



UNIVERSITAS INDONESIA

**KEMAMPUAN ANTAGONISME KHAMIR FILUM
Basidiomycota DARI TANAMAN SAEH (*Broussonetia papyrifera*
Vent.) ASAL TROWULAN TERHADAP *Aspergillus* spp. UICC**

SKRIPSI

**SEYLA FENINA
0806453365**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**KEMAMPUAN ANTAGONISME KHAMIR FILUM
Basidiomycota DARI TANAMAN SAEH (*Broussonetia papyrifera*
Vent.) ASAL TROWULAN TERHADAP *Aspergillus* spp. UICC**

SKRIPSI

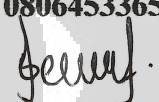
Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

**SEYLA FENINA
0806453365**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar**

Nama : Seyla Fenina
NPM : 0806453365
Tanda tangan : 
Tanggal : 28 Juni 2012



HALAMAN PENGESAHAN

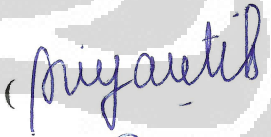
Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Seyla Fenina
NPM : 0806453365
Program Studi : S1 Biologi
Judul Skripsi : Kemampuan Antagonisme Khamir Filum *Basidiomycota* dari Tanaman Saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) Asal Trowulan terhadap *Aspergillus* spp. UICC

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Ariyanti Oetari, Ph.D.

()

Penguji 1 : Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D.

()

Penguji 2 : Lestari Rahayu K., M.Sc.

()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 28 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan kasih karunia yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ariyanti Oetari, Ph.D. selaku Pembimbing yang telah membimbing dan membantu penulis dalam penelitian dan penulisan skripsi ini. Terima kasih atas segala bimbingan, waktu, dukungan, perhatian, semangat, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
2. Hibah Riset Unggulan Bidang Prioritas *Indigenous Studies* 2010 atas nama Ariyanti Oetari, Ph.D. yang telah membiayai penelitian.
3. Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. dan Lestari Rahayu K., M.Sc. selaku Penguji yang telah memberikan saran-saran selama penulis melakukan penelitian.
4. Drs. Wisnu Wardhana, M.Si. selaku Penasehat Akademik atas segala kasih sayang, semangat, dan saran-saran yang selalu diberikan.
5. Dr.rer.nat. Mufti P. Patria, M.Sc. selaku Ketua Departemen Biologi FMIPA UI, Dra. Nining Betawati, M.Sc. selaku Sekretaris Departemen Biologi FMIPA UI, Dr. Wibowo Mangunwardoyo, M.Sc. dan Dra. Setiorini M.Kes. selaku Koordinator Seminar, Dra. Titi Soedjiarti, S.U. selaku Koordinator Pendidikan, dan segenap staf pengajar atas ilmu pengetahuan yang telah diberikan kepada penulis selama berada di Departemen Biologi.
6. Kedua orang tuaku, H. Sinaga dan S.D. Saragih, Ka Emi Tyasma S.Pd., Brian Eleyson, serta seluruh keluarga penulis yang telah memberikan kasih sayang, doa, dukungan moril dan materil, serta perhatian yang tiada henti kepada penulis.
7. Nala Hutasoit, S.Si. yang selalu memberikan perhatian, semangat, dan mendengarkan keluh kesah penulis selama penyusunan skripsi.
8. Nur El Fadhila, Hanum Puspa Diani, dan Savitry Pandu Wijaya sebagai teman seperjuangan dalam tim DIVAS, yang selalu menjalani suka dan duka bersama penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi.

9. Tim DEMON (Alvin, Dessy, Edvan, dan Michelle), CANNON (Cir, Odyt, Okta, Grand, dan Rere), CITRUS (Faton, Rizky, Rusli, dan Sentot), Ahmad Supriadi, S.Pi., Ka Dafina, Ka Irfan, Ka Bregas, Mba Reno, Mba Lia, dan Bu Retno atas persahabatan, kebersamaan, dan bantuan yang diberikan selama berada di laboratorium.
10. Sahabat-sahabat penulis (Dhila, Erin, Edis, Eru, Nisa, Ami, Dessy, Puthe, Maya, dan Bahagia) serta sahabat-sahabat BIOSENTRIS, ZYGOMORPHIC, BIOGENESIS, BACILUS, dan BLOSSOM yang telah bersama-sama menjalani suka duka bersama penulis selama kuliah di Departemen Biologi.
11. Asri Martini, S.Si. atas waktu dan tenaga yang diberikan selama proses pendaftaran.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para perkembangan ilmu pengetahuan.

Depok, 28 Juni 2012

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Seyla Fenina
NPM : 0806453365
Program Studi : S1
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Kemampuan Antagonisme Khamir Filum *Basidiomycota* dari Tanaman Saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) Asal Trowulan terhadap *Aspergillus* spp. UICC

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 28 Juni 2012

Yang menyatakan



(Seyla Fenina)

ABSTRAK

Nama : Seyla Fenina
Program Studi : Biologi
Judul : Kemampuan Antagonisme Khamir Filum *Basidiomycota* dari Tanaman Saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) Asal Trowulan terhadap *Aspergillus* spp. UICC

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan antagonisme enam khamir epifit filum *Basidiomycota* koleksi UICC yang diisolasi dari daun tanaman Saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) asal Trowulan terhadap kapang *Aspergillus* spp. UICC. Keenam khamir tersebut, yaitu *Cryptococcus flavescens* UICC Y-515, *Cryptococcus flavescens* UICC Y-525, *Cryptococcus flavus* UICC Y-534, *Rhodotorula glutinis* UICC Y-520, *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-522, dan *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-531. Pengujian dilakukan menggunakan metode *co-culture* pada medium PDB pH 5, selama empat hari inkubasi pada suhu 28° C. Keenam spesies khamir memiliki kemampuan antagonisme yang ditunjukkan melalui peningkatan jumlah sel khamir sebesar 26,91--98,76%, peningkatan ukuran sel vegetatif khamir (panjang sel rata-rata meningkat sebesar 1,11--19,59% dan lebar sel rata-rata sebesar 0,82--19,42%), penghambatan waktu sporulasi hingga inkubasi hari ke-3, reduksi lebar hifa kapang sebesar 7,84--20,26%, dan mortalitas kapang sebesar 100% pada inkubasi hari ke-4.

Kata kunci : antagonisme, *Aspergillus*, *Broussonetia papyrifera*, khamir *Basidiomycota*.

xiii + 83 halaman; 19 gambar; 20 tabel; 6 lampiran
Daftar Acuan: 73 (1995--2012)

ABSTRACT

Name : Seyla Fenina
Study Program : Biology
Title : Antagonism activity of *Basidiomycota* yeasts from Saeh plant (*Broussonetia papyrifera* Vent.) from Trowulan against *Aspergillus* spp. UICC.

A study has been conducted to determine the antagonism activity of six epiphytic yeast species from phylum *Basidiomycota* against *Aspergillus* spp. UICC. The yeasts were isolated from Saeh plants (*Broussonetia papyrifera* Vent.) from Trowulan. The yeasts were *Cryptococcus flavescens* UICC Y-515, *Cryptococcus flavescens* UICC Y-525, *Cryptococcus flavus* UICC Y-534, *Rhodotorula glutinis* UICC Y-520, *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-522, and *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-531. Antagonism test was carried out by co-culture in PDB pH 5 for four days at 28° C. Results showed that all yeast species were antagonists and indicated by an increase in the number of yeast cells by 26.91--98.76%, an increase in the size of vegetative yeast cells (average cell length by 1.11--19.59% and an increase of the average cell width by 0.82--19.42%), inhibition of sporulation by day 3 incubation, reduced width of the hyphal mold by 7.84--120.26%, and mortality of molds by 100% at day 4 incubation.

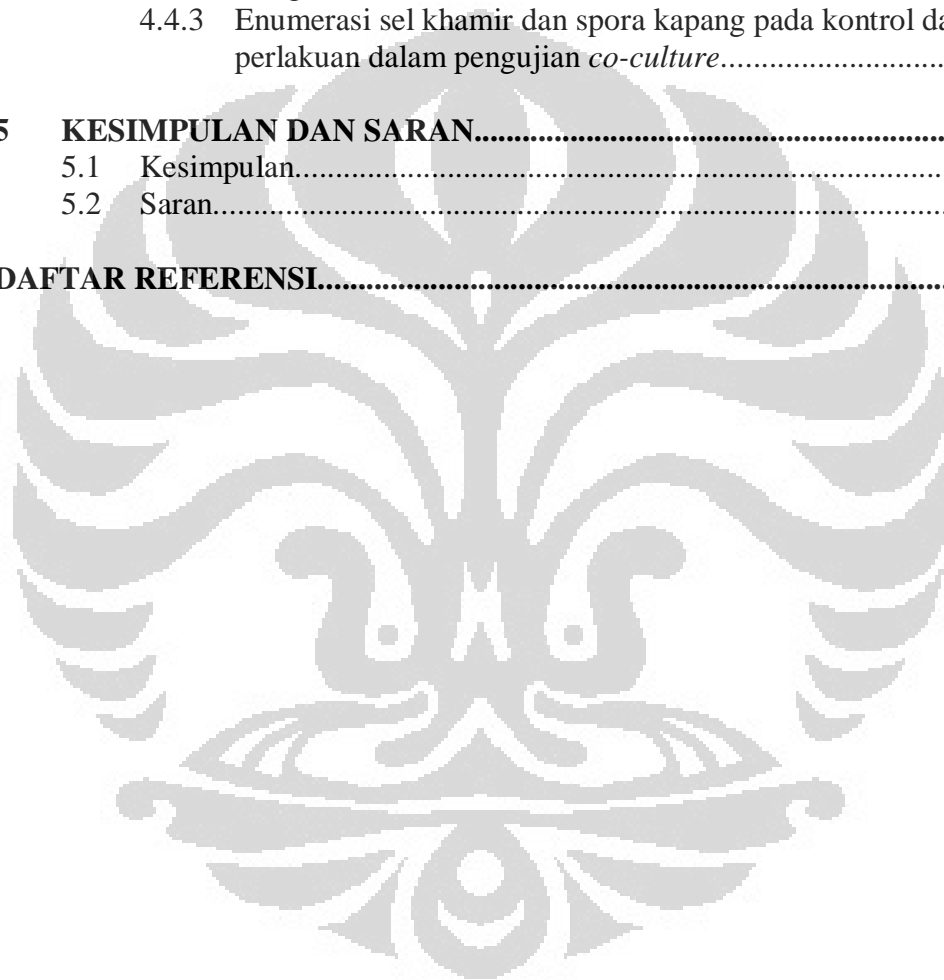
Keyword : Antagonism, *Aspergillus*, *Basidiomycota* yeast, *Broussonetia papyrifera*.

xiii + 83 pages; 19 picture; 20 table; 6 attachments
Bibliography: 73 (1995--2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
1. PENDAHULUAN.....	1
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Fungi.....	7
2.2 Khamir antagonis.....	8
2.3 Kapang patogen pada tomat.....	16
2.4 Tanaman Saeh (<i>Broussonetia papyrifera</i> Vent.).....	19
2.5 Aplikasi Biokontrol.....	20
3. METODOLOGI PENELITIAN.....	22
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	22
3.2 Alat dan Bahan.....	22
3.2.1 Alat.....	22
3.2.2 Bahan.....	22
3.2.2.1 Mikroorganisme.....	22
3.2.2.2 Medium.....	23
3.2.2.3 Bahan Kimia.....	24
3.2.2.4 Bahan Habis Pakai.....	24
3.3 Cara Kerja.....	24
3.3.1 Pembuatan Medium.....	24
3.3.1.1 <i>Plate Count Agar</i> (PCA).....	24
3.3.1.2 <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA).....	25
3.3.1.3 <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB).....	25
3.3.1.4 <i>Yeast Malt Agar</i> (YMA).....	25
3.3.2 Larutan penyangga sitrat-fosfat pH 5.....	26
3.3.3 Pemurnian isolat khamir dan kapang.....	26
3.3.4 Pembuatan <i>stock culture</i> dan <i>working culture</i>	26
3.3.5 Pengamatan morfologi khamir dan kapang.....	26
3.3.6 Enumerasi sel khamir dan kapang.....	27
3.3.7 Pengujian antagonisme.....	27
3.3.8 Pengolahan dan analisis data.....	31

4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1	Pengamatan morfologi khamir.....	32
4.2	Pengamatan morfologi kapang.....	37
4.3	Enumerasi sel khamir dan kapang.....	41
4.4	Pengujian antagonisme.....	42
4.4.1	Pengamatan penurunan berat medium pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme.....	43
4.4.2	Pengamatan pertumbuhan khamir epifit dalam pengujian antagonisme.....	46
4.4.3	Pengamatan pertumbuhan kapang dalam pengujian antagonisme.....	53
4.4.3	Enumerasi sel khamir dan spora kapang pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian <i>co-culture</i>	66
5	KESIMPULAN DAN SARAN.....	70
5.1	Kesimpulan.....	70
5.2	Saran.....	70
	DAFTAR REFERENSI.....	71



DAFTAR GAMBAR

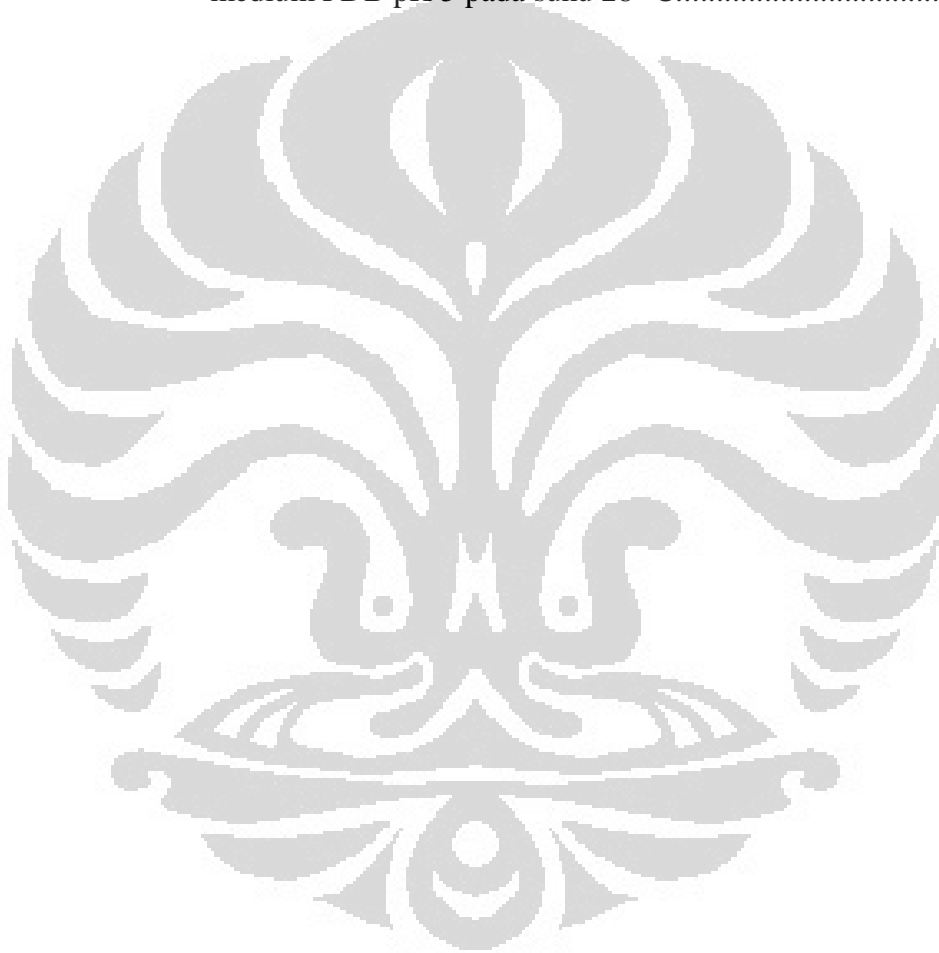
Gambar 2.2.1	Sel <i>Crptococcus flavescens</i> (Saito) C.E. Skinner.....	11
Gambar 2.2.2	Sel <i>Crptococcus flavus</i> (Saito) Puff dan Fell.....	12
Gambar 2.2.3	Sel <i>Rhodotorula glutinis</i> (Fresenius) F.C. Harrison.....	13
Gambar 2.2.4	Sel <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (Jogersen) F.C. Harison.....	14
Gambar 2.3.1	<i>Aspergillus niger</i> van Tienghem.....	17
Gambar 2.3.2	<i>Aspergillus ochraceus</i> Wilhem.....	18
Gambar 2.3.3	<i>Aspergillus terreus</i> Thom.....	19
Gambar 2.4.1	Daun <i>Broussonetia papyrifera</i> Vent.....	20
Gambar 4.1.1	Morfologi koloni khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C.....	33
Gambar 4.1.2	Morfologi sel khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C.....	35
Gambar 4.2.1.	Morfologi kapang <i>Aspergillus</i> spp. umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28° C.....	39
Gambar 4.4.2.1	Morfologi koloni khamir pada kontrol umur 4 hari dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	47
Gambar 4.4.2.2	Diagram batang persentase peningkatan panjang dan lebar rata-rata sel khamir umur 3 hari pada perlakuan <i>co-culture</i> di medium PDB pH 5 pada suhu 28°.....	51
Gambar 4.4.3.1	Pengamatan koloni <i>A. niger</i> UICC umur 4 hari pada <i>co-culture</i> dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	54
Gambar 4.4.3.2	Pengamatan koloni <i>A. ochraceus</i> UICC umur 4 hari pada <i>co-culture</i> dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	55
Gambar 4.4.3.3	Pengamatan koloni <i>A. terreus</i> UICC umur 4 hari pada <i>co-culture</i> dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	56
Gambar 4.4.3.4	Pengamatan morfologi <i>A. niger</i> UICC umur 3 hari dalam pengujian antagonisme di PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	61
Gambar 4.4.3.5	Pengamatan morfologi <i>A. ochraceus</i> UICC umur 3 hari dalam pengujian antagonisme di PDB pH 5 pada suhu 28°C	62
Gambar 4.4.3.6	Pengamatan morfologi <i>A. terreus</i> UICC umur 3 hari dalam pengujian antagonisme di PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel 3.2.2.1.(1)	Daftar spesies khamir dari daun tanaman saeh (<i>Br. papyrifera</i>) asal Trowulan yang digunakan dalam penelitian.....	22
Tabel 3.2.2.1.(2)	Daftar spesies kapang patogen tanaman tomat (<i>L. esculentum</i>) asal Bogor dan Tangerang yang digunakan dalam penelitian.....	23
Tabel 4.1.1	Hasil pengamatan koloni khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28 °C.....	37
Tabel 4.1.2	Hasil pengamatan sel khamir umur dua hari dalam medium YMA pada suhu 28 °C.....	37
Tabel 4.2.1	Hasil pengamatan morfologi koloni kapang umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28 °C.....	40
Tabel 4.2.2	Hasil pengamatan morfologi kapang umur 5 hari secara mikroskopik dalam medium PDA pada suhu 28° C.....	40
Tabel 4.3.1	Hasil perhitungan sel khamir umur 2 hari dalam medium PCA pada suhu 28° C menggunakan metode TPC.....	41
Tabel 4.3.2	Hasil perhitungan jumlah hifa/spora kapang umur 5 hari dalam medium PCA pada suhu 28° C menggunakan metode TPC.....	42
Tabel 4.4.1.1	Hasil persentase penurunan berat medium pada perlakuan pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28°C	44
Tabel 4.4.1.2	Hasil persentase penurunan berat medium pada kontrol khamir dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	45
Tabel 4.4.1.3	Hasil pengamatan berat medium pada kontrol kapang dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	45
Tabel 4.4.2.1	Hasil pengamatan koloni khamir pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme di medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	48
Tabel 4.4.2.2	Hasil pengamatan morfologi sel khamir dalam pengujian antagonisme di medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	50
Tabel 4.4.2.3	Hasil pengukuran sel khamir umur 3 hari dalam pengujian antagonisme di medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	52
Tabel 4.4.3.1	Hasil pengamatan morfologi koloni kapang secara makroskopik pada pengujian antagonisme di medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	57
Tabel 4.4.3.2	Hasil pengukuran diameter kepala konidia dan lebar hifa kapang <i>A. niger</i> UICC umur 3 hari dalam PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	64
Tabel 4.4.3.3	Hasil pengukuran diameter kepala konidia dan lebar hifa kapang <i>A. ochraceus</i> UICC umur 3 hari dalam PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	64
Tabel 4.4.3.4	Hasil pengukuran diameter kepala konidia dan lebar hifa kapang <i>A. terreus</i> UICC umur 3 hari dalam PDB pH 5 pada suhu 28° C....	65
Tabel 4.4.4.1	Hasil enumerasi sel khamir pada kontrol dan perlakuan umur 2 hari dalam medium PCA pada suhu 28° C menggunakan metode TPC.....	67
Tabel 4.4.4.2	Hasil enumerasi hifa/spora kapang pada kontrol umur 5 hari dalam medium PCA pada suhu 28° C menggunakan metode TPC.....	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema kerja.....	78
Lampiran 2	Cara kerja metode <i>co-culture</i>	79
Lampiran 3	Standar warna Faber Castell.....	80
Lampiran 4	Hasil pengamatan berat medium pada perlakuan pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	81
Lampiran 5	Hasil pengamatan berat medium pada kontrol khamir dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	83
Lampiran 6	Hasil pengamatan berat medium pada kontrol kapang dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C.....	83



BAB 1 PENDAHULUAN

Mikroorganisme pada habitat yang sama dapat saling berinteraksi satu sama lain. Interaksi yang terjadi merupakan proses adaptasi terhadap faktor biotik dan abiotik di sekelilingnya (Campbell dkk. 2004: 363--364). Salah satu bentuk interaksi antar mikroorganisme adalah antagonisme, yaitu interaksi yang menimbulkan efek merugikan pada pertumbuhan salah satu mikroorganisme, sedangkan mikroorganisme lain diuntungkan (Batzing 2002: 696). Interaksi antagonisme terjadi apabila beberapa jenis mikroorganisme menempati ruang yang sama, sehingga mikroorganisme tersebut harus berkompetisi terhadap nutrisi dan ruang yang tersedia. Mikroorganisme yang memiliki kemampuan berkompetisi dengan mikroorganisme lain dalam hal perolehan nutrisi dan ruang dari lingkungan akan bertahan hidup dan berkembang biak dengan sukses (Golubev 2006: 198).

Interaksi antagonisme dapat terjadi antar sesama fungi, antar sesama bakteri, atau antara fungi dengan bakteri (Ray 2004: 64). Mikroorganisme yang memiliki kemampuan antagonisme disebut sebagai mikroorganisme antagonis (Batzing 2002: 696). Khamir epifit merupakan salah satu mikroorganisme yang berpotensi sebagai khamir antagonis. Khamir epifit adalah khamir yang tumbuh secara alami di permukaan bagian tumbuhan seperti batang, daun, bunga, dan buah (Fonseca & Inacio 2006: 280). Pada substrat tersebut terdapat keragaman populasi mikroorganisme sehingga terjadi banyak interaksi antar populasi, salah satunya adalah interaksi antagonisme (Janisiewicz & Korsten 2002: 415--416). Kemampuan antagonisme khamir epifit ditunjukkan melalui kemampuan khamir tersebut dalam menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme lain di sekitarnya (Golubev 2006: 197).

Khamir epifit pada permukaan daun (*phylloplane*) didominasi oleh filum *Basidiomycota*, antara lain genus *Rhodotorula* Harrison, *Sporobolomyces* Kluver dan van Niel, dan *Cryptococcus* Vuillemin. Khamir filum *Basidiomycota* memiliki kelebihan dalam interaksi antagonisme karena dapat tumbuh dengan cepat, mampu berkompetisi terhadap ruang dan nutrisi, memiliki pigmen

sehingga mampu bertahan terhadap UV dari sinar matahari, dan memiliki kapsul untuk menjaga sel terhadap kehilangan air akibat paparan sinar matahari (Fonseca & Inacio 2006: 281, 289 & 291). Karakteristik tersebut menyebabkan jumlah individu dalam populasi khamir pada permukaan daun akan meningkat, sehingga mampu mendominasi ruang dan nutrisi (Spadaro 2003: 3).

Khamir *phylloplane* filum *Basidiomycota* telah berhasil diisolasi dari daun *Broussonetia papyrifera* Vent. asal Desa Bejjong, Kecamatan Trowulan, Jawa Timur. Khamir-khamir tersebut antara lain *Cryptococcus flavescens* (Saito) C.E. Skinner, *Cryptococcus flavus* (Saito) Paff dan Fell, *Rhodotorula glutinis* (Fresenius) F.C. Harrison, dan *Rhodotorula mucilaginosa* (Jorgensen) F.C. Harrison (Sukmawati dkk. 2011: 1). Daun tanaman tersebut memiliki permukaan atas yang tertutup oleh trikoma *uniseriate* (D'amelio & Mirhom 2000: 1). Struktur trikoma pada permukaan daun memengaruhi komposisi dan distribusi komunitas mikroorganisme *phylloplane*. Trikoma dan hidatoda mengeluarkan senyawa endogen dan molekul berupa senyawa organik dan anorganik seperti gula, asam organik, asam amino, metanol, dan beberapa garam sebagai sumber nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme juga mendapat nutrisi eksogen yang berasal dari gutasi (Fonseca & Inacio 2006: 265).

Tanaman *Br. papyrifera* di Indonesia dahulu dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan kertas daluang. Sejalan dengan makin majunya teknologi dan industri, terutama industri pulp dan kertas, penggunaan kertas daluang makin terdesak karena harganya lebih mahal dan produksinya tidak mungkin mampu memenuhi kebutuhan yang terus meningkat. Hal tersebut mengakibatkan usaha pembuatan kertas daluang hampir tidak ada lagi, sehingga keberadaan tanaman tersebut semakin sulit ditemukan (Suganda 2001: 1). Saat ini telah diketahui tanaman *Br. papyrifera* memiliki kandungan senyawa papyriflavonol yang dapat dimanfaatkan sebagai salah satu bahan penyusun pestisida dan zat antifungi (Sohn dkk. 2010: 1397). Senyawa papyriflavonol kemungkinan dimiliki juga oleh khamir yang hidup pada daun tanaman tersebut, sehingga khamir dapat dimanfaatkan sebagai khamir antagonis terhadap fungi seperti kapang patogen (Orwa dkk. 2009: 3). Kemampuan antagonisme khamir akan lebih meningkat terhadap mikroorganisme dari habitat yang berbeda. Hal tersebut disebabkan

mikroorganisme dari habitat berbeda dianggap sebagai kompetitor baru yang harus dikalahkan untuk dapat mendominasi ruang dan nutrisi yang tersedia (Golubev 2006: 209--210).

