banyak dalam penelitian ini bertujuan untuk mendukung kemampuan antagonistik khamir dalam menghambat pertumbuhan kapang. Khamir diinokulasikan 4 jam lebih dulu daripada kapang untuk memberikan kesempatan kepada khamir beradaptasi terhadap nutrien dan ruang daripada kapang.

Leibinger (1997) membandingkan kemampuan antagonistik *R. glutinis* untuk menghambat pertumbuhan *B. cinerea* secara *in vitro* dengan *co-culture*. Setelah inkubasi selama 4 minggu, khamir yang diinokulasikan dengan jumlah sel 10^8 cfu/ml lebih banyak menghambat pertumbuhan koloni kapang *B. cinerea* dibandingkan khamir dengan jumlah sel 10^7 cfu/ml. Hasil

penelitian tersebut menunjukkan jumlah sel antagonistik yang lebih banyak dalam suatu inokulum mendukung kemampuan antagonistik untuk menghambat pertumbuhan kapang.

Hasil pengujian pada penelitian ini menunjukkan strain khamir *Rhodotorula* sp. yang mempunyai nilai persentase reduksi lebar koloni terbesar selama 6 hari terhadap *Drechslera* sp., *A. ochraceus* dan *A. terreus* secara berurutan adalah *Rhodotorula* sp. UICC Y- 325 dengan nilai kisaran besar reduksi 28,12%—72,14% (Tabel I.6), *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dengan nilai kisaran 54,28%—72,46% (Tabel I.7), dan *Rhodotorula* sp. Y-318 dengan kisaran besar reduksi 21,76%—58,10% (tabel I.8). Hasil pengamatan menunjukkan khamir yang paling potensial adalah *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus*, sebab mempunyai nilai persentase reduksi koloni kapang terbesar dengan nilai kisaran 54,28%—72,46%.

Pengamatan selama 6 hari pada koloni kapang *Drechslera* sp. pada kontrol dan perlakuan menunjukkan koloni kapang kontrol sudah bersporulasi dengan lebat pada semua bagian koloni pada hari ke-2 (Gambar I.3a, Tabel I.5). Spora bertekstur *velvety*, dan berwarna hijau keabuan. Pada perlakuan, umumnya strain khamir *Rhodotorula* spp. dapat mengakibatkan pertumbuhan dan sporulasi *Drechslera* sp. menjadi terhambat hingga hari ke-3 inkubasi (Tabel I.6). Khamir dapat menghambat pertumbuhan kapang sehingga koloni tumbuh tetap berada di antara koloni khamir. Selain itu juga mengakibatkan sporulasi *Drechslera* sp. menjadi lebih lambat dan sedikit dibandingkan

kontrol (Gambar I.3b). Koloni kapang pada perlakuan baru bersporulasi pada hari ke-3 inkubasi dan spora tumbuh hanya di sebagian koloni. Setelah hari ke-3 inkubasi miselium kapang tumbuh melewati khamir serta bersporulasi lebih lebat dibanding sebelumnya. Hasil pengamatan menunjukkan khamir yang mempunyai persentase reduksi lebar koloni terbesar selama 6 hari terhadap *Drechslera* sp. adalah *Rhodotorula* sp. UICC Y-325 dengan persentase reduksi lebar koloni selama 6 hari sebesar 28,12%—72,14%. Hal tersebut menunjukkan bahwa khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-325 dapat mengakibatkan pertumbuhan dan sporulasi *Drechslera* sp. menjadi terhambat.

Pengamatan selama 6 hari pada koloni kapang *A. ochraceus* pada kontrol dan perlakuan menunjukkan pada hari ke-2 inkubasi koloni kapang *A. ochraceus* sudah tumbuh dan di semua bagian koloni sudah bersporulasi, spora berwarna ochre dan berbentuk granul (Gambar I.3c, Tabel I.7, Tabel I.8). Khamir yang dapat menghambat pertumbuhan kapang dengan persentase reduksi lebar koloni terbesar adalah *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dengan persentase reduksi lebar koloni berkisar 54,28%—72,47% selama 6 hari pengamatan. Koloni *A. ochraceus* pada perlakuan dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 hanya tumbuh di antara koloni khamir hingga hari ke-5 inkubasi dan baru tumbuh melewati khamir setelah hari ke-6 inkubasi (Tabel I.8, Gambar I.3d). Hal tersebut menunjukkan bahwa khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dapat menghambat pertumbuhan *A. ochraceus*. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 hanya mengakibatkan pertumbuhan

kapang *A. ochraceus* menjadi lebih lambat tetapi tidak mengakibatkan terhambatnya sporulasi.

Pengamatan selama 6 hari pada koloni kapang *A. terreus* pada kontrol dan perlakuan menunjukkan pada hari ke-2 inkubasi koloni kapang *A. terreus* sudah tumbuh dan di semua bagian koloni sudah bersporulasi, spora berwarna cokelat dan berbentuk granul (Gambar I.3e, Tabel I.9, Tabel I.10). Khamir yang dapat menghambat pertumbuhan kapang dengan persentase reduksi lebar koloni terbesar adalah *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 dengan persentase reduksi lebar koloni berkisar 21,76%—58,10% selama 6 hari pengamatan. Koloni *A. terreus* pada perlakuan dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 hanya tumbuh di antara koloni khamir hingga hari ke-3 inkubasi (Gambar I.3f) dan baru tumbuh melewati khamir setelah hari ke-4 inkubasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 dapat menghambat pertumbuhan *A. terreus*. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 hanya mengakibatkan pertumbuhan kapang *A. terreus* menjadi lebih lambat tetapi tidak mengakibatkan terhambatnya sporulasi.

Pada penelitian ini, mekanisme yang digunakan khamir dalam melakukan antagonisme diduga dengan kompetisi untuk nutrien dan ruang hidup pada medium PDA. Nutrien yang terkandung dalam medium PDA adalah pati, vitamin, mineral, glukosa dan agar. Khamir antagonis ditumbuhkan lebih dahulu kemudian bereproduksi lebih cepat dibandingkan kapang, sehingga jumlah sel-sel khamir menjadi bertambah dan menyebabkan kandungan nutrien di dalam medium berkurang. Kandungan

nutrien yang berkurang di dalam medium menyebabkan ketersediaan nutrien untuk pertumbuhan menjadi berkurang sehingga pertumbuhan kapang pada perlakuan menjadi terhambat dibanding kontrol.

Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 dapat menghambat pertumbuhan dan sporulasi dari *Drechslera* sp., sedangkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus* dan *Rhodotorula* sp. UICC Y- 325 terhadap *A. terreus* hanya dapat menghambat pertumbuhan kapang dan tidak menyebabkan terhambatnya sporulasi. Diduga *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 lebih cepat memanfaatkan komponen-komponen di dalam nutrien yang akan digunakan kapang *Drechslera* sp. untuk pertumbuhan dan sporulasi kapang tersebut sehingga pertumbuhan dan sporulasi menjadi terhambat. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dan *Rhodotorula* sp. UICC Y- 325 diduga dapat cepat memanfaatkan komponen nutrien yang akan dimanfaatkan oleh *Aspergillus* untuk pertumbuhan. Hal tersebut menyebabkan pertumbuhan kapang terhambat, tetapi khamir-khamir tersebut tidak memanfaatkan komponen nutrien yang akan digunakan kapang untuk sporulasi sehingga sporulasi *Aspergillus* tidak terhambat. Diduga pula bahwa komponen nutrien yang digunakan *Aspergillus* dan *Drechslera* adalah berbeda.

Moore & Landecker (1996) menyatakan komponen nutrien yang mempengaruhi pertumbuhan miselium dan reproduksi aseksual fungi adalah monosakarida seperti glukosa, fruktosa dan nitrogen (asparagin dan senyawa ammonium). Komponen nutrien yang mempengaruhi reproduksi seksual adalah disakarida, polisakarida, nitrogen (nitrat, urea, dan asam

amino), vitamin dan mineral. Jumlah vitamin dan mineral yang kurang dalam suatu medium akan mengakibatkan fungi tidak dapat bersporulasi.

Filonow (1998) melaporkan kemampuan khamir yang dapat lebih cepat menyerap gula yang diduga digunakan pula oleh kapang untuk pertumbuhan *Sporobolomyces roseus*, *Cr. laurentii*, *S. cerevisiae* terhadap *B. cinerea* dalam berkompetisi untuk menyerap gula seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa dalam medium. Gula yang digunakan pada medium uji tersebut ditandai dengan label ^{14}C . Pada jam ke- 48, semua khamir dapat menyerap gula lebih cepat di bandingkan dengan kapang. Berkurangnya gula pada medium tersebut mengakibatkan pertumbuhan kapang *B. cinerea* menjadi terhambat.

Rhodotorula sp. UICC Y-318, *Rhodotorula* sp. UICC Y-325 dan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 diduga mempunyai kemampuan yang sama dengan khamir *Sporobolomyces roseus*, *Cr. laurentii*, *S. cerevisiae* untuk menyerap gula lebih cepat daripada kapang pada medium.

Mekanisme lain yang dilakukan khamir antagonis adalah menghasilkan enzim litik seperti β -1,3 glukanase dan kitinase yang dapat mendegradasi dinding sel kapang hingga rusak. Rusaknya dinding sel kapang menyebabkan pertumbuhan kapang di sekitar khamir menjadi terhambat. Dinding sel kapang tersebut didegradasi menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat dijadikan sebagai sumber nutrien yang dimanfaatkan khamir untuk melangsungkan pertumbuhan dan reproduksi.

Zhulong & Shipping (2005) melaporkan mekanisme antagonistik *Pichia*

membranifaciens dalam menghambat pertumbuhan *Mon. fructicola* secara *in vitro* adalah dengan mengeluarkan enzim litik seperti β -1,3 glukanase. Enzim tersebut diduga dapat mendegradasi dinding sel *Mon. fructicola*.

Khamir *Rhodotorula* antagonistik potensial dari setiap perlakuan diduga dapat menghasilkan enzim hidrolitik untuk menghambat pertumbuhan kapang seperti yang dihasilkan oleh khamir *P. membranifaciens*.

Kemampuan antagonistik khamir *Rhodotorula* spp. Terhadap *Aspergillus* dengan ko-kultur

Pengujian kemampuan antagonistik enam strain khamir *Rhodotorula* spp. terhadap kapang *Aspergillus* dengan metode ko kultur bertujuan untuk mengetahui interaksi makroskopis dan mikroskopis yang terjadi antara khamir dan kapang yang tidak dapat dilihat dengan *strip method*. Penghitungan sel khamir dan kapang menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) bertujuan untuk mengetahui banyaknya jumlah sel khamir dan kapang pada inokulum yang digunakan dalam pengujian. Hasil penghitungan sel-sel khamir dari enam strain menunjukkan jumlah sel dalam inokulum berada dalam kisaran $(1,58\text{---}5,59) \times 10^8$ cfu/ml. Hasil penghitungan jumlah spora *A. ochraceus* dalam inokulum adalah 7×10^7 cfu/ml. Hasil penghitungan jumlah spora *A. terreus* dalam inokulum adalah $7,5 \times 10^7$ cfu/ml (Tabel I.12).

Pengamatan makroskopis pada permukaan medium PDB pada kontrol kapang *A. ochraceus* menunjukkan kapang telah tumbuh pada hari

ke-3 inkubasi. Pada hari ke-4 inkubasi, pertumbuhan koloni kapang kontrol tidak begitu banyak pada permukaan medium, namun kapang sudah bersporulasi. Pada hari ke 5-6 inkubasi, koloni kapang kontrol telah tumbuh dan bersporulasi semakin banyak hingga menutupi seluruh permukaan medium (Gambar I. 4a). Pada permukaan medium PDB yang berisi ko-kultur antara enam strain *Rhodotorula* spp. dengan kapang *A. ochraceus* tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan koloni kapang selama 6 hari pengamatan. Medium PDB tampak bertambah keruh namun tidak terlihat adanya pertumbuhan miselium di dalam medium secara makroskopis. Pada bagian dasar terlihat adanya endapan berwarna koloni yang menunjukkan adanya pertumbuhan khamir (Gambar I.5, Tabel I.13).

Hasil pengamatan mikroskopis di hari ke-2 dan ke-3 inkubasi pada kontrol dan perlakuan *A. ochraceus* dengan semua strain khamir menunjukkan tidak terdapat perbedaan bentuk kepala konidia dan hifa (Gambar I.7a, Gambar I.7b). Perbedaan yang terlihat adalah kepala konidia pada perlakuan ditemukan lebih jarang daripada kontrol.

Castoria dkk. (1997) melaporkan pada pengujian antagonisme secara *in vitro* antara khamir *Cr. laurentii* dan *R. glutinis* dengan *B. cinerea* menunjukkan adanya interaksi langsung antara *Cr. laurentii* dengan *B. cinerea*. Interaksi yang terjadi adalah khamir menempel pada hifa kapang dan menyebabkan kerusakan pada hifa. Hal yang berbeda ditunjukkan khamir *R. glutinis* yang tidak menempel pada hifa kapang dan tidak menyebabkan kerusakan pada hifa kapang.

Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan kapang *A. ochraceus* tidak ditempeli oleh khamir *Rhodotorula* spp. pada semua perlakuan. Diduga tidak ada interaksi langsung antara khamir *Rhodotorula* spp. dengan *A. ochraceus* dan hal tersebut menyebabkan tidak terlihat adanya kerusakan pada hifa kapang.

Pengamatan hasil ko-kultur antara enam strain *Rhodotorula* spp. dengan *A. ochraceus*, menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 mempunyai persentase terbesar dalam kemampuan untuk mereduksi diameter kepala konidia. Persentase reduksi kepala konidia kapang pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 9,45% dan 12,43%. Persentase reduksi lebar hifa pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 7,10% dan 7,51% (Tabel I.22). Hasil enumerasi sel khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dalam ko-kultur dengan kapang *A. ochraceus* pada hari ke-3 inkubasi adalah $5,7 \times 10^6$ cfu/ml, kemudian terus meningkat pada hari ke-6 menjadi $1,87 \times 10^7$ cfu/ml. Hasil enumerasi spora kapang *A. ochraceus* pada hari ke-3 inkubasi adalah $4,7 \times 10^4$ cfu/ml kemudian meningkat pada hari ke-6 menjadi $1,59 \times 10^5$ cfu/ml (Tabel I.23). Hasil tersebut menunjukkan bahwa jumlah sel *Rhodotorula* UICC Y-381 lebih banyak daripada jumlah spora kapang pada hari ke-3 dan ke-6 inkubasi. Hal tersebut mengindikasikan khamir dapat cepat bereproduksi dan menguasai nutrien dan ruang pada medium dibandingkan kapang. Seiring dengan bertambahnya jumlah sel khamir maka jumlah nutrien semakin berkurang pada medium. Hal tersebut mengakibatkan kapang kekurangan nutrien yang diperlukan untuk

pertumbuhan dan reproduksi, sehingga kapang pada perlakuan tidak menunjukkan pertumbuhan koloni pada permukaan medium hingga hari ke-6 inkubasi. Hal tersebut mengindikasikan adanya kompetisi untuk memperebutkan nutrien dan ruang antara khamir dan kapang.

Pengamatan makroskopis pada permukaan medium PDB pada kontrol kapang *A. terreus* menunjukkan kapang telah tumbuh pada hari ke-3 inkubasi. Pada inkubasi hari ke-4, pertumbuhan koloni kapang kontrol tidak begitu banyak pada permukaan medium, namun kapang sudah bersporulasi. Pada hari ke 5-6, koloni kapang kontrol tumbuh dan bersporulasi semakin banyak hingga menutupi seluruh permukaan medium (Gambar I. 4b). Pada permukaan medium PDB hasil ko-kultur antara kapang *A. terreus* dengan enam strain *Rhodotorula* spp. menunjukkan bahwa semua strain khamir dapat menghambat pertumbuhan kapang *A. terreus*. Pada hari ke 2-6 inkubasi tidak terlihat adanya pertumbuhan koloni kapang pada permukaan medium (Gambar I.6, Tabel I.14).

Hasil pengamatan mikroskopis di hari ke-2 dan ke-3 inkubasi pada kontrol dan perlakuan *A. terreus* dengan semua strain khamir menunjukkan tidak terdapat perbedaan bentuk kepala konidia dan hifa (Gambar I.7c, Gambar I.7d). Perbedaan yang terlihat adalah kepala konidia pada perlakuan lebih ditemukan lebih jarang daripada kontrol.

Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan kapang *A. terreus* tidak ditempel oleh khamir *Rhodotorula* spp. pada semua perlakuan. Diduga tidak ada interaksi langsung antara khamir *Rhodotorula* spp. dengan *A. terreus*

dan hal tersebut tidak menyebabkan tidak terlihat adanya kerusakan pada hifa kapang.

Pengamatan mikroskopis hasil ko-kultur antara enam strain *Rhodotorula* spp. dengan *A. terreus*, menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-332 mempunyai persentase terbesar untuk mereduksi diameter kepala konidia. *Rhodotorula* sp. UICC Y-332 dapat mereduksi ukuran diameter kepala konidia *A. terreus* pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 10,17% dan 9,60% tetapi tidak dapat mereduksi lebar hifa kapang (Tabel I.31).

Hasil pengamatan sebelumnya pada *strip method* menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 merupakan khamir dengan kemampuan antagonistik paling potensial karena dapat mereduksi lebar koloni *A. ochraceus* dengan persentase terbesar. Hasil pengujian antagonisme dengan ko-kultur juga menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 mempunyai persentase terbesar untuk mereduksi diameter kepala konidia dan lebar hifa *A. ochraceus*. Data tersebut menunjukkan bahwa *A. ochraceus* merupakan khamir yang memiliki kemampuan antagonistik paling potensial pada *strip method* dan ko-kultur.

Coelho dkk. (2007) melakukan pengujian kemampuan antagonistik *P. ohmeri* dan *C. guilliermondii* untuk menghambat pertumbuhan *Pen. expansum* pada medium Yeast Malt Broth (YMB). Khamir diinokulasikan 24, 48, 72, 96 dan 120 jam sebelum inokulasi kapang pada medium. Hasil penelitian menunjukkan *C. guilliermondii* yang diinokulasikan

48 jam terlebih dahulu dapat menghambat germinasi konidia sebesar 58,15%. Khamir *P. ohmeri* yang diinokulasikan 72 jam terlebih dahulu dapat menghambat pertumbuhan miselium sebesar 66,17%. Hasil pengujian tersebut memperlihatkan khamir antagonistik dapat menghambat germinasi dan pertumbuhan miselium kapang *Pen. expansum*.

Mekanisme yang terlibat dalam interaksi antagonistik antara *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus* dan *Rhodotorula* sp. Y-332 terhadap *A. terreus* diduga adalah kompetisi untuk memenangkan kompetisi nutrien dan ruang. *Rhodotorula* sp. diinokulasikan 8 jam lebih dulu pada medium dibandingkan kapang untuk memberi kesempatan kepada khamir lebih cepat memanfaatkan nutrien dan ruang untuk melakukan pertumbuhan dan reproduksi. Sel-sel khamir yang telah melakukan reproduksi jumlahnya menjadi lebih banyak daripada sebelumnya.

Pengujian kemampuan antagonistik khamir *Rhodotorula* spp. terhadap kapang *Drechslera* sp. dengan *slide culture*

Pengujian kemampuan antagonistik antara enam strain khamir *Rhodotorula* sp. terhadap kapang *Drechslera* sp. dengan metode *slide culture* bertujuan untuk mengetahui interaksi secara mikroskopis yang terjadi antara khamir dan kapang yang tidak dapat dilihat dengan *strip method*.

Pengamatan mikroskopis dilakukan pada hari ke-2 dan ke-3 inkubasi. Pengamatan pada hari ke-2 inkubasi dari kontrol dan perlakuan

memperlihatkan hifa *Drechslera* sp. terlihat berbentuk filamen dan belum bersporulasi. Pada masing-masing perlakuan antara enam strain khamir *Rhodotorula* sp. dan *Drechslera* sp., terlihat hifa kapang belum dikelilingi oleh khamir. Pada hari ke-3 inkubasi, hifa kapang pada kontrol dan perlakuan masih belum bersporulasi. Pengamatan mikroskopis pada perlakuan menunjukkan ke-enam strain khamir *Rhodotorula* sp. telah mengelilingi hifa kapang *Drechslera* sp. Sel-sel khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 paling banyak menempel pada hifa kapang *Drechslera* sp. sehingga hampir menutupi permukaan hifa *Drechslera* sp. dibandingkan lima strain *Rhodotorula* lainnya (Gambar I.8f).

Zhulong & Shipping (2005) melakukan pengujian antagonistik antara *P. membranifaciens* dan *C. albidus* melawan *Mon. fructicola*, *Pen. expansum* dan *R. stolonifer* secara *in vitro* dan *in vivo*. Pengamatan melalui SEM menunjukkan *P. membranifaciens* lebih kuat menempel pada ketiga hifa kapang dibandingkan *C. albidus*. Pengujian produksi enzim menunjukkan khamir *P. membranifaciens* juga lebih banyak menghasilkan enzim β -1,3 gukanase dibandingkan *C. albidus*. Kedua data tersebut menunjukkan bahwa kuat tidaknya sel khamir menempel pada dinding sel hifa kapang diduga berkorelasi dengan kemampuan sel khamir untuk menghasilkan enzim litik.

Wisniewski dkk. (1991) melaporkan hasil pengamatan SEM antara *P. guilliermondii* dengan *B. cinerea* menunjukkan sel-sel khamir *P. guilliermondii* dapat menempel pada dinding sel hifa *B. cinerea*. Pada bagian hifa yang

ditempel sel-sel khamir terlihat permukaannya menjadi cekung, berlubang-lubang, dan pada beberapa bagian ada hifa yang membengkak. Hasil pengujian produksi enzim juga menunjukkan *P. guilliermondii* dapat menghasilkan enzim β -1,3 glukanase pada medium yang mengandung karbon atau dinding sel kapang. Hasil penelitian tersebut mengindikasikan bahwa enzim β -1,3 glukanase dapat menyebabkan sel-sel khamir dapat menempel dan menyebabkan kerusakan pada dinding sel kapang.

Kemampuan sel-sel *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 untuk menempel pada hifa-hifa *Drechslera* sp. dibandingkan lima strain *Rhodotorula* lainnya, diduga karena *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 dapat menghasilkan enzim litik untuk mendegradasi dinding sel kapang. Penempelan sel-sel khamir pada dinding sel hifa kapang diduga juga dapat mengurangi ruang dan menghalangi hifa kapang untuk menyerap nutrien. Nutrien merupakan faktor penting untuk pertumbuhan kapang, sehingga kekurangan nutrien menyebabkan pertumbuhan sel kapang menjadi terhambat.