Khamir *phylloplane* yang bersifat antagonis dapat dimanfaatkan dalam menghambat pertumbuhan fungi seperti kapang patogen (Kalogiannis dkk. 2006: 69). Kapang patogen diketahui sering menginfeksi dan menimbulkan penyakit pada tanaman hortikultura seperti tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Damicone dkk. 2008: 1). *Aspergillus* merupakan salah satu genus kapang patogen yang sering menginfeksi buah pascapanen. Kutama dkk. (2007: 38) melaporkan 50 dari 200 isolat fungi pengontaminasi tanaman tomat berasal dari genus *Aspergillus*. Infeksi kapang pada tanaman tomat dapat memengaruhi pertumbuhan buah tomat. Kavanagh (2005: 221) melaporkan *Alternaria solani* (Ell dan G. Martin) Sor. dapat menyebabkan penyakit alternaria yang ditunjukkan dengan gejala timbul luka berwarna hitam pada batang dan daun, kerusakan bunga, dan kebusukan pada buah. Menurut Andersen dan Frisvad (2004: 7510), kapang genus *Aspergillus* lebih banyak ditemukan pada wilayah beriklim panas dan kering, sedangkan kapang genus *Alternaria* lebih banyak ditemukan pada wilayah beriklim rendah atau wilayah empat musim. Menurut Badan Standardisasi Nasional (2009: 27), buah tomat pasca panen yang terinfeksi kapang genus *Aspergillus* spp. menghasilkan mikotoksin yang dapat menyebabkan reaksi alergi dan infeksi pada manusia apabila dikonsumsi terus-menerus.

Data *Food and Agriculture Organization* (2002:1) menunjukkan kontribusi Indonesia terhadap produksi tomat dunia hanya sekitar 0,5%. Rendahnya tingkat produktivitas buah tomat salah satunya disebabkan karena kerusakan buah tomat oleh kapang patogen. Tomat memiliki lapisan kulit yang tipis, kandungan air yang banyak, dan kisaran pH 4,5--5,0 sehingga mendukung pertumbuhan kapang patogen (Mahovic dkk. 2004: 1). Tomat dikategorikan sebagai tanaman sayuran utama yang memiliki banyak manfaat. Salah satu manfaat buah tomat bagi manusia yaitu sebagai sumber vitamin A dan C. Buah tomat berwarna merah mengandung pigmen *lycopene* berguna sebagai antioksidan yang dapat mencegah perkembangan penyakit kanker (Adiyoga dkk. 2004: 1).

Pertumbuhan kapang patogen pada buah pascapanen dapat dihambat oleh khamir antagonis (Bar-Shimon dkk. 2004: 140). Khamir antagonis melakukan interaksi antagonisme dengan kapang melalui mekanisme yang berbeda-beda (Deak 2006: 164). Mekanisme antagonisme yang dilakukan oleh khamir antara lain kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis, parasitisme dan predasi (Hagagg & Mohamed 2007: 7). Mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi terjadi saat khamir ditumbuhkan bersama mikroorganisme lain dalam kondisi ruang dan nutrisi yang terbatas. Kesuksesan berkompetisi ditunjukkan melalui pertumbuhan sel serta kolonisasi khamir antagonis yang lebih cepat dibandingkan kapang (Janisiewicz & Korsten 2002: 417--418). Mekanisme antibiosis melibatkan penggunaan senyawa metabolit sekunder seperti enzim pelisis, senyawa *volatile*, *siderophores* atau senyawa toksik lainnya (Hagagg & Mohamed 2007: 8). Mekanisme parasitisme terjadi saat khamir menjadikan kapang sebagai inang yang menyediakan habitat dan nutrisi untuk pertumbuhan (Sharma dkk. 2009: 210). Mekanisme predasi terjadi melalui kontak langsung atau melalui struktur khusus dari khamir, misalnya appresoria, yang mampu menembus dinding sel hifa atau spora sehingga mengganggu viabilitas sel (Morrica & Ragazzi 2008: 311--312).

Khamir antagonis yang dapat menghambat pertumbuhan kapang patogen pada buah pascapanen dapat dimanfaatkan sebagai agen biokontrol (Bar-Shimon dkk. 2004: 140). Biokontrol adalah penggunaan suatu mikroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Penggunaan khamir antagonis menjadi agen biokontrol dapat menjadi alternatif pengganti fungisida sintetik (Druvefors 2004: 8--9). Penggunaan fungisida sintetik dalam pengendalian fungi yang menyerang tanaman hortikultura dapat meninggalkan residu bahan kimia sintetik yang berbahaya bagi kesehatan manusia dan lingkungan (Zhang dkk. 2005: 287). Kalogiannis dkk. (2006: 73) melaporkan khamir antagonis *Rh. glutinis* berpotensi sebagai agen biokontrol karena mampu mengurangi kebusukan yang disebabkan oleh kapang patogen *Botrytis cinerea* Pers.: (Fr.) hingga 50% pada buah tomat yang dilukai. Menurut Sharma dkk. (2009: 211), beberapa khamir antagonis telah dipatenkan dan dikomersialkan menjadi produk biokontrol untuk menghambat pertumbuhan kapang pada tanaman buah. Produk tersebut antara lain Aspire dari negara Amerika yang

menggunakan khamir antagonis *Candida oleophila* Montrocher. Produk YieldPlus dari negara Afrika Selatan menggunakan khamir antagonis *Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner.

Hingga saat ini pengujian antagonisme secara *in vitro* masih dilakukan untuk mengetahui kemampuan antagonisme khamir terhadap kapang patogen pada buah pascapanen (Kalogiannis dkk. 2006: 69). Pada prapenelitian telah dilakukan pengujian antagonisme khamir epifit tanaman saeh (*Br. papyrifera*) asal Trowulan terhadap kapang patogen tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi asal Bogor dan Tangerang menggunakan metode *strip*. Hasil pengujian antagonisme antara khamir *Aureobasidium* sp. UICC Y-516 dan *Pichia anomala* UICC Y-455 terhadap *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn dan *Aspergillus ochraceus* Wilhem menunjukkan spesies khamir masing-masing memiliki kemampuan antagonisme. Khamir antagonis yang lebih potensial adalah *Aureobasidium* sp. terhadap *A. oryzae*, karena mampu mereduksi lebar koloni *A. oryzae* hingga 69,12%. Hasil prapenelitian tersebut sesuai dengan Azizmohseni dkk. (2007: 68) yang menyatakan bahwa kemampuan antagonisme khamir terhadap kapang dapat ditunjukkan salah satunya dengan reduksi lebar koloni kapang.

Hasil pengujian menggunakan metode *strip* pada prapenelitian hanya memberikan informasi mengenai terjadinya interaksi antagonisme yang ditunjukkan dari reduksi lebar koloni. Kelemahan dari penggunaan metode *strip* dalam suatu pengujian antagonisme adalah tidak diperolehnya informasi berupa perubahan morfologi, seperti perubahan ukuran bagian-bagian kapang serta sel khamir, yang dapat mengindikasikan terjadinya interaksi antagonisme. Oleh karena itu, diperlukan pengujian antagonisme menggunakan metode *co-culture*.

Menurut Widyastuti (2008: 27--30), metode *co-culture* dapat digunakan pada penelitian yang bertujuan untuk melihat hasil interaksi antagonisme antar sel yang terjadi, karena prinsip dasar dari metode *co-culture* adalah menumbuhkan dua jenis mikroorganisme pada satu medium pertumbuhan. Menurut Handarini (2006: 25), pengujian antagonisme menggunakan metode *co-culture* pada medium cair memiliki keuntungan antara lain pengerjaannya sederhana, perubahan morfologi pada sel khamir dan kapang dapat diketahui, dan struktur sel khamir dan kapang dapat diukur serta dikuantifikasi dalam bentuk persentase. Interaksi

antagonisme antara khamir dengan kapang dalam medium cair dapat diketahui melalui tidak adanya pertumbuhan hifa atau miselium kapang pada permukaan medium, terjadi penundaan sporulasi, serta adanya perubahan morfologi salah satunya perubahan ukuran pada sel khamir dan kapang.

Hasil interaksi antagonisme melalui metode *co-culture* berhasil diperlihatkan Droby dkk. (2001: 396) dalam pengujian antagonisme antara khamir *Candida oleophila* terhadap kapang *Penicillium digitatum* (Pers.): Sacc.. Khamir *C. oleophila* menyebabkan perubahan ukuran pada spora kapang menjadi lebih besar sehingga tidak membentuk *germ tube*, sedangkan spora kapang pada kontrol dapat membentuk *germ tube*. Interaksi antagonisme juga ditunjukkan dari hifa yang terbentuk pada permukaan substrat perlakuan tidak membentuk lapisan miselium rapat seperti lapisan miselium pada substrat kontrol.

University of Indonesia Culture Collection (UICC) memiliki khamir-khamir filum *Basidiomycota* yang diisolasi dari tanaman saeh (*Br. papyrifera*) asal Desa Trowulan, Mojokerto, Jawa Timur. Hingga saat ini, belum dilakukan pengujian antagonisme antara khamir-khamir tersebut terhadap kapang patogen dari tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi, yaitu *Aspergillus niger* UICC, *Aspergillus ochraceus* UICC, dan *Aspergillus terreus* UICC. Selain itu, belum diperoleh khamir antagonis yang potensial terhadap kapang tersebut. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian antagonisme antara khamir dari tanaman saeh (*Br. papyrifera*) terhadap kapang patogen dari tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi serta informasi mengenai khamir antagonis yang potensial.

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui kemampuan antagonisme khamir filum *Basidiomycota* dari tanaman saeh (*Br. papyrifera*) serta memperoleh khamir antagonis yang potensial terhadap kapang patogen dari tanaman tomat terinfeksi. Hipotesis dari penelitian adalah khamir filum *Basidiomycota* dari tanaman saeh (*Br. papyrifera*) mampu melakukan interaksi antagonisme dan khamir tersebut merupakan khamir antagonis yang potensial terhadap kapang patogen dari tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi. Khamir antagonis yang paling potensial dapat dimanfaatkan di bidang pertanian sebagai agen biokontrol pengganti fungisida sintetik yang dapat membunuh kapang patogen pada buah tomat pascapanen.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 FUNGI

Fungi merupakan organisme eukariotik yang sebagian sebagian besar bersifat aerobik (Benson 2001: 48), kemoheterotrof, berdinding sel dari glukukan dan kitin (Tortora 2001: 332), berbentuk hifa atau sel tunggal, cara hidup umumnya saprofit atau parasit, dan dapat bersifat patogen pada manusia (Hogg 2005: 198--199 & 208). Fungi yang hidup sebagai saprofit mengambil nutrisi dalam bentuk materi organik dari organisme mati. Fungi yang hidup sebagai parasit mengambil nutrisi dalam bentuk materi organik dari jaringan organisme lain yang masih hidup (Hogg 2005: 199). Fungi tidak memiliki klorofil sehingga tidak dapat melakukan fotosintesis (Gandjar dkk. 2006: 10).

Fungi dimorfik (*yeast-like fungi*) merupakan fungi yang memiliki tahapan uniseluler (*yeast-state*) seperti khamir dan tahapan multiseluler (*mycelium-state*) seperti kapang dalam siklus hidupnya (Talero 2001: 334). Contoh dari fungi dimorfik adalah khamir *Candida albicans* (Robin) Berkhout dan *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex Hansen. Dimorfisme pada fungi salah satunya dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi pada medium (Moore 1998: 36--37). Menurut Batzing (2002: 301), fungi akan berada pada tahapan multiseluler dalam kondisi nutrisi yang terbatas dan akan berada pada tahapan uniseluler dalam kondisi nutrisi yang cukup.

Fungi terbagi menjadi tiga kelompok berdasarkan morfologinya, yaitu khamir (*yeast*), kapang (*mould*), dan cendawan (*mushroom*) (Madigan dkk. 2012: 601). Khamir merupakan fungi uniseluler yang memiliki ukuran sel panjang sekitar 2--3 μm hingga 20--50 μm dan lebar 1--10 μm , tidak berflagel, bereproduksi secara aseksual dengan *budding* atau *fission*, atau memproduksi beberapa jenis konidia yang disebut *stalked conidia*, *blastoconidia*, atau *athroconidia* (Hogg 2005: 198; Kavanagh 2005: 3). Reproduksi seksual khamir menurut Pitt dan Hocking (2009: 357) yaitu dengan membentuk askospora pada kelompok *Ascomycota* dan basidiospora pada kelompok *Basidiomycota*. Kapang

(*mould*) merupakan fungi multiseluler, memiliki jaringan tubuh (*thallus*) memanjang dan bercabang-cabang membentuk filamen seperti benang yang disebut hifa, dan dapat bereproduksi dengan menghasilkan spora aseksual dan/atau spora seksual (Hogg 2005: 198). Cendawan (*mushrooms*) merupakan fungi dengan tubuh buah berukuran besar, sehingga mudah dilihat dengan kasat mata. Tubuh buah (*fruiting body*) terdiri atas tangkai, *ring*, *gills*, dan tudung. Basidiospora merupakan spora seksual yang dihasilkan pada bagian pipih yaitu *gills* yang melekat pada tudung cendawan (Madigan dkk. 2012: 607).

Fungi diklasifikasikan berdasarkan alat reproduksi seksual yang dihasilkan dalam siklus hidupnya (Hogg 2005: 199). Menurut Deacon (2006: 16), kingdom Fungi atau *Eumycota* diklasifikasikan ke dalam lima filum, yaitu *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Zygomycota*, *Chytridiomycota*, dan *Glomeromycota*. Reproduksi seksual pada filum *Ascomycota* dilakukan dengan menghasilkan askospora, filum *Basidiomycota* menghasilkan basidiospora, filum *Zygomycota* menghasilkan zigospora, filum *Chytridiomycota* menghasilkan zoospora, dan filum *Glomeromycota* belum diketahui alat reproduksi seksualnya (Carlile dkk. 2001: 32, 38, 44, 57). Kelompok fungi yang memproduksi alat reproduksi seksual disebut fungi teleomorfik, sedangkan fungi yang tidak mampu membentuk alat reproduksi seksual disebut fungi anamorfik (Talaro 2001: 339).

2.2 KHAMIR ANTAGONIS

Khamir merupakan fungi uniseluler yang memiliki ukuran sel panjang sekitar 2--3 μm hingga 20--50 μm dan lebar 1--10 μm , tidak berflagel, bereproduksi secara aseksual dengan *budding* atau *fission*, atau memproduksi beberapa jenis konidia yang disebut *stalked conidia*, *blastoconidia*, atau *athroconidia* (Hogg 2005: 198; Kavanagh 2005: 3). Reproduksi seksual khamir menurut Pitt dan Hocking (2009: 357) yaitu dengan membentuk askospora pada kelompok *Ascomycota* dan basidiospora pada kelompok *Basidiomycota*. Contoh khamir yang termasuk ke dalam Filum *Ascomycota* antara lain *Candida albicans*, *Debaryomyces nepalensis* S. Goto dan Sugiyama, dan *Pichia anomala* (E.C. Hansen) Kurtzman. Contoh khamir yang termasuk ke dalam Filum

Basidiomycota antara lain *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) C.E Skinner, *Pseudozyma rugulosa* Boekhout dan Traquair, dan *Rhodotorula glutinis* (Fresenius) F.C. Harrison (Kurtzman & Fell 1998: 123, 127, 287, & 721).

Sel khamir memiliki ukuran, bentuk, dan warna yang bervariasi. Pada umumnya khamir memiliki sel berbentuk bulat, semi bulat, oval, elips atau silindris (Hogg 2005: 198; Kavanagh 2005: 3). Khamir dapat menghasilkan pigmen berwarna hitam, merah muda, merah, jingga, dan kuning (Kavanagh 2005: 4). Beberapa khamir dapat membentuk hifa palsu yang tumbuh menjadi miselium palsu (*pseudomycelium*), dan ada pula khamir dapat membentuk miselium sejati (*true mycelium*). Miselium palsu merupakan sel-sel tunas khamir yang memanjang dan tidak melepaskan diri dari sel induknya, sehingga saling berhubungan membentuk rantai, misalnya pada *Candida* spp., *Kluyveromyces* spp., dan *Pichia* spp. (Gandjar dkk. 2006: 14).

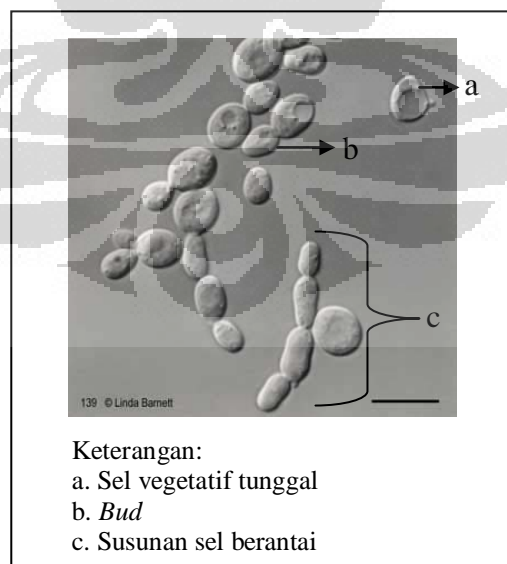
Menurut Kurtzman (2004: 337), khamir termasuk dalam filum *Ascomycota* dan *Basidiomycota*. Filum *Ascomycota* terdiri atas tiga kelas, yaitu *Euascomycetes*, *Hemiascomycetes*, dan *Archiascomycetes*. Contoh khamir dari kelas *Euascomycetes* adalah *Oosporidium margaritifera* Stautz (Kurtzman & Fell 2006: 598), contoh khamir dari kelas *Hemiascomycetes* adalah *Geotrichum candidum* Link: Fries, dan contoh khamir dari kelas *Archiascomycetes* adalah *Schizosaccharomyces pombe* Lindner (Kurtzman 1998: 112). Filum *Basidiomycota* terdiri atas tiga kelas, yaitu *Urediniomycetes*, *Hymenomycetes*, dan *Ustilaginomycetes*. Contoh khamir pada kelas *Urediniomycetes* adalah *Sporobolomyces roseus* Kluyver dan van Niel, contoh khamir dari kelas *Hymenomycetes* adalah *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) C.E Skinner, dan contoh khamir dari kelas *Ustilaginomycetes* adalah *Pseudozyma antarctica* S. Goto, Sugiyama, dan Iizuka (Kurtzman & Fell 2006: 22--23).

Khamir dapat bereproduksi dengan menghasilkan spora aseksual dan/atau spora seksual. Khamir yang menghasilkan alat reproduksi seksual berada pada fase teleomorfik, sedangkan khamir yang tidak menghasilkan alat reproduksi seksual adalah khamir pada fase anamorfik (Pitt & Hocking 2009: 357). Contoh khamir *Ascomycota* teleomorfik antara lain, *Debaryomyces nepalensis* S. Goto dan Sugiyama, *Pichia anomala* (E.C. Hansen) Kurtzman, dan *Saccharomyces*

cerevisiae. Contoh khamir *Ascomycota* anamorfik antara lain, *Candida albicans*, *Geotrichum candidum* Link: Fries, dan *Trigonopsis variabilis* Schachner. Contoh khamir *Basidiomycota* teleomorfik antara lain, *Filobasidium elegans* Bandoni dan Obenwinkler, *Mrakia frigida* Y. Yamada dan Komagata, dan *Rhodospodium toruloides* Banno. Contoh khamir *Basidiomycota* anamorfik antara lain *Cryptococcus flavus* (Saito) Paff dan Fell, *Rhodotorula glutinis* (Fresenius) F.C. Harrison, dan *Rhodotorula mucilaginosa* (Jorgensen) F.C. Harrison (Kurtzman & Fell 1998: 437--438, 688, 759, & 820).

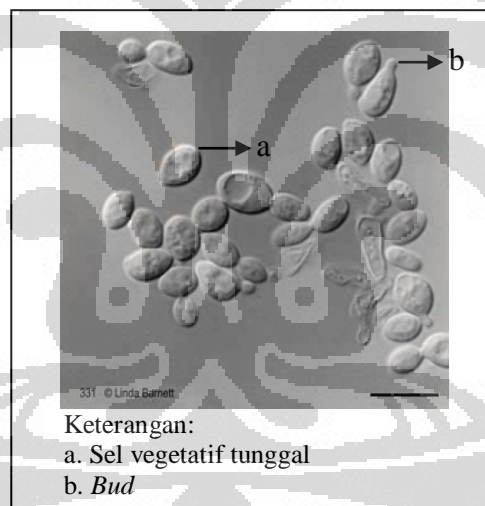
Khamir epifit pada permukaan daun didominasi oleh filum *Basidiomycota*, antara lain *Cryptococcus* spp., *Rhodotorula glutinis*, dan *Rhodotorula mucilaginosa* (Fonseca & Inacio 2006: 282). Beberapa khamir filum *Basidiomycota* telah dilaporkan memiliki kemampuan antagonisme terhadap kapang patogen pada buah pascapanen melalui mekanisme antagonisme yang berbeda-beda (Gachomo dkk. 2008: 441). Mekanisme antagonisme yang dilakukan oleh khamir antara lain kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis, parasitisme dan predasi (Hagagg & Mohamed 2007: 8). Mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi terjadi ketika khamir berusaha memperoleh ruang dan nutrisi yang terbatas saat ditumbuhkan bersama kapang (Janisiewicz & Korsten 2002: 417--418). Kompetisi yang sukses ditunjukkan melalui pertumbuhan sel serta kolonisasi khamir antagonis yang lebih cepat atau sejumlah molekul organik hasil metabolisme khamir yang lebih banyak dibandingkan kapang (Morricca & Ragazzi 2008: 311--312). Mekanisme antibiosis melibatkan penggunaan senyawa metabolit sekunder seperti enzim pelisis, senyawa *volatile*, *siderophores* atau senyawa toksik lainnya (Hagagg & Mohamed 2007: 8). Terbentuknya senyawa metabolit sekunder tersebut dapat menyebabkan fungistatik, lisis dinding sel, atau nekrotik, sehingga pertumbuhan kapang menjadi terhambat. Mekanisme parasitisme terjadi melalui kontak langsung antara sel khamir dengan kapang. Sel khamir memanfaatkan kapang sebagai inang yang merupakan habitat dan sumber nutrisi untuk melakukan pertumbuhan (Sharma dkk. 2009: 210). Mekanisme predasi terjadi melalui kontak langsung atau melalui struktur khusus dari khamir, misalnya *appresoria*, yang mampu menembus dinding sel hifa atau spora sehingga mengganggu viabilitas kapang (Morricca & Ragazzi 2008: 311--312).

Khamir *Cryptococcus* spp. telah dilaporkan memiliki kemampuan antagonisme terhadap kapang patogen pada buah persik pascapanen, yaitu *Rhizopus stolonifer*, *Pen. expansum* Link., *Monilinia fructicola* dan *B. cinerea* (Zhang dkk. 2005: 9; Zhang dkk. 2007: 308). Filonow (2001: 1) melaporkan khamir *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) C.E Skinner memiliki kemampuan antagonisme terhadap kapang patogen *B. cinerea* melalui mekanisme parasitisme. Interaksi antagonisme diawali dengan kontak langsung sel khamir pada hifa kapang, kemudian khamir menyerap makanan dari hifa kapang. Hasil interaksi antagonisme yang terjadi ditunjukkan dari reduksi jumlah konidia yang bergerminasi. Berdasarkan Fell dan Statzell-Tallman (1998: 759), sel khamir *Cryptococcus flavescens* (Saito) C.E. Skinner yang ditumbuhkan pada medium *Malt Extract* 5% selama 3 hari pada suhu 25° C berbentuk bulat hingga oval dan *elongate*, berukuran (2--5,5) x (3--7) µm, dengan susunan sel tunggal berpasangan, rantai pendek, atau dalam kelompok kecil (Gambar 2.2.1). Koloni pada medium cair membentuk cincin tipis dan sedikit endapan. Pertumbuhan dalam *Malt Agar* 5% pada suhu 25° C menunjukkan koloni berwarna krem, jingga, atau kekuningan, permukaan koloni licin dan mengilap, tekstur *slimy*, tepi koloni lurus, dan profil menggantung. *Cryptococcus flavescens* dapat ditemukan pada daun tanaman tropis, air laut, tanah, udang, buncis, dan serangga.



Gambar 2.2.1. Sel *Cryptococcus flavescens* (Saito) C.E. Skinner
[Sumber: National Collection of Yeast Culture 2012: 1, telah diolah kembali]

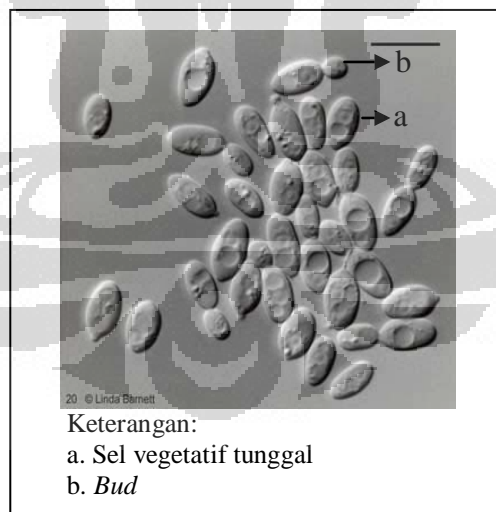
Berdasarkan Fell dan Statzell-Tallman (1998: 754), sel khamir *Cryptococcus flavus* (Saito) Puff dan Fell yang ditumbuhkan pada medium *Malt Extract* 5% selama 3 hari pada suhu 25° C berbentuk bulat sampai oval, berukuran (3,2--5,2) x (5--8,8) μm , dan memiliki susunan sel tunggal atau berpasangan (Gambar 2.2.3). Koloni pada medium cair membentuk cincin tipis dan sedikit endapan. Pertumbuhan dalam *Malt Agar* 5% pada suhu 25° C menunjukkan koloni berwarna cokelat muda hingga kuning, permukaan licin dan sedikit mengilap, tekstur *butyrous*, tepi lurus, dan profil rata. *Cryptococcus flavus* dapat ditemukan pada udara di Tokyo. Berdasarkan Sjamsuridzal (2007: 110--111), sel khamir *Cryptococcus flavus* M4196 bereproduksi secara aseksual dengan *multipolar budding*. *Cryptococcus flavus* M4196 diisolasi dari usus moluska *Melanoides* sp. Jan Sevsic di sungai Cikurutug (ketinggian 500 m di atas permukaan laut), Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat, Indonesia.



Gambar 2.2.2. Sel *Cryptococcus flavus* (Saito) Puff dan Fell
[Sumber: National Collection of Yeast Culture 2012: 1, telah diolah kembali]

Khamir *Rhodotorula glutinis* telah dilaporkan memiliki kemampuan antagonisme terhadap kapang patogen *B. cinerea* melalui mekanisme antibiosis. Kedua khamir tersebut melekat pada hifa kapang kemudian mensekresikan enzim pendegradasi dinding sel, yaitu kitinase dan β -1,3-glukanase. Aktivitas enzim kitinase dan β -1,3-glukanase mengakibatkan dinding sel pada hifa kapang terdegradasi. Kerusakan tersebut menyebabkan germinasi spora dan pertumbuhan hifa menjadi terhambat (Ge dkk. 2010: 490--495). Berdasarkan Fell dan Statzell-

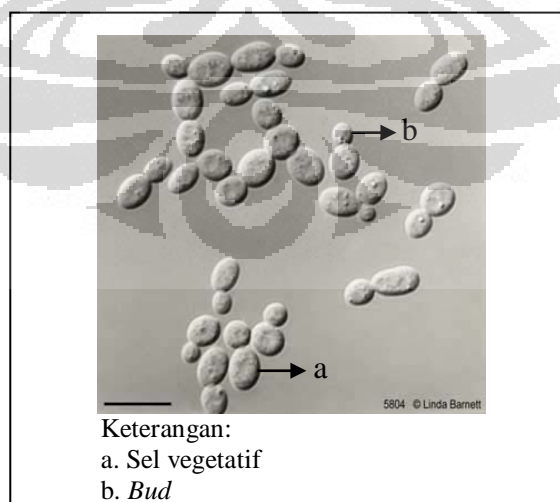
Tallman (1998: 688 & 814), sel khamir *Rh. glutinis* yang ditumbuhkan pada medium *Malt Extract 5%* selama 3 hari pada suhu 25° C berbentuk *globose* hingga oval (Gambar 2.2.3), berukuran (3--5) x (6--13) µm, atau lebih panjang, (12--16 µm), dan lebih lebar (7 µm). Koloni pada medium cair membentuk cincin tipis dan sedikit endapan. Pertumbuhan dalam *Malt Agar 5%* pada suhu 25° C menunjukkan koloni berwarna *coral-red* hingga salem atau jingga muda. Permukaan koloni bervariasi dari licin hingga mengerut, serta sangat mengkilap hingga sedikit mengkilap. Tekstur bervariasi *mucoïd* atau *butyrous*, profil rata hingga menggunung, tepi bergerigi hingga lurus, dan sering terjadi *rudimentary pseudomycelium*. *Rhodotorula glutinis* (Fresenius) F.C. Harrison merupakan bentuk anamorfik dari *Rhodosporidium sphaeocarpum* Newell & Fell. *Rhodotorula glutinis* ditemukan antara lain pada bubur kayu, air keruh, bunga, dan daun. Berdasarkan Sjamsuridzal (2007: 117), sel khamir *Rhodotorula glutinis* M429 bereproduksi secara aseksual dengan *multipolar budding*. *Rhodotorula glutinis* L4236 diisolasi dari usus moluska *Helicarion radiatus* Roding pada ketinggian 1.000 m di atas permukaan laut, Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat, Indonesia.



Gambar 2.2.3. Sel *Rhodotorula glutinis* (Fresenius) F.C. Harrison [Sumber: National Collection of Yeast Culture 2012: 1, telah diolah kembali]

Khamir *Rhodotorula mucilaginosa* telah dilaporkan memiliki kemampuan antagonisme melalui mekanisme kompetisi terhadap ruang dan nutrisi terhadap kapang patogen pada buah apel pascapanen, yaitu *Penicillium expansum* Link dan

B. cinerea. Terjadi peningkatan jumlah sel khamir yang cepat sejak inokulasi pertama ($7,04 \times 10^4$ CFU/ml) hingga hari ketiga ($6,05 \times 10^5$ CFU/ml), sehingga menyebabkan khamir mampu mendominasi ruang dan nutrisi dalam medium pengujian. Hasil interaksi ditunjukkan melalui reduksi germinasi spora *B. cinerea* hingga 82,78% dan reduksi koloni hingga 62,91% dibandingkan dengan kontrol (Li dkk. 2011: 151--156). Berdasarkan Fell dan Statzell-Tallman (1998: 820--821), sel khamir *Rh. mucilaginosa* yang ditumbuhkan pada medium *Malt Extract* 5% selama 3 hari pada suhu 25° C berbentuk *spherical* hingga oval, berukuran (2--8) x (2--12) μ m dan memiliki susunan sel tunggal, berpasangan, dalam rantai pendek atau kelompok kecil (Gambar 2.2.4). Koloni pada medium cair membentuk cincin berwarna merah muda dan sedikit endapan. Pertumbuhan khamir pada *Malt Agar* 5% menunjukkan warna koloni bervariasi dari jingga, *pink-salmon*, hingga *deep coral*. Tekstur koloni *butyrous* atau *mucoïd*, profil rata, tepi lurus, dan permukaan koloni bervariasi dari licin hingga *rugoid*, dan tidak mengkilap hingga mengkilap. *Rhodotorula mucilaginosa* ditemukan antara lain pada tepung lada merah, larva lalat buah, dan daun. Berdasarkan Sjamsuridzal (2007: 160--161), sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* S4117 bereproduksi secara aseksual dengan *multipolar budding*. *Rhodotorula mucilaginosa* S4117 diisolasi dari Cikurutug pada ketinggian 500 m di atas permukaan laut, Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat, Indonesia.



Gambar 2.2.4. Sel *Rhodotorula mucilaginosa* (Jorgensen) F.C. Harison

[Sumber: National Collection of Yeast Culture 2012: 1, telah diolah kembali]

Kemampuan antagonistik khamir terhadap kapang dapat diketahui dengan melakukan pengujian antagonisme. Penelitian mengenai kemampuan mikroorganisme antagonis dalam melawan mikroorganisme lain memerlukan pengujian yang cepat dan dapat dipercaya (El Baz & Shetaia 2005: 1003). Pengujian antagonisme dapat dilakukan menggunakan metode *co-culture* (Oetari dkk. 2007). Prinsip dasar dari metode *co-culture* adalah menumbuhkan khamir dan kapang secara bersamaan dalam satu medium pengujian. Terjadinya interaksi antagonisme diamati dengan melihat reduksi miselium dan penghambatan germinasi spora yang dibandingkan dengan kontrol. Spadaro (2003: 23--46) melaporkan metode *co-culture* dapat menunjukkan kemampuan khamir antagonis *Metschnikowia pulcherrima* Pitt dan M.W. Miller terhadap kapang *B. cinerea*, *Pen. expansum*, *Alternaria* sp. Nees ex Fries, and *Monilia* sp. *Metschnikowia pulcherrima* menunjukkan kemampuan mereduksi miselium *Alternaria* sp., and *Monilia* sp. pada permukaan medium dan menghambat germinasi spora *B. cinerea* hingga 73%.

Coelho dkk. (2007: 726) melaporkan metode *co-culture* dapat menunjukkan kemampuan khamir antagonis *C. guilliermondii* (Castellani) Berkhout P3 dan *P. ohmeri* (Etchells & T.A. Bell) Kreger van Rij 158 terhadap kapang *Pen. expansum*. Pengujian dilakukan pada medium *Yeast Malt Broth* (YMB) dengan menginokulasikan supernatan dari sel khamir (khamir umur 24, 48, 72, 96, dan 120 jam) masing-masing bersama dengan kapang *Pen. expansum*. Pengamatan interaksi antagonisme ditunjukkan dari kemampuan *C. guilliermondii* (Castellani) Berkhout P3 menghambat germinasi konidia kapang *Pen. expansum* sebesar 58,15% dan *P. ohmeri* menghambat pertumbuhan miselium sebesar 66,17%. Aktivitas penghambatan tertinggi ditunjukkan pada waktu inkubasi 48 dan 72 jam.

2.3 KAPANG PATOGEN PADA TOMAT

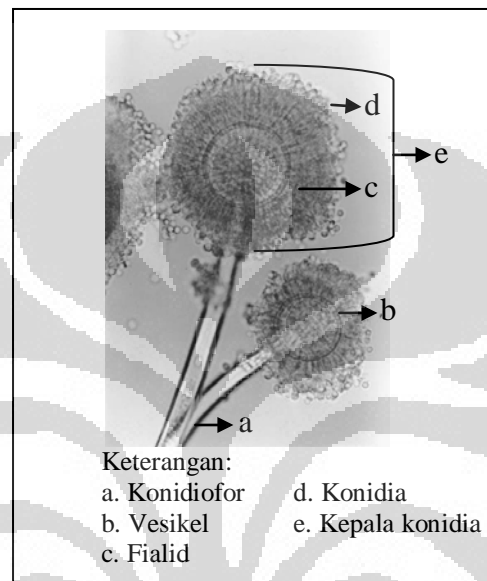
Kapang tersusun dari filamen-filamen yang disebut hifa (Benson 2001: 48). Hifa dapat dibedakan dari ada tidaknya septa atau sekat. Hifa kapang yang memiliki septum disebut hifa *septate* (Talaro 2001: 333). Hifa *septate* terbagi ke dalam kompartemen masing-masing yang memiliki satu inti, sehingga disebut juga hifa *monocytic* (Benson 2001: 48). Hifa pada kapang yang tidak memiliki septum disebut hifa *aseptate* (Talaro 2001: 333). Hifa *aseptate* memiliki sejumlah nukleus yang tersebar di dalam sitoplasmanya, sehingga disebut juga hifa *coenocytic* (Hogg 2005: 198--199). Kumpulan dari hifa akan membentuk suatu massa yang disebut miselium (Benson 2001: 48).

Kapang dapat bereproduksi dengan menghasilkan spora aseksual dan/atau spora seksual (Hogg 2005: 198). Kapang yang menghasilkan alat reproduksi seksual berada pada fase teleomorfik, sedangkan kapang yang tidak menghasilkan alat reproduksi seksual adalah kapang pada fase anamorfik (Samson dkk. 2004: 4). Kapang *Ascomycota* teleomorfik menghasilkan askospora, contohnya adalah *Emericella nidulans* (Eidam) Vuill (Deacon 2006: 39). Kapang *Ascomycota* anamorfik menghasilkan konidia, contohnya *Aspergillus ochraceus* Wilhelm dan *Aspergillus terreus* van Tohm. (Summerbell 2002: 244).

Kapang merupakan fungi penyebab utama kerusakan pada tanaman tomat. Kapang dapat menghasilkan enzim seperti karbohidrase, lipase, dan protease untuk mendegradasi bagian-bagian tanaman (Filternborg dkk: 2004: 307). Oetari dkk. (2007: 44) telah mengisolasi dan mengidentifikasi isolat kapang dari tanaman tomat terinfeksi di Bogor dan Tangerang. Hasil identifikasi menunjukkan lima dari sebelas spesies kapang merupakan genus *Aspergillus*, antara lain *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus ochraceus* dan *Aspergillus terreus*.

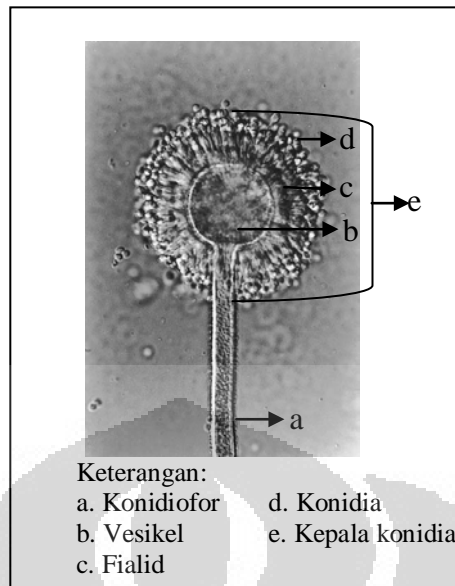
Aspergillus niger merupakan kapang patogen pada tanaman buah seperti tomat, jeruk, anggur, jagung (Barkai-Golan & Paster 2008: 227), dan apel (Viljoen 2006: 88). Menurut Summerbell (2002: 304--305), *A. niger* memiliki koloni berwarna hitam atau coklat kehitaman, tekstur *granular*, lebar koloni mencapai 45--70 mm, sebalik koloni berwarna kuning pucat, konidiofor memiliki

permukaan halus, berwarna hialin, dan memiliki panjang mencapai 3.000 μm . Tipe kepala konidia adalah biserial, bentuk kepala konidia *radiate*, vesikel berbentuk bulat, dan metula tumbuh pada seluruh permukaan vesikel. Konidia berwarna abu-abu hingga cokelat, berbentuk bulat, permukaan kasar, dan berdiameter 3,5--3,5 μm (Gambar 2.3.1). *Aspergillus niger* dapat ditemukan pada tanah, biji-bijian, akar tanaman, rempah-rempah, kompos, dan bahan makanan.



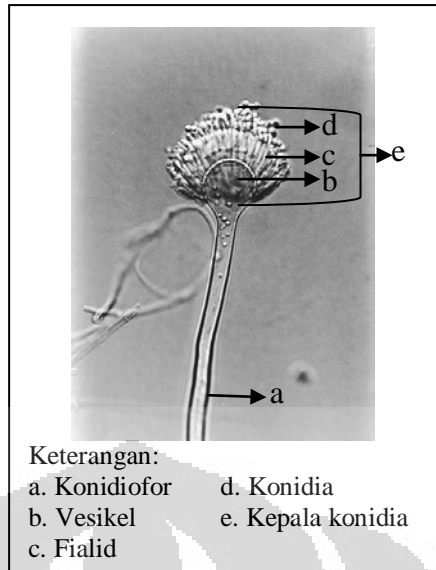
Gambar 2.3.1 *Aspergillus niger* van Tieghem
[Sumnerbell 2002: 307, telah diolah kembali]

Aspergillus ochraceus merupakan kapang patogen pada tanaman buah seperti apel, anggur, kelapa, cokelat, dan jagung (Barkai-Golan & Paster 2008: 227). Menurut Summerbell (2002: 294--295), *A. ochraceus* memiliki koloni berwarna kuning muda hingga kuning kecokelatan, tekstur *powdery*, lebar koloni mencapai 44--55 mm. Sebalik koloni berwarna kecokelatan. Konidiofor memiliki permukaan granular, berwarna hialin, dan memiliki panjang mencapai 1500 μm . Tipe kepala konidia adalah biserial, bentuk kepala konidia *radiate*, vesikel berbentuk bulat hingga agak bulat, dan metula tumbuh pada seluruh permukaan vesikel. Konidia berwarna hialin hingga sedikit kuning, berbentuk bulat hingga agak bulat, permukaan halus atau kasar, dan berdiameter 2,5--3,5 μm (Gambar 2.3.2). *Aspergillus ochraceus* dapat ditemukan pada tanah, biji-bijian, bubuk kopi, dan serangga.



Gambar 2.3.2 *Aspergillus ochraceus* Wilhem
 [Sumber: Summerbell 2002: 291, telah diolah kembali]

Aspergillus terreus merupakan kapang patogen pada tanaman buah seperti tomat, apel, dan jagung (Barkai-Golan & Paster 2008: 227). Menurut Summerbell (2002: 290), *Aspergillus terreus* Thom memiliki koloni berwarna coklat pasir, tekstur *granular*, lebar koloni mencapai 25--65 mm. Sebalik koloni berwarna coklat pucat. Konidiofor memiliki permukaan halus, berwarna hialin, dan memiliki panjang 100--250 μm . Tipe kepala konidia adalah biserial, bentuk kepala konidia *columnar*, vesikel berbentuk agak bulat, dan metula tumbuh pada $\frac{2}{3}$ permukaan vesikel. Konidia berwarna hialin hingga sedikit kuning, berbentuk bulat hingga *elipsoidal*, permukaan halus, dan berdiameter 2--2,5 μm (Gambar 2.3.3). *Aspergillus terreus* dapat ditemukan pada tanah, biji-bijian, kompos, dan bahan makanan.



Gambar 2.2.3 *Aspergillus terreus* Thom
[Sumber: Summerbell 2002: 296, telah diolah kembali]

2.4 TANAMAN SAEH (*Broussonetia papyrifera* Vent.)

Broussonetia papyrifera umum ditemukan di kawasan Asia Tenggara, antara lain: Thailand, Myanmar, Vietnam, dan Indonesia (Whistler & Elevitch 2006: 4). Distribusi tanaman tersebut di Indonesia adalah di pulau Jawa, Sumatera, Sulawesi, Kalimantan, Bali, Papua, kepulauan Sunda Kecil, dan Maluku (Permadi 2010: 1--6). Tanaman tersebut memiliki kemampuan untuk tumbuh di berbagai iklim, namun pertumbuhan tanaman pada iklim dingin tidak sebaik pertumbuhan pada iklim tropis. Tanaman tersebut dapat ditemukan di daerah dengan ketinggian 0--1.000 m di atas permukaan air laut, suhu 12--30°C, curah hujan 700--2.500 mm, dan tumbuh di tanah yang lembab atau tanah liat berpasir (Orwa dkk. 2009: 2).

Broussonetia papyrifera mampu tumbuh hingga mencapai 21 meter. Tanaman tersebut memiliki bunga jantan dan betina yang terdapat pada rumah terpisah. Periantum dari bunga jantan berbentuk lobus dan dikelilingi struktur menyerupai rambut yang berukuran 2,5--3 mm. Bunga betina berupa putik yang berbentuk *globose* berukuran 0,5--2,5 cm (Orwa dkk. 2009: 2). Daun *Br. papyrifera* berbentuk menjari dengan tepi daun bergerigi (*serratus*) (Gambar 2.5.1). Permukaan daun diselubungi oleh struktur seperti rambut. Tangkai berduri dengan ukuran 0,77--1,5 cm (Whistler & Elevitch 2006: 3).

Broussonetia papyrifera telah banyak dimanfaatkan oleh manusia (Whistler & Elevitch 2006: 7--11). Tanaman *Br. papyrifera* bermanfaat sebagai obat *galactagogue*, hemostatik, *ophthalmic*, *stimulant*, astringen, diuretik, tonik dan *vulnerary*. Sari daun tanaman tersebut dapat dimanfaatkan sebagai obat diaforetik dan laksatif. Pada pengobatan di Cina, sari daun dimanfaatkan dalam pengobatan penyakit dahak berdarah, muntah darah, pendarahan rahim, pendarahan berlebih saat menstruasi, dan luka pendarahan. Sari daun dimanfaatkan dalam pengobatan pendarahan lambung di Hawaii (Orwa dkk. 2009: 3). Kulit kayu dari *Br. papyrifera* dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuat kertas daluang yang digunakan dalam tradisi tulis di Indonesia (Permadi 2005: 2). Kulit kayu dari tanaman tersebut juga dimanfaatkan sebagai bahan utama dalam pembuatan *tapa clothes*, yaitu pakaian daerah yang sering digunakan dalam upacara adat di Tonga, Samoa, dan Fiji (Whistler & Elevitch 2006: 11).



Gambar 2.4.1. Daun *Broussonetia papyrifera* Vent.
[Sumber: Whistler & Elevitch 2006: 4.]

2.5 APLIKASI BIOKONTROL

Agen biokontrol merupakan mikroorganisme antagonis yang digunakan dalam menghambat pertumbuhan patogen tertentu dan diaplikasikan pada suatu substrat (Pal & Gardener 2006: 2). Khamir merupakan agen biokontrol yang paling potensial dibandingkan mikroorganisme lainnya karena memiliki karakteristik yang sesuai dengan tujuan biokontrol (Bar-Shimon dkk. 2004: 140).

Karakteristik tersebut antara lain, memiliki materi genetik yang stabil (Sharma & Awasthi 2010: 111), dapat beradaptasi pada suhu ruang yang ekstrim, seperti suhu rendah untuk penyimpanan (mendekati 0° C), mampu beradaptasi pada substrat yang memiliki konsentrasi gula tinggi, tekanan osmotik tinggi, dan pada pH rendah (Makiou 2004: 5). Khamir mampu tumbuh pada substrat dengan keterbatasan nutrisi, dan mampu melakukan kolonisasi pada permukaan yang kering. Selain itu, khamir tidak menghasilkan mikotoksin, antibiotik, dan spora yang dapat menimbulkan alergi pada manusia (Druvefors 2004: 9).

Agan biokontrol merupakan mikroorganisme antagonis dan dapat diperoleh melalui suatu pengujian antagonisme. Zhang dkk. (2008: 555--557) melaporkan khamir *Rhodotorula glutinis* berpotensi sebagai agen biokontrol terhadap kapang *B. cinerea* dan *Pen. expansum* pada buah pir pascapanen. Pengujian antagonisme dilakukan menggunakan inokulum berupa suspensi sel khamir sebanyak 5×10^8 sel/ml pada buah pir pascapanen yang dilukai. Hasil pengujian menunjukkan pertumbuhan kapang *B. cinerea* dan *Pen. expansum* menjadi terhambat hingga 100% pada inkubasi hari ketujuh dalam suhu 20° C.

Produk biokontrol menggunakan khamir antagonis telah dipatenkan dan dikomersialkan oleh Ecogen, Inc., USA dengan nama komersial Aspire. Produk Aspire mengandung khamir antagonis *C. oleophila* strain 1-182 yang diisolasi dari permukaan buah tomat (Droby dkk. 2002: 393--394). Khamir tersebut efektif melawan kapang patogen yang menginfeksi buah apel, pir, dan jeruk (Sharma dkk. 2009: 211). Produk YieldPlus merupakan contoh lain dari produk biokontrol yang telah dipatenkan oleh Anchor Yeast, di Cape Town, Afrika Selatan. Produk YieldPlus mengandung khamir antagonis *Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner yang efektif melawan kapang patogen seperti *Botrytis* Pers. (Fr.), *Penicillium* Link, dan *Mucor* Wehmer yang menginfeksi buah apel dan pir (Druvefors 2004: 9).

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi dan Laboratorium *Center of Excellence for Indigenous Biological Resources-Genome Studies* (CoE IBR-GS), FMIPA-UI, Depok, selama 4 bulan (Februari hingga Mei 2012).

1.2 ALAT DAN BAHAN

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf [Hirayama HA 240 MIV dan Hirayama HL 36 AE], oven [Heraeus], lemari pendingin [GASSIO], mikroskop cahaya [Boeco], mikroskop trinokular [Carl ZEISS], mikroskop stereo [Carl ZEISS], kompor listrik [Sanyo], pemanas air [Kenwood], timbangan analitik [Sartorius], timbangan digital [And EW-300G], jangka sorong digital, vorteks [Bio-Rad dan Maxi Mix II Type 37600], mikropipet 1 ml, 200 μ l, dan 20 μ l [Gilson], tabung reaksi [Pyrex], *tips*, *transfer box*, Erlenmeyer, gelas *beaker*, gelas ukur, cawan petri steril, jarum tanam tajam, jarum tanam bulat (*ose*), kaca objek, kaca penutup, pipet, spatel *drygalsky* dan botol alkohol.

1.2.2 Bahan

3.2.2.1 Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan adalah khamir dan kapang milik *University of Indonesia Culture Collection* UICC. Khamir-khamir yang digunakan dalam penelitian merupakan khamir dari filum *Basidiomycota* yang diisolasi dari tanaman saeh (*Br. papyrifera*) asal Kecamatan Trowulan,

Mojokerto, Jawa Timur (Tabel 3.2.2.1.(1)). Kapang-kapang yang digunakan merupakan kapang genus *Aspergillus* hasil isolasi dari tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi (Tabel 3.2.2.2.(2)).

Tabel 3.2.2.1.(1). Daftar spesies khamir dari daun tanaman saeh (*Br. papyrifera*) asal Trowulan yang digunakan dalam penelitian

No.	Spesies	Asal khamir
1	<i>Cryptococcus flavescens</i> UICC Y-515	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman umur 6 bulan
2	<i>Cryptococcus flavescens</i> UICC Y-525	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman umur 1,5 tahun
3	<i>Cryptococcus flavus</i> UICC Y-534	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman umur 1,5 tahun
4	<i>Rhodotorula glutinis</i> UICC Y-520	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman umur 6 bulan
5	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-522	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman umur 6 bulan
6	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-531	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman umur 1,5 tahun

Tabel 3.2.2.1.(2). Daftar spesies kapang patogen tanaman tomat (*L. esculentum*) asal Bogor dan Tangerang yang digunakan dalam penelitian

No.	Spesies	Asal kapang
1	<i>Aspergillus niger</i> UICC	Daun tomat terinfeksi, Bogor
2	<i>Aspergillus ochraceus</i> UICC	Daun tomat terinfeksi, Bogor
3	<i>Aspergillus terreus</i> UICC	Daun tomat terinfeksi, Tangerang

3.2.2.2 Medium

Medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) digunakan sebagai medium pemurnian kapang, pengamatan morfologi kapang, serta pembuatan *stock culture* khamir dan kapang. Medium *Yeast Malt Agar* (YMA) digunakan sebagai medium pemurnian khamir, pengamatan morfologi khamir, dan *working culture* khamir. Medium *Potato Dextrose Broth* (PDB) dengan pH 5 digunakan sebagai medium

pengujian *co-culture*. Medium *Plate Count Agar* (PCA) digunakan sebagai medium enumerasi sel khamir dan kapang.

3.2.2.3 Bahan Kimia

Bahan-bahan kimia dari Difco antara lain *yeast extract*, *malt extract*, pepton, PDA dan PDB. Bahan-bahan kimia dari Merck antara lain *lactophenol cotton blue*, Na_2HPO_4 , asam sitrat, dan glukosa. Bahan-bahan kimia dari Britania adalah agar dan PCA. Bahan-bahan kimia lain yang digunakan antara lain minyak imersi, antibiotik tetrasiklin [Kimia Farma], dan alkohol 70%.

1.2.2.4 Bahan Habis Pakai

Bahan habis pakai yang digunakan adalah tissue gulung, plastik tahan panas, karet gelang, *aluminium foil*, kertas *Yellow Pages*, dan spirtus.

1.3 CARA KERJA

Skema kerja dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3.1 Pembuatan medium

3.3.1.1 *Plate Count Agar* (PCA)

Pembuatan medium PCA berdasarkan petunjuk petunjuk yang tertera pada kemasan. Sebanyak 23,6 g bubuk *Plate Count Agar* (PCA) dilarutkan ke dalam 500 ml akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Medium ditambahkan akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml. Medium disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit. Sebanyak 500 g tetrasiklin ditambahkan ke dalam medium sebelum dituang ke dalam cawan petri steril.

3.3.1.2 *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Pembuatan medium PDA berdasarkan petunjuk yang tertera pada kemasan. Sebanyak 39 g bubuk PDA dilarutkan ke dalam 500 ml akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Medium ditambahkan akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml. Medium dipindahkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 4 ml. Medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Tabung reaksi yang berisi medium steril kemudian dimiringkan pada papan untuk mencetak medium miring.

3.3.1.3 *Potato Dextrose Broth (PDB)*

Pembuatan medium PDB berdasarkan petunjuk yang tertera pada kemasan. Sebanyak 24 g bubuk PDB dilarutkan ke dalam 500 ml akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Medium ditambahkan akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml. Medium dipindahkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 ml untuk suspensi sel dan ke dalam erlenmeyer sebanyak 18 ml untuk pengujian antagonisme. Medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

3.3.1.4 *Yeast Malt Agar (YMA)*

Pembuatan medium YMA berdasarkan petunjuk yang tertera pada kemasan. Sebanyak 3 g *yeast extract*, 3 g *malt extract*, 15 g agar, 5 g pepton, dan 10 g glukosa dilarutkan ke dalam 500 ml akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Medium ditambahkan akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml. Medium kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing sebanyak 5 ml. Medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 2 atm 15 menit. Tabung reaksi yang berisi medium steril kemudian dimiringkan pada papan untuk mencetak medium miring.