Dari ketiga metode pengujian tersebut terlihat bahwa khamir yang potensial untuk dijadikan agen biokontrol adalah *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus*. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 memiliki kemampuan mereduksi lebar koloni kapang, ukuran kepala konidia dan lebar hifa dengan nilai persentase terbesar dibandingkan lima strain *Rhodotorula* spp. lainnya.

KESIMPULAN

1. Pengujian antagonistik melalui *strip method* menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 memiliki kemampuan antagonistik potensial karena mempunyai persentase reduksi lebar koloni terbesar terhadap *A. ochraceus* dengan nilai persentase berkisar 54,28%–72,46% selama 6 hari inkubasi.
2. Pengujian antagonistik melalui ko-kultur menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 memiliki kemampuan antagonistik potensial karena mempunyai persentase terbesar untuk mereduksi ukuran kepala konidia dan lebar hifa terhadap *A. ochraceus* dibandingkan kelima strain khamir *Rhodotorula* sp. lainnya. Persentase reduksi kepala konidia kapang pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 9,45% dan 12,43%. Persentase reduksi lebar hifa pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 7,10% dan 7,51%.
3. Pengujian antagonistik melalui *slide culture* menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 paling kuat menempel pada dinding sel hifa kapang *Drechslera* sp.
4. Dari ketiga pengujian antagonistik, *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 mempunyai kemampuan antagonistik yang paling potensial karena potensial di dua pengujian antagonistik yaitu *strip method* dan *co-culture*.

SARAN

Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 perlu diuji lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan sebagai agen biokontrol terhadap *A. ochraceus*.



DAFTAR ACUAN

- 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. *Proceeding of the 11th international conference on culture collection: Connection between collection.* 7-11 October 2007, Goslar Germany: 66—69 hlm.
- Bar-Shimon, M., H. Yehuda, L. Cohen, B. Weiss, A. Kobeshikov, A. Daus. M. Goldway, M. Wisniewski & S. Droby. 2004. Characterization of extracellular lytic enzymes produced by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. *J. Genet.* **45**: 140—148.
- Cappuccino, J.G. & N. Sherman. 2002. *Micobiology: A laboratory manual*. Benjamin Cummings, San Francisco: xvi + 491 hlm.
- Castoria, R. F.De. Curtis, G. Lima & V.De Cicco. 1997. β -1,3-glukanase activity of two saprophytic yeasts and possible mode of action as biocontrol agent against postharvest diseases. *Postharvest Bio. Technol.* **12**: 293—300.
- Castoria, R., Caputo, L., Cicco, V.D., Curtis, F.D., Morena, V. & Panfili, G. 2005. Effect of the biocontrol yeast *Rhodotorula glutinis* strain LS 11 on patulin accumulation in stored apple. *The American. Phytopathol. Soc.* **95**: 1271—1278.
- Coelho, A.R., M.G. Celli, 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. Of Bio. Technol.* **50**: 725—733.
- Colowick, S.P & N.O. Kaplan. 1995. *Methods in enzymology*. Academic Press, Inc., New York: 146 hlm.
- Droby, S. 2006. Biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables: difficulties and challenges. *Phytopathol.* **39**:105—117.
- Eckert, J.W & J.M. Ogawa. 1988. The chemical control of postharvest diseases: deciduous fruit, berries, vegetables and root tuber crops. *Annu. Rev. Phytopathol.* **26**: 433—446.
- Eckert, J.W & J.R. Ratnayake. 1994. Reduction of imazalil effectiveness against citrus green mold in California packinghouse by resistant biotypes of *Penicillium digitatum*. *Plant Dish.* **78**: 791—794.
- El-Tarabily, K.A & K. Sivasithamparam. 2006. Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Mycosci.* **47**: 25—35.
- Filonow, A.B. 1998. Role of competition for sugar by yeast in the biocontrol of gray mold of apple. *Biocontrol Sci. Technol.* **8**: 243—256.
- Centraalbureau Voor Schimmelcultures, Utrecht: 306—320 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., I.R. Koentjoro, W. Mangunwardoyo & L. Soebagya. 1992. *Pedoman praktikum mikrobiologi dasar*. Jurusan Biologi, FMIPA-UI.

- Depok: vii + 87 hlm.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K. van der Tweel-Vermeulen, A. Oetari & I. Santoso. 1999. *Pengenalan kapang tropik umum*. Yayasan Obor Indonesia, xiv + 136 hlm.
- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal & A. Oetari. 2006. *Mikologi dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xii + 234 hlm.
- Helbig, J. 2008. Field and laboratory investigations into the effectiveness of *Rhodotorula glutinis* (isolate 10391) against *Botrytis cinerea* pers. ex Fr. in strawberry. *Bio.Control.* **108**(4): 356-368.
- Janisiewicz, W.J & S. Jeffers. 1997. Efficacy of commercial formulation of two biofungicides for control of blue mold and grey mould of apples in cold storage. *Crop. Protection.* **16**: 629—633.
- Janisiewicz, W.J. & L. Korsten. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruit. *Ann. Rev. Phytopathol.* **40**: 411—441.
- Janisiewicz, W.J. R.A. Saftner, W.S. Conway & K.S. Yoder. 2008. Control of blue mold decay of apple during commercial controlled atmosphere storage with yeast antagonists and sodium bicarbonate. *Postharvest Bio. Technol.* **49**: 374—378.
- Jones, R.W. & D. Prusky. 2002. Expression of an antifungal peptide in *Saccharomyces*: A new approach for biological control of the postharvest disease caused by *Colletotrichum coccoides*. *Phytopathol.* **92**(1): 33—37.
- Kalogiannis, S., S.E. Tjamos, A. Stergiou, P. P Antoniou, B. N. Ziogas & E. C.

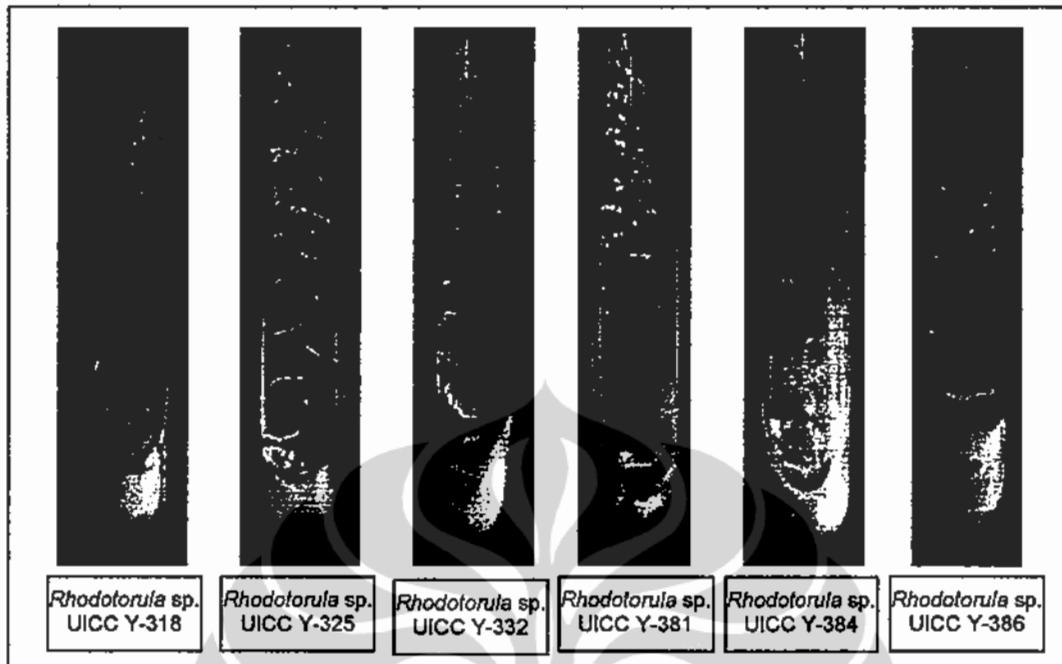
- Tjamos. 2006. Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against grey mould of tomatoes. *European J. Plant. Pathol.* 116: 69—76.
- Leibinger, W., B. Breuker., M. Hahn & K. Mendgen. 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganism in the field. *The American Phytopathol. Soc.* 87(11): 1103—1110.
- Lima, G., S. Arru, F. De. Curtis & G. Arras. 1999. Influence of antagonist, host and pathogen on the biological control of postharvest fungal diseases by yeast. *J. of Indu. Micro. Biotech.* 23: 223—229.
- Mahovic, M., S.A. Sargent & J.A. Bartz. 2004. *Identifying and controlling postharvest tomato diseases in Florida*. University of Florida. 1—15 hlm.
- Mangels, A.R., J.M. Holden, G.R. Beecher, M.R & E. Lanza. 1993. Carotenoid content of fruit and vegetable an evaluation of analytic data. *J. Am. Diet. Assoc.* 93: 284—296.
- Mari, M. & M. Guizzardi. 1998. The postharvest phase: Emerging technologies for the control of fungal diseases. *Phytoparasitica.* 26(1): 59—66.
- Moore, E. & Landecker. 1996. *Fundamental of the fungi*. 4th ed. Prentice Hall, New Jersey, xiv+ 574 hlm.
- Oetari, A., A. Salamah & W. Sjamsuridzal. 2007. *Bioprospek mikosin dari khamir indigenous Indonesia (asal kebun raya Cibodas) sebagai*

- biokontrol jamur patogen pada tanaman pangan. Laporan Akhir Riset Unggulan Universitas Indonesia.*
- Ray, B. 2004. *Fundamental food microbiology*. 3rd ed. CRC press, USA: 608 hlm.
- Saravanakumar, D., D. Spadaro, A. Garibaldi & M. L. Gullino. 2008. Detection of enzymatic activity and partial sequence of chitinase gene in *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 used as post-harvest biocontrol agent. *Eur. J. Plant. Pathol.* 114: 1—11.
- Wade, W.N & L.R. Beuchat. 2003. Metabiosis of proteolytic moulds and *Salmonella* in raw, ripe tomatoes. *J. of Appl. Micro.* 95: 437—450.
- Wisniewski, M., C. Biles, S. Droby, R. McLaughlin, C. Wilson & E. Chalutz. 1991. Mode of action of the postharvest biocontrol yeast, *Pichia guilliermondii*. I. characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. *Physiol. and Molecul. Plant. Pathol.* 39: 245—258.
- Yan Zhao, Kang Tu, Xingfeng shao, Wei Jing & Zipeng Su. 2008. Effect of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus ningricans* on tomato fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 49: 113—120.
- Yarrow, D. 1998. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. Dalam: Kurtzman, C.P. & J.W. Fell (eds.). 1998. *The yeasts: A taxonomic study*. 4th ed. Elsevier, Amsterdam: 77—100 hlm.
- Zhulong Chan & Shipping Tian. 2005. Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action. *Postharvest Biol. Technol.* 36: 215—223.

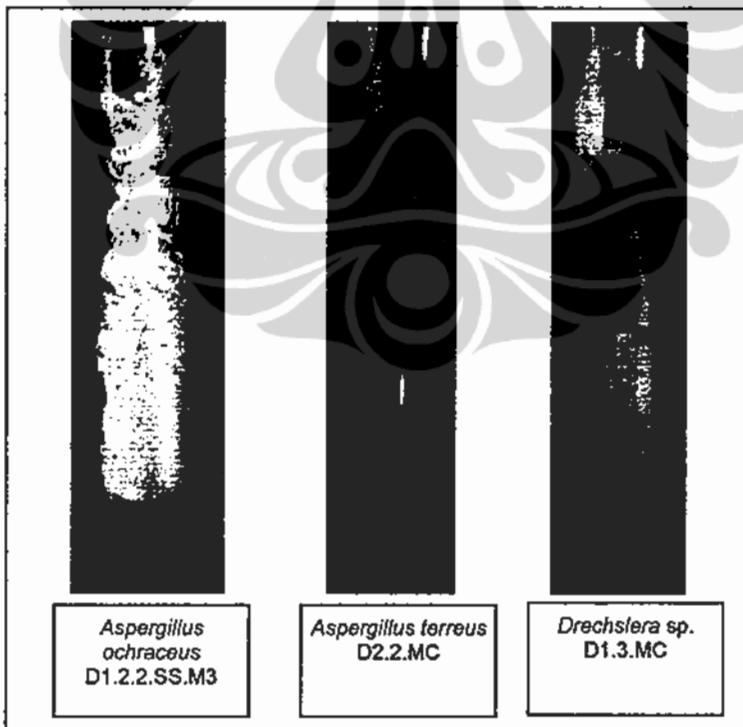




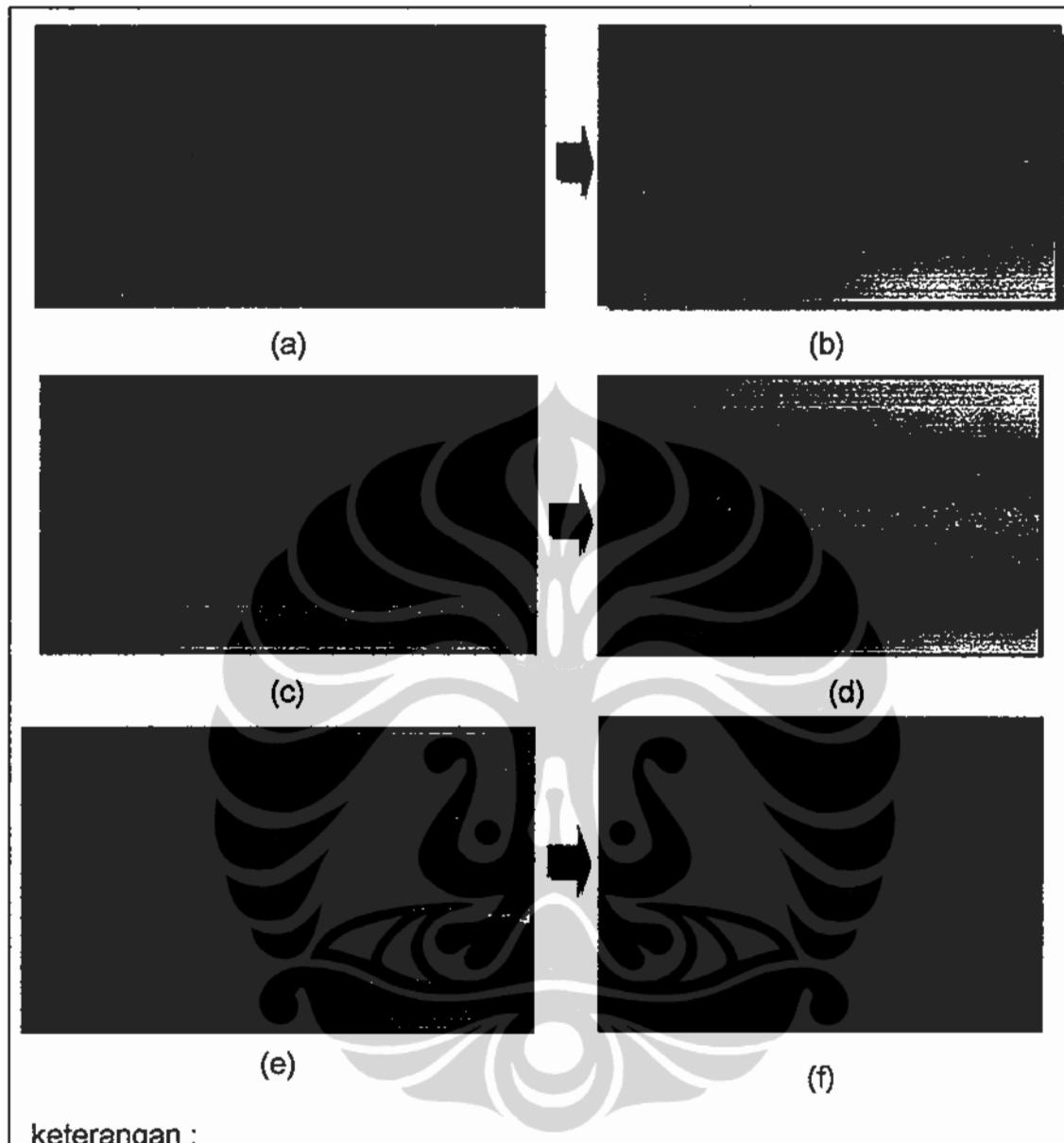
GAMBAR



Gambar I.1. Khamir-khamir *Rhodotorula* spp. yang berasal dari tumbuhan di Kebun Raya Cibodas pada medium PDA, umur 1 minggu.



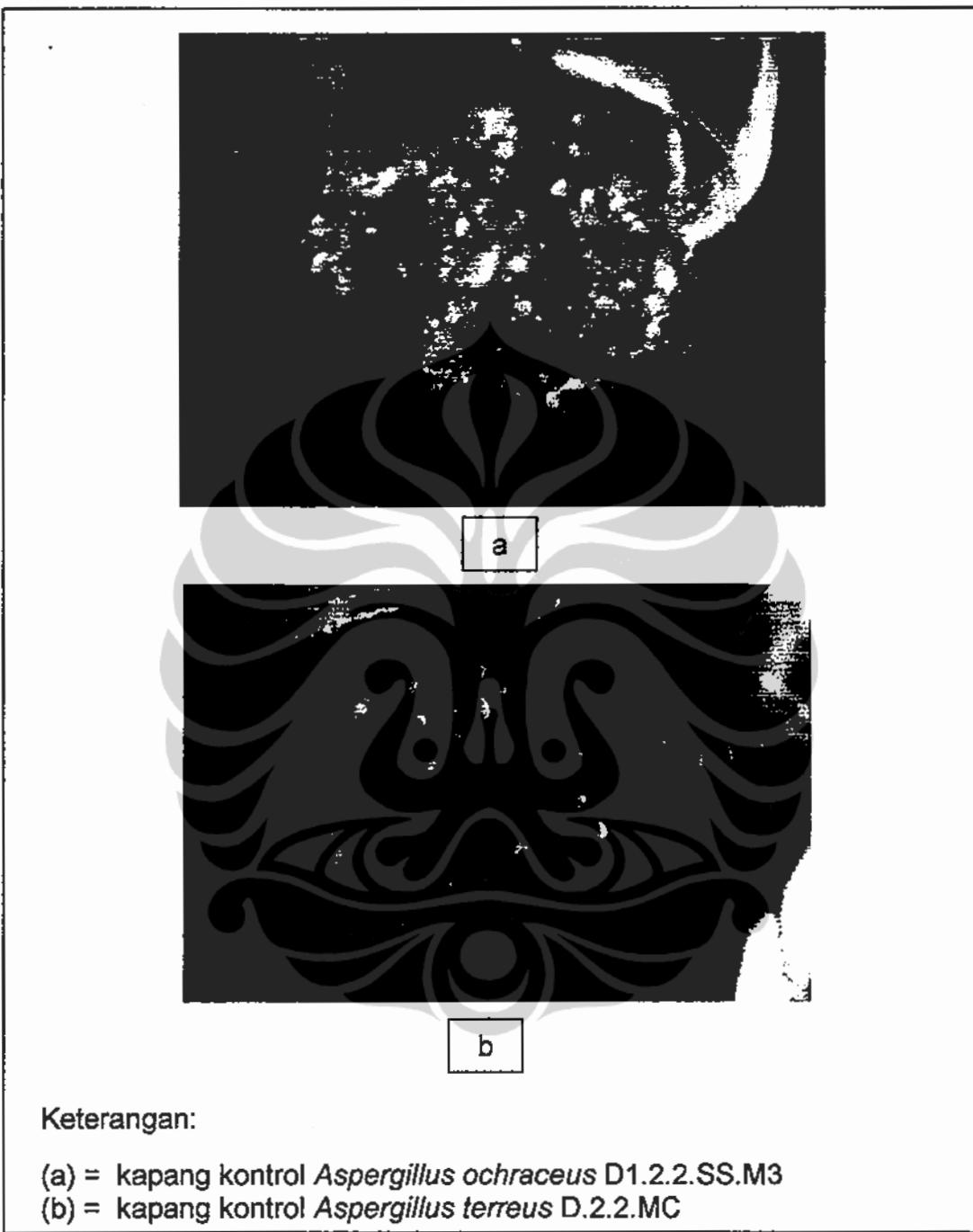
Gambar I.2. Spesies kapang yang berasal dari tanaman tomat terinfeksi pada medium PDA, umur 2 minggu.



keterangan :

- (a) = kontrol *Drechslera* sp. D1.3.MC
- (b) = *Rhodotorula* sp. UICC Y-384 dan *Drechslera* sp. D.1.3.MC
- (c) = kontrol *Aspergillus ochraceus* D1.22.SS.M3
- (d) = *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dan *Aspergillus ochraceus* D1.22.SS.M3
- (e) = kontrol *Aspergillus terreus* D2.2.MC
- (f) = *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 dan kapang *Aspergillus terreus* D.2.2.MC

Gambar I.3. Tiga strain khamir *Rhodotorula* sp. yang memiliki persentase reduksi dengan nilai kisaran terbesar pada *strip method*, inkubasi hari ke-2 pada suhu 25—27 °C, di medium PDA.



Keterangan:

- (a) = kapang kontrol *Aspergillus ochraceus* D1.2.2.SS.M3
- (b) = kapang kontrol *Aspergillus terreus* D.2.2.MC

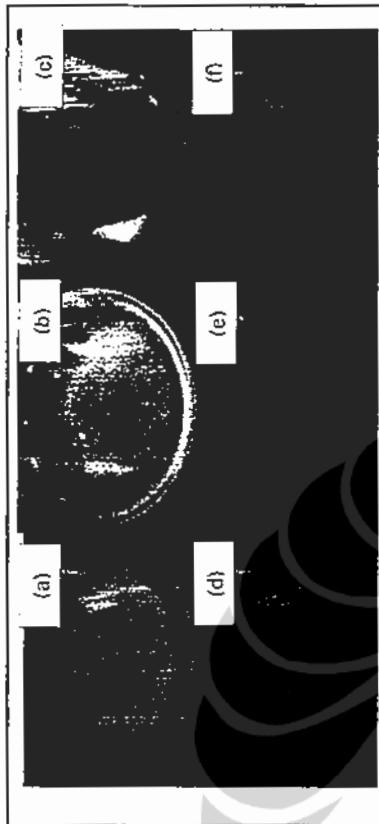
Gambar I.4. Ko-kultur koloni kapang *Aspergillus ochraceus* dan *Aspergillus terreus* umur 6 hari pada medium PDB pH 5, pada suhu 25—27 °C.



Keterangan:

- (a) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 dengan *A. ochraceus*
- (b) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-325 dengan *A. ochraceus*
- (c) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-332 dengan *A. ochraceus*
- (d) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dengan *A. ochraceus*
- (e) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-384 dengan *A. ochraceus*
- (f) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 dengan *A. ochraceus*

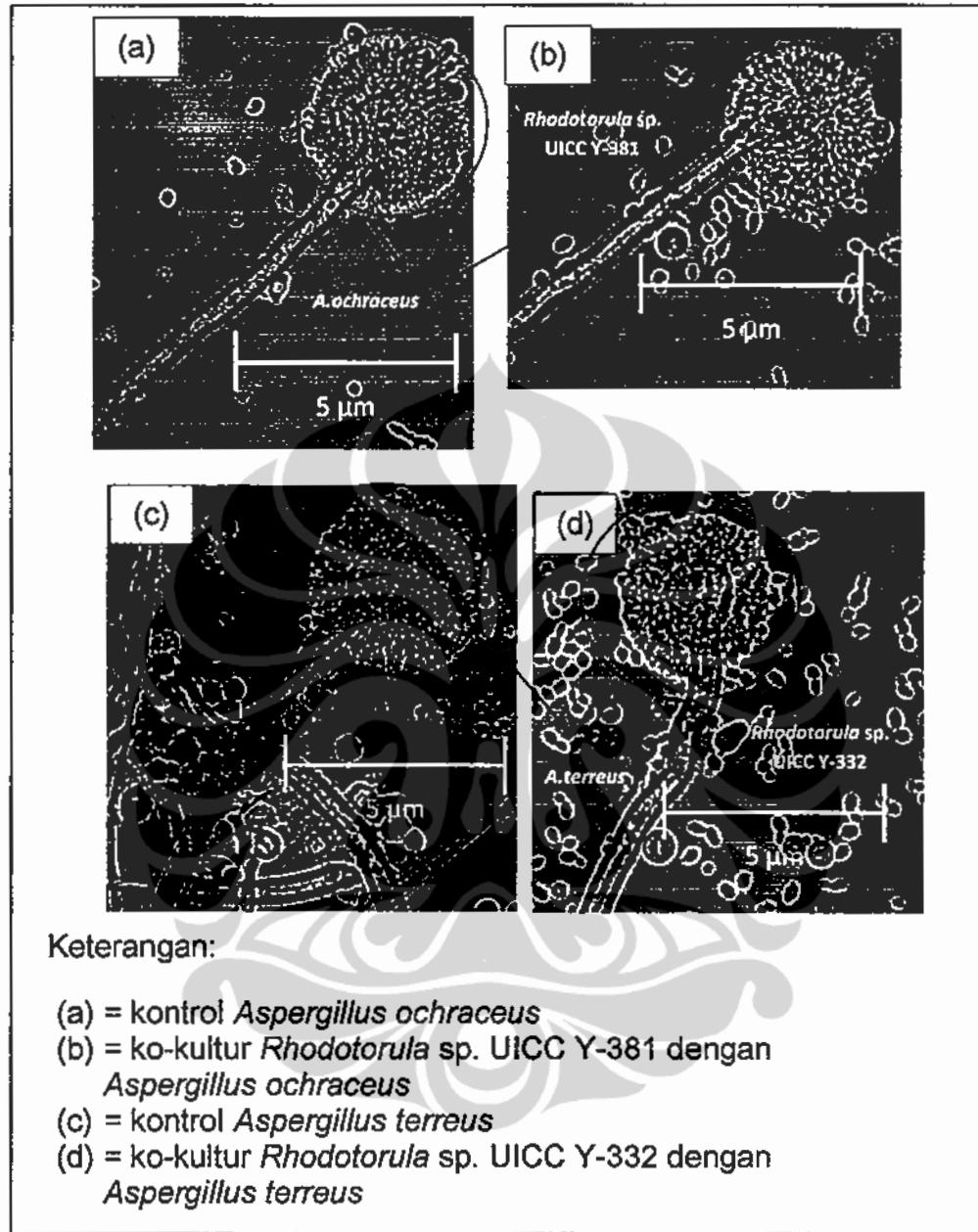
Gambar I.5. Koloni kapang *Aspergillus ochraceus* umur 6 hari yang di ko-kultur dengan khamir *Rhodotorula* spp., pada medium PDB pH 5.



Keterangan:

- (a) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 dengan *A. terreus*
- (b) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-325 dengan *A. terreus*
- (c) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-332 dengan *A. terreus*
- (d) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dengan *A. terreus*
- (e) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-384 dengan *A. terreus*
- (f) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 dengan *A. terreus*

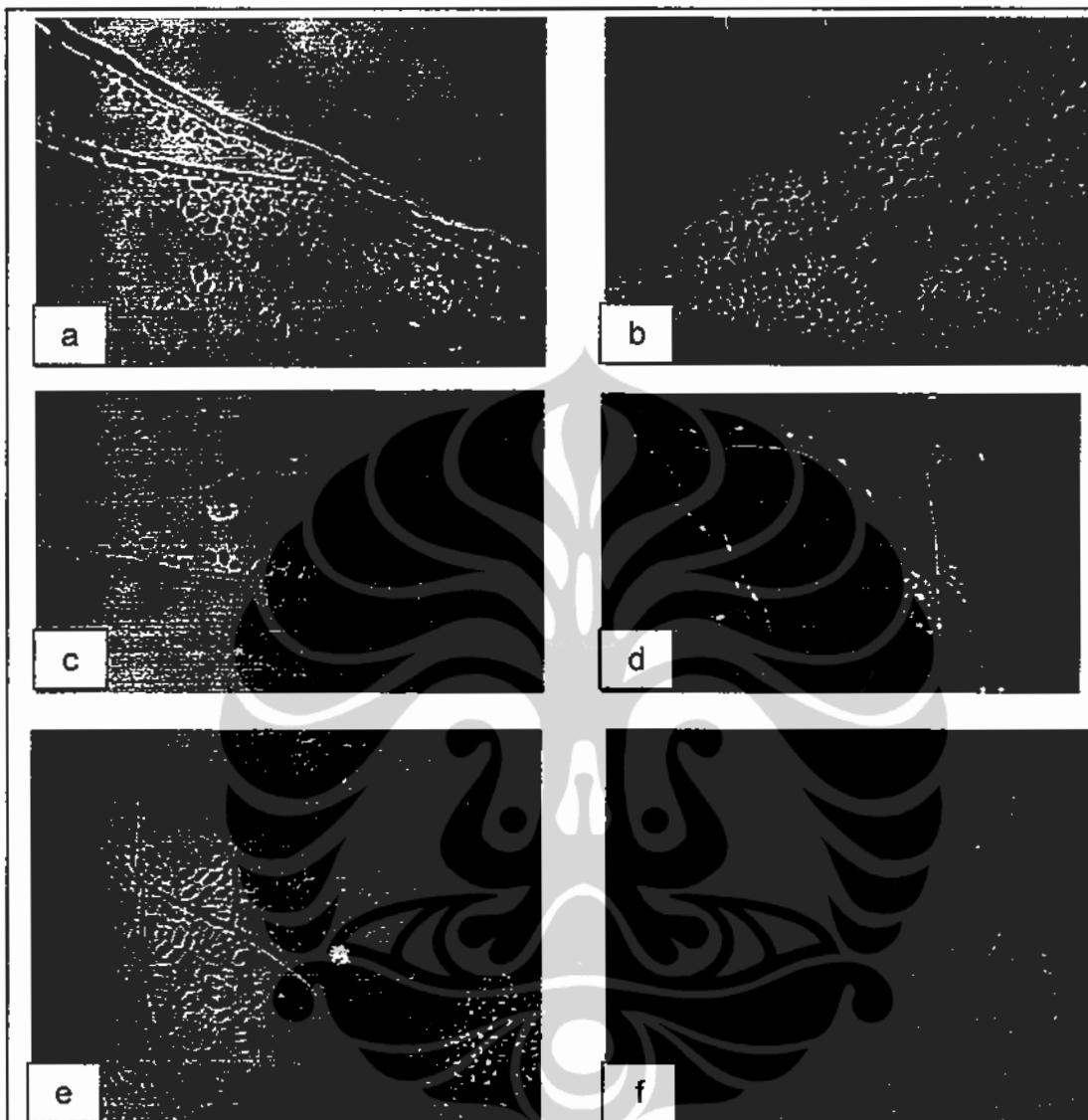
Gambar I.6. Koloni kapang *Aspergillus terreus* umur 6 hari yang di ko-kultur dengan khamir *Rhodotorula* spp., pada medium PDB pH 5.



Keterangan:

- (a) = kontrol *Aspergillus ochraceus*
- (b) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dengan *Aspergillus ochraceus*
- (c) = kontrol *Aspergillus terreus*
- (d) = ko-kultur *Rhodotorula* sp. UICC Y-332 dengan *Aspergillus terreus*

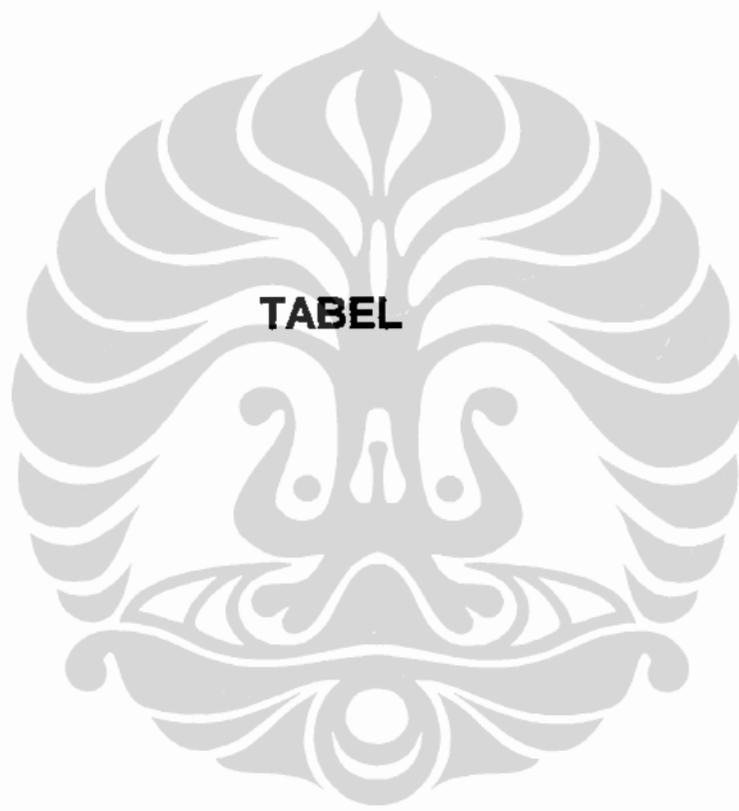
Gambar I.7. Pengamatan mikroskopis kapang *Aspergillus ochraceus* dan *Aspergillus terreus* pada kontrol dan perlakuan pada hari ke-3 inkubasi, pada suhu 25—27 °C.



Keterangan:

- a. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-318
- b. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-325
- c. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-332
- d. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381
- e. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-384
- f. Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-386

Gambar 1.8. Pengamatan mikroskopis enam strain *Rhodotorula* sp. yang menempel pada *Dreslera* sp. pada *slide culture*, inkubasi 3 hari, pada suhu 25–27 °C.



TABEL

Tabel I.1. Data asal dan identitas strain khamir UICC dari Kebun Raya Cibodas

No	Kode UICC	Nama Spesies	Asal Strain
1	Y-318	<i>Rhodotorula</i> sp.	Bunga <i>Lantana camera</i>
2	Y-332	<i>Rhodotorula</i> sp.	Bunga <i>Rhodomyrtus tomentosa</i>
3	Y-325	<i>Rhodotorula</i> sp.	Pollen <i>Rhodomyrtus tomentosa</i>
4	Y-381	<i>Rhodotorula</i> sp.	Daun <i>Sloanea siquium</i>
5	Y-384	<i>Rhodotorula</i> sp.	Daun <i>Jasminum pubescens</i>
6	Y-386	<i>Rhodotorula</i> sp.	Daun <i>Itea macrophylla</i>

Sumber: Oetari dkk. (2007)

Tabel I.2. Data asal isolat dan identitas kapang patogen

No	Kode UICC	Nama Spesies	Asal Isolat
1	D.1.2.2.SS.M3	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Daun, Batai Biogen, Bogor
2	D.1.3.MC	<i>Aspergillus terreus</i>	Daun, Batai Biogen, Bogor
3	D.2.2.MC	<i>Drechslera</i> sp.	Daun, Perum Kunciran Mas, Tangerang

Sumber: Oetari dkk. (2007)

Tabel I.3. Hasil penghitungan jumlah sel khamir dalam inokulum yang digunakan untuk uji antagonisme dengan strip method, dihitung setelah umur 48 jam pada medium PCA dengan metode Total Plate Count (TPC)

No	Nama Spesies	Kode UICC	10^3			10^6			10^7			Rata-rata	
			1	2	3	rata-rata	1	2	3	rata-rata	1	2	
1	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y-318	>300	>300	160	160,00	40	33	37	36,67	2	6	0
2	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y-325	>300	223	256	239,50	28	73	89	63,33	5	4	9
3	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y-332	192	153	189	178,00	28	27	27	27,33	1	1	1
4	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y-381	250	289	285	274,67	28	21	38	29,00	8	4	3
5	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y-384	250	281	276	269,00	35	28	30	30,33	4	2	0
6	<i>Rhodotorula</i> sp.	Y-386	161	137	100	132,67	10	11	10	10,33	1	0	0

Tabel I.4. Hasil penghitungan jumlah sel kapang dalam inokulum yang digunakan untuk uji antagonisme dengan *strip method*, dihitung setelah umur 48 jam pada medium PCA dengan metode Total Plate Count (TPC)

Nama spesies	Kode UICC	Jumlah koloni (cfu/ml)X10 ⁶										Rata-rata (cfu/ml)		
		Pengenceran												
		10 ⁻⁵	1	2	3	rate-rata	10 ⁻⁶	1	2	3	rate-rata	10 ⁻⁷	1	2
<i>A. terreus</i>	D22MC	128	156	106	130	43	36	19	32,67	9	3	0	6	3,2 X 10 ⁸
<i>Aspergillus ochraceus</i>	D122SSM3	>300	>300	>300	-	137	155	127	139,7	83	74	88	81,7	4,8 x 10 ⁹
<i>Drechslera</i> sp.	D13MC	52	38	0	45	3	6	8	5,6	0	0	0	0	5,2 x 10 ⁴

Tabel I.5. Hasil pengukuran lebar kapang *Drechslera* sp. pada medium kontrol selama 6 hari, suhu 25—27 °C, pada medium PDA

Kode UICC	Hari ke	Lebar koloni (mm)			Rata-rata	Keterangan
		1	2	Ujangan ke-		
D1.3 MC	2	11,27	12,06	9,42	10,47	Kapang telah bersporulasi di seluruh garis inokulasi. Spora ber tekstur kasar, dan berwarna hijau keabuan.
	3	16,70	19,5	14,45	13,26	Kapang berambah lebat dan lebar.
	4	17,26	17,89	17,89	17,89	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.
	5	33,86	39,39	34,12	33,48	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.
	6	37,96	37,96	37,96	37,96	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.

Tabel 1.6 Persentase reduksi lebar koloni kapang *Drechslera sp.* oleh khamir *Rhodotorula spp.* pada pengujian antagonisme dengan strip method dari hari ke-6, pada medium PDA, suhu 25–27 °C

Kode UICC	Hari ke	Lebar koloni (mm)			Keterangan	Persentase reduksi koloni (%)
		1	2	3		
Y-318	2	6,24	6,86	5,84	6,09	Miselium sudah tumbuh berupa hifa putih, belum berspora.
	3	6,73	5,84	6,14	5,4	Kapang sudah berspora, spora berwarna hijau lumut.
	4	5,89	6,55	7,05	6,50	Spora kapang bertambah banyak.
	5	13,54	11,08	14,40	13,01	Spora kapang bertambah banyak, hifa kapang sudah melewati khamir
	6	32,67	20,27	20	27,48	Spora kapang bertambah banyak, hifa kapang sudah melewati khamir
Y-325	2	3,49	3,07	2,16	3,03	Miselium sudah tumbuh berupa hifa putih, belum berspora
	3	4,74	4,67	4,71	4,66	Kapang sudah berspora, spora berwarna hijau lumut
	4	5,09	6,05	4,06	5,22	Miselium kapang belum melewati koloni khamir, sponulasi bertambah lebat dan lebar,
	5	14,56	6,39	5,41	10,11	Seluruh permukaan khamir tertutupi oleh miselium kapang yang bersporulasi.
	6	~ 32,67	20,27	20,1	27,48	Seluruh permukaan khamir tertutupi oleh miselium kapang yang bersporulasi.
Y-332	2	4,17	4,45	3,99	4,20	Kapang sudah bersporulasi, tetapi jumlahnya sedikit.
	3	4,43	4,65	4,65	4,58	Sponulasi kapang bertambah lebat dan lebar
	4	7,17	6,90	5,67	6,58	Miselium kapang sudah melewati koloni khamir, sponulasi bertambah lebat dan lebar.
	5	17,01	23,55	6,54	15,70	Miselium telah melewati koloni khamir, sponulasi bertambah banyak dan lebat hingga menutupi koloni khamir.
	6	22,20	29,25	11,45	20,97	Seluruh permukaan khamir tertutupi oleh miselium kapang yang bersporulasi.

Lanjutan

Y-381	2	6,24	6,86	5,84	6,09	Kapang sudah bersporulasi, tetapi jumlahnya sedikit	41,83
	3	6,73	5,84	6,14	5,4	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar	
Y-384	4	11,93	16,09	11,9	12,74	Miselium kapang sudah melewati koloni khamir, sporulasi bertambah lebat dan lebar	59,28
	5	22,28	23,56	20,72	21,52	Miselium telah melewati koloni khamir, sporulasi bertambah banyak dan lebat hingga menutupi koloni khamir	
Y-386	6	29,10	29,97	28,55	28,73	Seluruh permukaan khamir tertutupi oleh miselium kapang yang bersporulasi	35,72
	7	3,68	2,99	3,65	3,43	Miselium sudah tumbuh berupa hifa putih, belum berspora	
Y-387	3	5,13	4,93	4,37	4,58	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar hanya di antara koloni khamir	28,79
	4	11,93	16,09	11,9	12,74	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar	
Y-388	5	22,28	23,55	20,72	21,52	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar hanya di antara koloni khamir	35,72
	6	29,10	29,97	28,55	28,73	Sporulasi kapang bertambah banyak dan lebat, sebagian kecil hifa kapang sudah menutupi khamir	
Y-389	2	5,39	5,00	4,99	5,13	Kapang sudah bersporulasi, tetapi jumlahnya sedikit	67,24
	3	5,47	6,13	5,52	5,71	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar	
Y-390	4	17,42	13,80	17,92	16,38	Miselium telah melewati koloni khamir, sporulasi bertambah banyak dan lebat.	51
	5	28,50	25,28	26,28	26,69	Miselium telah melewati koloni khamir, sporulasi bertambah banyak dan lebat hingga menutupi koloni khamir.	
Y-391	6	38,44	35,28	38,02	37,25	Seluruh permukaan khamir tertutupi oleh miselium kapang yang bersporulasi	8,44
	7	41,83	38,73	41,83	41,83	Seluruh permukaan khamir tertutupi oleh miselium kapang yang bersporulasi	

Tabel 1.7. Hasil pengukuran lebar kapang *Aspergillus ochraceus* pada medium kontrol selama 6 hari, suhu ruang (25---27 °C), pada medium PDA

Hari ke	Lebar Koloni (mm)			Rata-rata	Keterangan
	1	2	3		
2	7,47	8,29	9,76	8,68	Kapang telah bersporiasi di seluruh garis inokulasi.
3	18,83	15,73	15,52	16,46	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.
4	26,32	25,09	23,06	22,95	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.
5	36,11	35,78	37,1	33,69	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.
6	42,33	43,81	46,01	41,06	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.