3.3.2 Larutan penyangga sitrat-fosfat pH 5

Pembuatan larutan penyangga sitrat-fosfat dilakukan berdasarkan Gomori (1995: 141) yang dimodifikasi. Pembuatan larutan menggunakan dua larutan, yaitu larutan Na_2HPO_4 0,2 M dan larutan asam sitrat 0,1 M. Larutan Na_2HPO_4 0,2 M dibuat dengan cara melarutkan 28,4 g Na_2HPO_4 dalam akuades hingga mencapai volume akhir sebesar 1.000 ml. Larutan asam sitrat 0,1 M dibuat dengan cara melarutkan 21,01 g asam sitrat dalam akuades hingga mencapai volume akhir sebesar 1.000 ml.

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

3.3.3 Pemurnian isolat khamir dan kapang

Pemurnian isolat khamir dan kapang koleksi UICC dilakukan pada medium *Plate Count Agar* (PCA) dalam cawan petri dengan metode *quadrant streak* berdasarkan Cappuccino dan Sherman (2002: 13). Koloni khamir atau kapang digoreskan pada medium ke dalam empat kuadran berbeda secara zigzag. Biakan diinkubasi hingga tumbuh pada suhu 28° C selama dua hari untuk khamir dan lima hari untuk kapang. Pengulangan purifikasi dilakukan sebanyak tiga kali hingga diperoleh koloni tunggal yang representatif, koloni tersebut kemudian dipisahkan sebagai *stock culture* dan *working culture*.

3.3.4 Pembuatan *stock culture* dan *working culture*

Pemeliharaan isolat-isolat khamir dan kapang dengan membuat *stock* dan *working culture* dilakukan berdasarkan Yarrow (1998: 78). Koloni khamir dan kapang representatif hasil pemurnian diinokulasi dengan cara digoreskan ke dalam dua tabung berisi medium PDA yang sudah diberi label (nama, kode isolat,

tanggal, medium, dan keterangan lain yang dianggap penting). *Working culture* untuk biakan khamir menggunakan medium YMA. Biakan *stock culture* dan *working culture* diinkubasi dua hari pada suhu 28° C hingga tumbuh dengan baik, kemudian *stock culture* disimpan di *refrigerator* pada suhu 4° C. *Stock culture* diremajakan setiap 6 bulan, sedangkan *working culture* diremajakan setiap bulan.

3.3.5 Pengamatan morfologi khamir dan kapang

Pengamatan morfologi menggunakan biakan khamir umur dua hari dan kapang umur lima hari yang berasal dari hasil pemurnian. Pengamatan morfologi dilakukan pada medium YMA untuk khamir dan PDA untuk kapang di dalam cawan petri. Pengamatan morfologi secara makroskopik khamir dan kapang dilakukan dengan melihat langsung koloni yang tumbuh pada medium atau menggunakan mikroskop stereo dengan perbesaran hingga 32x. Pengamatan morfologi secara mikroskopik dilakukan dengan membuat preparat dari biakan khamir dan kapang menggunakan *reagent lactophenol cotton blue*, kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000x.

Pengamatan morfologi koloni dilakukan berdasarkan Yarrow (1998: 81--82), meliputi warna koloni, permukaan koloni, tekstur koloni, tepi koloni (lurus, bergelombang, dan bergerigi), profil koloni, dan sebalik koloni (*reverse colony*). Pengamatan morfologi sel khamir meliputi tipe pertunasan (*budding*), bentuk sel, susunan sel, dan ukuran sel. Pengamatan morfologi koloni kapang dilakukan berdasarkan Gandjar (2000: 4), meliputi warna koloni, tekstur koloni, *exudate drops*, *growing zone*, zonasi, *radial forrow*, dan *reverse of colony*. Pengamatan morfologi sel kapang meliputi bentuk kepala konidia, ukuran diameter kepala konidia, lebar konidiofor, dan lebar hifa.

3.3.6 Penghitungan jumlah sel khamir dan kapang

Penghitungan jumlah sel khamir dan kapang menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Penghitungan jumlah sel khamir dilakukan pada biakan berumur dua hari dalam medium YMA. Satu ose biakan khamir diinokulasikan

sebanyak 15 goresan ke dalam medium YMA miring kemudian diinkubasi pada suhu 28° C selama dua hari. Biakan khamir dikerik menggunakan ose dan dihomogenkan menggunakan vorteks sehingga diperoleh suspensi sel. Suspensi sel khamir diencerkan menggunakan akuades steril secara aseptis. Pengenceran dilakukan dengan cara memindahkan 1 ml suspensi sel khamir ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril hingga faktor pengenceran 10⁻⁵, 10⁻⁶, dan 10⁻⁷. Suspensi sel dikocok dengan vorteks selama 1 menit.

Penghitungan jumlah sel kapang dilakukan pada biakan berumur lima hari dalam medium PDA. Sebanyak satu ose biakan kapang diinokulasikan sebanyak 15 goresan ke dalam medium PDA miring kemudian diinkubasi pada suhu 28° C selama lima hari. Biakan kapang dikerik menggunakan ose dan dihomogenkan menggunakan vorteks sehingga diperoleh suspensi sel. Suspensi sel kapang diencerkan menggunakan akuades steril secara aseptis. Pengenceran dilakukan dengan cara memindahkan 1 ml suspensi sel kapang ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml akuades steril hingga faktor pengenceran 10⁻⁴, 10⁻⁵, dan 10⁻⁶. Suspensi sel dikocok dengan vorteks selama 1 menit.

Sebanyak 0,1 ml suspensi sel khamir atau spora kapang dari masing-masing pengenceran disebarkan dengan mikropipet ke permukaan medium PCA untuk sel khamir dan PDA untuk sel kapang dalam cawan petri dengan tiga kali pengulangan, kemudian diratakan dengan spatel *Drygalsky*. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 28° C, dan jumlah total koloni dihitung pada masing-masing pengenceran dan pengulangan. Jumlah sel atau spora per 1 ml sampel dihitung berdasarkan Hogg (2005: 93) dengan rumus:

$$\text{Jumlah CFU/ml} = \frac{\text{Jumlah rata-rata koloni}}{\text{Volume inokulum} \times \text{faktor pengenceran}}$$

3.3.7 Uji antagonisme dengan metode *co-culture*

Uji antagonisme dilakukan dengan metode *co-culture* pada medium PDB berdasarkan Oetari dkk. (2007: 37) yang dimodifikasi. Modifikasi dilakukan pada selang waktu antara penumbuhan khamir dan inokulasi kapang ke dalam medium, dari 48 jam menjadi 8 jam. Pengujian antagonisme diawali dengan

menginokulasikan satu ose biakan khamir dari *working culture* ke dalam medium *Yeast Malt-Agar* (YMA) miring sebanyak 15 goresan, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 28° C. Sebanyak satu ose kapang patogen diinokulasikan dari *working culture* ke dalam medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) miring sebanyak 15 goresan, kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu 28° C. Sebanyak 5 ml *Potato Dextrose Broth* (PDB) steril ditambahkan ke dalam biakan khamir untuk membuat suspensi sel, kemudian dikerik menggunakan ose dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak 1 ml suspensi sel khamir (1×10^8 CFU/ml) ditambahkan ke dalam 18 ml PDB pH 5, kemudian difermentasi kocok secara resiprokal, 110 rpm, pada suhu 30° C selama 8 jam. Biakan khamir ditambahkan satu ml suspensi spora kapang patogen (1×10^4 CFU/ml), kemudian diinkubasi pada suhu 28° C selama empat hari.

Kontrol khamir dibuat dengan cara menginokulasikan satu ose strain khamir dari *working culture* ke dalam medium *Yeast Malt-Agar* (YMA) miring sebanyak 15 goresan, kemudian diinkubasi selama 48 jam. Sebanyak 5 ml *Potato Dextrose Broth* (PDB) steril ditambahkan ke dalam strain khamir untuk membuat suspensi sel, kemudian dikerik menggunakan ose dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak satu ml suspensi sel khamir (1×10^8 CFU/ml) ditambahkan ke dalam 18 ml PDB pH 5, kemudian difermentasi kocok secara resiprokal, 110 rpm, pada suhu 30°C selama 8 jam. Setelah 8 jam, ditambahkan satu ml PDB kemudian diinkubasi pada suhu 28° C selama empat hari.

Kontrol kapang dibuat dengan cara menginokulasikan satu ose kapang patogen dari *working culture* ke dalam medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) miring sebanyak 15 goresan, kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu 28° C. Sebanyak 5 ml *Potato Dextrose Broth* (PDB) steril ditambahkan ke dalam strain kapang untuk membuat suspensi spora, kemudian dikerik menggunakan jarum tanam bulat (ose) dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak satu ml PDB ditambahkan ke dalam 18 ml PDB pH 5 dan diinkubasi selama 8 jam pada suhu 28° C. Sebanyak satu ml suspensi spora kapang (1×10^4 CFU/ml) ditambahkan ke dalam PDB pH 5 dan dikocok hingga suspensi spora kapang tampak tersebar ke seluruh bagian medium. Biakan kemudian diinkubasi pada suhu 28° C selama empat hari.

Pengamatan morfologi secara makroskopik terhadap pertumbuhan khamir dan kapang dilakukan setiap hari selama empat hari. Pertumbuhan khamir diamati dengan melihat ada tidaknya endapan biomasa khamir, warna endapan yang terbentuk, pembentukan pelikel, dan pH medium yang dibandingkan dengan kontrol khamir. Pertumbuhan kapang diamati dengan melihat hifa/miselium yang terbentuk pada permukaan medium, waktu sporulasi, warna koloni, dan pH medium yang dibandingkan dengan kontrol kapang.

Pengamatan morfologi secara mikroskopik terhadap sel khamir dan kapang dilakukan pada hari ketiga. Pengamatan sel khamir sebanyak 20 individu dilakukan dengan mengamati tipe pertunasan, bentuk sel, susunan sel, serta pengukuran panjang dan lebar sel vegetatif dibandingkan dengan kontrol. Pengamatan sel kapang *Aspergillus* sebanyak 20 individu dilakukan dengan mengamati bentuk kepala konidia, bentuk konidiofor, dan pengukuran struktur kapang dibandingkan dengan kontrol. Pengukuran struktur dilakukan pada diameter kepala konidia dan lebar hifa dibandingkan dengan kontrol. Interaksi antagonisme antara khamir dan kapang ditunjukkan melalui tidak adanya pertumbuhan hifa atau miselium kapang pada permukaan medium, tidak terjadinya sporulasi, dan adanya perubahan morfologi salah satunya berupa perubahan ukuran sel khamir serta kapang dibandingkan dengan kontrol. Pada hari keempat dilakukan TPC semua perlakuan dan kontrol untuk mengetahui perubahan jumlah sel yang terjadi.

Rumus untuk menghitung persentase perubahan ukuran pada panjang dan lebar sel vegetatif khamir adalah:

$$\text{Perubahan ukuran sel(\%)} = \frac{\text{panjang/lebar sel khamir (perlakuan - kontrol)}}{\text{perlakuan}} \times 100\%$$

Rumus untuk menghitung persentase reduksi struktur pada kapang adalah:

$$\text{Reduksi (\%)} = \frac{\text{\textcircled{\scriptsize\varnothing} kepala konidia/lebar konidiofor/lebar hifa (kontrol - perlakuan)}}{\text{kontrol}} \times 100\%$$

3.3.8 Pengolahan dan analisis data

Data yang diperoleh meliputi data kualitatif dan kuantitatif. Data pengamatan kualitatif meliputi data pengamatan morfologi khamir, pengamatan morfologi kapang, dan pengamatan morfologi pada pengujian *co-culture* (ada tidaknya endapan biomasa khamir, warna endapan yang terbentuk, dan pembentukan pelikel, tipe pertunasan, bentuk sel, susunan sel, hifa/miselium yang terbentuk pada permukaan medium, waktu sporulasi, warna koloni kapang, bentuk kepala konidia, bentuk konidiofor, dan susunan fialid dan metula). Data ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar, kemudian dianalisis secara deskriptif.

Data pengamatan kuantitatif meliputi enumerasi sel khamir dan kapang, pengukuran panjang dan lebar rata-rata sel vegetatif khamir, pengukuran diameter rata-rata kepala konidia, dan pengukuran lebar hifa. Data ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar, kemudian dianalisis dengan penghitungan standar deviasi.

BAB 4

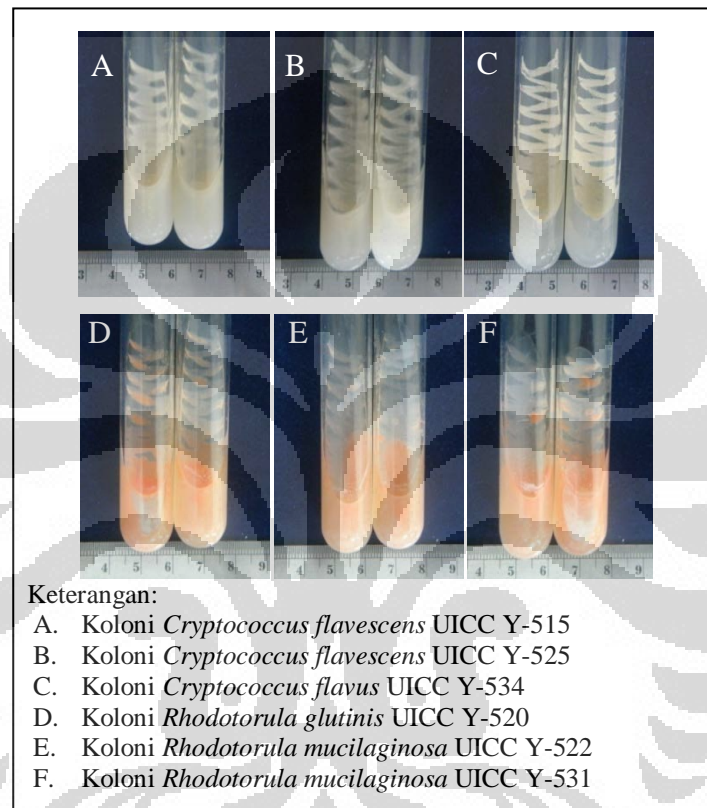
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 PENGAMATAN MORFOLOGI KHAMIR

Khamir yang digunakan dalam penelitian sebanyak enam spesies, yaitu *Cryp. flavescens* UICC Y-515, *Cryp. flavescens* UICC Y-525, *Cryp. flavus* UICC Y-534, *Rh. glutinis* UICC Y-520, *Rh. mucilaginosa* UICC Y-522, dan *Rh. mucilaginosa* UICC Y-531. Khamir-khamir tersebut merupakan khamir filum *Basidiomycota* koleksi *University of Indonesia Culture Collection* (UICC) yang diisolasi dari tanaman Saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) asal Trowulan. Pengamatan morfologi koloni dan morfologi sel dilakukan ketika khamir berumur dua hari pada medium YMA yang diinkubasi pada suhu 28° C. Secara umum, hasil pengamatan morfologi koloni dan sel sesuai dengan deskripsi di dalam monograf *The Yeast, A Taxonomic Study*, 4th ed., Kurtzman dan Fell (1998).

Hasil pengamatan menunjukkan koloni khamir *Cryp. flavescens* UICC Y-515 dan *Cryp. flavescens* UICC Y-525 berwarna *cream* 102 berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 3), permukaan licin dan mengilap, tekstur *slimy*, bertepi lurus, profil koloni menggunung, dan sebalik koloni tidak menghasilkan pigmen (Gambar 4.1.1 dan Tabel 4.1.1). Sel khamir *Cryp. flavescens* UICC Y-515 dan *Cryp. flavescens* UICC Y-525 berbentuk oval. Panjang sel rata-rata *Cryp. flavescens* UICC Y-515 sebesar (1,42--2,07) μm dan lebar sel rata-rata sebesar (1--1,14) μm . Panjang sel rata-rata *Cryp. flavescens* UICC Y-525 sebesar (1,67--2,14) μm dan lebar sel rata-rata sebesar (1,08--1,38) μm . Susunan sel terlihat sendiri dan berpasangan. Tidak ditemukan askospora pada pengamatan menunjukkan kedua khamir tersebut merupakan khamir anamorfik. Kedua khamir tersebut melakukan reproduksi aseksual dengan menghasilkan tunas (*budding*) dan memiliki tipe pertunasan multipolar (Gambar 4.1.2 dan Tabel 4.1.2). Hasil pengamatan morfologi koloni dan sel khamir sesuai dengan deskripsi morfologi koloni dan sel oleh Fell dan Statzell-Tallman (1998: 759), bahwa sel khamir *Cryp. flavescens* yang ditumbuhkan pada medium *Malt Extract* 5% selama tiga hari pada suhu 25° C berbentuk bulat hingga oval dan *elongate*,

berukuran (2--5,5) x (3--7) μm , dan memiliki susunan sel tunggal, berpasangan, atau rantai pendek. Pertumbuhan dalam *Malt Agar 5%* pada suhu 25° C menunjukkan koloni berwarna krem atau kekuningan, permukaan koloni licin dan mengilap, tekstur *slimy*, tepi koloni lurus, dan profil menggunggung. *Cryptococcus flavescens* dapat ditemukan pada daun tanaman tropis, air laut, tanah, udang, buncis, dan serangga.



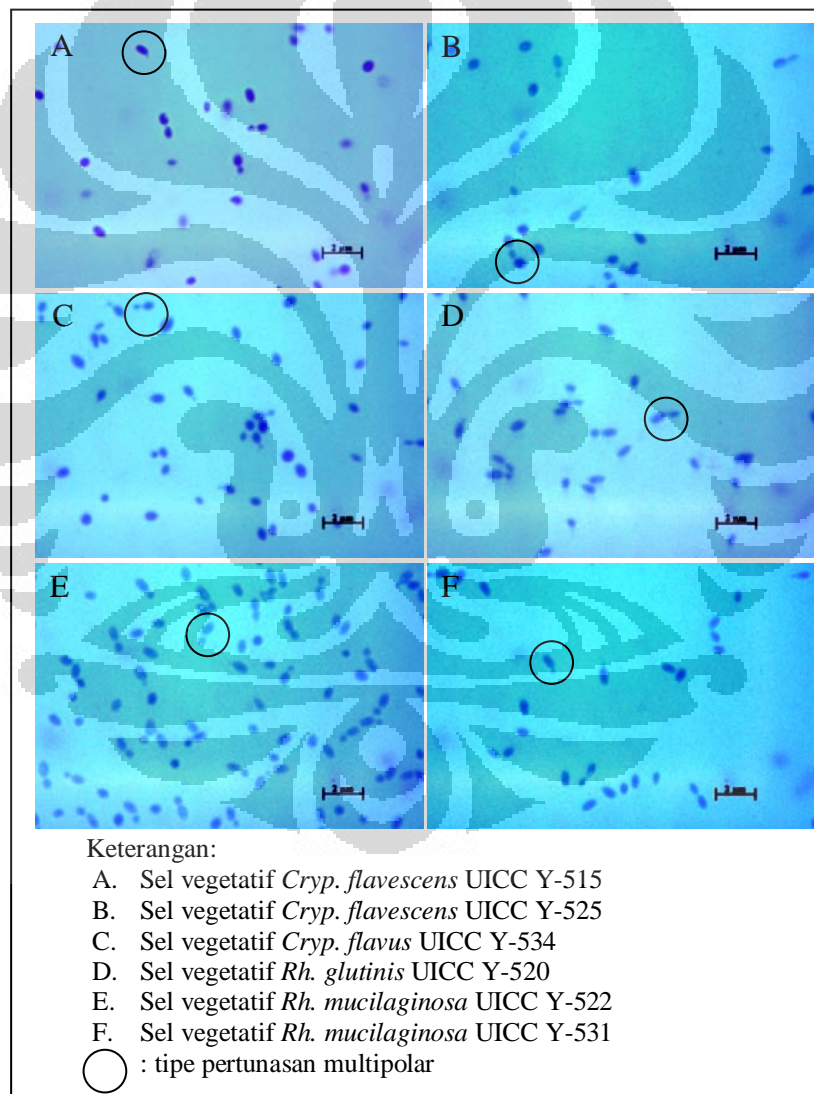
Gambar 4.1.1. Morfologi koloni khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C
[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

Hasil pengamatan menunjukkan koloni khamir *Cryp. flavus* UICC Y-534 berwarna *cream* 102 berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 3), permukaan licin dan mengilap, tekstur *butyrous*, bertepi lurus, profil koloni menggunggung, dan sebalik koloni tidak menghasilkan pigmen (Gambar 4.1.1 dan Tabel 4.1.1). Sel khamir *Cryp. flavus* UICC Y-534 berbentuk oval, panjang sel rata-rata sebesar (1,7--2,07) μm , dan lebar sel rata-rata sebesar (1,02--1,23) μm . Susunan sel terlihat sendiri dan berpasangan. Tidak ditemukan askospora pada

pengamatan menunjukkan khamir tersebut merupakan khamir anamorfik. Khamir tersebut melakukan reproduksi aseksual dengan menghasilkan tunas (*budding*) dan memiliki tipe pertunasan multipolar (Gambar 4.1.2 dan Tabel 4.1.2). Hasil pengamatan morfologi koloni dan sel khamir sesuai dengan deskripsi morfologi koloni dan sel yang dideskripsikan oleh Fell dan Statzell-Tallman (1998: 754), bahwa sel khamir *Cryp. flavus* yang ditumbuhkan pada medium *Malt Extract* 5% selama tiga hari pada suhu 25° C berbentuk oval, berukuran (3,2--5,2) x (5--8,8) µm, dan memiliki susunan sel tunggal atau berpasangan. Pertumbuhan dalam *Malt Agar* 5% pada suhu 25° C menunjukkan koloni berwarna cokelat muda hingga kuning, permukaan licin dan sedikit mengilap, tekstur *butyrous*, tepi lurus, dan profil rata. Berdasarkan Sjamsuridzal (2007: 110--111), sel khamir *Cryptococcus flavus* M4196 bereproduksi secara aseksual dengan *multipolar budding*. *Cryptococcus flavus* M4196 diisolasi dari usus moluska *Melanoides* sp. di sungai Cikurutug (ketinggian 500 m di atas permukaan laut), Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat, Indonesia.

Hasil pengamatan menunjukkan koloni khamir *Rh. glutinis* UICC Y-520 berwarna *light orange* 113 berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 3), permukaan licin dan mengilap, tekstur *mucoïd*, bertepi lurus, profil koloni menggunggung, dan sebalik koloni tidak menghasilkan pigmen (Gambar 4.1.1 dan Tabel 4.1.1). Sel khamir *Rh. glutinis* UICC Y-520 berbentuk oval. Panjang sel rata-rata *Rh. glutinis* UICC Y-520 sebesar (1,92--2) µm dan lebar sel rata-rata sebesar (1,03--1,25) µm. Susunan sel terlihat sendiri dan berpasangan. Tidak ditemukan askospora pada pengamatan menunjukkan khamir tersebut merupakan khamir anamorfik. Khamir tersebut melakukan reproduksi aseksual dengan menghasilkan tunas (*budding*) dan memiliki tipe pertunasan multipolar (Gambar 4.1.2 dan Tabel 4.1.2). Hasil pengamatan morfologi koloni dan sel khamir sesuai dengan deskripsi morfologi koloni dan sel yang dideskripsikan Fell dan Statzell-Tallman (1998: 814), bahwa sel khamir *Rh. glutinis* yang ditumbuhkan pada medium *Malt Extract* 5% selama tiga hari pada suhu 25° C berbentuk bulat hingga oval atau *elongate*, berukuran (3--5) x (6--13) µm, dan memiliki susunan sel tunggal atau berpasangan. Pertumbuhan dalam *Malt Agar* 5% pada suhu 25° C menunjukkan koloni berwarna *coral-red* hingga salem atau jingga muda.

Permukaan koloni licin hingga mengerut dan mengilap. Tekstur koloni *mucoïd* atau *butyrous*, profil rata hingga menggunung, dan tepi bergerigi atau lurus. *Rhodotorula glutinis* ditemukan antara lain pada bubur kayu, air keruh, bunga, dan daun. Berdasarkan Sjamsuridzal (2007: 117), sel khamir *Rhodotorula glutinis* var. *daiurenensis* M429 bereproduksi secara aseksual dengan *multipolar budding*. *Rhodotorula glutinis* M429 diisolasi dari usus moluska *Helicarion radiatus* (ketinggian 1.000 m di atas permukaan laut), Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat, Indonesia. Menurut Fonseca dan Inacio (2006: 291), warna jingga pada koloni khamir genus *Rhodotorula* disebabkan oleh pigmen karotenoid.



Gambar 4.1.2. Morfologi sel khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

Hasil pengamatan menunjukkan koloni khamir *Rh. mucilaginosa* UICC Y-522 dan *Rh. mucilaginosa* UICC Y-531 berwarna *light orange* 113 berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 3), permukaan licin dan mengilap, tekstur *mucoïd*, bertepi lurus, profil koloni menggantung, dan sebalik koloni tidak menghasilkan pigmen (Gambar 4.1.1 dan Tabel 4.1.1). Sel khamir *Rh. mucilaginosa* UICC Y-522 dan *Rh. mucilaginosa* UICC Y-531 berbentuk oval. Panjang sel rata-rata *Rh. mucilaginosa* UICC Y-522 sebesar (1,56--1,83) μm dan lebar sel rata-rata sebesar (1,1--1,3) μm . Panjang sel rata-rata *Rh. mucilaginosa* UICC Y-531 sebesar (1,63--2,11) μm dan lebar sel rata-rata sebesar (1,01--1,22) μm . Susunan sel terlihat sendiri dan berpasangan. Tidak ditemukan askospora pada pengamatan menunjukkan kedua khamir tersebut merupakan khamir anamorfik. Kedua khamir tersebut melakukan reproduksi aseksual dengan menghasilkan tunas (*budding*) dan memiliki tipe pertunasan multipolar (Gambar 4.1.2 dan Tabel 4.1.2). Hasil pengamatan morfologi koloni dan sel khamir sesuai dengan deskripsi morfologi koloni dan sel yang dideskripsikan Fell dan Statzell-Tallman (1998: 820--821), bahwa sel khamir *Rh. mucilaginosa* yang ditumbuhkan pada medium *Malt Extract* 5% selama tiga hari pada suhu 25° C berbentuk bulat hingga oval, berukuran (2--8) x (2--12) μm , dan memiliki susunan sel tunggal, berpasangan, rantai pendek atau kelompok kecil. Pertumbuhan khamir pada *Malt Agar* 5% menunjukkan warna koloni bervariasi dari jingga, *pink-salmon*, hingga *deep coral*. Tekstur koloni *butyrous* atau *mucoïd*, profil rata, tepi lurus, dan permukaan licin dan mengilap. *Rhodotorula mucilaginosa* ditemukan antara lain pada tepung lada merah, larva lalat buah, dan daun. Berdasarkan Sjamsuridzal (2007: 160--161), sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* S4117 bereproduksi secara aseksual dengan *multipolar budding*. *Rhodotorula mucilaginosa* S4117 diisolasi dari Cikurutug (ketinggian 500 m di atas permukaan laut), Taman Nasional Gunung Halimun, Jawa Barat, Indonesia.