Tabel 1.8 Persentase reduksi lebar koloni kapang Aspergillus ochraceus oleh khamir Rhodotorula spp. pada pengujian antagonisme dengan strip method dari hari ke-2 hingga hari ke-6, pada medium PDA, suhu 25—27 °C

Kode UICC	Hari ke	Lebar koloni (mm)			Keterangan	Persentase reduksi koloni (%)
		1	2	3		
Y-318	2	5,22	5,06	5,03	5,10 Kapang telah bersporulasi di sepanjang garis inoculasi	41,15
	3	14,88	11,01	12,22	12,70 Sporulasi bertambah lebat dan lebar, kapang belum melewati khamir.	22,57
	4	24,67	22,30	21,06	22,68 Sporulasi bertambah lebat dan lebar, kapang belum melewati khamir.	0,57
	5	39,85	30,68	29,92	33,48 Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir.	-0,35
	6	38,72	33,54	33,54	35,27 Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi seluruh koloni khamir.	13,72
	Y-325	2	3,25	5	4,07 Kapang sudah berspora	51,28
Y-332	3	5,89	5,55	5,23	5,56 Sporulasi bertambah lebat dan lebar, kapang belum melewati khamir.	68,06
	4	8,57	6,22	10,62	8,47 Beberapa bagian miselium sudah melewati khamir, sporulasi bertambah lebat dan lebar	63,96
	5	21,95	14,03	17,50	17,83 Beberapa bagian miselium sudah melewati khamir, sporulasi bertambah lebat dan lebar.	46,99
	6	25,70	21,18	23,74	23,54 Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi sebagian khamir	42,71
	2	4,08	4,32	5,35	4,58 Kapang telah bersporulasi di sepanjang garis inoculasi	48,00
	3	4,14	5,68	6,66	5,50 Sporulasi bertambah lebat dan lebar.	67,25
	4	17,77	11,76	13,93	14,48 Beberapa bagian miselium sudah melewati khamir, sporulasi bertambah lebat dan lebar.	38,66
	5	25,95	24,80	21,80	24,18 Beberapa bagian miselium sudah melewati khamir.	27,58
	6	34,35	31,83	23,81	30,00 Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi sebagian khamir	25,56

Lanjutan

Y-381	2	3,49	4,30	4,16	3,98	Kapang telah bersporulasii di sepanjang garis inoculasi	54,28
						Sporulasii bertambah lebat dan lebar, kapang belum melewati khamir.	
Y-384	4	4,87	10,95	6,87	7,56	Sporulasii bertambah lebat dan lebar, kapang belum melewati khamir.	66,77
						Sporulasii bertambah lebat dan lebar, kapang sudah melewati khamir.	
Y-386	5	8	6	11,87	11,69	Spora kapang bertambah banyak dan lebar, miselium sudah melewati khamir.	72,46
						Spora kapang bertambah banyak dan lebar, miselium sudah melewati khamir.	
Y-386	6	24,02	15,74	24,06	11,73	Kapang telah bersporulasii di sepanjang garis inoculasi	60,13
						Sporulasii bertambah lebat dan lebar, kapang belum melewati khamir.	
Y-386	3	5,37	5,55	5,68	5,53	Sporulasii bertambah lebat dan lebar, kapang belum melewati khamir.	55,76
						Sporulasii hanya terjadi pada miselium yang berada di antara khamir. Miselium telah melewati khamir di beberapa bagian.	
Y-386	4	17,53	7,35	6,36	10,41	Sporulasii bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir di seluruh bagian.	41,53
						Sporulasii bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir hampir di seluruh bagian.	
Y-386	6	31,63	23,61	23,10	26,11	Kapang di seluruh bagian.	35,74
						Sporulasii bertambah lebat dan lebar, kapang belum melewati khamir.	
Y-386	3	7,87	13,74	5,41	9,00	Sporulasii hanya terjadi pada miselium yang berada di antara khamir. Miselium telah melewati khamir di beberapa bagian.	41,48
						Sporulasii bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir hampir di seluruh bagian.	
Y-386	4	16,60	18,08	9,48	14,72	Sporulasii bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir hampir di seluruh bagian.	33,80
						Sporulasii bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir hampir di seluruh bagian.	
Y-386	6	33,29	35,54	25,70	31,51	Sporulasii bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir hampir di seluruh bagian.	21,96

Tabel I.9. Hasil pengukuran lebar kapang *Aspergillus terreus* pada medium kontrol selama 6 hari, suhu ruang (25—27 °C), pada medium PDA

Hari ke	Lebar koloni (mm)			Rata-rata	Keterangan
	1	2	3		
2	7,31	6,90	7,45	7,22	Kapang telah bersporulasi di sepanjang garis inokulasi. Spora bertekstur granula, berwarna cokelat.
3	13,03	12,33	13,31	12,89	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.
4	20,05	20,09	20,02	20,05	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.
5	23,23	26,95	27,64	25,94	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.
6	29,30	26,97	31,64	29,30	Sporulasi kapang bertambah lebat dan lebar.

Tabel 1.10 Persentase reduksi lebar koloni kapang *Aspergillus terreus* oleh khamir *Rhodotorula* spp. pada pengujian antagonisme dengan strip method dari hari ke-2 hingga hari ke-6, pada medium PDA, suhu 25—27 °C

Kode UICC	Hari ke	Lebar koloni (mm)			Keterangan	Persentase reduksi koloni (%)
		1	2	3		
Y-318	2	3,57	3,63	4,24	3,81	Kapang sudah berspora tetapi jumlah spora yang tumbuh sedikit. Khamir sudah tumbuh
	3	5,30	4,20	7,14	5,55	Sporulasi bertambah lebat dan lebar, kapang belum melewati khamir.
	4	11,23	8,77	9,70	9,90	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir.
	5	16,87	11,73	21,29	16,63	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir.
	6	24,12	20,77	24,78	23,22	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi seluruh koloni khamir.
	Y-325	2	4,31	5,15	4,82	Kapang sudah berspora tetapi jumlah spora yang tumbuh sedikit. Khamir sudah tumbuh
	3	10,33	10,55	10,65	10,51	Sporulasi hanya terjadi pada miselium yang berada di antara khamir. Miselium telah melewati khamir di beberapa bagian
	4	21,32	17,01	21,91	20,08	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga melewati khamir.
	5	26,92	26,03	27,05	26,67	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir.
	6	32,67	32,15	32,39	32,40	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi seluruh koloni khamir.
	Y-332	2	3,54	3,92	3,69	Kapang sudah berspora tetapi jumlah spora yang tumbuh sedikit. Khamir sudah tumbuh
	3	4,66	5,00	5,28	4,97	Sporulasi hanya terjadi pada miselium yang berada di antara khamir. Miselium telah melewati khamir di beberapa bagian
	4	6,88	7,75	8,13	7,59	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga melewati khamir.
	5	23,57	22,43	14,66	20,22	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir.
	6	30,23	28,46	25,64	26,11	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi seluruh koloni khamir.
						4,71

Lanjutan

Y-381	2	2,36	2,07	2,37	2,26	Mulai tumbuh miselium berupa lapisan hifa berwarna putih. Khamir sudah tumbuh.	88,77
	3	13,39	10,67	5,15	9,74	Kapang sudah bersporulasi, miselium bertambah lebar tetapi belum melewati khamir.	21,21
	4	20,78	15,90	5,47	14,05	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga melewati khamir.	26,04
	5	24,02	17,18	7,91	16,37	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir.	33,93
	6	31,86	24,26	16,38	24,17	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi seluruh koloni khamir.	15,68
Y-384	2	5,15	4,80	4,98	4,98	Kapang sudah berspora tetapi jumlah spora yang tumbuh sedikit. Khamir sudah tumbuh.	31,10
	3	5,95	5,03	5,49	5,49	Jumlah spora kapang di antara khamir bertambah banyak sedikit.	57,38
	4	13,64	19,04	16,34	16,34	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga melewati khamir.	18,53
	5	22,10	23,87	22,89	22,99	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir.	11,38
	6	28,73	30,01	29,37	29,37	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi seluruh koloni khamir.	0,45
Y-386	2	4,62	4,04	4,21	4,29	Kapang sudah berspora tetapi jumlah spora yang tumbuh sedikit. Khamir sudah tumbuh.	40,46
	3	5,10	5,76	4,85	5,28	Jumlah spora kapang di antara khamir bertambah banyak.	58,79
	4	12,45	13,80	17,79	14,68	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga melewati khamir.	28,20
	5	25,71	25,28	25,91	25,63	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi khamir.	1,28
	6	29,63	29,94	30,96	30,18	Sporulasi bertambah lebat dan lebar hingga menutupi seluruh koloni khamir.	-2,05

Tabel I.11. Hasil penghitungan jumlah sel khamir dan kapang dalam inokulum yang digunakan untuk uji antagonisme dengan ko-kultur, dihitung setelah umur 48 jam pada medium PCA dengan metode Total Plate Count (TPC)

No	Kode Khamir	Jumlah koloni (cfu/ml)										rata-rata (10^6) x cfu/ml	
		10^{-5}		rata-rata		10^{-6}		rata-rata		10^{-7}			
		1	2	1	2	38	39	4	2	3	2		
1	Y-318	>300	>300	-	-	40	38	39	4	2	3	3,45	
2	Y-325	>300	185	185	-	77	74	75,5	6	5	5,5	5,59	
3	Y-332	>300	>300	-	-	30	8	19	1	0	1	1,6	
4	Y-381	>300	>300	-	-	16	17	16,5	1	2	1,5	1,575	
5	Y-384	>300	>300	-	-	40	43	41,5	8	5	6,5	6,325	
6	Y-386	267	167	217	33	42	37,5	5	5	5	5	3,84	

Tabel I.12. Hasil penghitungan jumlah sel kapang dalam inokulum yang digunakan untuk uji antagonisme dengan ko-kultur, dihitung setelah umur 48 jam pada medium PCA dengan metode Total Plate Count (TPC)

No	Nama spesies	Kode UICC	Jumlah koloni (cfu/ml)						rata-rata (10^6)	
			10^{-5}		10^{-6}		10^{-7}			
			1	2	1	2	1	2		
1	<i>Aspergillus terreus</i>	D2.2 MC	75	88	81,5	8	6	7	0	0
2	<i>A. ochraceus</i>	D1.2.2 SS. M3	50	43	48,5	10	9	9,5	0	0
									5,5	5,5
									7×10^7 sel/ml	7×10^7 sel/ml

Tabel I.13. Hasil pengamatan makroskopis uji antagonisme khamir *Rhodotorula* spp. terhadap kapang *Aspergillus ochraceus* dengan metode ko kultur pada medium PDB pH 5

Hari ke	Kontrol <i>Aspergillus ochraceus</i>	Pertumbuhan <i>Aspergillus ochraceus</i> dalam perlakuan dengan				
		UICC Y-318	UICC Y-325	UICC Y-332	UICC Y-381	UICC Y-384
1	Kapang belum tumbuh	Kapang belum tumbuh, terdapat endapan berwarna orange pada dasar medium				
2	Miselium kapang sudah tumbuh.	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				
3	Kapang sudah bersporulasi dan bergerminasi.	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				
4	Koloni kapang berwana ochre	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				
5	Koloni kapang yang tumbuh pada medium bertambah banyak.	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				
6	Koloni kapang yang tumbuh pada medium bertambah banyak.	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				

Tabel I.14. Hasil pengamatan makroskopis uji antagonisme khamir *Rhodotorula* spp. terhadap kapang *Aspergillus terreus* dengan metode ko kultur pada medium PDB pH 5

Hari ke	Kontrol <i>Aspergillus terreus</i>	Pertumbuhan <i>Aspergillus terreus</i> dalam perlakuan dengan				
		UICC Y-318	UICC Y-325	UICC Y-332	UICC Y-381	UICC Y-384
1	Kapang belum tumbuh	Kapang belum tumbuh, terdapat endapan berwarna orange pada dasar medium				
2	Miselium kapang sudah tumbuh.	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				
3	Kapang sudah bersporulasi dan bergerminasi.	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				
4	Koloni kapang berwana cokelat muda.	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				
5	Koloni kapang yang tumbuh pada medium bertambah banyak.	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				
6	Koloni kapang yang tumbuh pada medium bertambah banyak.	Kapang belum tumbuh, medium bertambah keruh				

Tabel I.15 Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa kontrol *A. ochraceus* pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2				Hari ke -3			
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	9,79	9,62	10,24	9,88	1,43	1,64	1,58	1,55
2	5,93	6,73	5,73	6,13	1,44	1,66	1,66	1,59
3	12,2	11,41	11,89	11,83	1,94	1,9	1,68	1,84
4	8,27	8,61	9,03	8,64	1,38	1,37	1,26	1,34
5	8,89	8,99	9,27	9,08	1,47	1,25	1,41	1,38
6	6,91	7,89	7,86	7,55	1,33	1,39	1,45	1,39
7	11,12	11,07	11,06	11,08	1,72	1,72	1,68	1,71
8	7,85	7,99	7,81	7,88	1,42	1,45	1,55	1,47
9	8,4	8,46	8,33	8,40	1,82	1,82	1,79	1,81
10	10,25	10,02	9,93	10,07	1,33	1,39	1,45	1,39
11	9,78	9,93	9,4	9,70	2,02	1,61	1,78	1,80
12	10,71	10,16	10,77	10,55	1,86	1,91	1,9	1,89
13	7,82	7,68	6,26	7,25	2,1	2,2	2,3	2,20
14	10,99	11,85	11,39	11,41	1,43	1,84	1,58	1,55
15	10,38	10,24	10,89	10,50	1,44	1,68	1,66	1,59
16	10,09	9,79	9,88	9,92	1,82	1,82	1,79	1,81
17	10,28	10,95	10,39	10,54	1,33	1,39	1,45	1,39
18	10,71	10,16	10,77	10,55	1,42	1,45	1,55	1,47
19	8,4	8,46	8,33	8,40	1,82	1,82	1,79	1,81
20	10,25	10,02	9,93	10,07	1,33	1,39	1,45	1,39
rata-rata	9,46	9,50	9,46	9,47	1,59	1,62	1,64	1,62
					10,12	10,21	10,13	10,16
								1,61
								1,60

Tabel I.16. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *A. ochraceus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2					Hari ke-3				
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	9,79	9,62	10,24	9,88	1,43	1,64	1,58	1,55	8,49	8,1
2	5,93	6,73	5,73	6,13	1,44	1,66	1,66	1,59	10,72	10
3	12,2	11,41	11,89	11,83	1,94	1,9	1,68	1,84	9,66	9,74
4	8,27	8,61	9,03	8,84	1,38	1,37	1,26	1,34	11,26	11,34
5	8,99	8,99	9,27	9,08	1,47	1,25	1,41	1,38	12,78	12,32
6	6,91	7,89	7,86	7,55	1,33	1,39	1,45	1,39	12,04	12,32
7	11,12	11,07	11,06	11,08	1,72	1,72	1,68	1,71	9,66	10,7
8	7,85	7,99	7,81	7,88	1,42	1,45	1,55	1,47	11,01	11,03
9	8,4	8,46	8,33	8,40	1,82	1,82	1,79	1,81	12,1	11,58
10	10,25	10,02	9,93	10,07	1,33	1,39	1,45	1,39	11,11	11,02
11	9,78	9,93	9,4	9,70	2,02	1,61	1,78	1,80	11,2	11,07
12	10,71	10,16	10,77	10,55	1,86	1,91	1,9	1,89	7,29	7,2
13	7,82	7,68	6,26	7,25	2,1	2,2	2,3	2,20	8,06	7,46
14	10,99	11,85	11,39	11,41	1,43	1,64	1,58	1,55	7,63	7,94
15	10,38	10,24	10,89	10,50	1,44	1,66	1,66	1,59	9,32	9,31
16	10,09	9,79	9,88	9,92	1,82	1,82	1,79	1,81	10,3	10,12
17	10,26	10,95	10,39	10,54	1,33	1,39	1,45	1,39	10,3	11,45
18	10,71	10,16	10,77	10,55	1,42	1,45	1,55	1,47	9,68	10,7
19	8,4	8,46	8,33	8,40	1,82	1,82	1,79	1,81	10,14	10,19
20	10,25	10,02	9,93	10,07	1,33	1,39	1,45	1,39	9,66	10,7
rata-rata	9,46	9,50	9,46	9,47	1,59	1,62	1,64	1,62	10,12	10,21
									10,13	10,16
									1,61	1,59
									1,60	1,60

Tabel I.17: Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *A. ochraceus Rhodotorula* sp. yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-325 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2						Hari ke -3					
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	9,79	9,8	8,92	9,50	1,74	1,65	1,71	1,70	9,21	9,62	9,67	9,50
2	7,68	9,12	8,21	8,34	1,81	1,69	1,7	1,73	10,39	10,38	10,23	10,33
3	9,04	9,13	9,085	9,09	1,66	1,55	1,68	1,63	9,79	9,66	9,51	9,65
4	9,56	9,31	9,87	9,58	1,78	1,7	1,7	1,73	8,17	8,65	8,24	8,35
5	8,94	8,15	9,07	8,72	1,52	1,69	1,66	1,62	8,94	9,62	10,02	9,53
6	9,82	10,3	11,24	10,45	1,74	1,6	1,41	1,58	9,74	9,65	10,43	9,94
7	9,93	10,16	10,31	10,13	1,58	1,36	1,43	1,43	9,27	9,58	9,72	9,52
8	8,41	8,67	7,77	8,28	1,54	1,58	1,43	1,51	10,85	9,88	10,33	10,35
9	9,99	10,23	10,58	10,27	1,59	1,68	1,66	1,64	12,43	13,09	13,01	12,84
10	9,62	9,08	9,26	9,32	1,89	1,57	1,47	1,64	9,28	8,89	9,07	9,08
11	8,03	7,05	8,04	7,71	1,01	1,16	0,98	1,05	10,03	9,19	8,73	9,32
12	9,57	9,29	9,43	9,43	1,68	1,62	1,6	1,63	10,32	9,99	11,09	10,47
13	11,1	10,57	11,49	11,05	1,45	1,22	1,05	1,24	10,44	9,37	9,66	9,82
14	10,34	10,03	10,2	10,19	1,72	1,84	1,76	1,77	11,59	11,96	11,87	11,81
15	9,93	9,73	9,9	9,85	1,27	1,37	1,3	1,31	6,91	6,87	6,93	6,90
16	8,01	8,72	8,22	8,32	1,6	1,39	1,54	1,51	11,31	11,04	11,34	11,23
17	10,29	11,69	10,74	10,91	2,03	2,12	2,13	2,09	8,15	7,7	8,19	8,01
18	10,34	10,03	10,2	10,19	1,58	1,36	1,36	1,43	12,95	13,34	12,62	12,97
19	12,95	13,34	12,62	12,97	1,54	1,56	1,43	1,51	10,28	10,41	10,35	10,35
20	10,85	9,88	10,33	10,35	1,59	1,68	1,66	1,64	8,42	8,24	8,11	8,28
rata-rata	9,71	9,71	9,77	9,73	1,62	1,57	1,53	1,57	9,92	9,86	9,96	9,91

Tabel I.18. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *A. ochraceus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-332 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2					Hari ke-3				
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	9,69	11,34	8,9	9,98	1,63	1,69	1,73	1,68	13,12	11,95
2	9,71	9,85	9,41	9,66	1,37	1,22	1,15	1,25	10,95	9,98
3	9,38	8,67	8,72	8,92	2,07	1,94	1,96	2,01	11,55	11,31
4	8,77	9,9	8,85	9,17	1,78	1,51	1,64	1,64	7,84	8,2
5	6,73	6,91	7,09	6,91	1,07	0,89	0,97	0,98	9,08	9,5
6	11,07	10,77	10,98	10,93	1,49	1,45	1,54	1,49	7,95	8,37
7	9,39	9,82	9,73	9,65	1,72	1,64	1,74	1,70	9,69	11,34
8	11,83	10,87	12,03	11,58	1,86	1,92	1,84	1,91	8,38	8,67
9	10,72	10,22	9,79	10,24	1,48	1,47	1,34	1,43	10,16	9,51
10	8,88	10,54	9,23	9,55	1,82	1,63	1,92	1,79	9,57	9,34
11	8,45	8,25	7,84	8,18	1,37	1,39	1,61	1,46	11,07	10,77
12	11,02	10,98	10,51	10,84	2,22	2,28	2,16	2,22	11,83	10,87
13	11,02	10,98	10,51	10,84	1,66	1,66	1,32	1,55	10,72	10,22
14	14	14,43	13,3	13,91	1,81	1,67	1,78	1,75	13,12	11,85
15	9,52	9,68	9,05	9,42	1,04	1,09	1,03	1,05	11,55	11,31
16	7,84	8,2	7,79	7,94	1,48	1,47	1,34	1,43	10,16	9,51
17	9,08	9,5	9,73	9,44	1,82	1,63	1,92	1,79	10,72	10,22
18	7,95	8,37	8,49	8,27	1,37	1,39	1,61	1,46	10,16	9,51
19	9,69	11,34	8,9	9,98	2,22	2,28	2,16	2,22	9,57	9,34
20	9,38	8,67	8,72	8,92	1,37	1,39	1,61	1,46	11,07	10,77
rata-rata	9,71	9,96	9,48	9,72	1,63	1,58	1,61	1,61	10,46	10,13
									10,00	10,00
									1,63	1,70
									1,69	1,68

Tabel 1.19. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *A. ochraceus*, yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp UICC Y-381 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2					Hari ke -3				
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	8,18	7,77	7,88	1,46	1,39	1,34	1,40	10,15	9,22	9,57
2	9,03	8,83	8,91	2,24	1,84	1,76	1,95	10,82	11,68	11,47
3	9,14	9,48	9,7	9,44	1,58	1,33	1,43	11,45	11,66	12,38
4	8,68	9,54	8,89	9,04	1,86	1,59	1,58	9,24	10,57	9,95
5	7,68	9,18	9,18	8,68	1,42	1,42	1,69	1,51	10,73	10,72
6	10,38	10,24	10,89	10,50	1,64	1,63	1,63	10,83	11,93	11,73
7	10,5	11,27	10,33	10,70	1,31	1,32	1,28	1,30	10,99	11,85
8	7,54	7,25	6,87	7,22	1,74	1,37	1,46	1,52	10,38	10,24
9	6,91	6,64	6,99	6,85	1,78	1,82	1,9	1,83	10,09	9,79
10	7,68	9,18	9,18	8,68	1,53	1,35	1,32	1,40	10,28	10,95
11	9,03	8,83	8,91	8,92	1,54	1,64	1,72	1,63	9,88	10,22
12	9,14	9,48	9,7	9,44	1,99	1,46	1,48	1,64	7,48	7,81
13	8,82	8,73	8,52	8,69	1,69	1,54	1,59	1,61	7,68	7,73
14	10,5	11,27	10,33	10,70	1,85	1,85	1,94	1,88	6,73	6,82
15	7,54	7,25	6,87	7,22	1,41	1,38	1,28	1,36	9,1	8,35
16	6,91	6,64	6,99	6,85	1,49	1,44	1,53	1,49	8,3	8,46
17	7,68	9,18	9,18	8,68	1,8	1,49	1,63	1,64	8,31	7,23
18	10,38	10,24	10,89	10,50	1,41	1,52	1,66	1,53	6,74	7,59
19	10,09	9,79	9,88	9,92	1,33	1,38	1,32	1,34	7,66	7,73
20	10,82	11,68	11,47	11,32	1,69	1,54	1,59	1,81	10,28	10,95
rata-rata	8,83	9,12	9,08	9,01	1,64	1,52	1,56	1,57	9,37	9,61
									9,35	9,44
									1,66	1,55
									1,59	1,60

Tabel 1.20. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *A. ochraceus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-384 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi

No	Hari ke-2					Hari ke-3				
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	8,88	8,88	8,83	8,86	1,46	1,26	1,38	1,37	9,76	10,84
2	9,87	8,9	9,97	9,58	1,85	1,67	1,41	1,64	9,53	8,85
3	9,41	10,33	8,69	9,48	1,5	1,28	1,53	1,44	11,5	11,94
4	8,18	8,53	8,47	8,39	1,59	1,34	1,26	1,40	10,5	10,34
5	9,3	9,72	9,23	9,42	1,48	1,51	1,6	1,53	10,16	10,28
6	9,79	10,16	8,63	9,53	1,85	1,86	1,9	1,87	10,3	10,52
7	10,89	11,74	11,02	11,22	2,63	2,44	2,39	2,49	10,11	10,34
8	10,28	10,38	10,3	10,32	2,26	2,21	2,08	2,18	11,11	10,41
9	7,54	7,25	6,87	7,22	1,44	1,36	1,47	1,42	12,78	13,06
10	10,91	10,71	11,09	10,90	1,44	1,33	1,38	1,38	8,42	8,2
11	7,68	9,18	9,18	8,68	1,74	1,68	1,66	1,69	17,26	17,69
12	8,36	8,29	7,52	8,06	1,96	1,71	1,73	1,80	12,51	12,87
13	7,41	8,83	7,48	7,91	1,45	1,31	1,36	1,37	8,46	8,11
14	9,21	9,97	9,93	9,70	2,15	2,11	2,08	2,11	12,92	12,34
15	7,66	7,73	7,15	7,51	1,56	1,5	1,38	1,48	6,59	6,86
16	6,73	6,82	5,72	6,42	1,14	1,28	1,08	1,17	9,37	9,14
17	11,83	11,69	12,01	11,84	1,68	1,51	1,51	1,57	8,64	8,86
18	10,74	11,16	11,17	11,02	1,93	1,9	1,97	1,93	9,59	10,44
19	8,31	7,23	7,73	7,76	1,52	1,47	1,25	1,41	12,35	10,58
20	6,74	7,59	7,25	7,19	1,81	1,8	1,65	1,75	7,87	7,55
rata-rata	8,99	9,25	8,91	9,05	1,74	1,67	1,63	1,65	10,56	10,41
									10,48	10,48
									1,94	1,91
									1,90	1,92