Tabel 4.1.1. Hasil pengamatan koloni khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28 °C

Kode UICC	Spesies	Warna Koloni	Permukaan	Tekstur Koloni	Profil koloni	Tepi koloni	Sebalik koloni
Y-515	<i>Cryptococcus flavescens</i>	Cream	Licin dan mengilap	<i>Slimy</i>	Menggunung	Lurus	Hialin
Y-525	<i>Cryptococcus flavescens</i>	Cream	Licin dan mengilap	<i>Slimy</i>	Menggunung	Lurus	Hialin
Y-534	<i>Cryptococcus flavus</i>	Cream	Licin dan mengilap	<i>Butyrous</i>	Menggunung	Lurus	Hialin
Y-520	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Light orange	Licin dan mengilap	<i>Mucoid</i>	Menggunung	Lurus	Hialin
Y-522	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Light orange	Licin dan mengilap	<i>Mucoid</i>	Menggunung	Lurus	Hialin
Y-531	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Light orange	Licin dan mengilap	<i>Mucoid</i>	Menggunung	Lurus	Hialin

Tabel 4.1.2. Hasil pengamatan sel khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28 °C

Kode UICC	Spesies	Tipe pertunasan	Bentuk sel	Susunan sel	Kisaran ukuran sel	
					Panjang (µm)	Lebar (µm)
Y-515	<i>Cryptococcus flavescens</i>	Mutipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan	1,42--2,07	1--1,14
Y-525	<i>Cryptococcus flavescens</i>	Mutipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan	1,67--2,14	1,08--1,38
Y-534	<i>Cryptococcus flavus</i>	Mutipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan	1,7--2,07	1,02--1,23
Y-520	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Mutipolar	Oval	Tunggal, dan berpasangan	1,92—2	1,03--1,25
Y-522	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Mutipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan	1,56--1,83	1,1--1,3
Y-531	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	Mutipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan	1,67--2,11	1,01--1,22

4.2 PENGAMATAN MORFOLOGI KAPANG

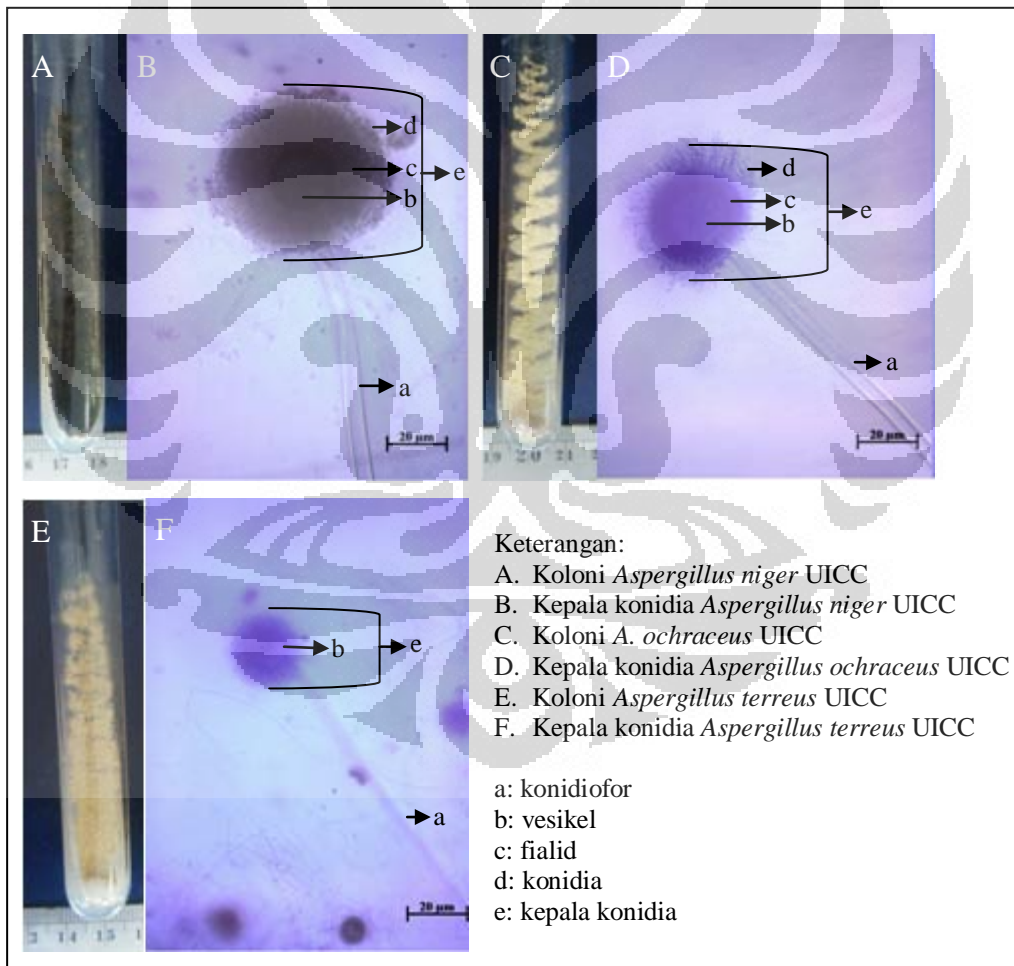
Kapang yang diamati adalah *Aspergillus niger* UICC, *Aspergillus ochraceus* UICC dan *Aspergillus terreus* UICC. Kapang-kapang tersebut merupakan koleksi *University of Indonesia Culture Collection* (UICC) yang diisolasi dari daun tanaman tomat terinfeksi asal Bogor dan Tangerang.

Pengamatan morfologi kapang dilakukan ketika kapang telah bersporulasi penuh (umur 5 hari) dalam medium PDA dan diinkubasi pada suhu 28° C.

Hasil pengamatan koloni kapang *A. niger* UICC menunjukkan koloni kapang berwarna *dark sepia* 175 berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 3), permukaan koloni menggunung, bertekstur *granular*, tidak menghasilkan *exudate drops*, terdapat *growing zone*, namun tidak memiliki *radial furrow* dan zonasi. Pengamatan sebalik koloni pada kapang *A. niger* UICC menunjukkan tidak adanya warna dan *radial furrow*. Hasil pengamatan morfologi kapang *A. niger* UICC secara mikroskopik menunjukkan struktur *foot cell*, konidiofor, vesikel, metula, fialid, dan konidia. Tipe kepala konidia adalah biserial, bentuk kepala konidia *radiate*, vesikel berbentuk bulat, metula tumbuh pada seluruh permukaan vesikel (*full fertile*), dan konidia berbentuk bulat (Gambar 4.2.1 dan Tabel 4.2.1). Pengamatan morfologi koloni dan sel kapang tersebut sesuai dengan deskripsi Summerbell (2002: 304--305), yang menyatakan bahwa *Aspergillus niger* van Tieghem memiliki koloni berwarna hitam atau coklat kehitaman, tekstur *granular*, lebar koloni mencapai 45--70 mm. Konidiofor memiliki permukaan halus, berwarna hialin, dan memiliki panjang mencapai 3.000 µm. Tipe kepala konidia adalah biserial, bentuk kepala konidia *radiate*, vesikel berbentuk bulat, dan metula tumbuh pada seluruh permukaan vesikel. Konidia berwarna abu-abu hingga coklat, berbentuk bulat, permukaan kasar, dan berdiameter 3,5--4,5 µm. *Aspergillus niger* dapat ditemukan pada tanah, biji-bijian, akar tanaman, rempah-rempah, kompos, dan bahan makanan.

Hasil pengamatan koloni kapang *A. ochraceus* UICC menunjukkan koloni berwarna *gold ochre* 183 berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 3). Permukaan koloni menggunung, bertekstur *powdery*, menghasilkan *exudate drops*, dan terdapat *growing zone*, namun tidak memiliki zonasi serta *radial furrow*. Sebalik koloni tidak menghasilkan pigmen. Hasil pengamatan morfologi kapang *A. ochraceus* UICC secara mikroskopik menunjukkan struktur *foot cell*, konidiofor, vesikel, metula, fialid, dan konidia. Tipe kepala konidia *A. ochraceus* UICC adalah biserial, bentuk kepala konidia *radiate*, vesikel berbentuk bulat, metula tumbuh pada seluruh permukaan vesikel (*full fertile*), dan konidia berbentuk bulat (Gambar 4.2.1 dan Tabel 4.2.1). Secara umum, pengamatan

morfologi koloni dan sel kapang tersebut sesuai dengan deskripsi Summerbell (2002: 294--295), yang menyatakan bahwa *Aspergillus ochraceus* Wilhem memiliki koloni berwarna kuning muda hingga kuning kecokelatan, tekstur *powdery*, lebar koloni mencapai 44--55 mm. Sebalik koloni berwarna kecokelatan. Konidiofor memiliki permukaan granular, berwarna hialin, dan memiliki panjang mencapai 1500 μm . Tipe kepala konidia adalah biserial, bentuk kepala konidia *radiate*, vesikel berbentuk bulat hingga agak bulat, dan metula tumbuh pada seluruh permukaan vesikel. Konidia berwarna hialin hingga sedikit kuning, berbentuk bulat hingga agak bulat, permukaan halus atau kasar, dan berdiameter 2,5--3,5 μm . *Aspergillus ochraceus* dapat ditemukan pada tanah, biji-bijian, bubuk kopi, dan serangga.



Gambar 4.2.1. Morfologi kapang *Aspergillus* spp. umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28° C
[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

Tabel 4.2.1. Hasil pengamatan morfologi koloni kapang umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28 °C

Spesies	Warna koloni	Tekstur koloni	<i>Exudate drops</i>	<i>Growing zone</i>	Zonasi	<i>Radial furrow</i>	Warna sebalik koloni
<i>A. niger</i> UICC	<i>Dark sepia</i>	<i>Granular</i>	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada	Hialin
<i>A. ochraceus</i> UICC	<i>Gold ochre</i>	<i>Powdery</i>	Ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada	Hialin
<i>A. terreus</i> UICC	<i>Raw umber</i>	<i>Granular</i>	Tidak ada	Ada	Tidak ada	Tidak ada	Hialin

Tabel 4.2.2. Hasil pengamatan morfologi kapang umur 5 hari secara mikroskopik dalam medium PDA pada suhu 28° C

Spesies	Bentuk kepala konidia	Kisaran Ø kepala konidia (µm)	Kisaran lebar hifa (µm)
<i>A. niger</i> UICC	<i>Radiate</i>	23,93--46,8	1,82--3,45
<i>A. ochraceus</i> UICC	<i>Radiate</i>	11,44--16,39	1,32--3,79
<i>A. terreus</i> UICC	<i>Radiate</i>	7,6--10,83	1,06--3,09

Hasil pengamatan koloni kapang *A. terreus* UICC menunjukkan koloni kapang berwarna *raw umber* 180 berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 3), permukaan koloni menggunung, bertekstur *granular*, tidak menghasilkan *exudate drops*, terdapat *growing zone*, namun tidak memiliki *radial furrow* dan zonasi. Pengamatan sebalik koloni pada kapang *A. terreus* UICC menunjukkan tidak adanya warna dan *radial furrow*. Hasil pengamatan morfologi kapang *A. terreus* UICC secara mikroskopik menunjukkan struktur *foot cell*, konidiofor, vesikel, metula, fialid, dan konidia. Tipe kepala konidia *A. terreus* UICC adalah biserial, bentuk kepala konidia *radiate*, vesikel berbentuk bulat, metula tumbuh pada seluruh permukaan vesikel (*full fertile*), dan konidia berbentuk bulat (Gambar 4.2.1 dan Tabel 4.2.1) Pengamatan morfologi koloni dan sel kapang tersebut sesuai dengan deskripsi Summerbell (2002: 290), yang menyatakan bahwa *Aspergillus terreus* memiliki koloni berwarna coklat pasir, tekstur *granular*, lebar koloni mencapai 25--65 mm. Sebalik koloni berwarna coklat pucat. Konidiofor memiliki permukaan halus, berwarna hialin, dan memiliki panjang 100--250 µm. Tipe kepala konidia adalah biserial, bentuk

kepala konidia *columnar*, vesikel berbentuk *subglobose*, dan metula tumbuh pada $\frac{2}{3}$ permukaan vesikel. Konidia berwarna hialin hingga sedikit kuning, berbentuk bulat hingga *elipsoidal*, permukaan halus, dan berdiameter 2--2,5 μm . *Aspergillus terreus* dapat ditemukan pada tanah, biji-bijian, kompos, dan bahan makanan.

4.3 ENUMERASI SEL KHAMIR DAN SPORA KAPANG

Enumerasi yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui jumlah sel sehingga dapat mempersiapkan inokulum yang akan digunakan dalam penelitian. Enumerasi jumlah sel khamir dan spora kapang dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Metode TPC memiliki kelebihan, yaitu hanya menghitung jumlah sel atau spora yang hidup. Hasil enumerasi memperlihatkan bahwa jumlah sel khamir lebih banyak dibandingkan dengan jumlah spora kapang (Tabel 4.3.1 dan Tabel 4.3.2).

Tabel 4.3.1. Hasil perhitungan sel khamir umur 2 hari dalam medium PCA pada suhu 28° C menggunakan metode TPC

Spesies	Faktor pengenceran	Jumlah sel (CFU/ml)				Kisaran
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	
<i>Cryptococcus flavescens</i> UICC Y-515	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁷	211 25 5	222 42 2	217 34 2	216,67 33,67 3	(2,16--3,36) x 10 ⁸
<i>Cryptococcus flavescens</i> UICC Y-525	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁷	30 6 -	17 2 -	22 2 -	23 3,33 -	(2,3--3,3) x 10 ⁷
<i>Cryptococcus flavus</i> UICC Y-534	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁷	155 10 2	144 20 1	161 7 1	153,33 12,33 1,33	(1,23--1,53) x 10 ⁸
<i>Rhodotorula glutinis</i> UICC Y-520	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁷	290 39 3	280 29 3	288 27 3	286 31,67 3	(2,86--3,16) x 10 ⁸
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-522	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁷	265 28 1	243 28 4	271 26 4	259,67 27,33 3	(2,59--3) x 10 ⁸
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-531	10 ⁻⁵ 10 ⁻⁶ 10 ⁻⁷	196 12 2	235 12 4	270 17 2	233,67 13,67 2,33	(1,3--2,3) x 10 ⁸

Tabel 4.3.2. Hasil perhitungan jumlah hifa/spora kapang umur 5 hari dalam medium PCA pada suhu 28° C menggunakan metode TPC

Spesies	Faktor pengenceran	Jumlah hifa/spora (CFU/ml)				Kisaran
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	
<i>Aspergillus niger</i> UICC	10 ⁻⁴	200	192	236	209,33	(2,09--5,67) x 10 ⁷
	10 ⁻⁵	31	39	70	46,67	
	10 ⁻⁶	5	4	8	5,67	
<i>Aspergillus ochraceus</i> UICC	10 ⁻⁴	>300	>300	>300	>300	(1,63--2,87) x 10 ⁸
	10 ⁻⁵	193	181	114	162,67	
	10 ⁻⁶	25	43	18	28,67	
<i>Aspergillus terreus</i> UICC	10 ⁻⁴	>300	>300	>300	>300	(1,42--2,90) x 10 ⁸
	10 ⁻⁵	153	107	165	141,67	
	10 ⁻⁶	32	29	26	29,00	

Jumlah sel khamir yang lebih tinggi dibandingkan dengan jumlah spora kapang dalam medium memberikan kesempatan pada khamir untuk berkompetisi dengan kapang dalam memperoleh nutrisi dan ruang. Azizmohseni dkk. (2007: 67) melakukan uji antagonisme khamir terhadap kapang menggunakan jumlah inokulum sel khamir yang lebih banyak dari jumlah spora kapang. Jumlah sel khamir yang digunakan adalah 1x10⁷ sel/ml dan jumlah spora kapang sebanyak 1x10⁴ spora/ml. Menurut Sharma dkk. (2009: 210), jumlah sel inokulum khamir antagonis sebesar 10⁷--10⁸ CFU/ml merupakan jumlah paling efektif dalam menekan pertumbuhan kapang patogen. Menurut Zheng dkk. (2005: 357), semakin banyak jumlah sel khamir antagonis yang digunakan maka semakin besar kemampuan khamir dalam berkompetisi untuk nutrisi dan ruang.

4.4 PENGUJIAN ANTAGONISME

Pada pengujian antagonisme secara *co-culture*, biakan khamir diinokulasikan delapan jam lebih awal pada medium PDB pH 5 daripada biakan kapang, kemudian dilakukan pengocokan secara resiprokal 110 rpm pada suhu 28° C. Tujuan melakukan inokulasi biakan khamir lebih awal daripada biakan kapang adalah untuk memberi keuntungan pada sel khamir dalam hal adaptasi dengan medium, perolehan ruang untuk hidup, dan perolehan nutrisi. Ketika suspensi spora kapang diinokulasikan ke dalam medium yang sudah ditumbuhi

oleh biakan khamir epifit, maka kapang mengalami kekurangan ruang dan nutrisi untuk melakukan pertumbuhan. Handarini (2009: 16) melaporkan enam biakan khamir epifit yang diinokulasikan delapan jam lebih awal daripada biakan kapang dalam pengujian antagonisme mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan kapang *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC yang ditunjukkan dari reduksi lebar koloni kapang.

Hasil pengujian antagonisme memperlihatkan bahwa enam spesies khamir (*Cryptococcus flavescens* UICC Y-515, *Cryptococcus flavescens* UICC Y-525, *Cryptococcus flavus* UICC Y-534, *Rhodotorula glutinis* UICC Y-520, *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-522, dan *Rhodotorula* UICC Y-531) memiliki kemampuan antagonisme terhadap tiga spesies kapang genus *Aspergillus* (*Aspergillus niger* UICC, *Aspergillus ochraceus* UICC, dan *Aspergillus terreus* UICC). Kemampuan antagonisme khamir-khamir tersebut ditunjukkan melalui peningkatan jumlah sel khamir berkisar 26,91--98,76%, peningkatan ukuran sel vegetatif khamir (peningkatan panjang sel rata-rata berkisar 1,11--19,59% dan peningkatan lebar sel rata-rata berkisar 0,82--19,42%), reduksi koloni kapang di permukaan medium, penghambatan waktu sporulasi hingga inkubasi hari ke-3, reduksi lebar hifa kapang berkisar 7,84--20,26%, dan mortalitas kapang sebesar 100% pada inkubasi hari ke-4. Hifzhiyah (2009: 43--45) melaporkan bahwa khamir *C. fukuyamaensis* UICC Y-280 memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kapang *A. tamari* Her 2A pada medium DG18. Khamir tersebut mampu menghambat pertumbuhan kapang sebesar 52,60--80,60% dibandingkan kontrol. Khamir *C. fukuyamaensis* UICC Y-280 tidak hanya memperlambat pertumbuhan koloni kapang, tetapi khamir tersebut juga menghambat waktu sporulasi kapang dibandingkan dengan kontrol.

4.4.1 Pengamatan penurunan berat medium pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme

Hasil pengamatan berat medium menunjukkan adanya penurunan berat medium PDB pada kontrol dan perlakuan setiap hari hingga inkubasi hari keempat. Persentase penurunan berat medium hingga hari keempat setelah

inokulasi pada perlakuan berkisar 0,74--3,51%, penurunan berat medium pada kontrol khamir berkisar 0,77--1,14%, dan penurunan berat medium pada kontrol kapang berkisar 0,77--0,86%. Hasil pengamatan selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.4.1.1, Tabel 4.4.1.2, dan Tabel 4.4.1.3. Kisaran penurunan berat medium pada perlakuan lebih besar dibandingkan kisaran penurunan pada medium kontrol. Hal tersebut disebabkan pada medium perlakuan terdapat dua jenis mikroorganisme, yaitu khamir dan kapang, sehingga nutrisi yang digunakan menjadi lebih banyak. Medium PDB tersusun atas ekstrak kentang dan glukosa. Penurunan berat medium mengindikasikan biakan khamir dan kapang mampu mendegradasi media tumbuhnya dan menggunakan bahan organik sebagai sumber nutrisi untuk melakukan metabolisme. Pada proses metabolisme, nutrisi akan diubah ke dalam bentuk materi sel, energi, dan produk buangan. Proses tersebut menyebabkan khamir dan kapang mampu tumbuh dan berkembang dalam medium. Zhang dkk. (2009: 82), melaporkan adanya penggunaan nutrisi pada pengujian antagonisme antara khamir *Rhodotorula glutinis* terhadap kapang *Botrytis cinerea* yang ditunjukkan melalui penurunan berat medium pada kontrol khamir dan perlakuan *co-culture* masing-masing sebesar 1,34% dan 1,41% hingga inkubasi hari ke-5.

Tabel 4.4.1.1. Hasil persentase penurunan berat medium pada perlakuan pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

No.	Perlakuan	Persentase penurunan berat medium (%)				Jumlah
		Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	
1	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,12	0,14	0,31	0,23	0,8
2	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,19	0,14	0,26	0,21	0,8
3	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	0,89	0,51	0,44	0,25	2,09
4	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,15	0,13	0,3	0,26	0,84
5	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,86	0,25	0,28	0,24	1,63
6	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	0,34	0,2	0,29	0,24	1,07

Tabel 4.4.1.1. (Lanjutan)

7	<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,49	0,14	0,26	0,24	1,13
8	<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,14	0,17	0,26	0,24	0,81
9	<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	0,12	0,13	0,27	0,22	0,74
10	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,21	0,17	0,25	0,32	0,95
11	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,11	0,14	0,36	0,21	0,82
12	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	1,87	1,03	0,36	0,25	3,51
13	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. niger</i> UICC	1,03	0,31	0,31	0,32	1,97
14	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,17	0,16	0,28	0,25	0,86
15	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	0,71	0,16	0,28	0,22	1,37
16	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,53	0,17	0,26	0,32	1,28
17	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,22	0,18	0,29	0,24	0,93
18	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	0,2	0,15	0,29	0,25	0,89

Tabel 4.4.1.2. Hasil persentase penurunan berat medium pada kontrol khamir dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

No.	Spesies	Persentase penurunan berat medium (%)				
		Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Jumlah
1	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515	0,13	0,14	0,27	0,23	0,77
2	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525	0,18	0,14	0,3	0,24	0,86
3	<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534	0,24	0,14	0,24	0,22	0,84
4	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520	0,29	0,16	0,26	0,23	0,94
5	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522	0,41	0,21	0,28	0,24	1,14
6	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531	0,16	0,16	0,26	0,26	0,84

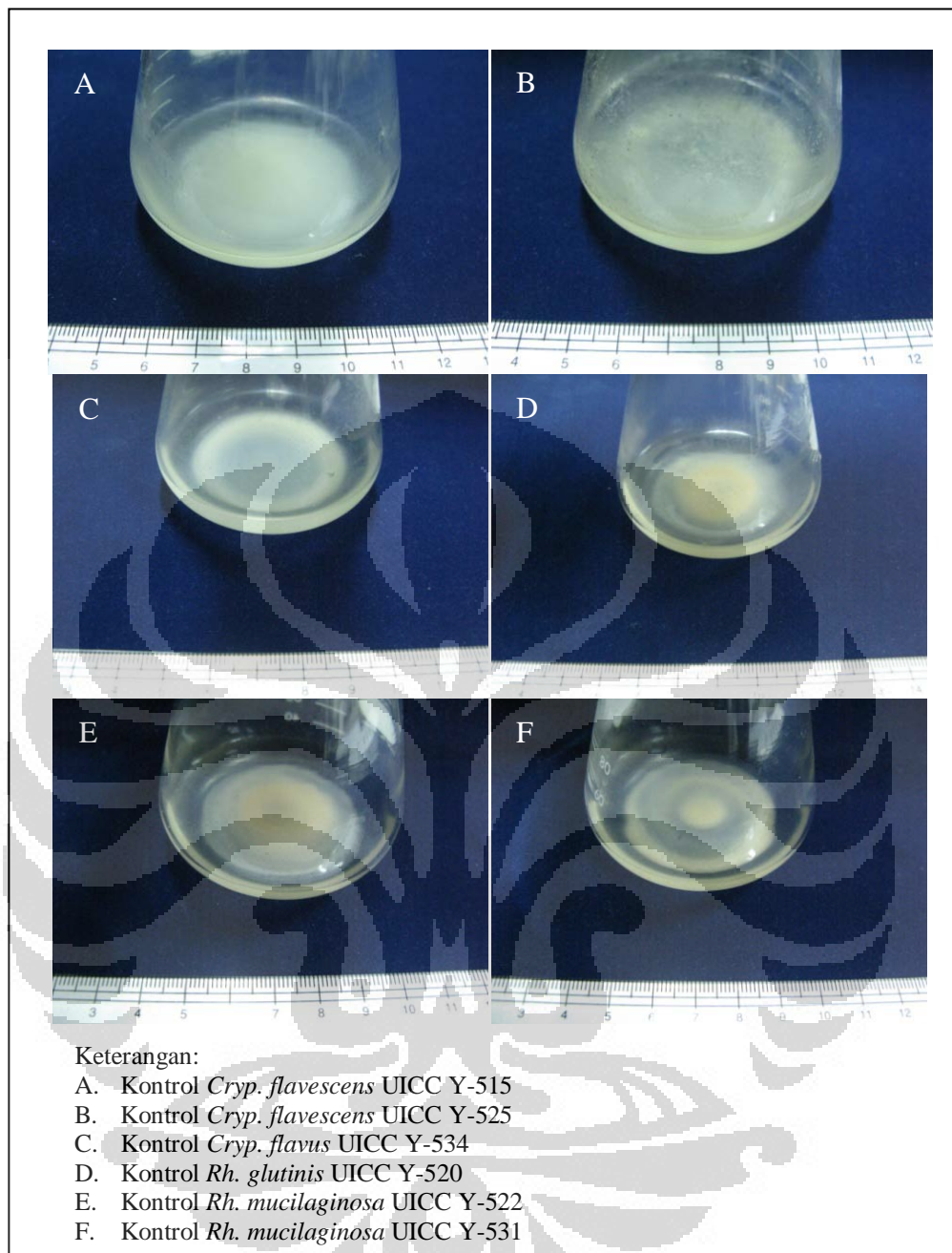
Tabel 4.4.1.3. Hasil persentase penurunan berat medium pada kontrol kapang dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

No.	Spesies	Persentase penurunan berat medium (%)				
		Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	Jumlah
1	<i>Aspergillus niger</i> UICC	0,13	0,14	0,27	0,23	0,77
2	<i>Aspergillus ochraceus</i> UICC	0,18	0,14	0,3	0,24	0,86
3	<i>Aspergillus terreus</i> UICC	0,24	0,14	0,24	0,22	0,84

4.4.2 Pengamatan pertumbuhan khamir epifit dalam pengujian antagonisme

Hasil pengamatan koloni khamir pada kontrol dan perlakuan dalam medium PDB pH 5 yang diinkubasi selama empat hari pada suhu 28° C menunjukkan adanya pertumbuhan sel khamir. Pertumbuhan sel khamir pada medium kontrol dan perlakuan dapat ditunjukkan melalui kekeruhan dan terbentuk endapan pada dasar medium yang merupakan lapisan biomassa khamir epifit. Endapan khamir genus *Cryptococcus* berwarna *white* 101 dan endapan khamir epifit genus *Rhodotorula* berwarna *light orange* 113 berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 3). Selain kekeruhan medium dan endapan biomassa, terdapat juga pembentukan pelikel pada permukaan medium kontrol dan perlakuan yang berisi suspensi sel *Cryp. flavescens* UICC Y-515 dan *Cryp. flavescens* UICC Y-525, sedangkan medium kontrol dan perlakuan yang berisi suspensi sel *Rh. glutinis* UICC Y-520, *Rh. mucilaginosa* UICC Y-522, dan *Rh. mucilaginosa* UICC Y-531 tidak menunjukkan adanya pelikel. Hasil pengamatan morfologi khamir selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 4.4.2.1 dan Tabel 4.4.2.1. Yarrow (1998: 81), melaporkan bahwa pertumbuhan khamir dalam medium cair dapat ditunjukkan melalui kekeruhan medium, pembentukan endapan biomassa sel khamir di dasar medium atau pelikel di permukaan medium.

Penurunan pH pada medium dari pH 5 menjadi pH 4,7 dapat juga mengindikasikan adanya pertumbuhan khamir pada medium kontrol dan perlakuan. Khamir memperoleh nutrisi dengan mendegradasi medium pertumbuhan yang mengandung pati menggunakan enzim ekstraseluler, sehingga diperoleh senyawa organik yang dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme. Pada proses metabolisme, salah satu senyawa kimia yang dihasilkan adalah asam-asam organik. Akumulasi asam-asam organik yang terbentuk dari hasil metabolisme oleh sel khamir dapat menyebabkan penurunan pH pada medium. Zhang dkk. (2008: 312) melaporkan terjadinya penurunan pH pada medium pengujian antagonisme antara khamir *Rhodotorula glutinis* terhadap *Penicillium expansum* disebabkan adanya akumulasi asam askorbat (1 mg/100g) dan asam malat (0,69%) yang terbentuk dari hasil metabolisme.



Gambar 4.4.2.1. Morfologi koloni khamir pada kontrol umur 4 hari dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C [Sumber: Dokumentasi pribadi.]

Tabel 4.4.2.1. Hasil pengamatan koloni khamir pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme di medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

Pengamatan	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 pada kontrol hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Endapan biomasa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	White 101				White 101				White 101				White 101			
Pembentukan pelikel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
Pengamatan	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 pada kontrol hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Endapan biomasa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	White 101				White 101				White 101				White 101			
Pembentukan pelikel	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
Pengamatan	<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 pada kontrol hari ke-				<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Endapan biomasa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	White 101				White 101				White 101				White 101			
Pembentukan pelikel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
Pengamatan	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 pada kontrol hari ke-				<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Endapan biomasa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	Light orange 113				Light orange 113				Light orange 113				Light orange 113			
Pembentukan pelikel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Tabel 4.4.2.1 (Lanjutan)

Pengamatan	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 pada kontrol hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Endapan biomasa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	<i>Light orange</i> 113				<i>Light orange</i> 113				<i>Light orange</i> 113				<i>Light orange</i> 113			
Pembentukan pelikel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
Pengamatan	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 pada kontrol hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Endapan biomasa khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan	<i>Light orange</i> 113				<i>Light orange</i> 113				<i>Light orange</i> 113				<i>Light orange</i> 113			
Pembentukan pelikel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Keterangan:

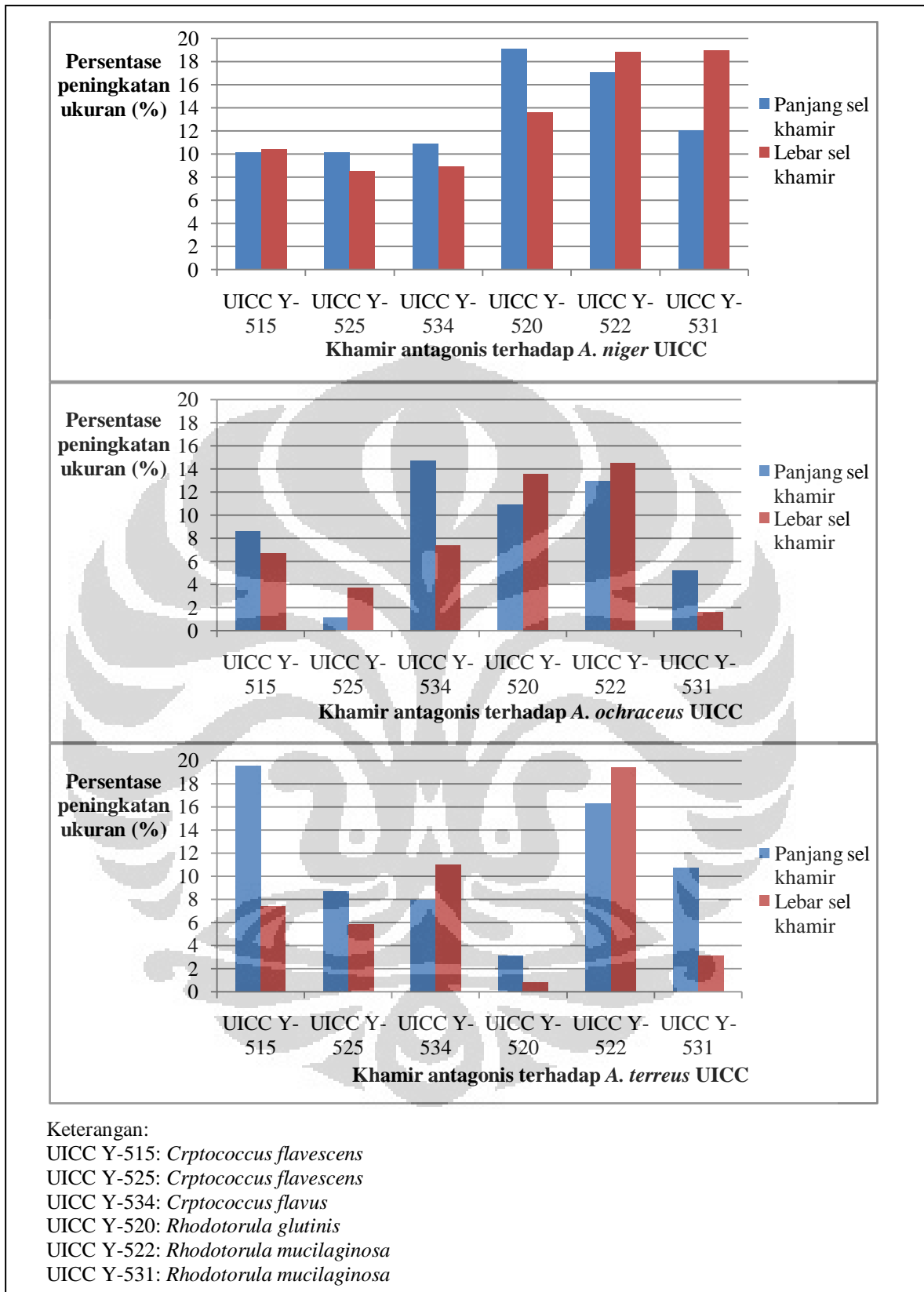
Tanda (+) : ada endapan biomassa khamir atau pelikel

Tanda (-) : tidak ada endapan biomassa khamir atau pelikel

Pengamatan morfologi sel khamir epifit secara mikroskopik dilakukan pada hari inkubasi ke-3. Hasil pengamatan menunjukkan bentuk sel vegetatif, tipe pertunasan, dan susunan sel yang sama antara kontrol dan perlakuan (Tabel 4.4.2.2). Secara umum, sel vegetatif keenam spesies khamir epifit setelah ditumbuhkan bersama spora kapang mengalami peningkatan ukuran, yaitu peningkatan panjang sel rata-rata berkisar 1,11--19,59% dan peningkatan lebar sel rata-rata berkisar 0,82--19,42% dibandingkan dengan kontrol (Gambar 4.4.2.2 dan Tabel 4.4.2.3). Hal tersebut mengindikasikan sel khamir mampu melakukan pertumbuhan lebih baik saat ditumbuhkan bersama dengan sel kapang. Diduga kapang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi oleh sel khamir, terutama sebagai sumber karbon yang merupakan salah satu senyawa pembangun tubuh. Bar-Shimmon dkk. (2004: 145) melaporkan interaksi antagonisme dapat menyebabkan kebengkokan pada dinding sel kapang kemudian terjadi lisis. Materi dari sel kapang dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi oleh sel khamir.

Tabel 4.4.2.2. Hasil pengamatan morfologi sel khamir dalam pengujian antagonisme di medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

Perlakuan	Tipe pertunasan Hari ke- 3	Bentuk sel Hari ke- 3	Susunan sel Hari ke- 3
Kontrol <i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
Kontrol <i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
Kontrol <i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
Kontrol <i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
Kontrol <i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 dengan <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 dengan <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
Kontrol <i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan
<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Oval	Tunggal dan berpasangan



Gambar 4.4.2.2. Diagram batang persentase peningkatan panjang dan lebar rata-rata sel khamir umur 3 hari pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28°

Tabel 4.4.2.3. Hasil pengukuran sel khamir umur 3 hari dalam pengujian antagonisme di medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

Perlakuan	Panjang rata-rata sel khamir (μm)	Persentase peningkatan panjang sel (%)	Lebar rata-rata sel khamir (μm)	Persentase peningkatan lebar sel (%)
Kontrol UICC Y-515	1,6 \pm 0,09	-	1,12 \pm 0,1	-
UICC Y-515 terhadap <i>A. niger</i> UICC	1,78 \pm 0,12	10,11	1,25 \pm 0,07	10,4
UICC Y-515 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	1,75 \pm 0,13	8,57	1,2 \pm 0,03	6,67
UICC Y-515 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	1,99 \pm 0,11	19,59	1,21 \pm 0,08	7,43
Kontrol UICC Y-525	1,78 \pm 0,17	-	1,29 \pm 0,1	-
UICC Y-525 terhadap <i>A. niger</i> UICC	1,98 \pm 0,12	10,10	1,41 \pm 0,09	8,51
UICC Y-525 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	1,8 \pm 0,21	1,11	1,34 \pm 0,12	3,73
UICC Y-525 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	1,95 \pm 0,17	8,71	1,37 \pm 0,1	5,83
Kontrol UICC Y-534	1,97 \pm 0,21	-	1,13 \pm 0,16	-
UICC Y-534 terhadap <i>A. niger</i> UICC	2,21 \pm 0,28	10,86	1,24 \pm 0,14	8,87
UICC Y-534 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	2,31 \pm 0,32	14,71	1,22 \pm 0,11	7,37
UICC Y-534 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	2,14 \pm 0,35	7,94	1,27 \pm 0,11	11,02
Kontrol UICC Y-520	1,87 \pm 0,13	-	1,21 \pm 0,13	-
UICC Y-520 terhadap <i>A. niger</i> UICC	2,31 \pm 0,35	19,04	1,4 \pm 0,23	13,57
UICC Y-520 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	2,1 \pm 0,3	10,95	1,4 \pm 0,14	13,57
UICC Y-520 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	1,93 \pm 0,11	3,1	1,22 \pm 0,09	0,82
Kontrol UICC Y-522	1,75 \pm 0,09	-	1,12 \pm 0,05	-
UICC Y-522 terhadap <i>A. niger</i> UICC	2,11 \pm 0,26	17,06	1,38 \pm 0,13	18,84
UICC Y-522 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	2,01 \pm 0,25	12,93	1,31 \pm 0,05	14,5
UICC Y-522 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	2,09 \pm 0,13	16,26	1,39 \pm 0,05	19,42
Kontrol UICC Y-531	1,83 \pm 0,24	-	1,24 \pm 0,17	-
UICC Y-531 terhadap <i>A. niger</i> UICC	2,08 \pm 0,14	12,01	1,53 \pm 0,13	18,95
UICC Y-531 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	1,93 \pm 0,2	5,18	1,26 \pm 0,16	1,58
UICC Y-531 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	2,05 \pm 0,17	10,73	1,28 \pm 0,05	3,12

Keterangan:

UICC Y-515: *Crptococcus flavescens*

UICC Y-525: *Crptococcus flavescens*

UICC Y-534: *Crptococcus flavus*

UICC Y-520: *Rhodotorula glutinis*

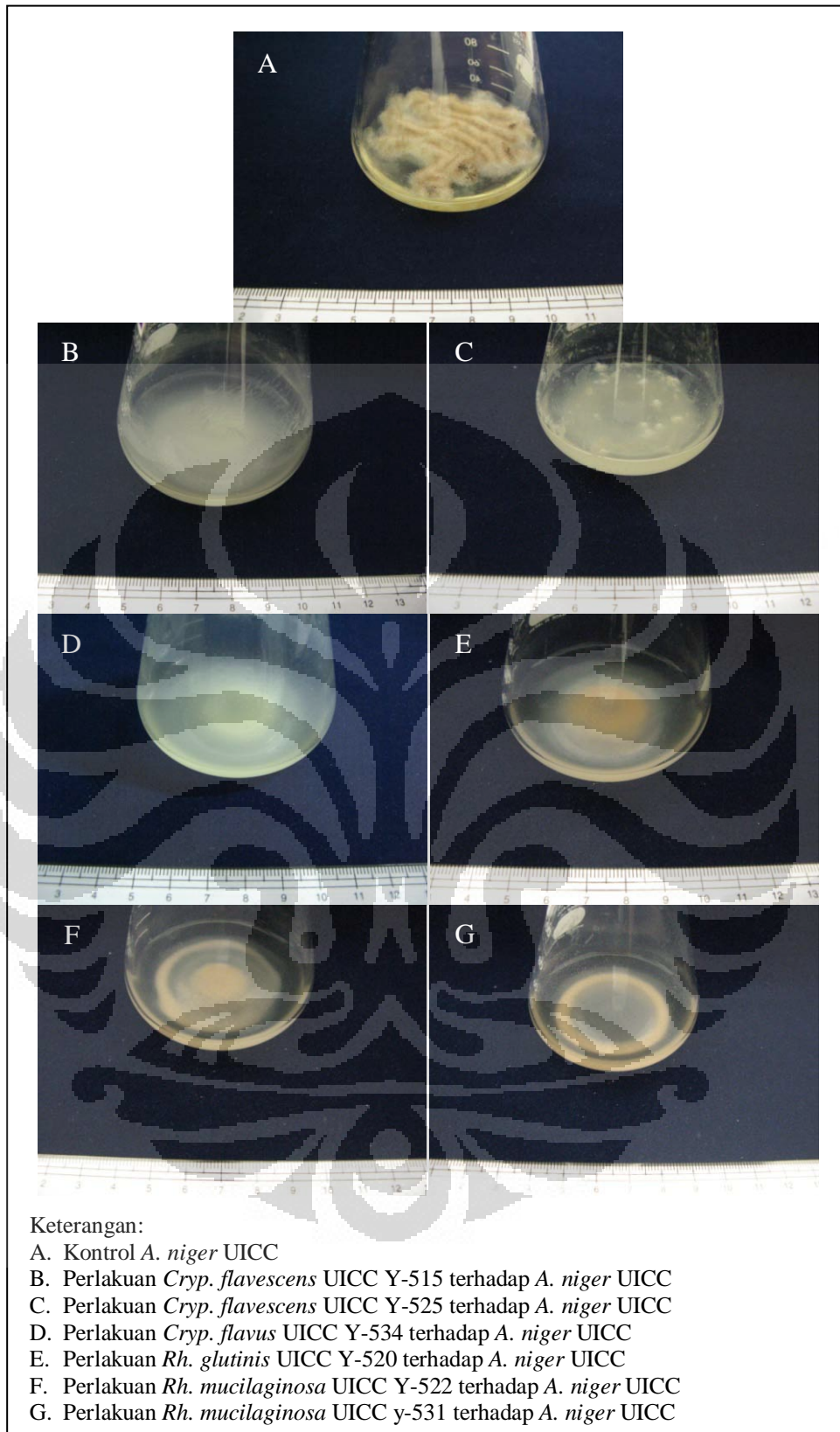
UICC Y-522: *Rhodotorula mucilaginosa*

UICC Y-531: *Rhodotorula mucilaginosa*

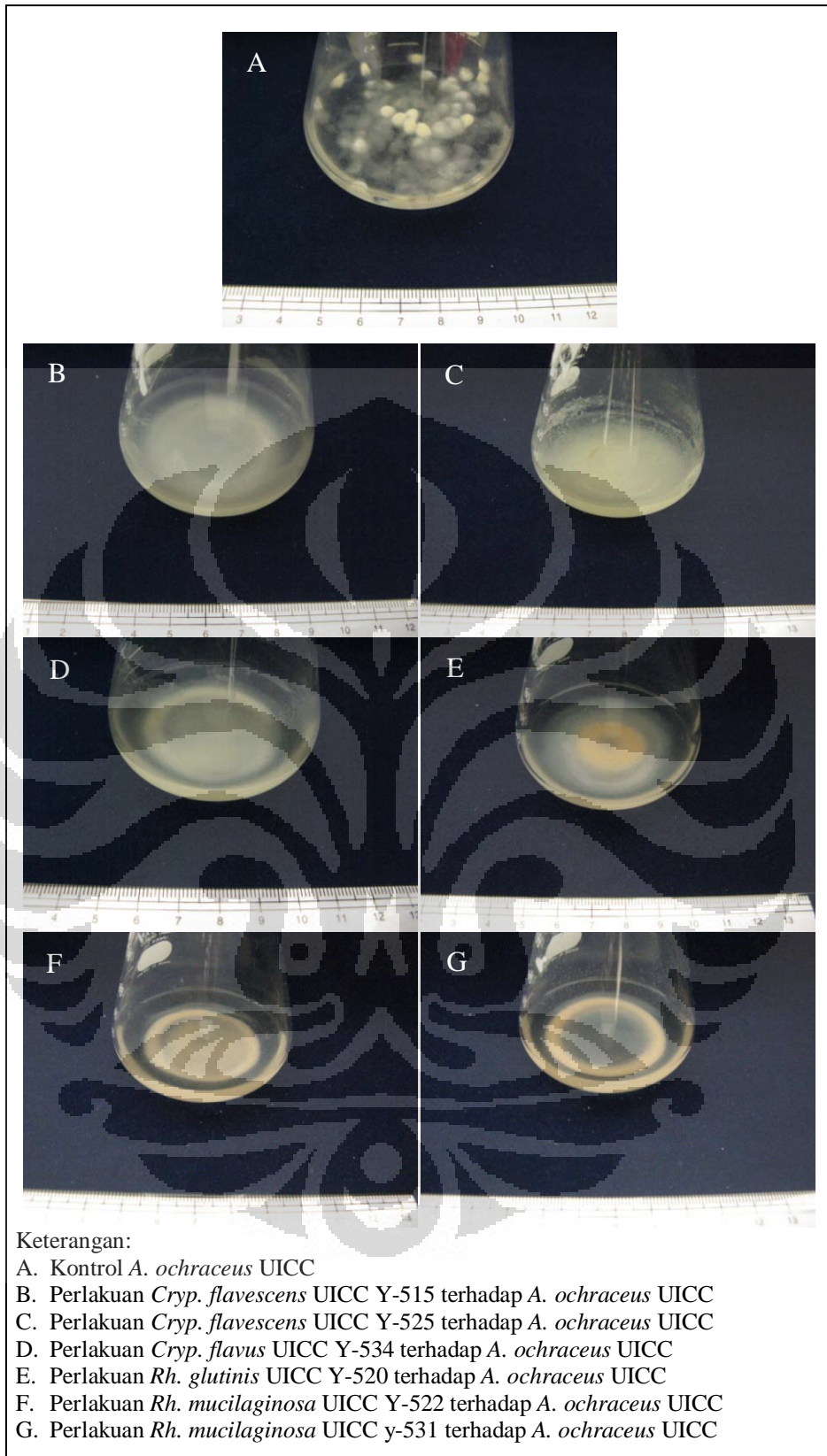
4.4.3 Pengamatan pertumbuhan kapang dalam pengujian antagonisme

Pengamatan koloni kapang pada kontrol dalam medium PDB pH 5 menunjukkan adanya pertumbuhan miselium pada permukaan medium sejak inkubasi hari ke-1 pada kapang *A. niger* UICC dan inkubasi hari ke-2 pada kapang *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC. Pada inkubasi hari ke-3, ketiga kapang pada kontrol mulai bersporulasi. Spora kapang *A. niger* UICC berwarna *dark sepia* 175, spora *A. ochraceus* UICC berwarna *gold ochre* 183, dan spora *A. terreus* UICC berwarna *raw umber* 180 berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 3). Pada inkubasi hari ke-4, miselium ketiga kapang pada kontrol semakin menebal dan bersporulasi semakin banyak (Gambar 4.4.3.1, Gambar 4.4.3.2, dan Gambar 4.4.3.3). Hal tersebut mengindikasikan ketiga biakan kapang pada kontrol mampu menggunakan nutrisi dalam medium PDB untuk melakukan pertumbuhan. Nutrien yang diperlukan untuk melakukan pertumbuhan terutama adalah karbon dan nitrogen. Nutrien tersebut dapat diperoleh dari medium PDB karena komposisi medium PDB adalah kentang dan dekstrosa. Kavanagh (2005: 31) melaporkan bahwa pertumbuhan kapang dalam medium cair yang tidak digoyang dapat ditunjukkan dengan pertumbuhan miselium berupa suatu lapisan yang semakin lama semakin tebal di permukaan medium.

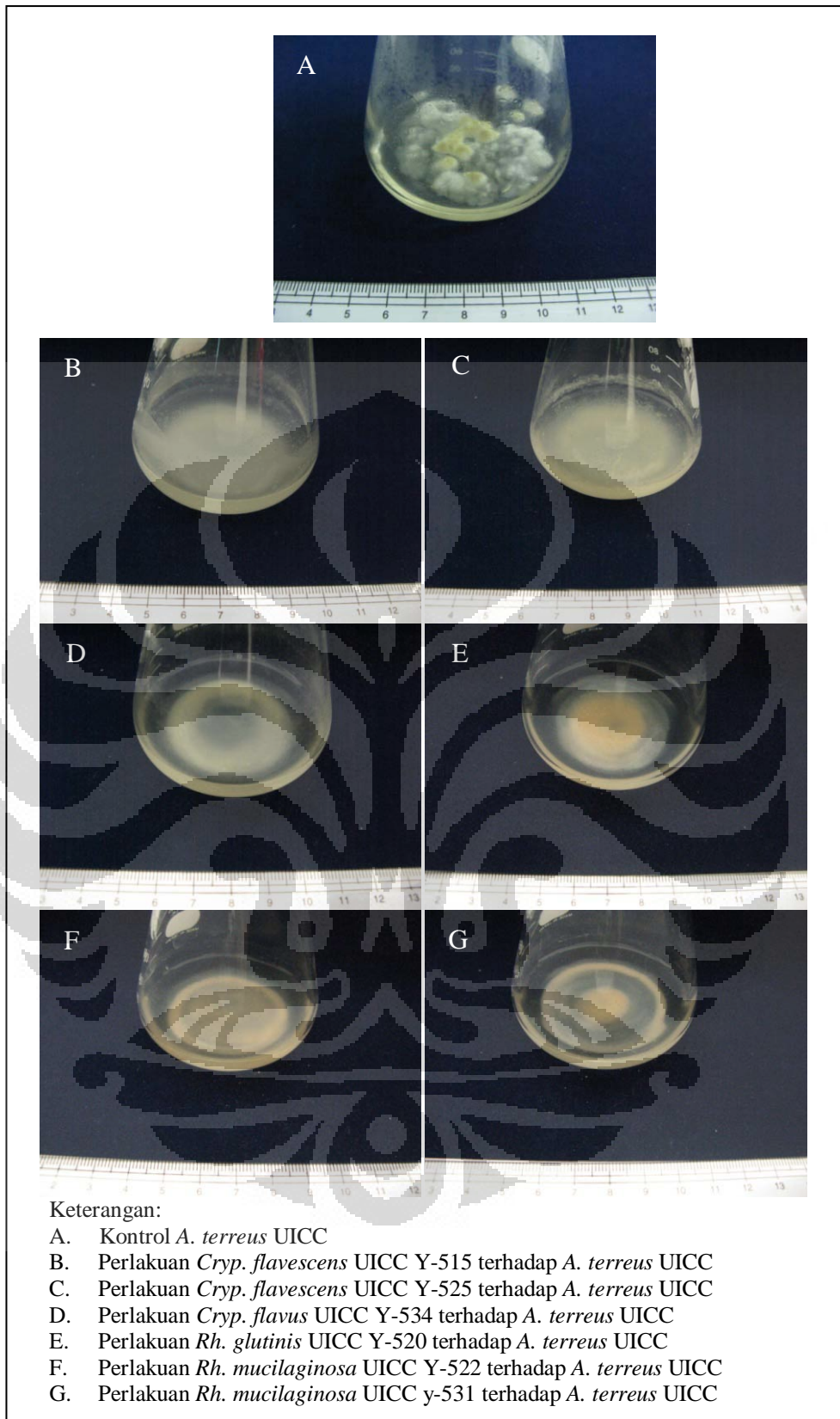
Pengamatan koloni kapang pada perlakuan yang berisi *co-culture* antara khamir *Cryp. flavescens* UICC Y-525 dengan *A. niger* UICC menunjukkan adanya penundaan terbentuknya miselium pada permukaan medium dan terjadi penundaan waktu sporulasi hingga hari ke-3 dibandingkan dengan kontrol (Tabel 4.4.3.1). Hasil pengamatan tersebut mengindikasikan terjadinya kompetisi terhadap ruang dan nutrisi antara khamir dan kapang dalam medium. Diduga kapang mengalami kekurangan nutrisi untuk melakukan pertumbuhan saat ditumbuhkan bersama sel khamir, sehingga miselium yang terbentuk menjadi lebih sedikit. Sansone dkk. (2005: 248) melaporkan khamir *Rh. glutinis* ySL 30 mampu mereduksi germinasi konidia kapang *B. cinerea* pada waktu inkubasi 7 dan 23 jam sebesar 81% dan 68% dibandingkan dengan kontrol. Hal tersebut menyebabkan pertumbuhan hifa pada permukaan medium tidak membentuk lapisan miselium yang rapat dan terjadi penundaan waktu sporulasi.