Tabel 1.21. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *A. ochraceus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2					Hari ke-3				
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	8,22	7,59	8,08	7,96	1,27	1,12	1,13	1,17	16,71	17,47
2	7,77	8,09	7,77	7,88	1,51	1,43	1,38	1,44	10,71	9,6
3	10,47	10,74	10,88	10,70	1,76	1,76	1,74	1,75	10,19	9,61
4	9,82	10,3	9,11	9,74	1,57	1,76	1,53	1,62	8,17	8,34
5	9,99	9,71	9,81	9,84	1,99	1,53	1,72	1,75	10,71	9,6
6	8,48	8,35	8,17	8,33	1,5	1,26	1,51	1,42	7,23	8,57
7	10,91	10,71	11,09	10,90	1,79	1,91	1,67	1,79	10,19	9,61
8	11,83	11,69	12,01	11,84	1,83	1,82	1,69	1,78	8,17	8,34
9	10,74	11,16	11,17	11,02	1,54	1,6	1,78	1,64	8,04	9,52
10	9,53	9,96	9,68	9,73	1,8	1,89	1,65	1,78	9,21	8,95
11	9,93	10,47	10,17	10,19	1,69	1,58	1,64	1,64	10,04	11,66
12	7,31	6,24	6,89	6,81	1	1,03	1,27	1,10	9,42	9,31
13	7,95	9,71	9,05	8,90	1,27	1,27	1,35	1,30	7,68	9,18
14	6,73	6,23	6,64	6,53	1,41	1,39	1,46	1,42	10,38	10,24
15	11,66	10,27	11,01	10,98	1,57	1,76	1,53	1,62	11,83	11,69
16	10,47	10,74	10,88	10,70	1,99	1,53	1,72	1,75	10,74	11,16
17	9,82	10,3	9,11	9,74	1,5	1,26	1,51	1,42	9,53	9,96
18	9,99	9,71	9,81	9,84	1,79	1,91	1,67	1,79	9,93	10,47
19	10,47	10,74	10,88	10,70	1,83	1,82	1,69	1,78	7,31	6,24
20	9,82	10,3	9,11	9,74	1,54	1,6	1,78	1,64	10,19	9,61
rata-rata	9,26	9,35	9,32	9,60	1,61	1,56	1,57	1,58	9,78	9,80
									9,66	9,80
									1,81	1,84
									1,80	1,82

Tabel 1.22. Persentase reduksi kepala konidia dan lebar hifa kapang *Aspergillus ochraceus* oleh khamir *Rhodotorula* sp. pada inkubasi. hari ke-2 dan ke-3.

Keterangan	Hari ke-2			Hari ke-3		
	Rata-rata diameter kepala konidia (μm)	Persentase reduksi kepala konidia (%)	Rata-rata lebar hifa (μm)	Persentase reduksi lebar hifa (%)	Rata-rata diameter kepala konidia (μm)	Persentase reduksi lebar hifa (%)
Kontrol <i>A. ochraceus</i> D1.2.2. SS.M3	10,78		1,73		9,95	
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-318	9,47	4,82	1,62	6,51	10,16	5,75
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-325	9,73	2,21	1,57	7,10	9,91	8,07
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-332	9,72	2,31	1,61	4,73	10,20	5,38
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381	9,44	9,45	1,60	7,10	9,01	12,43
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-384	10,48	9,05	1,92	2,37	9,05	2,78
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-386	9,80	3,52	1,85	6,51	9,60	9,09
					1,58	-15,03

Tabel I.23. Hasil penghitungan jumlah khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dan kapang *Aspergillus ochraceus* dalam uji antagonisme dengan metode ko-kultur, inkubasi hari ke-3 dan ke-6, dihitung setelah umur 48 jam dalam medium PDB pH 5, dengan metode TPC.

Hari ke	Keterangan	Jumlah sel (cfu/ml)			Rata-rata (cfu/ml)	
		Pengenceran				
		10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵		
3	<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381	Kontrol	>300	>300	>300	180
		perlakuan	>300	275	250	88
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Kontrol	100	138	14	1
		perlakuan	50	46	3	0
6	<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381	Kontrol	>300	>300	>300	>300
		perlakuan	>300	>300	>300	>300
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	Kontrol	>300	>300	>300	193
		perlakuan	100	121	26	8

Tabel I.24. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa Kontrol *Aspergillus terreus* pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2				Hari ke-3			
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	8,68	8,88	8,62	8,73	1,58	1,69	1,66	1,64
2	7,59	7,63	6,43	7,22	1,16	1,26	1,53	1,32
3	10,2	10,2	10,9	10,43	1,65	1,32	1,25	1,41
4	10,36	10,03	10,82	10,40	1,27	1,21	1,24	1,24
5	9,54	9,47	9,56	9,52	1,99	2,62	1,97	2,18
6	19,54	18,32	18,81	18,89	1,48	1,47	1,46	1,47
7	11,14	11,2	11,6	11,31	1,65	1,32	1,25	1,41
8	9,41	9,26	9,71	9,46	1,27	1,21	1,24	1,24
9	11,54	11,15	10,46	11,05	1,17	1,22	1,22	1,20
10	10,65	10,34	11,2	10,73	1,47	1,73	1,65	1,62
11	9,41	9,26	9,71	9,46	1,16	1,26	1,53	1,32
12	9,49	9,65	9,74	9,63	1,72	1,7	1,82	1,75
13	8,61	8,85	8,88	8,78	1,55	1,68	1,58	1,60
14	10,36	10,03	10,82	10,40	1,58	1,69	1,66	1,64
15	9,54	9,47	9,56	9,52	1,16	1,26	1,53	1,32
16	19,54	18,32	18,81	18,89	1,65	1,32	1,25	1,41
17	11,14	11,2	11,6	11,31	1,27	1,21	1,24	1,24
18	9,41	9,26	9,71	9,46	1,99	2,62	1,97	2,19
19	11,54	11,15	10,46	11,05	1,48	1,47	1,46	1,47
20	10,65	10,34	11,2	10,73	1,27	1,21	1,24	1,24
rata-rata	10,92	10,70	10,93	10,85	1,48	1,52	1,49	1,50
					11,08	11,07	11,11	11,09
						11,11	11,09	1,61
							1,59	1,61
								1,60

Tabel 1.25. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *Aspergillus terreus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-318 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2					Hari ke-3				
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	10,25	10,48	10,22	10,32	1,67	1,85	1,73	11,65	11,96	11,75
2	9,19	9,96	9,9	9,68	1,57	1,53	1,57	1,56	7,73	7,76
3	10,14	10,21	10,18	10,18	1,78	1,76	1,75	1,6	10,4	10,79
4	10,68	10,52	10,6	10,60	1,68	1,54	1,49	1,57	10,25	10,48
5	11,54	11,85	11,69	11,69	1,37	1,33	1,28	1,32	9,19	9,96
6	12,08	12,2	12,21	12,16	1,04	1,43	1,29	1,25	10,14	10,21
7	7,99	7,52	7,8	7,77	1,67	1,84	1,68	1,66	10,68	10,52
8	7,45	7,44	7,43	7,44	1,94	1,94	1,9	1,93	11,54	11,85
9	7,73	7,73	7,76	7,74	1,72	1,5	1,5	1,57	12,08	12,2
10	10,53	10,5	11,24	10,76	1,38	1,36	1,32	1,35	7,99	7,52
11	12,69	12,33	12,51	12,51	1,83	1,83	1,86	1,84	11,54	11,85
12	11,84	11,54	11,69	11,69	2,11	2,11	2,31	2,18	12,08	12,2
13	11,47	11,79	11,47	11,58	2,23	2,08	2,05	2,12	7,99	7,52
14	9,8	9,54	9,77	9,70	1,37	1,42	1,47	1,42	12,19	12,22
15	13,06	13,69	13,62	13,46	1,44	1,53	1,48	1,49	9,9	10,1
16	9,54	10,44	10,15	10,04	1,54	1,22	1,81	1,52	7,83	7,92
17	9,67	9,67	8,73	9,36	1,51	1,43	1,42	1,45	10,09	10,08
18	10,04	9,22	9,87	9,71	1,62	1,73	1,67	1,67	9,7	9,98
19	10,01	10,79	10,03	10,28	1,64	1,58	1,67	1,63	10,84	11,44
20	11,84	11,54	11,69	11,69	1,43	1,57	1,64	1,55	11,54	11,85
rata-rata	10,38	10,45	10,43	10,42	1,63	1,61	1,65	1,63	10,27	10,42
									10,39	10,48
									1,57	1,57
									1,57	1,57

Tabel I.26. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *Aspergillus terreus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-325 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2					Hari ke-3				
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	12,19	12,22	13,2	12,54	1,88	1,68	1,71	1,76	11,12	11,13
2	9,9	10,1	10,49	10,16	1,71	1,66	1,67	1,68	10,51	10,35
3	7,83	7,92	7,78	7,84	1,03	1,49	1,44	1,32	10,67	10,12
4	10,09	10,08	10,71	10,29	1,66	1,28	1,47	1,47	10,01	9,66
5	9,7	9,98	9,8	9,83	1,96	1,91	1,91	1,93	10,23	10,17
6	10,84	11,44	11,54	11,27	1,96	2,03	1,4	1,80	10,6	10,92
7	11,15	10,25	10,75	10,72	1,41	1,49	1,47	1,46	10,57	10,23
8	10,03	10,02	9,81	9,95	1,23	1,03	1,08	1,11	10,01	10,79
9	7,88	8,1	7,8	7,93	1,06	1,19	1,13	1,13	13,06	13,69
10	10,67	10,12	10,48	10,42	1,27	1,17	1,22	1,22	9,54	10,44
11	10,01	9,66	10,04	9,90	1,35	1,45	1,23	1,34	9,67	9,67
12	10,23	10,17	10,71	10,37	1,53	1,43	1,29	1,42	10,04	9,22
13	10,6	10,92	10,93	10,82	1,12	1,31	1,7	1,38	10,01	10,79
14	10,57	10,23	10,7	10,50	1,36	1,28	1,47	1,37	8,4	8,62
15	9,8	9,54	9,77	9,70	1,62	1,73	1,67	1,67	9,36	9,42
16	13,06	13,69	13,62	13,46	1,64	1,58	1,67	1,63	8,58	9,62
17	9,13	9,85	10,19	9,72	1,76	1,77	1,79	1,77	8,57	8,1
18	8,57	8,1	8,38	8,35	1,34	1,43	1,68	1,48	10,67	10,12
19	6,51	6,45	6,56	6,51	1,21	0,89	1,07	1,09	8,91	9,1
20	8,91	9,1	7,75	8,59	1,15	1,37	1,27	1,27	10,5	10,16
rata-rata	9,88	9,90	10,05	9,94	1,47	1,45	1,47	1,46	10,05	10,12
									10,04	10,07
									1,56	1,49
									1,55	1,53

Tabel I.27. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *Aspergillus terreus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-332 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2				Hari ke-3			
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	10,48	10,01	10,13	10,21	1,66	1,8	1,67	1,71
2	9,13	9,85	10,19	9,72	1,57	1,52	1,53	1,54
3	8,57	8,1	8,38	8,35	1,76	1,77	1,79	1,77
4	6,51	6,45	6,56	6,51	1,34	1,43	1,68	1,48
5	8,91	9,1	7,75	8,59	1,21	0,99	1,07	1,09
6	7,42	8,08	8,26	7,92	1,29	1,15	1,37	1,27
7	9,77	10,68	10,88	10,44	1,03	1,28	1,43	1,25
8	10,51	10,35	10,88	10,58	1,98	1,82	1,63	1,74
9	10,67	10,12	10,48	10,42	1,84	1,7	1,94	1,83
10	10,01	9,66	10,04	9,90	2,17	2,12	2,23	2,17
11	11,72	11,65	11,84	11,74	1,76	1,94	1,6	1,77
12	12,19	12,22	13,2	12,54	1,81	1,89	1,72	2,17
13	9,9	10,1	10,48	10,16	1,71	1,86	1,67	1,68
14	7,83	7,92	7,78	7,84	1,03	1,49	1,44	1,32
15	10,09	10,08	10,71	10,29	1,66	1,28	1,47	1,47
16	9,7	9,98	9,8	9,83	1,96	1,91	1,91	1,93
17	10,84	11,44	11,54	11,27	1,96	2,03	1,4	1,80
18	11,15	10,25	10,75	10,72	1,41	1,49	1,47	1,46
19	10,03	10,02	9,81	9,95	1,23	1,03	1,08	1,11
20	7,88	8,1	7,8	7,93	1,06	1,19	1,13	1,13
rata-rata	9,67	9,71	9,86	9,75	1,57	1,56	1,56	1,57

Tabel 1.28. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *Aspergillus terreus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2					Hari ke-3				
	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	diameter kepala konidia (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata	lebar hifa (μm)	rata-rata
1	10,29	10,01	10,57	10,29	1,85	1,79	1,83	8,75	8,77	8,76
2	14,54	14,14	14,31	14,33	1,7	1,57	1,64	7,76	8,26	7,8
3	8,49	9,53	9,1	9,04	1,82	1,62	1,84	9,98	8,89	8,88
4	8,75	8,77	8,76	8,76	2,26	2,2	2,41	9,65	10,19	10,17
5	10,29	10,34	10,09	10,24	1,63	1,57	1,55	8,49	9,53	9,1
6	9,65	10,19	10,17	10,00	1,77	1,55	1,66	8,75	8,77	8,76
7	11,65	11,96	11,75	11,79	1,27	1,64	1,72	1,54	12,08	12,2
8	7,73	7,73	7,76	7,74	1,42	1,38	1,5	1,43	7,99	7,52
9	10,4	10,79	10,64	10,61	1,36	1,13	1,4	1,30	7,45	7,44
10	10,25	10,48	10,22	10,32	1,67	1,67	1,85	1,73	7,73	7,76
11	9,19	9,96	9,9	9,68	1,57	1,53	1,57	1,56	10,53	10,5
12	10,14	10,21	10,18	10,18	1,78	1,76	1,75	1,76	12,69	12,33
13	10,68	10,52	10,6	10,60	1,68	1,54	1,49	1,57	11,84	11,54
14	11,54	11,85	11,69	11,69	1,37	1,33	1,26	1,32	11,47	11,79
15	12,08	12,2	12,21	12,16	1,04	1,43	1,29	1,25	9,8	9,54
16	7,99	7,52	7,8	7,77	1,67	1,64	1,68	1,66	13,06	13,69
17	11,54	11,85	11,69	11,69	1,94	1,9	1,93	9,54	10,44	10,15
18	12,08	12,2	12,21	12,16	1,72	1,5	1,57	9,67	8,73	9,36
19	7,89	7,52	7,8	7,77	1,38	1,36	1,32	1,35	10,04	9,22
20	12,19	12,22	13,2	12,54	1,88	1,68	1,71	1,76	11,47	11,79
rata-rata	10,37	10,50	10,53	10,47	1,64	1,59	1,64	1,63	9,89	9,98
									9,95	9,95
									1,72	1,87
									1,73	1,70

Tabel I.29. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *Aspergillus terreus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-384 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2					Hari ke -3										
	diameter kepala konidia (μm)	rate-rata	lebar hifa (μm)	rate-rata	diameter kepala konidia (μm)	rate-rata	lebar hifa (μm)	rate-rata	lebar hifa (μm)	rate-rata						
1	15,27	15,47	15,32	15,35	1,83	1,84	1,85	1,81	11,3	10,26	12,18	11,25	1,99	1,84	2	1,94
2	10,36	10,29	10,33	10,33	1,73	1,91	1,83	1,82	10,65	11,25	11,27	11,06	1,95	1,88	1,89	1,91
3	11,59	11,89	11,24	11,57	2,08	2	1,04	1,71	9,19	9,64	10,39	9,74	1,79	1,67	1,9	1,79
4	11,11	11,14	11,28	11,18	1,11	1,17	1,26	1,18	10,01	11,15	11,81	10,92	1,45	1,44	1,43	1,44
5	12,64	12,64	13,38	12,89	1,37	1,31	1,35	1,34	12,2	11,94	12,63	12,26	1,55	1,32	1,39	1,42
6	9,74	9,94	10,53	10,07	1,87	1,76	1,86	1,83	11,49	13,33	11,31	12,04	1,32	1,13	1,22	1,22
7	9,77	10,68	10,88	10,44	1,03	1,28	1,43	1,25	12,63	11,94	12,2	12,26	1,55	1,55	1,54	1,55
8	11,49	13,33	11,31	12,04	1,98	1,62	1,63	1,74	11,72	11,65	11,84	11,74	1,34	1,43	1,68	1,48
9	12,63	11,94	12,2	12,26	1,32	1,13	1,22	1,22	9,97	10,34	10,09	10,13	1,21	0,99	1,07	1,09
10	11,72	11,65	11,84	11,74	1,55	1,55	1,54	1,55	9,74	9,94	10,53	10,07	1,29	1,15	1,37	1,27
11	9,97	10,34	10,09	10,13	1,34	1,43	1,68	1,48	9,77	10,68	10,88	10,44	1,43	1,4	1,42	1,42
12	9,77	10,68	10,88	10,44	1,03	1,28	1,43	1,25	9,74	9,84	10,53	10,07	1,49	1,71	1,53	1,58
13	10,51	10,35	10,88	10,58	1,98	1,62	1,63	1,74	9,77	10,68	10,88	10,44	1,54	1,37	1,6	1,50
14	10,67	10,12	10,48	10,42	1,84	1,7	1,94	1,83	11,12	11,11	11,13	11,12	1,95	1,85	1,89	1,90
15	10,01	9,66	10,04	9,90	2,17	2,12	2,23	2,17	10,51	10,35	10,88	10,58	1,79	1,57	1,6	1,65
16	11,72	11,65	11,84	11,74	1,76	1,94	1,6	1,77	10,67	10,12	10,48	10,42	1,98	1,8	1,59	1,79
17	12,19	12,22	13,2	12,54	1,81	1,89	1,72	1,81	10,01	9,66	10,04	9,90	2,03	2	1,81	1,95
18	9,9	10,1	10,49	10,16	1,71	1,68	1,67	1,68	10,23	10,17	10,71	10,37	1,53	1,43	1,29	1,42
19	7,83	7,92	7,78	7,84	1,03	1,49	1,44	1,32	10,6	10,92	10,93	10,82	1,12	1,31	1,7	1,38
20	10,09	10,08	10,71	10,29	1,66	1,28	1,47	1,47	10,57	10,23	10,7	10,50	1,36	1,28	1,47	1,37
rata-rata	10,95	11,10	11,24	11,10	1,60	1,59	1,58	1,59	10,77	11,08	10,81	1,58	1,51	1,57	1,55	

Tabel I.30. Rata-rata diameter kepala konidia dan lebar hifa *Aspergillus terreus* yang di ko-kultur dengan *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 pada pengamatan mikroskopis hari ke-2 dan ke-3 inkubasi.

No	Hari ke-2					Hari ke -3				
	diameter kepala konidia (μm)	rate-rata	lebar hifa (μm)	rate-rata	diameter kepala konidia (μm)	rate-rata	lebar hifa (μm)	rate-rata	rate-rata	rate-rata
1	15,27	15,47	15,32	16,35	1,63	1,64	1,56	1,61	11,3	10,26
2	10,36	10,29	10,33	10,33	1,73	1,91	1,83	1,82	10,65	11,25
3	11,59	11,89	11,24	11,57	2,08	2	1,04	1,71	9,19	9,64
4	11,11	11,14	11,28	11,18	1,11	1,17	1,26	1,18	10,01	11,15
5	12,64	12,64	13,38	12,89	1,37	1,31	1,35	1,34	12,2	11,94
6	9,74	9,94	10,53	10,07	1,87	1,76	1,86	1,83	11,49	13,33
7	9,77	10,68	10,88	10,44	1,03	1,28	1,43	1,25	12,63	11,94
8	10,51	10,35	10,88	10,58	1,98	1,62	1,63	1,74	11,72	11,65
9	10,67	10,12	10,48	10,42	1,84	1,7	1,94	1,83	9,97	10,34
10	10,01	9,66	10,04	9,90	2,17	2,12	2,23	2,17	9,74	9,94
11	11,72	11,65	11,84	11,74	1,78	1,94	1,6	1,77	9,77	10,68
12	12,19	12,22	13,2	12,54	1,81	1,89	1,72	1,81	11,12	11,11
13	9,9	10,1	10,49	10,16	1,71	1,66	1,67	1,68	10,51	10,35
14	7,83	7,92	7,78	7,84	1,03	1,49	1,44	1,32	10,67	10,12
15	10,09	10,08	10,71	10,29	1,66	1,28	1,47	1,47	10,01	9,66
16	9,7	9,98	9,8	9,83	1,96	1,91	1,91	1,93	10,23	10,17
17	10,84	11,44	11,54	11,27	1,96	2,03	1,4	1,80	10,6	10,92
18	11,15	10,25	10,75	10,72	1,41	1,49	1,47	1,46	10,57	10,23
19	10,03	10,02	9,81	9,95	1,23	1,03	1,08	1,11	9,8	9,54
20	7,88	8,1	7,8	7,93	1,06	1,19	1,13	1,13	13,06	13,69
rata-rata	10,65	10,70	10,90	10,75	1,62	1,55	1,60	10,76	10,90	11,16
										10,94
										1,71
										1,73

Tabel 1.31 Persentase reduksi kepala konidia dan lebar hifa kapang *Aspergillus terreus* oleh khamir *Rhodotorula* sp. pada inkubasi hari ke-2 dan ke-3.