Gambar 4.4.3.1. Pengamatan koloni *A. niger* UICC umur 4 hari pada *co-culture* dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C
 [Sumber: Dokumentasi pribadi.]



Gambar 4.4.3.2. Pengamatan koloni *A. ochraceus* UICC umur 4 hari pada *co-culture* dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C [Sumber: Dokumentasi pribadi.]



Gambar 4.4.3.3. Pengamatan koloni *A. terreus* UICC umur 4 hari pada *co-culture* dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C
 [Sumber: Dokumentasi pribadi.]

Tabel 4.4.3.1. Hasil pengamatan morfologi koloni kapang secara makroskopik pada pengujian antagonisme di medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

Perlakuan	<i>A. niger</i> UICC pada kontrol hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pertumbuhan hifa/miselium	+	++	++	+++	-	-	-	-	-	-	+	++	-	-	-	-
Sporulasi	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Warna koloni	White	Zinc yellow	Dark sepia	Dark sepia	-	-	-	-	-	-	White	Dark sepia	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Perlakuan	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pertumbuhan hifa/miselium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sporulasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Perlakuan	<i>A. ochraceus</i> UICC pada kontrol hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pertumbuhan hifa/miselium	-	+	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sporulasi	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni	-	White	Gold ochre	Gold ochre	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Perlakuan	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pertumbuhan hifa/miselium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sporulasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Tabel 4.4.3.1. (Lanjutan)

Perlakuan	Kontrol <i>A. terreus</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-				<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	Pertumbuhan hifa/miselium	-	+	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sporulasi	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni	-	White	Raw umber	Raw umber	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Perlakuan	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-				<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	Pertumbuhan hifa/miselium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sporulasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH medium	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

Keterangan:

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

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

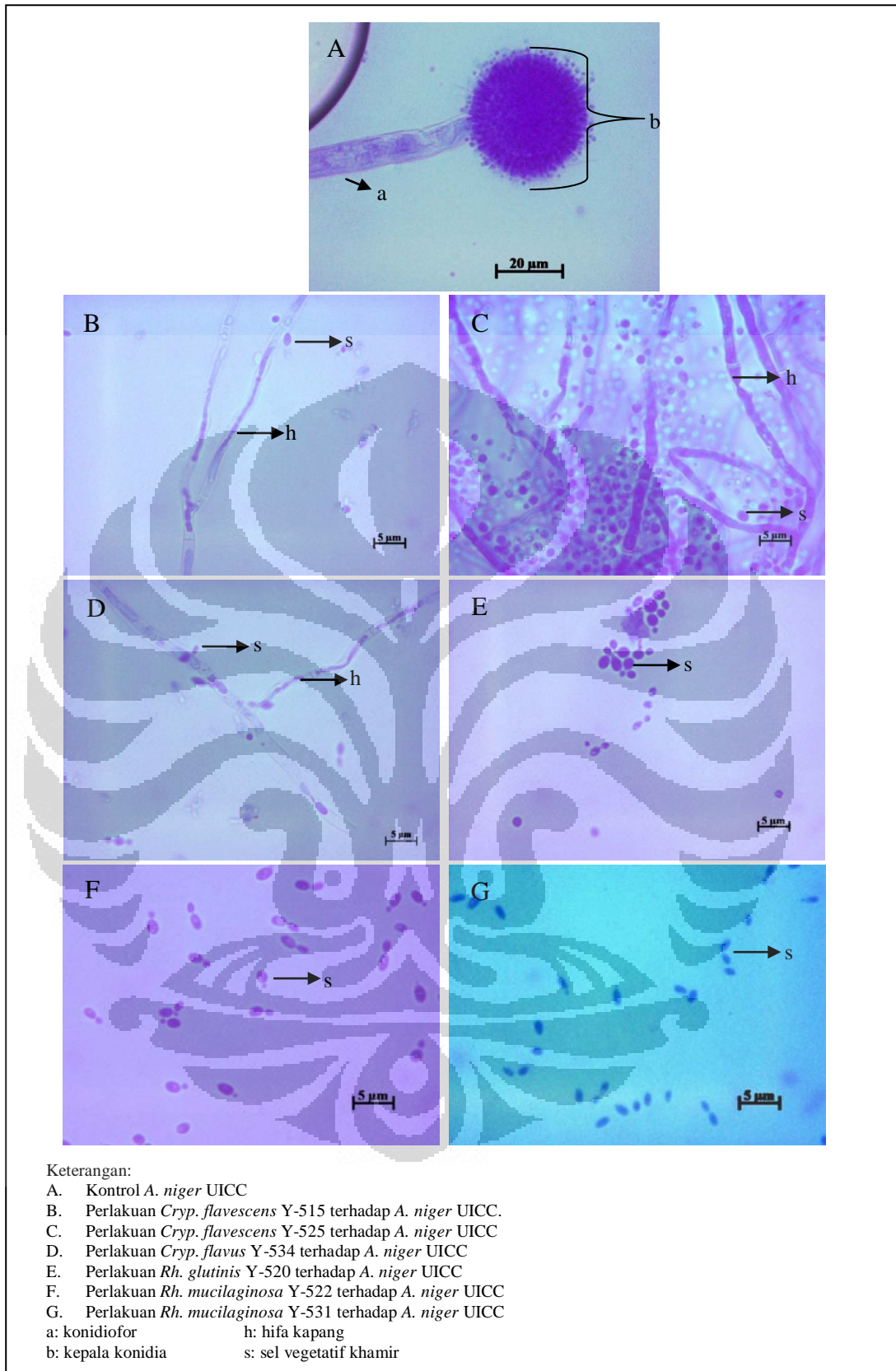
Pengamatan morfologi kapang secara mikroskopik dilakukan pada inkubasi hari ke-3. Hasil pengamatan morfologi pada kapang *A. niger* UICC secara mikroskopik menunjukkan adanya struktur *foot cell*, konidiofor, vesikel, metula, fialid, dan konidia. Tipe kepala konidia adalah biserial, bentuk kepala konidia *radiate*, vesikel berbentuk bulat, metula tumbuh pada seluruh permukaan vesikel (*full fertile*), dan konidia berbentuk bulat (Gambar 4.4.3.4). Hasil pengamatan pada perlakuan *co-culture* menunjukkan adanya pertumbuhan hifa kapang *A. niger* UICC yang dikelilingi oleh sel khamir *Cryp. flavescens* UICC Y-515, *Cryp. flavescens* UICC Y-525, dan *Cryp. flavus* UICC Y-534 (Gambar 4.4.3.4). Lebar hifa kapang *A. niger* UICC yang dikelilingi oleh sel khamir mengalami reduksi dibandingkan dengan kontrol. Lebar hifa kapang *A. niger* UICC mengalami reduksi terendah sebesar 7,84% saat ditumbuhkan bersama *Cryp. flavescens* UICC Y-534, dan mengalami reduksi tertinggi sebesar 20,26% saat ditumbuhkan bersama khamir *Cryp. flavescens* UICC Y-525 (Tabel 4.4.3.2).

Penempelan sel khamir pada hifa kapang diduga merupakan mekanisme antagonisme berupa kompetisi terhadap ruang dan nutrisi. Hifa pada kapang berfungsi untuk menyerap nutrisi dari lingkungan serta membentuk struktur untuk bereproduksi. Penempelan sel khamir pada hifa kapang diduga dapat mengurangi dan menghalangi ruang bagi hifa kapang untuk menyerap nutrisi. Nutrisi merupakan faktor penting untuk pertumbuhan kapang, sehingga ketidakmampuan kapang untuk menyerap nutrisi akibat dikelilingi oleh sel khamir menyebabkan pertumbuhan kapang menjadi terhambat. Castoria dkk. (1997: 298--299) melaporkan bahwa khamir *Rh. glutinis* dan *Cryp. laurentii* mampu menghambat pertumbuhan kapang *Pen. expansum* dan *B. cinerea* melalui mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi. Interaksi antagonisme ditunjukkan melalui penempelan sel khamir mengelilingi hifa kapang. Hal tersebut mengakibatkan area penyerapan nutrisi bagi kapang menjadi berkurang, sehingga pertumbuhan kapang menjadi terhambat akibat terjadinya reduksi/kerusakan hifa.

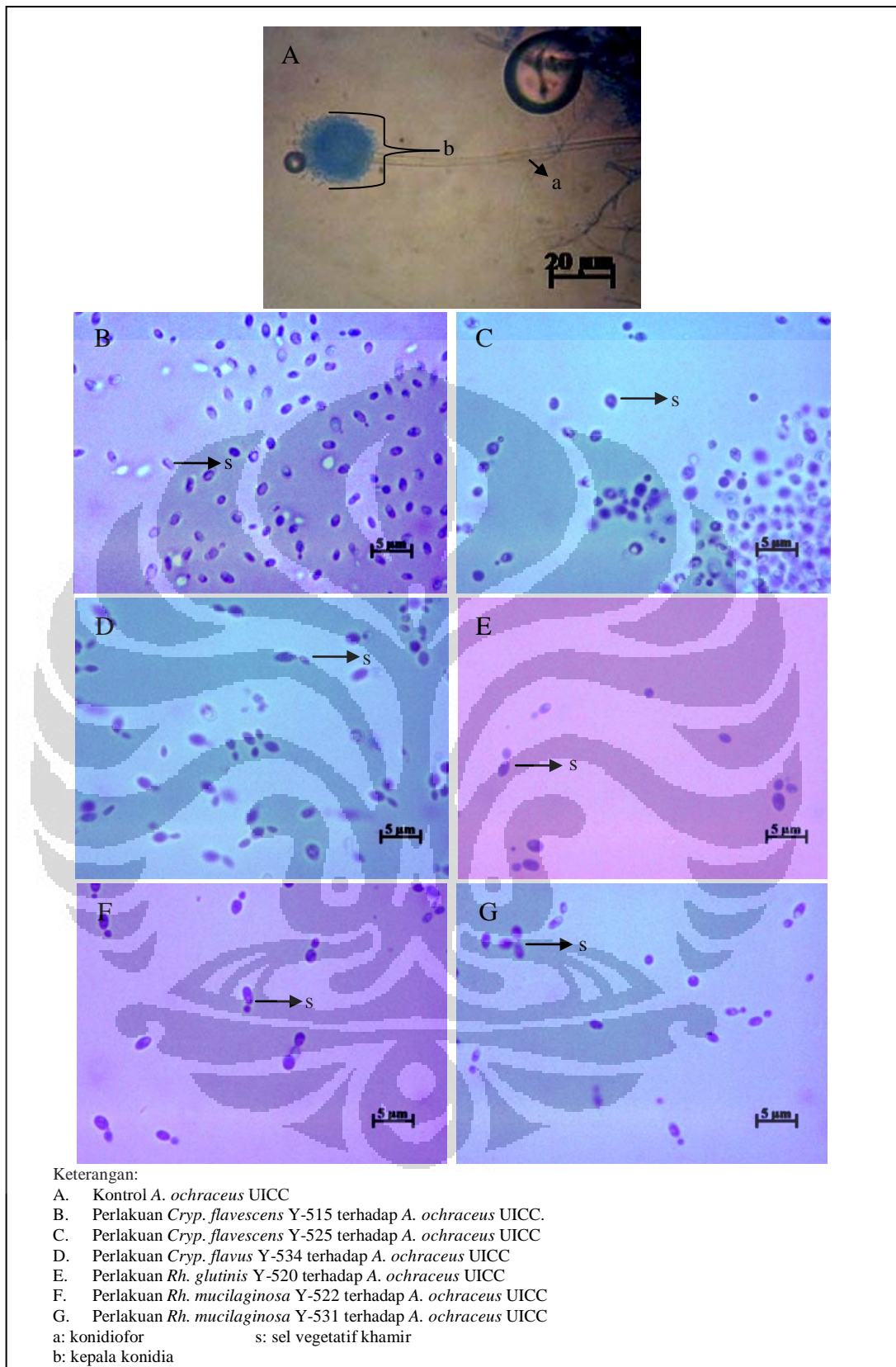
Penempelan sel khamir *Cryp. flavescens* UICC Y-515, *Cryp. flavescens* UICC 525, dan *Cryp. flavus* UICC Y-534 pada hifa kapang *A. niger* UICC diduga juga merupakan mekanisme antibiosis dan parasitisme. Pada mekanisme antibiosis, khamir berada di sekeliling kapang dan mengeluarkan senyawa kimia seperti enzim pelisis yang mampu mendegradasi dinding sel kapang. Kerusakan pada dinding sel kapang dapat menyebabkan pertumbuhan kapang menjadi terhambat. Selanjutnya, khamir melakukan mekanisme parasitisme karena memanfaatkan materi sel kapang yang keluar sebagai sumber nutrisi akibat terjadi lisis pada dinding sel kapang. Ge dkk. (2010: 490--495) melaporkan interaksi antagonisme antara khamir *Rh. glutinis* terhadap kapang patogen *B. cinerea* terjadi melalui mekanisme antibiosis yang diawali dengan penempelan sel khamir pada hifa kapang. Interaksi yang terjadi selanjutnya, yaitu khamir mensekresikan enzim pendegradasi dinding sel, yaitu kitinase dan β -1,3-glukanase. Aktivitas enzim kitinase dan β -1,3-glukanase mengakibatkan dinding sel pada hifa kapang terdegradasi, sehingga menyebabkan germinasi spora dan pertumbuhan hifa menjadi terhambat. Filonow (2001: 1) melaporkan interaksi antagonisme antara khamir *Cryp. laurentii* terhadap kapang patogen *B. cinerea* terjadi melalui mekanisme parasitisme yang diawali dengan kontak langsung sel

khamir pada hifa kapang. Interaksi yang selanjutnya terjadi, yaitu khamir menyerap nutrisi yang berasal dari hifa kapang. Hal tersebut menyebabkan reduksi jumlah konidia yang bergerminasi akibat kekurangan nutrisi.

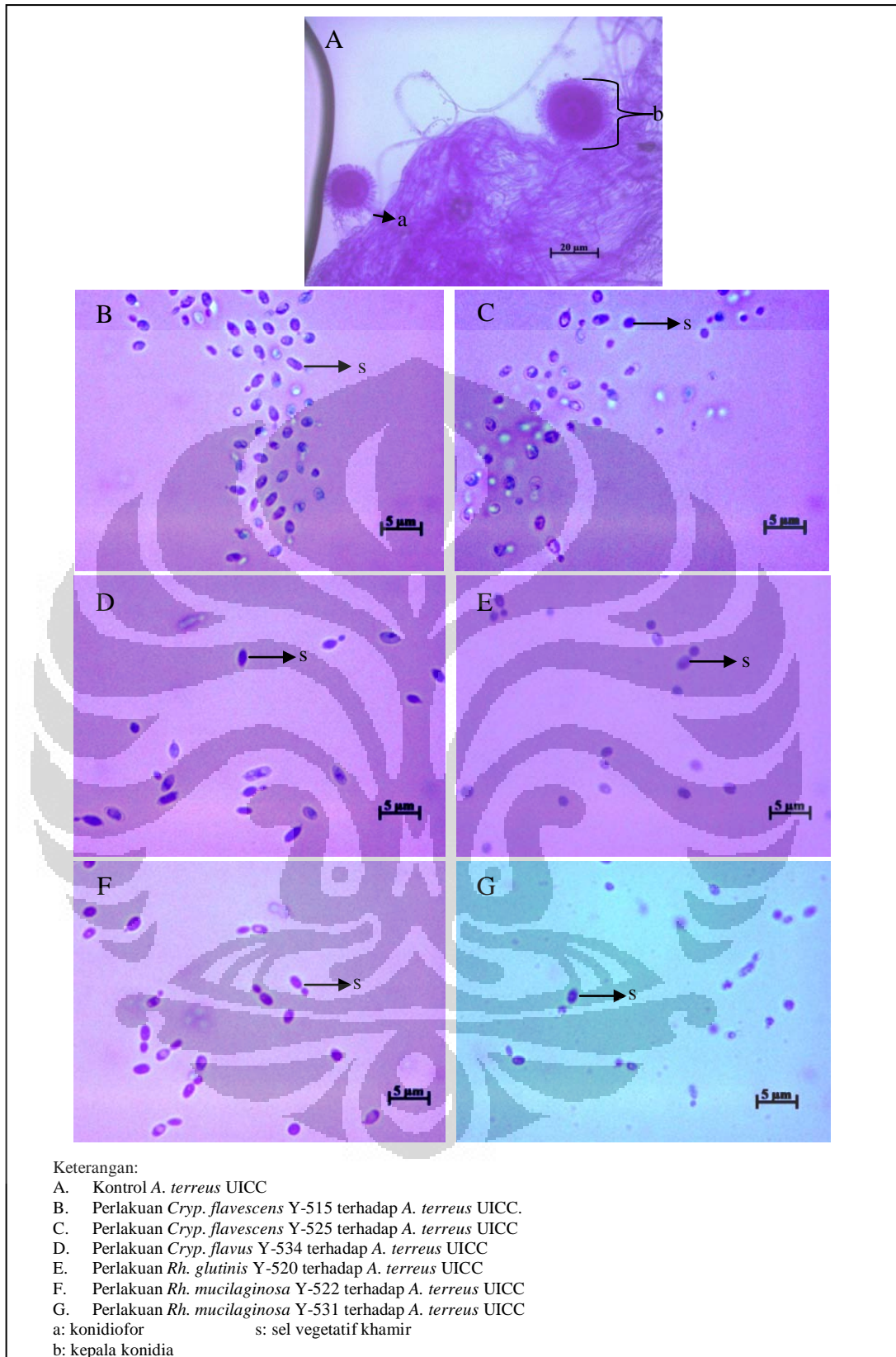
Hasil pengamatan morfologi secara mikroskopik pada kontrol kapang *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC menunjukkan adanya struktur hifa dan kepala konidia, sedangkan hasil pengamatan pada perlakuan *co-culture* antara keenam spesies khamir terhadap kedua kapang tersebut tidak menunjukkan adanya struktur hifa atau kepala konidia (Gambar 4.4.3.5, Gambar 4.4.3.6, Tabel 4.4.3.3, dan Tabel 4.4.3.4). Tidak ditemukannya struktur hifa atau kepala konidia dapat disebabkan karena tidak adanya konidia kapang yang bergerminasi. Hal tersebut diduga karena khamir antagonis yang telah ditumbuhkan delapan jam lebih dahulu telah berhasil mendominasi ruang dan nutrisi dalam medium perlakuan, sehingga sel khamir mampu bereproduksi dengan cepat. Peningkatan jumlah sel khamir dalam medium menyebabkan ruang dan kandungan nutrisi di dalam medium semakin berkurang. Oleh karena itu, kapang pada perlakuan *co-culture* tidak memperoleh nutrisi yang cukup untuk melakukan germinasi konidia. Nutrisi yang diperlukan oleh kapang untuk melakukan germinasi konidia terutama adalah karbon yang merupakan salah satu senyawa pembangun tubuh. Selain karbon, kapang memerlukan nutrisi lain untuk dapat melakukan pertumbuhan seperti nitrogen, sulfur, fosfor, kalium, magnesium, natrium, kalsium, nutrisi mikro, dan vitamin. Zhang dkk. (2004: 161) melaporkan peningkatan jumlah sel khamir *Cryp. laurentii* dalam pengujian antagonisme terhadap kapang *P. digitatum* memengaruhi ketersediaan nutrisi dalam medium, sehingga akan memengaruhi jumlah konidia yang bergerminasi. Pengamatan pada 20 jam inkubasi dalam medium PDB pada suhu 25° C menunjukkan jumlah sel khamir *Cryp. laurentii* sebanyak 1×10^6 CFU/ml mampu mereduksi germinasi konidia sebesar 44,3%, sedangkan peningkatan jumlah sel khamir sebanyak 1×10^8 CFU/ml mampu mereduksi germinasi konidia sebesar 100%.



Gambar 4.4.3.4. Pengamatan morfologi *A. niger* UICC umur 3 hari dalam pengujian antagonisme di PDB pH 5 pada suhu 28° C [Sumber: Dokumentasi pribadi.]



Gambar 4.4.3.5. Pengamatan morfologi *A. ochraceus* UICC umur 3 hari dalam pengujian antagonisme di PDB pH 5 pada suhu 28° C [Sumber: Dokumentasi pribadi.]



Gambar 4.4.3.6. Pengamatan morfologi *A. terreus* UICC umur 3 hari dalam pengujian antagonisme di PDB pH 5 pada suhu 28° C [Sumber: Dokumentasi pribadi.]

Tabel 4.4.3.2. Hasil pengukuran diameter kepala konidia dan lebar hifa kapang *A. niger* UICC umur 3 hari dalam PDB pH 5 pada suhu 28° C

Perlakuan	Hari ke-	d. kepala konidia <i>A.niger</i> UICC (µm)		Pesentase reduksi (%)	Lebar hifa <i>A.niger</i> UICC (µm)		Pesentase reduksi (%)
		Kontrol	Perlakuan		Kontrol	Perlakuan	
UICC Y-515	3	35,75 ± 8,31	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,53 ± 0,35	1,4 ± 0,04	8,49
UICC Y-525	3	35,75 ± 8,31	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,53 ± 0,35	1,22 ± 0,28	20,26
UICC Y-534	3	35,75 ± 8,31	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,53 ± 0,35	1,41 ± 0,22	7,84
UICC Y-520	3	35,75 ± 8,31	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,53 ± 0,35	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-522	3	35,75 ± 8,31	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,53 ± 0,35	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-531	3	35,75 ± 8,31	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,53 ± 0,35	Tidak ada pertumbuhan hifa	-

Keterangan:

UICC Y-515: *Cryptococcus flavescens*

UICC Y-525: *Cryptococcus flavescens*

UICC Y-534: *Cryptococcus flavuss*

UICC Y-520: *Rhodotorula glutinis*

UICC Y-522: *Rhodotorula mucilaginosa*

UICC Y-531: *Rhodotorula mucilaginosa*

Tabel 4.4.3.3. Hasil pengukuran diameter kepala konidia dan lebar hifa kapang *A. ochraceus* UICC umur 3 hari dalam PDB pH 5 pada suhu 28° C

Perlakuan	Hari ke-	d. kepala konidia <i>A. ochraceus</i> UICC (µm)		Pesentase reduksi (%)	Lebar hifa <i>A. ochraceus</i> UICC (µm)		Pesentase reduksi (%)
		Kontrol	Perlakuan		Kontrol	Perlakuan	
UICC Y-515	3	13,23 ± 1,8	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,98 ± 0,5	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-525	3	13,23 ± 1,8	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,98 ± 0,5	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-534	3	13,23 ± 1,8	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,98 ± 0,5	Tidak ada pertumbuhan hifa	-

Tabel 4.4.3.3. (Lanjutan)

UICC Y-520	3	13,23 ± 1,8	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,98 ± 0,5	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-522	3	13,23 ± 1,8	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,98 ± 0,5	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-531	3	13,23 ± 1,8	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,98 ± 0,5	Tidak ada pertumbuhan hifa	-

Keterangan:

UICC Y-515: *Cryptococcus flavescens*UICC Y-525: *Cryptococcus flavescens*UICC Y-534: *Cryptococcus flavuss*UICC Y-520: *Rhodotorula glutinis*UICC Y-522: *Rhodotorula mucilaginoso*UICC Y-531: *Rhodotorula mucilaginoso*Tabel 4.4.3.4. Hasil pengukuran diameter kepala konidia dan lebar hifa kapang *A. terreus* UICC umur 3 hari dalam PDB pH 5 pada suhu 28° C

Perlakuan	Hari ke-	d. kepala konidia <i>A. terreus</i> UICC (µm)		Pesentase reduksi (%)	Lebar hifa <i>A. terreus</i> UICC (µm)		Pesentase reduksi (%)
		Kontrol	Perlakuan		Kontrol	Perlakuan	
UICC Y-515	3	27,15	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,69	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-525	3	27,15	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,69	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-534	3	27,15	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,69	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-520	3	27,15	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,69	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-522	3	27,15	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,69	Tidak ada pertumbuhan hifa	-
UICC Y-531	3	27,15	Tidak ditemukan kepala konidia	-	1,69	Tidak ada pertumbuhan hifa	-

Keterangan:

UICC Y-515: *Cryptococcus flavescens*UICC Y-525: *Cryptococcus flavescens*UICC Y-534: *Cryptococcus flavuss*UICC Y-520: *Rhodotorula glutinis*UICC Y-522: *Rhodotorula mucilaginoso*UICC Y-531: *Rhodotorula mucilaginoso*

4.4.4 Enumerasi sel khamir dan spora kapang dalam pengujian antagonisme

Enumerasi jumlah sel khamir dan spora kapang dilakukan pada inkubasi hari ke-4 pada kontrol dan perlakuan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Hasil enumerasi pada kontrol khamir menunjukkan jumlah sel khamir berkisar $1 \times 10^5 - 1 \times 10^7$ CFU/ml, sedangkan jumlah sel khamir pada perlakuan berkisar $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ CFU/ml. Hasil perbandingan jumlah sel pada kontrol khamir dan perlakuan menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel pada perlakuan dibandingkan dengan kontrol sebesar 26,91--98,76 %. Hasil enumerasi pada kontrol kapang menunjukkan jumlah sel kapang berkisar $1 \times 10^6 - 1 \times 10^7$ CFU/ml, sedangkan pada perlakuan tidak menunjukkan adanya sel kapang (reduksi hingga 100%). Hasil tersebut mengindikasikan khamir dapat mendominasi nutrisi dan ruang pada medium, sehingga lebih cepat bereproduksi dibandingkan dengan kapang. Seiring dengan bertambahnya jumlah sel khamir, maka jumlah nutrisi pada medium semakin berkurang. Hal tersebut mengakibatkan kapang kekurangan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan reproduksi, sehingga kapang pada perlakuan antagonisme mengalami kematian atau mortalitas pada hari ke-4 inkubasi. Hasil enumerasi pada kontrol dan perlakuan selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 4.4.4.1, Tabel 4.4.4.2, dan Tabel 4.4.4.3. Menurut Janisiewicz dan Korsten (2002: 417), pada mekanisme antagonisme kompetisi terhadap ruang dan nutrisi, kesuksesan kompetisi khamir antagonis dapat ditunjukkan melalui pertumbuhan serta kolonisasi khamir yang lebih cepat dibandingkan dengan kapang. Li dkk. (2011:151--156) melaporkan interaksi antagonisme antara khamir *Rh. mucilaginosa* terhadap kapang patogen *Pen. expansum* dan *B. cinerea* terjadi melalui mekanisme kompetisi terhadap ruang dan nutrisi. Hasil interaksi menunjukkan jumlah sel khamir mengalami peningkatan yang cepat sejak inokulasi hari pertama ($7,04 \times 10^4$ CFU/ml) hingga pada hari ketiga ($6,05 \times 10^5$ CFU/ml). Peningkatan jumlah sel khamir mengakibatkan reduksi germinasi spora *B. cinerea* hingga 82,78% dan reduksi lebar koloni hingga 62,91% dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 4.4.4.1. Hasil enumerasi sel khamir pada kontrol dan perlakuan umur 2 hari dalam medium PCA pada suhu 28° C menggunakan metode TPC