Keterangan	Hari ke-2				Hari ke-3			
	Rata-rata diameter kepala konidia (μm)	Persentase reduksi kepala konidia (%)	Rata-rata lebar hifa (μm)	Persentase reduksi lebar hifa (%)	Rata-rata diameter kepala konidia (μm)	Persentase reduksi kepala konidia (%)	Rata-rata lebar hifa (μm)	Persentase reduksi lebar hifa (%)
Kontrol								
<i>Aspergillus terreus</i> D22MC	10,85		1,50		11,09		1,63	
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-318	10,39	4,23	1,57	-4,95	10,42	6,03	1,53	6,01
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-325	9,94	8,35	1,46	2,06	10,07	9,16	1,59	2,68
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-332	9,75	10,17	1,57	-4,72	10,02	9,60	1,63	-0,06
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381	9,95	8,33	1,70	-13,87	11,10	-0,09	1,59	2,49
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-384	10,81	0,39	1,55	-3,84	10,94	1,32	1,70	-4,21
<i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-386	10,75	0,91	1,60	-6,81	10,94	1,32	1,70	-4,21



Makalah 2
POTENSI *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 SEBAGAI AGEN BIOKONTROL
***Aspergillus ochraceus* PADA TOMAT PASCAPANEN**

Anggita Rahmi Hafsa

anggitarahmi@gmail.com

ABSTRACT

In this study, the ability of *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 (from a plant of Cibodas Botanical Garden) as a biocontrol agent against postharvest tomatoes decayed-causing mould *Aspergillus ochraceus* D1.2.2.SSM3 was evaluated. Observation was carried out for 15 days at 25°C —27°C. Results showed that *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 was able to reduce the severity of decay by *A. ochraceus* with 100% reduction until day-12, when compared to control. At day-15, however, there was a decrease to 80% reduction because the yeast also caused decay to tomato fruits. The fungicide synthetic Dithane M-45 at a concentration of 0.08% reduced the severity of decay to 100% until 15-day incubation.

Key words: *Aspergillus ochraceus*, biocontrol, fungicide Dithane M-45, *Rhodotorula* sp UICC Y-381, postharvest tomato

PENDAHULUAN

Biokontrol merupakan cara untuk mengontrol suatu organisme oleh organisme lain yang merupakan musuh alaminya dengan kemampuan antagonistik (Moore & Landecker 1996). Menurut Lima dkk. (2002) salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai biokontrol adalah mikroorganisme yang mempunyai kemampuan antagonistik, yaitu khamir.

Lima dkk.(1999) melaporkan bahwa khamir dapat digunakan sebagai agen biokontrol, yaitu mampu menghasilkan enzim hidrolitik yang dapat mendegradasi dinding sel kapang, tidak menyebabkan resistensi dan mampu menghasilkan metabolit sekunder yang tidak berbahaya bagi manusia.

Menurut Droby dkk. (1993) khamir juga mempunyai kemampuan reproduksi yang cepat sehingga dapat menguasai nutrien dan ruang. Fonseca & Inacio (2006) menyatakan bahwa khamir dapat bertahan terhadap kekeringan dan cahaya matahari yang kuat. Menurut Mari & Guizzardi (1997) karakteristik khamir antagonistik tersebut dapat dimanfaatkan sebagai alternatif yang aman digunakan sebagai agen biokontrol fungi patogen yang menyerang tanaman maupun buah-buahan.

Mekanisme yang dilakukan oleh khamir antagonistik melawan fungi patogen dianggap aman bagi kesehatan manusia dan lingkungan karena khamir menghambat dengan cara alami seperti berkompetisi terhadap nutrien dan ruang, memproduksi enzim pendegradasi dinding sel seperti β -1,3-glukanase dan kitinase, memproduksi metabolit sekunder yang tidak berbahaya bagi manusia, melakukan parasitisme, dan mampu untuk menginduksi resistensi inangnya terhadap aktivitas patogen (El- Tarabily & Sivasithamparam, 2006).

Coelho dkk. (2007) melaporkan khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dapat menghambat *Penicillium expansum* yang patogen pada buah angur secara *in vitro* dengan berkompetisi untuk nutrien dan ruang. Bar-Shimon dkk. (2000) melaporkan *Candida oleophila* mampu menghambat germinasi dan pemanjangan hifa dari *Pen. digitatum* dengan menyekresikan enzim β -1,3 glukanase, kitinase dan protease pada penelitian secara *in vitro*.

Saravanakumar dkk. (2008) menunjukkan bahwa *Metschnikowia pulcherrima* Pitt & M. W. Miller strain MACH1 dapat menghambat produksi spora kapang

Botrytis cinerea dengan mensekresikan enzim kitinase pada penelitian secara *in vitro*.

Janisiewicz dkk. (2008) melaporkan beberapa khamir antagonistik telah diproduksi secara komersial sebagai produk biokontrol terhadap patogen pada buah-buahan. YieldPlus™ yang dipasarkan di Cape Town, Afrika Selatan, mengandung khamir *Cryptococcus albidus* yang digunakan sebagai biokontrol *Botrytis*, *Penicillium*, *Mucor* pada buah apel dan pir. Shemer™ yang dipasarkan di Israel, mengandung khamir *M. fructicola* yang digunakan sebagai biokontrol pada buah anggur dan stroberi. Aspire™ yang dipasarkan di Amerika Serikat, mengandung *C. oleophila* yang digunakan untuk membunuh patogen pada buah delima dan jeruk.

Pengujian antagonisme dengan *strip method*, ko-kultur, dan *slide culture* pada Makalah I menghasilkan satu strain khamir dengan kemampuan antagonistik potensial yaitu *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus*. Kemampuan khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 sebagai biokontrol terhadap *A. ochraceus* patogen pada buah tomat pascapanen belum diketahui. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan khamir *Rhodotorula* UICC Y-381 sebagai biokontrol terhadap *A. ochraceus* patogen pada buah tomat pascapanen.

LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi FMIPA-UI Depok, dan Center of Excellence Indigenous Biological Resources-

Genome Studies (CoE IBR-GS) FMIPA UI pada bulan Maret—Mei 2009.

ALAT, BAHAN DAN CARA KERJA

BAHAN

Agen biokontrol

Agen biokontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah strain khamir *Rhodotorula sp.* UICC Y-381 yang mempunyai kemampuan antagonistik potensial berdasarkan Makalah 1.

Kapang Patogen

Kapang patogen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *A. ochraceus* D122SSM3 karena merupakan patogen paling sensitif terhadap khamir *Rhodotorula sp.* UICC Y-381.

Buah Tomat

Buah tomat yang digunakan berasal dari supermarket di daerah Depok. Varietas yang digunakan adalah TW yang mempunyai ukuran dan warna seragam, tidak ada luka atau infeksi.

Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah dithane M-45 0,08%, dan NaClO 0,5%. Bahan kimia lain yang digunakan adalah alkohol teknis, spiritus teknis, dan akuades.

Medium

Medium yang digunakan dalam penelitian adalah Potato Dextrose Agar (PDA) dan Yeast Malt Agar (YMA).

ALAT

Peralatan yang digunakan adalah mikropipet [Gilson], timbangan analitik [Sartorius], timbangan digital [And EW-300G], vorteks [Thermolyne tipe Maxi Mix II], Digital Caliper dan peralatan gelas yang umum digunakan dalam Laboratorium Mikrobiologi. Peralatan habis pakai yang digunakan adalah sarung tangan plastik, kapas dan tisu.

CARA KERJA

Pembuatan Fungisida Dithane M-45 0,08%

Sebanyak 8 gram fungisida Dithane M-45 dilarutkan dalam 1.000 ml akuades steril di dalam *beaker glass* steril. Larutan diaduk dengan batang pengaduk hingga homogen.

Pengujian biokontrol khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap kapang *Aspergillus* patogen pada buah tomat sehat pascapanen

Pengujian kemampuan biokontrol khamir terhadap kapang patogen pada buah tomat berdasarkan Kalogiannis dkk. (2002) yang dimodifikasi.

Modifikasi yang dilakukan adalah variasi perlakuan, besar luka, lama dan frekuensi pengamatan. Kemampuan biokontrol khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus* diamati berdasarkan jumlah buah tomat yang membusuk pada perlakuan dibandingkan dengan kontrol. Buah tomat dikategorikan busuk apabila berair, daging buahnya lembek, jaringan dikelilingi luka berwarna hitam dan berbau busuk. Buah tomat dikategorikan tidak busuk apabila daging buah masih keras ketika disentuh, tidak berair, jaringan disekeliling luka tidak menghitam dan tidak berbau busuk.

Jumlah buah tomat yang digunakan dalam pengujian adalah sebanyak 80 buah. Seluruh permukaan buah tomat sehat yang akan digunakan pada pengujian biokontrol dicuci dengan air keran, kemudian dikeringkan dengan tisu. Buah tomat yang sudah kering kemudian direndam dalam larutan sodium hipoklorit 0,5% selama 5 menit. Buah tomat dibilas dengan akuades steril dan dikering-anginkan dalam suhu ruang di dalam baki plastik yang telah disterilkan dengan alkohol 70%.

Untuk mengetahui kemampuan biokontrol *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus* dilakukan pengujian biokontrol pada 10 buah tomat. Buah tomat dilukai pada 2 lokasi yang berlawanan di bidang ekuator dengan sedotan steril. Setiap luka berukuran kedalaman 3 mm dan lebar 5 mm. Buah tomat diletakkan di dalam *beaker glass* steril dan disiramkan dengan suspensi sel khamir sebanyak 40 ml dengan jumlah sel 10^8 cfu/ml hingga merata pada seluruh permukaan buah. Volume suspensi sel khamir yang menempel pada buah tomat merupakan selisih volume awal dengan

volume akhir. Buah tomat kemudian dikeluarkan dari *beaker glass* dan dikering-anginkan dalam baki yang ditutupi *plastic wrap* selama pada suhu ruang. Buah tomat yang telah disiram khamir terlebih dahulu tersebut selanjutnya disebut buah tomat perlakuan. Sebagai kontrol adalah 10 buah tomat yang dilukai tetapi tidak disiram dengan khamir. Setelah inkubasi satu hari pada suhu 25—27°C, luka pada buah tomat perlakuan dan kontrol diinokulasikan suspensi spora kapang sebanyak 20 µl dengan jumlah sel 10^8 cfu/ml. Seluruh buah tomat diinkubasi selama 15 hari pada suhu 25—27 °C. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari selama 15 hari dengan menghitung persentase buah tomat yang membusuk pada perlakuan dan kontrol. Perbandingan jumlah buah tomat yang busuk pada perlakuan dan kontrol dihitung untuk mengetahui persentase reduksi kebusukan pada buah tomat. Persentase reduksi kebusukan pada buah dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ reduksi kebusukan pada buah} = \frac{\text{Jumlah buah busuk (kontrol-perlakuan)}}{\text{Jumlah buah busuk pada kontrol}} \times 100$$

Pengujian dengan fungisida

Sebanyak 10 buah tomat yang telah dibersihkan, dilukai pada 2 lokasi yang berlawanan di bidang ekuator dengan sedotan steril. Setiap luka berukuran kedalaman 3 mm dan lebar 5 mm. Buah tomat diletakkan di dalam *beaker glass* steril dan disiramkan dengan fungisida Dithane M-45 (konsentrasi 0,08%) sebanyak 40 ml hingga merata pada seluruh permukaan

buah. Volume fungisida yang menempel pada buah tomat dihitung menggunakan selisih volume awal dengan volume akhir. Buah tomat kemudian dikeluarkan dari *beaker glass* dan dikering-anginkan dalam baki yang ditutupi *plastic wrap*. Setelah diinkubasi selama 1 hari pada suhu 25—27 °C, luka pada buah tomat diinokulasikan suspensi spora kapang sebanyak 20 µl dengan jumlah sel 10^8 cfu/ml. Sebagai kontrol adalah buah tomat yang hanya diinokulasikan kapang *A. ochraceus* pada luka. Buah tomat diinkubasi selama 15 hari pada suhu 25—27 °C. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari selama 15 hari terhadap persentase reduksi kebusukan pada buah tomat dengan menghitung jumlah buah yang mengalami kebusukan pada buah tomat perlakuan dengan fungisida dibandingkan dengan kontrol. Persentase reduksi kebusukan pada buah dihitung menggunakan rumus :

% reduksi kebusukan pada buah: $\frac{\text{Jumlah buah busuk (kontrol-perlakuan)}}{\text{Jumlah buah busuk pada kontrol}} \times 100$

Pengaruh suspensi khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 pada buah tomat segar pascapanen

Sebanyak 20 buah tomat yang telah dibersihkan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu buah tomat tanpa luka dan buah tomat dilukai, masing-masing perlakuan terdiri dari 10 tomat. Buah tomat dilukai pada 2 lokasi yang berlawanan di bidang ekuator dengan sedotan steril. Setiap luka berukuran kedalaman 3 mm dan lebar 5 mm. Buah tomat dilukai dan tanpa luka kemudian disiram dengan suspensi sel khamir sebanyak 40 ml dengan

jumlah sel sebanyak 10^8 cfu/ml hingga merata pada seluruh permukaan buah. Volume suspensi sel khamir yang menempel pada buah tomat dihitung menggunakan selisih volume awal dikurangi volume akhir. Buah tomat kemudian dikeluarkan dari *beaker glass* dan dikering-anginkan dalam baki yang ditutupi *plastic wrap* selama 1 hari. Seluruh buah tomat diinkubasi selama 15 hari pada suhu 25—27 °C. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari selama 15 hari terhadap persentase kebusukan pada buah tomat dengan menghitung jumlah buah tomat yang mengalami kebusukan dibandingkan dengan jumlah total buah tomat. Persentase reduksi kebusukan pada buah dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ kebusukan pada buah} : \frac{\text{Jumlah buah tomat busuk}}{\text{Jumlah total buah tomat}} \times 100$$

Pengaruh luka pada buah tomat segar pascapanen

Sebanyak 10 buah tomat dilukai pada 2 lokasi yang berlawanan di bidang ekuator dengan sedotan steril. Setiap luka berukuran kedalaman 3 mm dan lebar 5 mm. Buah tomat kemudian disimpan di dalam baki yang ditutupi *plastic wrap*. Seluruh buah tomat diinkubasi selama 15 hari pada suhu 25—27 °C. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari selama 15 hari terhadap persentase kebusukan pada buah tomat dengan menghitung jumlah buah tomat yang mengalami kebusukan dibandingkan dengan jumlah total buah tomat. Persentase kebusukan pada buah dihitung menggunakan

rumus :

$$\% \text{ kebusukan pada buah : } \frac{\text{Jumlah buah tomat busuk}}{\text{Jumlah total buah tomat}} \times 100$$

Pengaruh akuades pada buah tomat segar pascapanen

Sebanyak 20 buah tomat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu buah tomat tanpa luka dan buah tomat dilukai. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 buah tomat. Buah tomat dilukai pada 2 lokasi yang berlawanan di bidang ekuator dengan sedotan steril. Setiap luka pada buah tomat dilukai berukuran kedalaman 3 mm dan lebar 5 mm. Buah tomat dilukai dan tanpa luka kemudian disiram dengan akuades dan disimpan dalam baki yang ditutupi *plastic wrap* selama 15 hari inkubasi pada suhu 25—27 °C.

Pengamatan dilakukan setiap 3 hari selama 15 hari terhadap persentase kebusukan pada buah tomat dengan menghitung jumlah buah tomat yang mengalami kebusukan dibandingkan dengan jumlah total buah tomat.

Persentase kebusukan pada buah dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ kebusukan pada buah : } \frac{\text{Jumlah buah tomat busuk}}{\text{Jumlah total buah tomat}} \times 100$$

Buah tomat tanpa pelakuan

Buah tomat tanpa perlakuan terdiri dari 10 buah tomat yang seragam dalam ukuran, warna dan kematangan. Buah tomat tanpa perlakuan bertujuan sebagai pembanding untuk semua perlakuan yang dilakukan dalam

pengujian biokontrol. Buah tomat tersebut tidak dibersihkan terlebih dahulu dari kotoran yang menempel di permukaan buah tomat. Buah tomat langsung dimasukkan ke dalam baki yang ditutupi *plastic wrap* selama 15 hari inkubasi pada suhu 25—27 °C. Pengamatan dilakukan setiap 3 hari selama 15 hari terhadap persentase kebusukan pada buah tomat dengan menghitung jumlah buah tomat yang mengalami kebusukan dibandingkan dengan jumlah total buah tomat. Persentase kebusukan pada buah dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ kebusukan pada buah} : \frac{\text{Jumlah buah tomat busuk}}{\text{Jumlah total buah tomat}} \times 100$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan biokontrol khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *Aspergillus ochraceus* pada buah tomat pascapanen

Buah tomat yang diamati pada pengujian sebanyak 10 buah. Tomat dilukai pada bidang ekuator sebanyak 2 luka dengan posisi yang berlawanan. Pengamatan pada buah tomat yang dilukai kemudian disiram khamir sebelum perlakuan dengan kapang, menunjukkan pada inkubasi hari ke-3 hingga hari ke-12 seluruh tomat belum mengalami kebusukan (Gambar II.1a). Hingga hari ke-12 seluruh permukaan buah tomat masih keras ketika ditekan, tidak mengeluarkan cairan, dan tidak berbau busuk. Pada hari ke-15, sebanyak 20% dari 10 buah tomat mengalami kebusukan yang

disebabkan *A. ochraceus*. Permukaan buah tomat busuk terlihat berwarna hitam, terdapat pertumbuhan *A. ochraceus* pada luka dan buah tomat berbau busuk. Pengamatan pada buah tomat yang tidak membusuk memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan koloni *A. ochraceus* di dalam luka, bahkan koloni kapang terlihat mengering pada beberapa luka.

Pengamatan pada buah tomat yang diberi perlakuan kontrol *A. ochraceus*, selama 15 hari menunjukkan pada hari ke-3 sudah terjadi kebusukan sebesar 20% dari total 10 tomat. Persentase kebusukan dari hari ke-6 hingga hari 15 inkubasi terus mengalami kenaikan hingga mencapai 100% dari 10 buah tomat. Gejala kebusukan yang terjadi adalah buah tomat mengerut, berair, terjadi perekahan pada buah dan berbau busuk, dan pada semua luka ditutupi oleh hifa dan spora *A. ochraceus* (Gambar II.1b).

Hasil pengujian kemampuan biokontrol *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus* pada buah tomat yang dilukai kemudian disiram khamir sebelum perlakuan dengan kapang, menunjukkan persentase kebusukan dari hari ke-3 hingga hari ke-12 adalah 0% dan pada hari ke-15 adalah 20%. Pada kontrol *A. ochraceus* persentase kebusukan pada hari ke-3, 6 , 9, 12, dan 15 secara berurutan adalah 20%, 50%, 80%, 100%, dan 100% Data tersebut menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dapat mereduksi persentase kebusukan sebesar 100% dari hari ke-3 hingga ke12 inkubasi, dan 80% pada hari ke-15 (Tabel II.2).

Kemampuan khamir *Rhodotorula* sebagai biokontrol kapang patogen telah dilaporkan oleh Kalogiannis (2006) yang meneliti kemampuan

R. glutinis Y-44 untuk menghambat pertumbuhan kapang *B. cinerea* pada buah tomat. Hasil penelitian menunjukkan buah tomat yang diinokulasi khamir 24 jam terlebih dahulu sebelum kapang mempunyai persentase kebusukan hanya 52%, sedangkan pada buah tomat yang tidak disiram khamir menunjukkan persentase kebusukan sebesar 90%.

Hasil pengujian biokontrol antara khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus* yang menunjukkan khamir dapat menghambat pertumbuhan kapang sebesar 100% selama 12 hari mendukung data penelitian Kalogiannis (2006). Hal tersebut menunjukkan bahwa *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dapat digunakan sebagai agen biokontrol terhadap *A. ochraceus*.

Mekanisme biokontrol yang digunakan khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 untuk menghambat pertumbuhan kapang diduga adalah kompetisi untuk memperoleh nutrien dan ruang. Khamir dapat memenangkan kompetisi nutrien dan ruang diduga karena pemberian khamir terlebih dahulu dalam jumlah yang banyak daripada kapang pada buah tomat diduga dapat mendukung kemampuan khamir untuk lebih cepat menguasai nutrien dan ruang pada luka dibandingkan kapang. Nutrien digunakan khamir untuk pertumbuhan dan perbanyakkan sel. Nutrien yang diserap khamir diduga adalah nutrien yang akan dibutuhkan kapang untuk pertumbuhan. Hal tersebut mengakibatkan kapang kekurangan atau tidak dapat mendapatkan nutrien tersebut sehingga kapang tidak dapat melakukan pertumbuhan. Hal tersebut terlihat dengan tidak adanya pertumbuhan kapang hingga hari ke-12

pada buah tomat yang disiram khamir terlebih dahulu daripada kapang.

Kemampuan khamir yang lebih cepat menguasai nutrien pada luka telah diteliti sebelumnya oleh Filonow (1998) pada khamir *Cr. laurentii* strain BSR-Y22 dan *Sporobolomyces roseus* strain FS-43-238 terhadap kapang *B. cinerea*. Kedua khamir antagonistik tersebut mampu mengambil gula lebih cepat pada luka dibandingkan patogen. Chuanxue & Michailides (1998), melaporkan *Mon. fructicola* yang diinokulasikan 12 jam sebelumnya adalah paling baik dalam mengontrol pertumbuhan kapang *Trichoderma* Ta291 dan 23-E-6 dan dapat menekan *brown rot*. Hal tersebut menunjukkan semakin awal khamir diadaptasikan pada luka maka makin tinggi kesempatan khamir untuk beradaptasi terhadap nutrien dan luka.

Beberapa mekanisme biokontrol lain yang digunakan oleh khamir antagonis adalah memproduksi enzim pendegradasi dinding sel seperti β -1,3-glukanase dan kitinase (El-Tarabily & Sivasithamparam, 2006). Enzim tersebut mempunyai kemampuan untuk mendegradasi dinding sel kapang sehingga terjadi kerusakan pada dinding sel kapang dan menyebabkan pertumbuhan kapang menjadi terhambat. Bar-Shimon (2004) melaporkan *C. oleophila* mampu menghambat germinasi spora dan pemanjangan *germ tube* dan dapat memproduksi dan menyekresikan enzim β -1,3-glukanase, protease dan kitinase. Enzim-enzim tersebut berfungsi untuk mendegradasi dinding sel kapang. Enzim β -1,3-glukanase dan kitinase diproduksi secara maksimal pada awal fase pertumbuhan, sedangkan protease dihasilkan secara maksimal pada hari 6-8 inkubasi. Produksi ketiga enzim tersebut

distimulasi oleh adanya miselium *Pen. digitatum* di dalam medium.

Mekanisme biokontrol khamir *C. oleophila* untuk menghambat pertumbuhan kapang *Pen. digitatum* pada penelitian tersebut dengan menghasilkan enzim diduga merupakan mekanisme biokontrol yang dilakukan pula oleh khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y- 381 untuk menghambat pertumbuhan kapang *A. ochraceus*.

Pengujian dengan Fungisida Sintetik Dithane M-45

Hasil pengamatan menunjukkan, hingga hari ke-15 inkubasi pertumbuhan *A. ochraceus* pada 10 buah tomat tidak mengalami pertumbuhan. Pada luka terlihat *A. ochraceus* tidak mengalami pertumbuhan karena tidak terlihat adanya hifa/miselium yang tumbuh pada luka (Gambar II.1c). Konsentrasi fungisida sintetik Dithane M-45 yang digunakan adalah 0.08% dan dapat menghambat pertumbuhan *A. ochraceus* hingga 100% dari 10 buah tomat mulai hari ke-3 hingga ke-15 inkubasi. Hal tersebut menunjukkan konsentrasi fungisida sintetik cukup rendah untuk digunakan dalam menghambat pertumbuhan *A. ochraceus*.

Fungisida dithane M-45 mempunyai bahan aktif mancozeb yang termasuk ke dalam kelompok *dithiocarbamate*. Arie dkk. (2007) melaporkan mancozeb mempunyai mekanisme kerja dengan menyerang banyak target pada sel kapang. Target yang dapat diserang oleh fungisida tersebut adalah dengan menghambat sintesis dinding sel, sintesis asam nukleat, sintesis

ergosterol, dan menghambat pembentukan mikrotubul.

Pengamatan sebelumnya mengenai kemampuan biokontrol khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 menunjukkan khamir tersebut dapat menghambat pertumbuhan *A. ochraceus* hingga 100% hingga hari ke-12 (Tabel II.2). Hasil tersebut mengindikasikan kemampuan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 adalah hampir setara dengan kemampuan fungisida sintetik dalam menghambat pertumbuhan kapang *A. ochraceus*. Hal tersebut menunjukkan bahwa khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dapat dijadikan alternatif pengganti fungisida sintetik untuk menghambat pertumbuhan kapang patogen.

Pengujian *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 pada buah tomat pascapanen

Pengamatan selama 15 hari mulai hari ke-3 hingga ke 12 inkubasi pada 10 buah tomat yang dilukai kemudian disiram khamir menunjukkan sebanyak 100% buah tomat tidak mengalami kebusukan. Buah tomat tidak berbau busuk, tidak berair, dan permukaan buah tomat masih keras ketika dipegang (Gambar II.1d). Kebusukan baru terjadi pada buah tomat pada hari ke-15 inkubasi sebanyak 20%. Gejala yang terlihat pada buah tomat yang busuk adalah luka berair, di sekitar luka terdapat jaringan yang mengering berwarna merah muda.

Selama 12 hari khamir *Rhodotorula* tidak menyebabkan kebusukan pada buah tomat. Khamir *Rhodotorula* termasuk ke dalam filum

Basidiomycota, dan tidak mempunyai kemampuan memfermentasi gula yang terdapat pada luka tetapi hanya mengasimilasinya. Dengan demikian luka yang disiram oleh khamir *Rhodotorula* tidak mengalami kebusukan selama 12 hari. Menurut Kurtzman & Fell (1998), khamir *Rhodotorula* termasuk ke dalam Filum *Basidiomycota*, dan tidak mempunyai kemampuan fermentatif yaitu kemampuan mengubah glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida (CO_2). Fauzi (2006) melaporkan bahwa khamir *Rhodotorula* koleksi UICC yang diisolasi dari berbagai tumbuhan di Kebun Raya Cibodas tidak mempunyai kemampuan untuk memfermentasi glukosa, sukrosa, laktosa, maltosa, galaktosa, rafinosa dan trehalosa tetapi dapat mengasimilasinya.

Pada hari ke-15 sebanyak 20% buah tomat mengalami kebusukan yang diduga disebabkan oleh beberapa faktor. Kemungkinan nutrien pada luka telah didegradasi oleh enzim hidrolitik yang dihasilkan sel khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 atau kontaminasi mikroorganisme yang berasal dari udara atau debu yang masuk ke dalam luka ketika pengamatan, dan kebusukan alami buah. *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 atau mikroorganisme yang masuk ke dalam luka tersebut kemungkinan dapat memanfaatkan nutrien pada luka untuk tumbuh dan bereproduksi.

Pengamatan pada 10 buah tomat yang tidak dilukai kemudian disiram khamir hingga hari ke-15 inkubasi, menunjukkan sebanyak 100% buah tomat tidak mengalami kebusukan (Gambar II.2a). Diduga khamir *Rhodotorula* sp UICC Y-381 dapat bertahan pada permukaan buah tomat dan dapat melindungi buah tomat dari serangan kapang patogen yang dapat

menyebabkan kebusukan pada tomat dalam jangka waktu lama.

Penelitian mengenai kemampuan khamir *Rhodotorula* dapat bertahan pada permukaan buah dalam jangka waktu lama telah diteliti oleh Lima dkk. (1999) yang membandingkan dinamika jumlah sel *R. glutinis* LS-11 yang disemprotkan pada beberapa buah apel tanpa luka dan dilukai. Jumlah sel khamir dihitung pada jam ke-0 dan ke-12 serta hari ke-1, 2, 4 dan 7 inkubasi. Pada buah apel yang dilukai, jumlah sel *R. glutinis* LS-11 meningkat dari $2,3 \times 10^5$ cfu/ml pada jam ke-0 menjadi $3,5 \times 10^7$ cfu/ml pada hari ke-4, kemudian jumlahnya menjadi konstan hingga hari ke-7 inkubasi. Pada buah apel yang tidak dilukai, jumlah sel khamir meningkat mulai dari jam ke-24 hingga hari ke-7 inkubasi. Benbow & Sugar (1999) melaporkan bahwa khamir *R. glutinis* dapat bertahan pada permukaan buah pear hingga 3 minggu setelah inokulasi dan tidak menyebabkan buah pear menjadi busuk. Kedua penelitian tersebut menunjukkan bahwa khamir *Rhodotorula* mampu bertahan pada permukaan buah tomat dan luka dalam jangka waktu lama.

Fleet (2003) Dalam Boekhout & Robert (2003) menyatakan bahwa nutrien pada permukaan buah adalah terbatas. Nutrien tersebut adalah glukosa, fruktosa, sukrosa, asam organik dan asam amino yang dilepaskan dari jaringan dalam buah. Menurut Fonseca & Inacio (2006) *Rhodotorula* dapat bertahan lama dan tumbuh pada permukaan buah karena dapat menghasilkan *Extracellular Polysaccharide* (EPS) yang berfungsi untuk meningkatkan kemampuan khamir bertahan hidup pada lingkungan yang kekurangan nutrien dan air. Khamir *Rhodotorula* mempunyai kerakteristik

oligotripik yaitu mempunyai kemampuan untuk bertahan pada kondisi kurang nutrien. Faktor lain yaitu khamir *Rhodotorula* dapat menghasilkan pseudohifa yang dapat mendukung sel khamir untuk menempel pada permukaan buah.

Pengaruh akuades pada buah tomat pascapanen

Pengamatan pada buah tomat yang dilukai dan tidak dilukai masing-masing sebanyak 10 buah tomat, menunjukkan hingga hari ke-15 semua buah tomat tidak mengalami kebusukan (Gambar II.1e, II.2b). Hal tersebut mengindikasikan akuades steril tidak menyebabkan kebusukan. Akuades steril yang digunakan tidak mengandung mikroorganisme hidup. Dengan demikian di dalam akuades steril tidak ada mikroorganisme yang dapat menyebabkan kebusukan pada buah tomat.

Pengaruh luka pada buah tomat pascapanen

Hasil pengamatan terhadap 10 buah tomat yang dilukai menunjukkan seluruh buah tomat tidak mengalami kebusukan hingga hari ke-12 inkubasi (Gambar II.1d). Kebusukan pada buah tomat baru terjadi pada hari ke-15 sebesar 20%. Pengamatan terhadap buah tomat yang mengalami kebusukan, menunjukkan buah mengeluarkan air pada bagian dasar, jaringan menjadi lunak dan berbau busuk. Kebusukan yang terjadi diduga disebabkan oleh kontaminasi mikroorganisme yang berasal dari udara atau debu yang masuk ke dalam luka ketika pengamatan. Mikroorganisme yang

masuk ke dalam luka tersebut kumungkinan dapat memanfaatkan nutrien pada luka untuk tumbuh dan bereproduksi. Mikroorganisme kontaminan dapat mengeluarkan enzim hidrolitik yang dapat mendegradasi dinding sel buah sehingga dinding sel buah mengalami perubahan fisik pada buah. Pada pengamatan terlihat buah tomat menjadi lunak, berair pada bagian dasar, dan berbau busuk.

Menurut Moore & Landecker (1996) luka pada buah dapat menjadi jalan masuk bagi sebagian fungi untuk mengambil nutrien yang terdapat pada luka. Chuanxue & Michailides (1998) meneliti pengaruh luka pada kebusukan yang terjadi pada buah persik yang diinokulasikan kapang patogen. Buah dibagi dalam dua kelompok yaitu buah dilukai dan yang tidak dilukai, kemudian pada buah tersebut diinokulasikan *Mon. fructicola*. Pada hari ke-5, buah yang dilukai telah mengalami kebusukan sebesar 100% sedangkan buah tanpa luka hanya mengalami kebusukan sebesar 25%. Hal tersebut menunjukkan terdapat pengaruh perlukaan terhadap kebusukan pada buah.

Buah tomat tanpa perlakuan

Hasil pengamatan selama 15 hari pada 10 buah tomat tanpa perlakuan menunjukkan sebanyak 10% buah tomat telah mengalami kebusukan pada hari ke-3 pengamatan. Pada pengamatan hari ke-15 menunjukkan terjadi kebusukan pada buah tomat sudah mencapai 50%.

Pada buah tomat yang membusuk terlihat, buah ditumbuhi oleh kapang dengan koloni berwarna putih, berbau busuk, berair, dan buah tomat menjadi mengerut (Gambar II.2c). Buah tomat tersebut tidak dicuci dengan air keran dan tidak direndam dalam larutan sodium hipoklorit 0,5% selama 5 menit. Hal tersebut menyebabkan permukaan buah tomat masih dipenuhi oleh berbagai mikroorganisme yang menempel pada permukaan buah. Kebusukan yang terjadi pada buah tomat tanpa perlakuan diduga karena diserang oleh berbagai mikroorganisme yang berada pada permukaan buah tomat. Mikroorganisme tersebut diduga mengeluarkan enzim hidrolitik yang dapat mendegradasi dinding sel buah tomat menjadi senyawa yang lebih sederhana untuk dimanfaatkan sebagai nutrien yang dapat mendukung pertumbuhan dan reproduksi sel mikroorganisme tersebut.

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

1. *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 berpotensi sebagai agen biokontrol karena dapat menghambat kebusukan pada buah tomat yang disebabkan oleh *A. ochraceus* sebesar 100% selama 12 hari.
2. Kemampuan khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 adalah hampir setara dengan kemampuan Fungisida Dithane M-45 untuk menghambat pertumbuhan *A. ochraceus*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menguji kemampuan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 sebagai biokontrol dengan variasi jumlah sel, variasi waktu inokulasi khamir dan variasi pengujian terhadap kapang pada berbagai buah yang berbeda. Informasi tersebut akan memberikan jumlah sel khamir, dan waktu inokulasi yang tepat untuk Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 yang mempunyai kemampuan antagonistik potensial terhadap *A. ochraceus* perlu diuji lebih lanjut untuk mengetahui kemampuannya sebagai agen biokontrol.



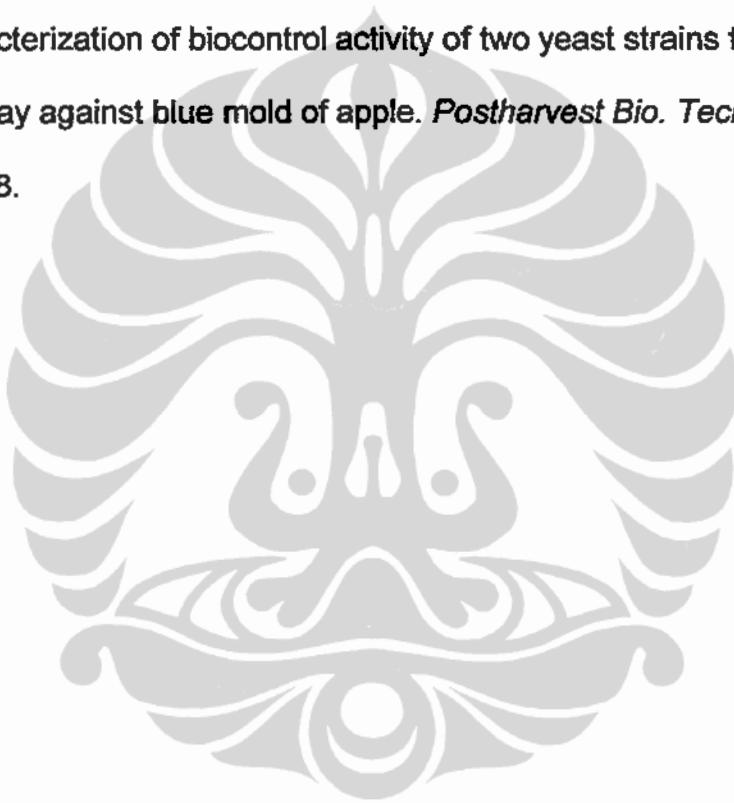
DAFTAR ACUAN

- Arie, T., H. Takahashi, M. Kodama & T. Teraoka. 2007. Tomato as a model plant for plant-pathogen interaction. *Plant. Biotechnol.* **24**: 135—147.
- Bar-Shimon, M., H. Yehuda, L. Cohen, B. Weiss, A. Kobeshikov, A. Daus, M. Goldway, M. Wisniewski & S. Droby. 2004. Characterization of extracellular lytic enzymes produced by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. *J. Genet.* **45**: 140—148.
- Castoria, R., Caputo, L., Cicco, V.D., Curtis, F.D., Morena, V & Panfili, G 2005. Effect of the biocontrol yeast *Rhodotorula glutinis* strain LS 11 on patulin accumulation in stored apple. *The American Phytopathol. Soc.* **95**: 1271—1278.
- Coelho, A.R., M.G. Celli, 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. of Bio. Techno.* **50**: 725—733.
- Droby, S. 2006. Biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables; difficulties and challenges. *Phytopathol.* **39**:105—117.
- El-Tarably, K.A & K. Sivasithamparam. 2006. Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Mycosci.* **47**: 25—35.
- Filonow, A.B. 1998. Role of competition for sugar by yeast in the biocontrol of gray mold of apple. *Biocontrol Sci. Technol.* **8**: 243—256.

- 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., W. Sjamsuridzal & A. Oetari. 2006. *Mikologi dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xii + 234 hlm.
- Chuanxue Hong & T.J. Michailides. Effect of wounding, inoculum density, and biological control agent on postharvest brown rot of stone fruit. *The American Phytopathol. Soc.* 1—7.
- Janisiewicz, W.J. & L. Korsten. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruit. *Ann. Rev. Phytopathol.* 40: 411—441.
- Janisiewicz, W.J., R.A. Saftner, W.S. Conway & K.S. Yoder. 2008. Control of blue mold decay of apple during commercial controlled atmosphere storage with yeast antagonists and sodium bicarbonate. *Postharvest Bio. Technol.* 49: 374—378.
- Jones, R.W & D. Prusky. 2002. Expression of an antifungal peptide in *Saccharomyces*: A new approach for biological control of the postharvest disease caused by *Colletotrichum coccodes*. *Phytopathol.* 92(1): 33—37.
- Kalogiannis, S., S.E. Tjamos, A. Stergiou, P. Antoniou, B. N. Ziogas & E. C. Tjamos. 2006. Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against grey mould of tomatoes. *European J. Plant. Pathol.* 116: 69—76.

- Kendrick, B. 2000. *The fifth kingdom*. Focus, Newburyport: xii + 373 hlm.
- Leibinger, W., B. Breuker., M. Hahn & K. Mendgen. 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganism in the field. *The American Phytopathol. Soc.* 87(11): 1103—1110.
- Lima, G., S. Arru, F. De. Curtis & G. Arras. 1999. Influence of antagonist, host and pathogen on the biological control of postharvest fungal diseases by yeast. *J. of Indu. Micro. Biotech.* 23: 223—229.
- Mahovic, M., S.A. Sargent & J.A. Bartz. 2004. *Identifying and controlling postharvest tomato diseases in Florida*. University of Florida. 1—15.
- Mari, M. & M. Guizzardi. 1998. The postharvest phase: emerging technologies for the control of fungal diseases. *Phytoparasit.* 26(1): 59—66.
- Moore, E. & Landecker. 1996. *Fundamental of the fungi*. 4th ed. Prentice Hall, New Jersey, xiv+ 574 hlm.
- Oetari, A., A. Salama & W. Sjamsuridzal. 2007. *Bioprospek mikosin dari khamir indigenous Indonesia (asal kebun raya Cibodas) sebagai biokontrol jamur patogen pada tanaman pangan*. Laporan Akhir Riset Unggulan Universitas Indonesia.
- Phaff, H.J & M.W. Mrak. 1978. *The life of yeasts*. 2nd ed. Harvard University Press, Cambridge. Dalam: Peter, G. & C. Rosa. 2006. *The yeast handbook: Biodiversity and ecophysiology of yeasts*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: 263—301 hlm.

- Saravanakumar, D., D. Spadaro, A. Garibaldi & M. L. Gullino. 2008. Detection of enzymatic activity and partial sequence of chitinase gene in *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 used as post-harvest biocontrol agent. *Eur. J. Plant. Pathol.* **1**: 1—11.
- Vero, S., P. Mondino, J. Burgueno, M. Soubes & M. Winieswski. 2002. Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Uruguay against blue mold of apple. *Postharvest Bio. Technol.* **26**: 91—98.







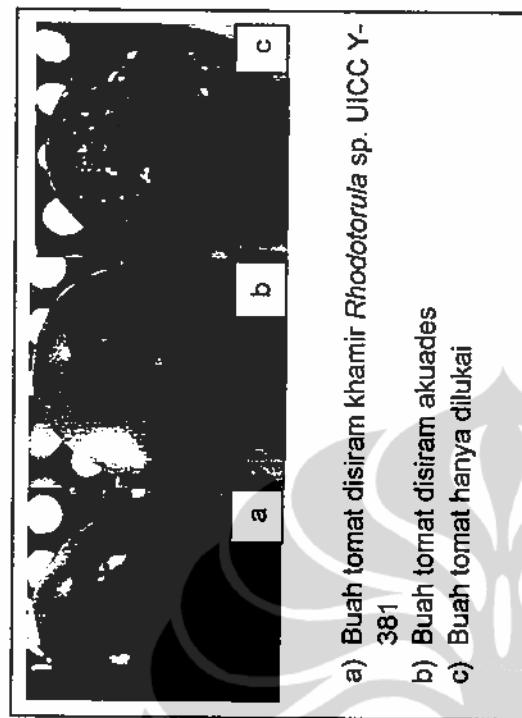
GAMBAR



Keterangan :

- (a) Buah tomat disiram kapang *A. ochraceus* dan diinokulasikan *A. ochraceus*
- (b) Buah tomat yang hanya diinokulasikan *A. ochraceus*
- (c) Buah tomat yang disiram fungisida M-45 dithane dan diinokulasi kapang *A. ochraceus*
- (d) Buah tomat yang hanya disiram khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381
- (e) Buah tomat yang disiram akuades
- (f) Buah tomat hanya dilukai

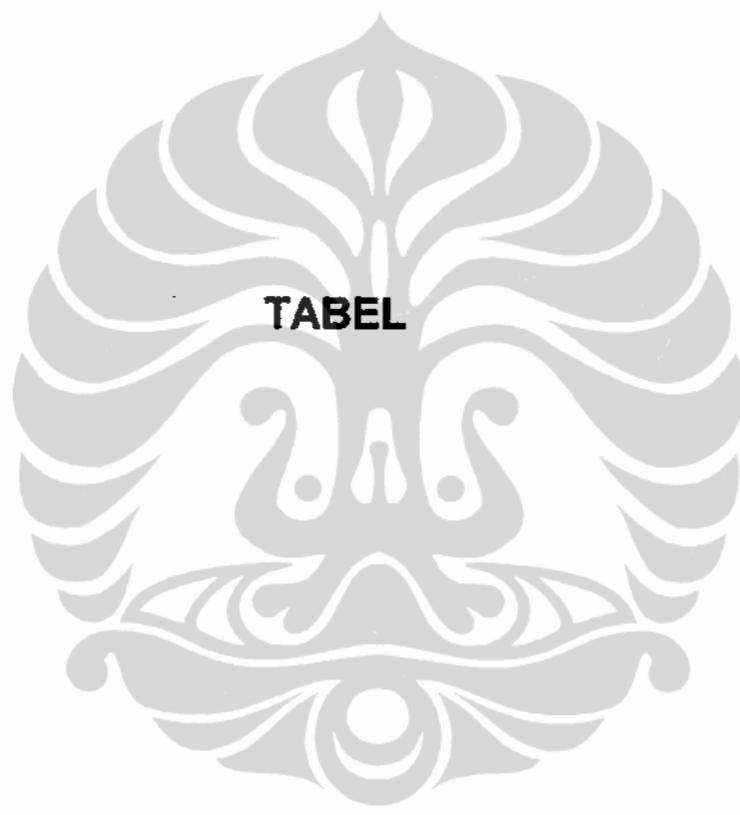
Gambar II.1. Buah tomat yang dilukai pada berbagai perlakuan inkubasi hari ke-15, pada suhu 25—27 °C.



a) Buah tomat disiram khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381

- b) Buah tomat disiram akuades
- c) Buah tomat hanya dilukai

Gambar II.2. Buah tomat yang tidak dilukai pada berbagai perlakuan, inkubasi hari ke-15, pada suhu 25—27 °C.



Tabel II.1 Persentase jumlah kebusukan luka pada buah tomat

No	Perilakuan	Persentase jumlah kebusukan luka pada buah tomat pada hari ke-					Gejala kerusakan/kebusukan
		3	6	9	12	15	
1	Buah tomat disiram khamir <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381, pada luka diinokulasikan <i>A. ochraceus</i>	0	0	0	0	20	Pada tomat yang mengalami kerusakan, luka ditumbuh oleh kapang <i>A. ochraceus</i> , jaringan disekeliling luka berwarna hitam, luas koloni kapang yang tumbuh lebih kecil dibandingkan luas koloni pada kapang kontrol.
2	Fungisida dithane M-45	0	0	0	0	0	—
3	Buah tomat dilukai, pada luka diinokulasikan khamir <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381	0	0	0	0	20	Buah tomat berair, di sekeliling luka terdapat jaringan yang mengering, berwarna merah muda dan kuning,
4	Buah tomat dilukai, pada luka diinokulasikan kapang <i>A. ochraceus</i>	20	50	80	100	100	Buah tomat mengkerut, berair, semua luka ditutupi oleh hifa dan spora kapang <i>A. ochraceus</i> jaringan tomat disekeliling luka berwarna kuning dan hitam, terjadi perekahan, berbau.
5	Buah tomat dilukai, pada luka diinokulasikan akuades	0	0	0	0	0	—
6	Buah tomat dilukai	0	0	0	0	20	Buah tomat berair, lunak, dan berbau busuk
7	Buah tomat tidak dilukai, disiram akuades	0	0	0	0	0	—
8	Buah tomat tidak dilukai, disiram suspensi sel khamir <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381	0	0	0	0	0	—
9	Buah tomat tanpa perlakuan.	10	20	40	50	50	Pada buah tomat yang membusuk, buah ditumbuh oleh kapang dengan koloni berwarna putih, berbau busuk, berair, dan buah tomat menjadi mengkerut.

Tabel II.2 Persentase reduksi jumlah kebusukan pada buah tomat di berbagai perlakuan dibandingkan dengan persentase kebusukan pada kontrol kapang

No	Perlakuan	Persentase reduksi kebusukan pada buah tomat hari ke-				
		3	6	9	12	15
1	Buah tomat disiram khamir <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381, pada luka diinokulasi <i>A. ochraceus</i> .	100	100	100	100	80
2	Fungisida dithane M-45	100	100	100	100	100
3	Buah tomat dilukai, pada luka diinokulasikan khamir <i>Rhodotorula</i> sp. UICC Y-381	100	100	100	100	80

DISKUSI PARIPURNA

Khamir antagonistik telah banyak digunakan sebagai agen biokontrol untuk menghambat pertumbuhan kapang patogen yang menyerang buah dan sayuran pada saat pascapanen. Leibinger (1997) melaporkan produk biokontrol terhadap patogen pada buah-buahan yang telah dikomersialkan adalah Aspire yang mengandung khamir *Candida oleophila* strain 182 dan telah dipasarkan di Amerika Serikat. Janisiewicz dkk. (2008) melaporkan produk YieldPlus™ yang mengandung khamir *Cryptococcus albidus* telah digunakan sebagai biokontrol kapang *Botrytis*, *Penicillium*, *Mucor* pada buah apel dan pir, dan dipasarkan di Cape Town, Afrika Selatan. Produk komersial Shemer™ yang mengandung khamir *Metchnikowia fructicola* telah digunakan sebagai biokontrol pada buah anggur dan stoberi, dan telah dipasarkan di Israel.

Khamir-khamir koleksi UICC memiliki potensi sebagai agen biokontrol yaitu *Rhodotorula*. Kemampuan antagonistik khamir *Rhodotorula* koleksi UICC dapat diketahui melalui pengujian antagonisme menggunakan metode *strip method*, ko-kultur, dan *slide culture*. Khamir antagonistik paling potensial yang dihasilkan dari ketiga metode tersebut diuji kemampuan biokontrolnya terhadap kapang patogen pada buah tomat secara langsung.

Khamir *Rhodotorula* spp. yang diuji sebanyak enam strain yaitu *Rhodotorula* sp UICC Y-318, *Rhodotorula* sp UICC Y-325, *Rhodotorula* sp UICC Y-332, *Rhodotorula* sp UICC Y-381, *Rhodotorula* sp UICC Y-384, dan

Rhodotorula sp UICC Y-386. Ke-enam strain khamir tersebut diuji kemampuan antagonistiknya terhadap *Aspergillus ochraceus*, *A. terreus*, dan *Drechslera* sp.

Hasil *strip method* antara enam strain khamir *Rhodotorula* spp. terhadap ketiga kapang patogen menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-325 mempunyai nilai persentase reduksi lebar koloni terbesar selama 6 hari terhadap *Drechslera* sp., *A. ochraceus* dan *A. terreus* secara berurutan dengan nilai kisaran 28,12%—72,14% (Tabel I.6), Nilai persentase reduksi lebar koloni kapang oleh *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dengan kisaran 54,28%—72,46% (Tabel I.7), dan *Rhodotorula* sp. Y-318 dengan kisaran 21,76%—58,10% (tabel I.8). Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 merupakan khamir antagonis yang paling potensial terhadap *A. ochraceus* karena mempunyai nilai persentase reduksi koloni kapang terbesar dengan kisaran 54,28%—72,46%.

Hasil pengujian menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 merupakan khamir dengan persentase terbesar dalam mereduksi ukuran kepala konidia dan lebar hifa *A. ochraceus*. Persentase reduksi kepala konidia kapang pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 9,45% dan 12,43%. Persentase reduksi lebar hifa pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 7,10% dan 7,51%. *Rhodotorula* sp. UICC Y-332 merupakan khamir dengan persentase terbesar dalam mereduksi diameter kepala konidia *A. terreus*. Persentase reduksi ukuran diameter kepala konidia pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 10,17% dan 9,60%. *Rhodotorula* sp. UICC Y-332

hanya menghambat ukuran kepala konidia tetapi tidak dapat mereduksi lebar hifa kapang. *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 merupakan khamir antagonis yang paling potensial terhadap *A. ochraceus* karena mempunyai persentase reduksi koloni kapang terbesar dengan kisaran 54,28%—72,46%.

Coelho dkk. (2007) melakukan pengujian kemampuan khamir antagonistik untuk menghambat pertumbuhan *Pen. expansum* secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan khamir antagonistik dapat menghambat germinasi konidia sebesar 58,15% dan pertumbuhan miselium sebesar 66,17%. Hasil pengujian tersebut memperlihatkan khamir antagonistik dapat menghambat germinasi dan pertumbuhan miselium kapang patogen *Pen. expansum*.

Hasil pengujian antagonisme dengan *slide culture* berdasarkan menunjukkan pada hari ke-2 inkubasi pada kontrol dan perlakuan memperlihatkan hifa *Drechslera* sp. berbentuk filamen dan belum bersporulasi. Perlakuan enam strain khamir *Rhodotorula* sp. terhadap *Drechslera* sp. memperlihatkan hifa kapang belum dikelilingi oleh khamir. Pada hari ke-3 inkubasi, hifa kapang pada kontrol dan perlakuan masih belum bersporulasi (Gambar I.8). Pengamatan mikroskopik pada perlakuan menunjukkan ke-enam strain khamir *Rhodotorula* sp. telah mengelilingi hifa kapang *Drechslera* sp. Sel khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 paling banyak menempel pada hifa kapang *Drechslera* sp. dibandingkan sel-sel dari lima strain *Rhodotorula* lainnya. Penempelan sel-sel *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 pada hifa kapang hampir menutupi permukaan hifa *Drechslera* sp.

Chan & Tian (2005) melakukan pengujian antagonistik antara *Pichia membranefaciens* dan *Candida albidus* melawan *Moniliela fructicola*, *Pen. expansum* dan *Rhizopus stolonifer* secara *in vitro* dan *in vivo*. Pengamatan melalui SEM menunjukkan *P. membranefaciens* lebih kuat menempel pada ketiga hifa kapang dibandingkan *C. albidus*. Pengujian produksi enzim menunjukkan khamir *P. membranefaciens* juga lebih banyak menghasilkan enzim β -1,3 gukanase dibandingkan *C. albidus*. Data tersebut menunjukkan bahwa kuat tidaknya sel khamir menempel pada dinding sel hifa kapang dipengaruhi oleh kemampuan sel khamir untuk menghasilkan enzim litik.

Mekanisme antagonistik yang dilakukan khamir-khamir *Rhodotorula* spp. dalam interaksi antagonisme dengan kapang melalui pengamatan menggunakan *strip method*, ko-kultur dan *slide culture* diduga adalah kompetisi untuk memenangkan kompetisi nutrien dan ruang. Khamir dapat memenangkan kompetisi karena khamir diinokulasikan lebih dulu daripada kapang sehingga memberi kesempatan kepada khamir untuk lebih cepat memanfaatkan nutrien dan ruang daripada kapang. Selanjutnya khamir tersebut menggunakan nutrien dan ruang untuk tumbuh dan bereproduksi terlebih dahulu dibandingkan kapang, sehingga jumlahnya bertambah dan menyebabkan kandungan nutrien di dalam medium berkurang. Kandungan nutrien yang berkurang di dalam medium menyebabkan nutrien yang akan dirgunakan kapang untuk tumbuh dan sporulasi menjadi berkurang sehingga pertumbuhan kapang menjadi terhambat.

Pada tahun 1998, Filonow meneliti kemampuan *Sporobolomyces roseus*, *Cryptococcus laurentii*, *Saccharomyces cereviseae* terhadap *Botrytis cinerea* dalam berkompetisi untuk menyerap gula pada medium secara *in vitro*. Gula yang digunakan pada medium uji tersebut ditandai dengan label ^{14}C . Pada jam ke- 48, ternyata semua khamir dapat menyerap gula lebih cepat dibandingkan dengan kapang. Penelitian tersebut menunjukkan khamir lebih cepat menyerap nutrien yang terdapat dalam medium dibandingkan dengan kapang.

Mekanisme lain yang dapat menyebabkan pertumbuhan kapang terhambat adalah karena khamir menghasilkan enzim litik seperti β -1,3 glukanase dan kitinase yang dapat mendegradasi dinding sel kapang sehingga menyebabkan pertumbuhan kapang di sekitar khamir menjadi terhambat. Dinding sel kapang tersebut didegradasi menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat dijadikan sumber nutrien yang berguna untuk pertumbuhan dan reproduksi khamir.

Zhulong & Tian (2005) meneliti mekanisme antagonistik *Pichia membranefaciens* dalam menghambat pertumbuhan *Monilinia fructicola* secara *in vitro*. Pengamatan pada jam ke-48 menunjukkan mekanisme antagonistik yang digunakan *P. membranefaciens* untuk menghambat pertumbuhan *Mon. fructicola* adalah dengan menyekresikan enzim β -1,3 glukanase yang dapat mendegradasi dinding sel *Mon. fructicola*.

Hasil pengujian antagonisme dengan *strip method*, ko-kultur dan *slide culture* menghasilkan satu strain potensial untuk dijadikan sebagai biokontrol

yaitu *Rhodotorula* sp. UICC Y-381. Hal tersebut berkaitan dengan kemampuannya mereduksi lebar koloni khamir, ukuran kepala konidia dan lebar hifa dengan nilai persentase terbesar dan waktu hambat pertumbuhan yang paling lama.

Kemampuan biokontrol khamir *Rhodotorula* dilakukan berdasarkan Kalogiannis dkk. (2002) yang dimodifikasi. Hasil pengujian biokontrol *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap kapang *A. ochraceus* selama 15 hari, menunjukkan bahwa buah tomat terhindar dari kebusukan yang diakibatkan oleh *A. ochraceus* selama 12 hari. Kebusukan baru terjadi pada hari ke-15 dengan persentase kebusukan 20%. Pengamatan pada buah tomat yang tidak membusuk memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan koloni *A. ochraceus* di dalam luka, bahkan di beberapa luka koloni kapang mengering dan tidak dapat bersporulasi. Pada buah tomat yang membusuk, pada luka *A. ochraceus* dapat bergerminasi dan bersporulasi dan jaringan disekeliling luka berwarna hitam.

Pada kontrol kapang *A. ochraceus*, kebusukan pada luka mulai terjadi sejak hari ke-3 dengan persentase kebusukan 20%. Persentase kebusukan setelah 15 hari adalah 100% (tabel II.1) Gejala kerusakan yang terjadi adalah buah tomat mengkerut, berair, semua lubang ditutupi oleh hifa dan spora kapang *A. ochraceus*, terjadi perekahan pada buah dan berbau.

Pengamatan menunjukkan bahwa suspensi khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 dapat mengurangi luka yang membusuk pada buah tomat yang disebabkan oleh *A. ochraceus* sebesar 80% (tabel II.2). Khamir *Rhodotorula*

juga dapat menghambat pertumbuhan dan sporulasi kapang *A. ochraceus* pada perlakuan, dibanding dengan kontrol kapang. Hal ini menunjukkan bahwa *Rhodotoula* sp. UICC Y-381 berpotensi sebagai agen biokontrol dari *A. ochraceus* penyebab kebusukan pada buah tomat pascapanen.

Mekanisme biokontrol yang digunakan khamir *Rhodotoula* sp. UICC Y-381 untuk menghambat pertumbuhan kapang diduga adalah kompetisi nutrien dan ruang. Diduga khamir *Rhodotoula* sp. lebih cepat menguasai dan beradaptasi dengan lingkungan pada luka. Jumlah khamir *Rhodotoula* sp. UICC Y-381 yang digunakan dalam penelitian ini adalah tinggi yaitu 10^8 CFU/ml. Kepadatan khamir yang tinggi tersebut menyebabkan khamir cepat melakukan perbanyakan sel dan mengkolonialisasi pada luka sehingga dapat mengalahkan kapang patogen untuk memperebutkan nutrien dan ruang pada luka.

Hasil pengamatan pada buah tomat yang disiram fungisida Dithane M-45 0,08% menunjukkan, hingga hari ke-15 pertumbuhan kapang *A. ochraceus* adalah terhambat sebesar 100%. Kapang *A. ochraceus* tidak mengalami pertumbuhan sama sekali pada lubang. Kemampuan biokontrol *Rhodotoula* sp. UICC Y-381 yang dapat menghambat pertumbuhan kapang sebesar 80% menunjukkan kemampuan biokontrolnya hampir setara dengan kemampuan fungisida dalam menghambat pertumbuhan kapang *A. ochraceus*. Hal ini menunjukkan bahwa khamir *Rhodotoula* dapat dijadikan alternatif pengganti fungisida.

Pengamatan selama 15 hari mulai hari ke-3 hingga ke 12 inkubasi pada 10 buah tomat yang dilukai kemudian disiram khamir menunjukkan sebanyak 100% buah tomat tidak mengalami kebusukan. Buah tomat tidak berbau busuk, tidak berair, dan permukaan buah tomat masih keras ketika dipegang. Kebusukan baru terjadi pada buah tomat pada hari ke-15 inkubasi sebanyak 20%. Gejala yang terlihat pada buah tomat yang busuk adalah luka berair, di sekitar luka terdapat jaringan yang mengering berwarna merah muda.

Khamir antagonis *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 diduga mampu memanfaatkan nutrien dengan cepat untuk pertumbuhan dan reproduksi sel. *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 kemungkinan menghasilkan enzim hidrolitik yang dapat mendegradasi dinding sel buah menjadi senyawa yang lebih sederhana. Senyawa sederhana tersebut akan menjadi nutrien yang akan digunakan untuk pertumbuhan dan reproduksi. Kemampuan khamir untuk cepat menguasai nutrien dan ruang serta dapat menghasilkan enzim hidrolitik memberi keuntungan pada buah tomat yang disiram suspensi khamir untuk terhindar dari serangan kapang patogen. Akan tetapi di sisi lain khamir juga menyebabkan kerugian pada buah tomat karena dapat menyebabkan buah tomat menjadi busuk.

Pengamatan pada 10 buah tomat yang tidak dilukai kemudian disiram khamir hingga hari ke-15 inkubasi, menunjukkan sebanyak 100% buah tomat tidak mengalami kebusukan. Diduga khamir dapat bertahan pada

permukaan buah tomat dan dapat melindungi buah tomat dari serangan kapang patogen yang dapat menyebabkan kebusukan pada tomat.

Khamir memiliki kemampuan untuk bertahan pada permukaan tanaman dalam jangka waktu lama karena khamir dapat memanfaatkan nutrien pada permukaan tanaman seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, asam organik dan asam amino yang dilepaskan dari jaringan dalam buah. Khamir *Rhodotorula* memiliki kemampuan untuk bertahan pada permukaan buah karena khamir tersebut juga bersifat oligotropik, yaitu dapat bertahan pada kondisi kurang nutrien. Faktor lain adalah khamir juga dapat menghasilkan *Extracellular Polysaccharide (EPS)* yang berfungsi untuk meningkatkan kemampuan khamir bertahan hidup pada lingkungan yang kekurangan nutrien dan air (Fonseca & Inacio, 2006).

Pengamatan pada buah tomat yang dilukai dan tidak dilukai masing-masing sebanyak 10 buah tomat, menunjukkan hingga hari ke-15 semua buah tomat tidak mengalami kebusukan. Hal tersebut mengindikasikan akuades steril tidak menyebabkan kebusukan. Hasil pengamatan terhadap 10 buah tomat yang dilukai menunjukkan seluruh buah tomat tidak mengalami kebusukan hingga hari ke-12 inkubasi. Kebusukan pada buah tomat baru terjadi pada hari ke-15 sebesar 20%. Pengamatan terhadap buah tomat yang mengalami kebusukan, menunjukkan buah mengeluarkan air pada bagian dasar, jaringan menjadi lunak dan berbau busuk. Kebusukan yang terjadi diduga disebabkan oleh kontaminasi mikroorganisme yang berasal dari udara atau debu yang masuk ke dalam luka ketika pengamatan.

Hasil pengamatan selama 15 hari pada 10 buah tomat tanpa perlakuan menunjukkan sebanyak 10% buah tomat telah mengalami kebusukan pada hari ke-3 pengamatan. Pada pengamatan hari ke-15 menunjukkan terjadi kebusukan pada buah tomat sudah mencapai 50%. Pada buah tomat yang membusuk terlihat, buah ditumbuhinya oleh kapang dengan koloni berwarna putih, berbau busuk, berair, dan buah tomat menjadi mengerut. Kebusukan yang terjadi pada buah tomat tanpa perlakuan diduga karena diserang oleh berbagai mikroorganisme yang berada pada permukaan buah tomat.

RANGKUMAN KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Pengujian antagonistik melalui *strip method* menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 memiliki kemampuan antagonistik potensial karena mempunyai persentase reduksi lebar koloni terbesar terhadap *A. ochraceus* dengan nilai persentase berkisar 54,28%–72,46% selama 6 hari inkubasi.
2. Pengujian antagonistik melalui ko-kultur menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 memiliki kemampuan antagonistik potensial karena mempunyai persentase terbesar untuk mereduksi ukuran kepala konidia dan lebar hifa terhadap *A. ochraceus* dibandingkan kelima strain khamir *Rhodotorula* sp. lainnya. Persentase reduksi kepala konidia kapang pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 9,45% dan 12,43%. Persentase reduksi lebar hifa pada hari ke-2 dan ke-3 secara berurutan sebesar 7,10% dan 7,51%.
3. Pengujian antagonistik melalui *slide culture* menunjukkan *Rhodotorula* sp. UICC Y-386 paling kuat menempel pada dinding sel hifa kapang *Drechslera* sp.
4. Dari ketiga pengujian antagonistik, *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 mempunyai kemampuan antagonistik yang paling potensial karena potensial pada dua pengujian antagonistik yaitu *strip method* dan *co-culture*.
5. *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 berpotensi sebagai agen biokontrol karena mampu menghambat kebusukan pada buah tomat yang disebabkan oleh *A. ochraceus* sebesar 100% selama 12 hari.

6. Kemampuan khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 adalah hampir setara dengan kemampuan Fungisida Dithane M-45 untuk menghambat pertumbuhan *A. ochraceus*.

SARAN

Khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 yang mempunyai kemampuan antagonistik potensial terhadap *A. ochraceus* perlu diuji kemampuannya sebagai agen biokontrol secara *in vivo* pada buah. Informasi mengenai kemampuan biokontrol *Rhodotorula* sp UICC Y-381 tersebut dapat dimanfaatkan untuk diaplikasikan menjadi produk komersial di bidang pertanian

DAFTAR ACUAN

- 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. *Proceeding of the 11th international conference on culture collection: Connection between collection.* 7-11 October 2007, Goslar Germany: 66—69 hlm.
- Coelho, A.R., M.G. Celli, 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. Of Bio. Technol.* **50**: 725—733.
- Filonow, A.B. 1998. Role of competition for sugar by yeast in the biocontrol of gray mold of apple. *Biocontrol Sci. Technol.* **8**: 243—256.
- 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.
- Janisiewicz, W.J. R.A. Saftner, W.S. Conway & K.S. Yoder. 2008. Control of blue mold decay of apple during commercial controlled atmosphere storage with yeast antagonists and sodium bicarbonate. *Postharvest Bio. Technol.* **49**: 374—378.
- Kalogiannis, S., S.E. Tjamos, A. Stergiou, P. P Antoniou, B. N. Ziogas & E. C. Tjamos. 2006. Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against grey mould of tomatoes. *European J. Plant.*

- Pathol.* 116: 69—76.
- Leibinger, W., B. Breuker., M. Hahn & K. Mendgen. 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganism in the field. *The American Phytopathol. Soc.* 87(11): 1103—1110.
- Oetari, A., A. Salamah and W. Sjamsuridzal. 2007. *Bioprospek mikosin dari khamir indigenous Indonesia (asal kebun raya Cibodas) sebagai biokontrol jamur patogen pada tanaman pangan*. Laporan Akhir Riset Unggulan Universitas Indonesia.
- Phaff, H.J & M.W. Mrak. 1978. *The life of yeasts*. 2nd ed. Harvard University Press, Cambridge. Dalam: Peter, G. & C. Rosa. 2006. *The yeast handbook: Biodiversity and ecophysiology of yeasts*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: 263—301 hlm.
- Yarrow, D. 1998. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. Dalam: Kurtzman, C.P. & J.W. Fell (eds.). 1998. *The yeasts: A taxonomic study*. 4th ed. Elsevier, Amsterdam: 77—100 hlm.
- Zhulong Chan & Shipping Tian. 2005. Interaction of antagonistic yeasts against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action. *Postharvest Bio. Technol.* 36: 215—223.