Spesies	Faktor pengenceran	Jumlah sel (CFU/ml)					Persentase peningkatan (%)
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	Kisaran	
Kontrol UICC Y-515	10 ⁻³	>300	>300	>300	-	(1,66--	
	10 ⁻⁴	154	180	168	166,33	1,93) x 10 ⁷	
	10 ⁻⁵	20	18	20	19,33		
UICC Y-515 terhadap <i>A. niger</i>	10 ⁻⁴	>300	>300	>300	-	(2,67--4,6)	50,82
	10 ⁻⁵	60	45	33	46	x 10 ⁷	
	10 ⁻⁶	3	2	3	2,67		
UICC Y-515 terhadap <i>A. ochraceus</i>	10 ⁻⁴	224	221	250	231,67	(2,31--	26,91
	10 ⁻⁵	35	18	18	23,67	2,67) x 10 ⁷	
	10 ⁻⁶	2	4	2	2,67		
UICC Y-515 terhadap <i>A. terreus</i>	10 ⁻⁴	270	265	226	235,67	(2,52--	37,19
	10 ⁻⁵	18	27	31	25,33	3,67) x 10 ⁷	
	10 ⁻⁶	5	4	2	3,67		
Kontrol UICC Y-525	10 ⁻³	56	54	52	54	(5,4--7,33)	
	10 ⁻⁴	6	6	10	7,33	x 10 ⁵	
	10 ⁻⁵	-	-	-	-		
UICC Y-525 terhadap <i>A. niger</i>	10 ⁻⁴	>300	>300	>300	-	(4,33--	98,76
	10 ⁻⁵	60	61	58	59,67	5,96) x 10 ⁷	
	10 ⁻⁶	2	7	4	4,33		
UICC Y-525 terhadap <i>A. ochraceus</i>	10 ⁻⁴	30	20	31	27,33	(2--2,73) x	73,05
	10 ⁻⁵	3	2	1	2	10 ⁶	
	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
UICC Y-525 terhadap <i>A. terreus</i>	10 ⁻⁴	50	45	26	40,33	(2,33--	80
	10 ⁻⁵	3	2	2	2,33	4,03)x10 ⁶	
	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
Kontrol UICC Y-534	10 ⁻⁴	45	62	63	56,67	(5,67--6) x	
	10 ⁻⁵	9	7	2	6	10 ⁶	
	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
UICC Y-534 terhadap <i>A. niger</i>	10 ⁻⁴	>300	>300	>300	-	(1,33--2,9)	72,51
	10 ⁻⁵	20	32	35	29	x 10 ⁷	
	10 ⁻⁶	1	1	2	1,33		
UICC Y-534 terhadap <i>A. ochraceus</i>	10 ⁻⁴	>300	>300	>300	-	(1,33--	72,11
	10 ⁻⁵	25	38	22	28,33	2,83) x 10 ⁷	
	10 ⁻⁶	1	1	2	1,33		
UICC Y-534 terhadap <i>A. terreus</i>	10 ⁻⁴	>300	>300	>300	-	(1,67--	74,33
	10 ⁻⁵	37	21	28	28,67	2,67) x 10 ⁷	
	10 ⁻⁶	2	2	1	1,67		
Kontrol UICC Y-520	10 ⁻³	97	90	81	89,33	(8,33--	
	10 ⁻⁴	7	8	10	8,33	8,93) x 10 ⁵	
	10 ⁻⁵	-	-	-	-		
UICC Y-520 terhadap <i>A. niger</i>	10 ⁻⁴	17	14	15	15,33	(1,33--	39,65
	10 ⁻⁵	1	2	1	1,33	1,53) x 10 ⁶	
	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
UICC Y-520 terhadap <i>A. ochraceus</i>	10 ⁻⁴	20	23	23	22	(2,2--2,3)	61,64
	10 ⁻⁵	2	3	2	2,3	x 10 ⁶	
	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
UICC Y-520 terhadap <i>A. terreus</i>	10 ⁻⁴	29	16	22	22,33	(2--2,23) x	59,19
	10 ⁻⁵	1	3	2	2	10 ⁶	
	10 ⁻⁶	-	-	-	-		

Tabel 4.4.4.1. (Lanjutan)

Kontrol UICC Y-522	10 ⁻³	>300	>300	>300	-	(5,76--7,33)	
	10 ⁻⁴	80	42	51	57,67	x 10 ⁵	
	10 ⁻⁵	7	10	5	7,33		
UICC Y-522 terhadap <i>A. niger</i>	10 ⁻⁴	37	42	25	34,67	(3,46--3,67)	81,65
	10 ⁻⁵	2	4	5	3,67	x 10 ⁶	
UICC	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
UICC Y-522 terhadap <i>A. ochraceus</i>	10 ⁻⁴	72	51	35	52,67	(4,33--5,26)	86,36
	10 ⁻⁵	5	3	5	4,33	x 10 ⁶	
UICC	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
UICC Y-522 terhadap <i>A. terreus</i>	10 ⁻⁴	10	18	22	16,67	(1,67--2,33)	67,3
	10 ⁻⁵	2	1	4	2,33	x 10 ⁶	
UICC	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
Kontrol UICC Y-531	10 ⁻³	274	272	280	275,33	(2,75--7,33)	
	10 ⁻⁴	55	48	51	51,33	x 10 ⁵	
	10 ⁻⁵	9	6	7	7,33		
UICC Y-531 terhadap <i>A. niger</i>	10 ⁻⁴	43	66	41	50	(4,3--5) x	89,09
	10 ⁻⁵	1	7	5	4,3	10 ⁶	
UICC	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
UICC Y-531 terhadap <i>A. ochraceus</i>	10 ⁻⁴	55	80	70	68,33	(4,67--6,83)	91,18
	10 ⁻⁵	5	2	7	4,67	x 10 ⁶	
UICC	10 ⁻⁶	-	-	-	-		
UICC Y-531 terhadap <i>A. terreus</i>	10 ⁻⁴	87	65	88	80	(7--8) x 10 ⁶	93,24
	10 ⁻⁵	7	6	8	7		
UICC	10 ⁻⁶	-	-	-	-		

Keterangan:

UICC Y-515: *Cryptococcus flavescens*UICC Y-525: *Cryptococcus flavescens*UICC Y-534: *Cryptococcus flavuss*UICC Y-520: *Rhodotorula glutinis*UICC Y-522: *Rhodotorula mucilaginosa*UICC Y-531: *Rhodotorula mucilaginosa*

Tabel 4.4.4.2. Hasil enumerasi hifa/spora kapang pada kontrol umur 5 hari dalam medium PCA pada suhu 28° C menggunakan metode TPC

Spesies	Faktor pengenceran	Jumlah hifa/spora (CFU/ml)			Rata-rata	Kisaran
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3		
<i>Aspergillus niger</i> UICC	10 ⁻⁴	149	153	140	147,33	(1,47--4,4)
	10 ⁻⁵	42	54	36	44	x 10 ⁷
	10 ⁻⁶	5	3	2	3,33	
<i>Aspergillus ochraceus</i> UICC	10 ⁻³	182	178	181	180,33	(1,2--1,8) x
	10 ⁻⁴	14	11	11	12	10 ⁶
	10 ⁻⁵	3	1	1	1,67	
<i>Aspergillus terreus</i> UICC	10 ⁻³	112	132	141	128,33	(1,26--
	10 ⁻⁴	13	14	11	12,67	1,33) x 10 ⁶
	10 ⁻⁵	1	1	2	1,33	

Berdasarkan hasil pengujian antagonisme melalui metode *co-culture* diketahui bahwa khamir *Cryp. flavescens* UICC Y-515, *Cryp. flavescens* UICC Y-525, *Cryp. flavus* UICC Y-534, *Rh. glutinis* UICC y-520, *Rh. mucilaginosa* UICC Y-522, dan *Rh. mucilaginosa* UICC Y-531 memiliki kemampuan antagonisme. Kemampuan antagonisme keenam khamir tersebut ditunjukkan melalui peningkatan jumlah sel khamir sebesar 26,91--98,76%, peningkatan ukuran sel vegetatif khamir (panjang sel rata-rata meningkat sebesar 1,11--19,59% dan lebar sel rata-rata sebesar 0,82--19,42%), penghambatan waktu sporulasi hingga inkubasi hari ke-3, reduksi lebar hifa kapang sebesar 7,84--20,26%, dan mortalitas kapang sebesar 100% pada inkubasi hari ke-4. Pada penelitian ini telah diperoleh khamir yang memiliki kemampuan antagonisme paling potensial dibandingkan khamir lainnya, yaitu *Cryp. flavescens* UICC Y-525. Khamir tersebut mampu menekan pertumbuhan kapang yang ditunjukkan dari reduksi lebar hifa kapang rata-rata, yaitu sebesar 20,26%. Khamir tersebut juga mengalami peningkatan jumlah sel tertinggi dalam pengujian antagonisme, yaitu sebesar 98,76%. Oleh karena itu, khamir tersebut berpotensi sebagai agen biokontrol terhadap kapang patogen tanaman tomat yaitu, *A. niger* UICC, *A. ochraceus* UICC, dan *A. terreus* UICC. Secara umum, metode *co-culture* dapat digunakan untuk mengamati interaksi antagonisme antara khamir terhadap kapang. Namun demikian mikroskop trinokular kurang dapat memperlihatkan secara jelas adanya perubahan morfologi (hifa) kapang yang disebabkan oleh interaksi dengan khamir. Oleh karena itu, untuk pengamatan perubahan morfologi hifa yang lebih jelas diperlukan penggunaan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) yang memiliki perbesaran hingga 100.000x atau *Transmission Electron Microscopy* (TEM) yang memiliki perbesaran hingga 1.000.000x.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

1. Pengujian antagonisme menggunakan metode *co-culture* menunjukkan bahwa khamir *Cryp. flavescens* UICC Y-515, *Cryp. flavescens* UICC Y-525, *Cryp. flavus* UICC Y-534, *Rh. glutinis* UICC y-520, *Rh. mucilaginosa* UICC Y-522, dan *Rh. mucilaginosa* UICC Y-531 memiliki kemampuan antagonisme terhadap kapang *Aspergillus* spp. yang ditunjukkan melalui peningkatan jumlah sel khamir sebesar 26,91--98,76%, peningkatan ukuran sel vegetatif khamir (panjang sel rata-rata meningkat sebesar 1,11--19,59% dan lebar sel rata-rata sebesar 0,82--19,42%), penghambatan waktu sporulasi hingga inkubasi hari ke-3, reduksi lebar hifa kapang sebesar 7,84--20,26%, dan mortalitas kapang sebesar 100% pada inkubasi hari ke-4.
2. Khamir *Cryptococcus flavescens* UICC Y-525 merupakan khamir paling potensial dalam pengujian karena mampu mereduksi lebar hifa rata-rata, yaitu sebesar 20,26%, dan mengalami peningkatan jumlah sel tertinggi, yaitu sebesar 98,76%.

5.2 SARAN

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme keenam spesies khamir dalam melakukan interaksi antagonisme terhadap kapang *A. niger* UICC, *A. ochraceus* UICC, dan *A. terreus* UICC.
2. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap kemampuan antagonisme khamir *Cryptococcus flavescens* UICC Y-525 sebagai agen biokontrol terhadap kapang *A. niger* UICC, *A. ochraceus* UICC, dan *A. terreus* UICC.
3. Perlu digunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) atau *Transmission Electron Microscopy* (TEM) untuk pengamatan perubahan morfologi hifa akibat adanya interaksi dengan khamir.

DAFTAR REFERENSI

- Adiyoga, W., R. Suherman, T.A. Soetiarso, B. Jaya, B.K. Udiarto, R. Rosliani, & D. Mussadad. 2004. Profil komoditas tomat. Departemen Pertanian: 1--58 hlm.
- Andersen, B. & J.C. Frisvad. 2004. Natural occurrence of fungi and fungal metabolites in moldy tomatoes. *J. Agric. Food chem.* **52**: 7507--7513.
- Azizmohseni, F., L.A. Hejri & M. Azar. 2007. The potential of yeast, *Pseudozyma fusiformata* strain Y76 to control *Aspergillus flavus* for reducing aflatoxin in Pistachio. Proceedings of the 11th International Conference on Culture Collections: Connections between collections. 7--11 October 2007, Goslar Germany: 66--69 hlm.
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. *Batas maksimum kandungan mikotoksin dalam pangan*. Standar Nasional Indonesia (SNI), Jakarta: ii + 16 hlm.
- Barkai-Golan, R. & N. Paster. 2008. *Mycotoxins in fruits and vegetables*. Ed. Elsevier, Amsterdam: ix + 395 hlm.
- Bar-Shimon, M., H. Yehuda, L. Cohen, B. Weiss, A. Kobeshnikov, A. Daus, M. Goldway, M. Wisniewski, & S. Droby. 2004. Characterization of extracellular lytic enzymes produced by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. *Curr. Genet.* **45**: 140--148.
- Batzing, B.L., 2002. *Microbiology: An introduction*. Brooks/Cole Thomson Learning, Inc., London: xx + 780 hlm.
- Benson, H.J. 2001. *Microbiological application: Laboratory manual in general microbiology*. The McGraw-Hills Company, Inc., New York: xi + 478 hlm.
- Campbell, N.A., J.B. Reece, & L.G. Mitchell. 2004. *Biologi*. 5th ed. Terj. dari *Biologi*, oleh W. Manalu. Erlangga, Jakarta: xxi + 436 hlm.
- Castoria, R., F.De Curtis, G. Lima & V.De Cicco. 1997. B-1,3-glukanase activity of two saprophytic yeast and possible mode of actions as biocontrol agent against postharvest diseases. *Postharvest Bio. and Technol.* **12**: 293--300.
- Cappuccino, J.G. & N. Sherman. 2002. *Microbiology: A laboratory manual*. Benjamin Cummings, San Francisco: xvi + 491 hlm.

- Carlile, M. J., S. C. Watkinson, & G. W. Gooday. 2001. *The fungi*. Academic Press, California: xix + 588 hlm.
- Coelho, A.R., M.G. Celii, E.Y.S. Ono, G. Wosiacki, F.L. Hoffmann, F.C. Pagnocca, & E.Y. Hirooka. 2007. *Penicillium expansum* versus antagonist yeast and patulin degradation in vitro. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **50** (4): 725--733.
- D'Amelio, Frank. Sr. & Mirhom, Youssef. 2000. Paper Mulberry and its preparations as Tyrosinase Inhibitors and Skin Lightening Agents. *Cosmetic & Toiletries Manufacture Worldwide*: 31-34
- Damicone, J.P., K.E. Conway & L. Brandenberger. 2008. Common diseases of tomatoes: Part 1. Diseases caused by fungi. <http://osuextra.okstate.edu/pdfs/F-2625web.pdf>. 1 Maret 2012, pk. 21.00.
- Deacon, J. W. 2006. *Fungal biology*. Blackwell publishing, Cornwall: iv + 371 hlm.
- Deak, T. 2006. *Handbook of food spoilage yeasts*. 2nd ed. CRC Press, New York: xxi + 325 hlm.
- Droby, S., V. Vinokur, B. Weiss, L. Cohen, A. Daus, E.E. Goldschmidt, & R. Porat. 2001. Induction of resistance *Penicillium digitatum* in grapefruit, by the yeast biocontrol agent *Candida oleophila*. *Biol. control* **92** (4): 393--399.
- Druvefors, U. A. 2004. Yeast biocontrol of grain spoilage moulds: Mode of action of *Pichia anomala*. Doctoral Thesis, Department of Biology, Swedish University of Agriculture Science, Uppsala: 44 hlm.
- El Baz, A.F & Y.M. Shetaia. 2005. Determination of yeast killer toxin. *Int. J. Agri. Biol.* **7**(6): 1003--1006.
- Fell, J.W. & A.Statzell-Tallman. 1998a. *Cryptococcus Vuillemin*. *Dalam: Kurtzman, C.P & J.W. Fell (eds.). 1998. The yeast a taxonomic study*. 4th Ed. Elsevier, Amsterdam: 742--767.
- Fell, J.W. & A.Statzell-Tallman. 1998b. *Rhodotorula* F.C.Harrison. *Dalam: Kurtzman, C.P & J.W. Fell (eds.). 1998. The yeast a taxonomic study*. 4th Ed. Elsevier, Amsterdam: 800--827.

- Filonow, A. B. 2001. Butyl acetate and yeast interact in adhesion and germination of *Boutrytis cinerea* conidia *in vitro* and fungal decay of golden delicious apple. *Journal of chemical ecology*. **27** (4): 831--844.
- Fonseca, A. & Inacio, J. 2006. Phylloplane yeasts. *Dalam*: Rosa C.A. & G. Peter (eds.). 2006. *The yeast handbook*. Springer, Germany: 263--301.
- Gachomo, E.W. & S.O. Kotchoni. 2008. The use of *Trichoderma harzianum* and *T. viridae* as potential biocontrol agents against peanut microflora and their effectiveness in reducing aflatoxin contamination of infected kernels. *Asian Network for Scientific Information* **7** (3): 439--447.
- Ge, L., H. Zhang, K. Chen, L. Ma, & Z. Xu. 2010. Effect of chitin on the antagonistic activity of *Rhodotorula glutinis* against *Botrytis cinerea* in strawberries and the possible mechanisms involved. *Food Chemistry*. **120**: 490--495.
- Golubev, W.I. 2006. Antagonistic interactions among yeast. *Dalam*: Rosa C.A. & G. Peter (eds.). 2006. *The yeast handbook*. Springer, Germany: 197--219.
- Gomori, G. 1995. Preparation of buffers for use in the enzyme studies, *Dalam*: Colowick, S.P. & N.O. Kaplan. 1995. *Methods in enzymology*. Academic Press Inc., New York: 138--146.
- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal, & A. Oetari. 2006. *Mikologi dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xi = 238 hlm.
- Haggag, W.M. & H.A.A. Mohamed. 2007. Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, **1**(1): 7--12.
- Handarini. 2009. Pengujian kemampuan antagonistik khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi. *Dalam*: Pengujian kemampuan antagonistik khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas dan potensi *Candida* sp. Berkhout UICC U-328 sebagai agen biokontrol *Aspergillus ochraceus* Wilhelm pada tomat pascapanen. Tesis S2. FMIPA UI, Depok: 129 hlm.
- Hifziyah. 2009. Pengujian antagonisme pada khamir dari Cikaniki dan Gunung Kendeng, Taman Nasional Gunung Halimun, terhadap *Aspergillus* Link

- kontaminan pada lada (*Pipper Nigrum* L.). Skripsi S-1, departemen Biologi, FMIPA UI: x + 110 hlm.
- Hogg, S. 2005. *Essential microbiology*. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex: x + 468 hlm.
- Janisiewicz, W.J. & L. Korsten. 2002. Biological control of postharvest disease of fruits. *Annual Rev.* **40**: 411--441.
- Kalogiannis, S., S.E. Tjamos, A. Stergiou, P.P. Antoniou, B.N. Ziogas, & E.C. Tjamos. 2006. Selection and evaluation of phyllospere yeast as biocontrol agents against grey mould of tomato. *European Journal of Plant Pathology* **116**: 69--76.
- Kavanagh, K. 2005. *Fungi, biology and applications*. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex: xi + 267 hlm.
- Kurtzman, C. P. & Fell J. W. 1998. *The Yeast: A Taxonomic Study*, 3rd ed. Elsevier, Amsterdam: xvii + 1035 hlm.
- Kurtzman, C.P. & J.W. Fell. 2006. Yeast systematics and phylogeny-implications of molecular identification methods for studies in ecology. *Dalam*: Rosa C.A. & G. Peter (eds.). 2006. *The yeast handbook*. Springer, German: 11--30.
- Kutama, A.S., B.S. Aliyu, & I. Mohammed. 2007. Fungal pathogens associated with tomato wicker storage baskets. *Science Wolrd Journal.* **2**: 38--39.
- Li, R., H. Zhang, W. Liu, & X. Zheng. 2011. Biocontrol of postharvest gray and blue mold decay of apples with *Rhodotorula mucilaginosa* and possible mechanisms of action. *International Journal of Food Microbiology.* **146**: 151--156.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko & J. Parker. 2012. *Brock biology of microorganism*. 10th ed. Prentice Hall, London: xxv + 1019 hlm.
- Mahovic, M., S.A. Sargent & J.A. Bartz. 2004. *Identifying and controlling postharvest tomato diseases in Florida*. University of Florida. 1--15 hlm.
- Mokiou, S. 2004. Ecophysiology approaches to production and formulation of the biocontrol yeast *Pichia anomala*. Doctoral Thesis, Institute of Bioscience and Technology, Cranfield University: 214 hlm.

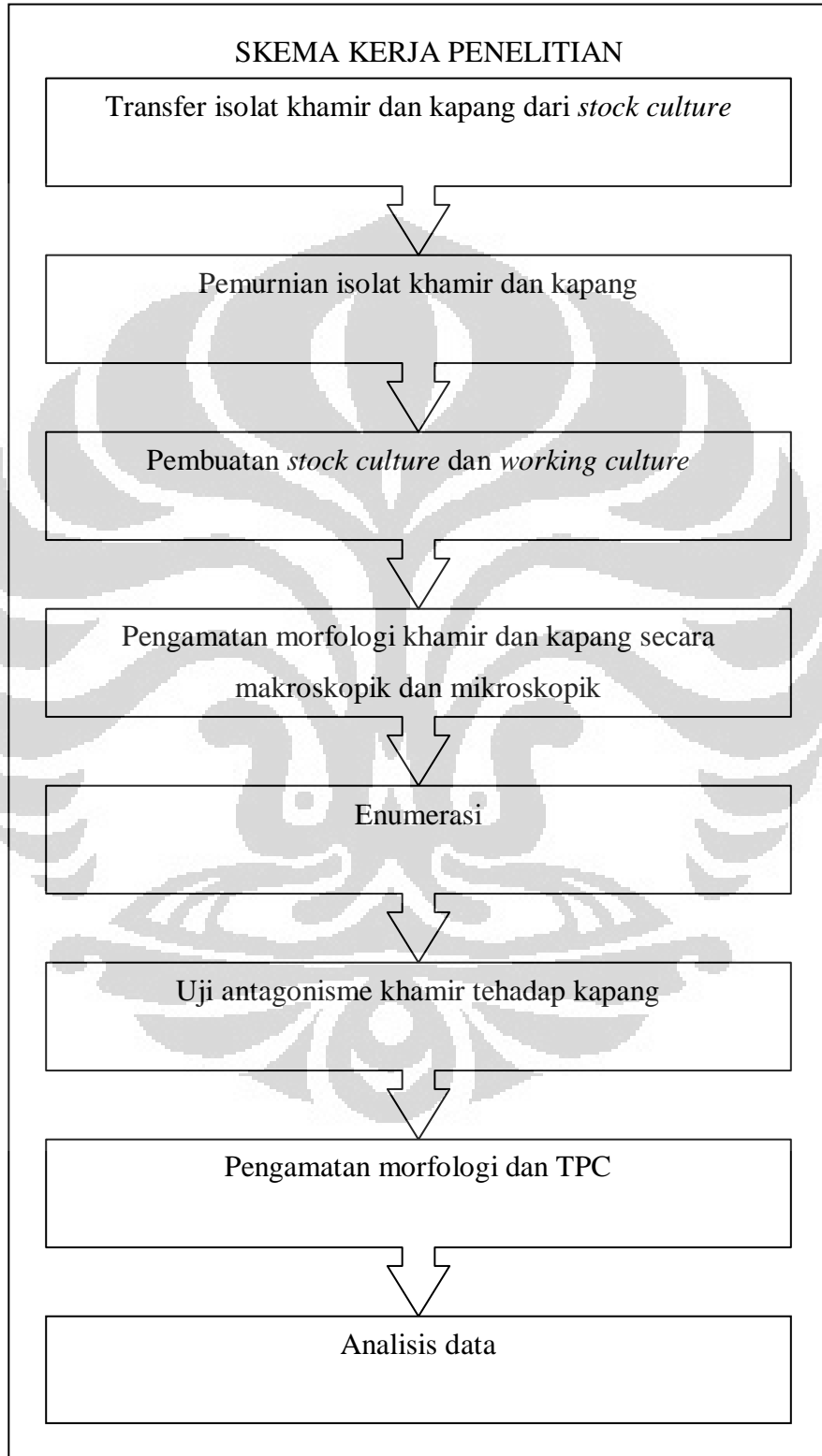
- Moricca, S. & A. Ragazzi. 2008. Biological and integrated means to control rust diseases. *Dalam: Ciancio, A. & K.J. Mukerji. 2008. Integrated management of diseases cause by fungi, phytoplasma, and bacteria.* Springer, German: 303--324.
- National Collection of Yeast Culture. 2012. 1 hlm. <http://www.ncyc.co.uk/photo-ncyc-CBS331.html>, 28 Mei 2012, pk. 21.00.
- 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 tahun 2007, Depok: xii + 86 hlm.
- Orwa C., A. Mutua, R. Kindt, R. Jamnadass, A. Simons. 2009. *Broussonetia papyrifera*: Paper mulberry. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0: 1--5.
- Permadi, T. 2005. *Konservasi tradisi pembuatan daluang sebagai salah satu upaya penyelamatan teknologo tradisional nusantara.* Disampaikan pada Diskusi Pakar dengan tema "Pemenuhan Hak Atas Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Budaya dan Seni" di Permata Bidakara Bandung Hotel, 28--29 November 2005.
- Permadi, T. 2010. Asal-usul pemanfaatan dan karakteristik daluang: bahan naskah dalam tradisi tulis nusantara. Bnadung: 1--29.
- Pitt, J.I. & Hocking, A.D. 2009. Fungi and food spoilage. 3rd ed. Springer, New york: xv + 503 hlm.
- Ray, B. 2004. *Fundamental food microbiology.* 3rd ed. CRC Press, Boca Raton: 608 hlm.
- Samson, R.A., E.S. Hoekstra, F. Lund, O. Fiterborg & J.C. Frisvad. 2004. Methods for detection, isolations and characterisation of food-borne fungi. *Dalam: Introduction to food and airborne fungi.* Centraalbureau voor Schimmeculture, Utrecht: 283--305.
- Sansone, G., I. Rezza, V. Calvente, D. Benuzzi, M. I. S. de Tosetti. 2005. Control of *Boutrytis cinerea* strains resistant of iprodione in apple with rhodotorulic acid and yeasts. *Postharvest biology and technology.* **35**: 245-251.

- Satyanarayana, T. & G. Kunze. 2009. *Yeast Biotechnology: Diversity and Applications*. Springer Science Business Media, Germany: xxi + 744 hlm.
- Sharma, N. & P. Awasthi. 2010. Postharvest technology – Yeast as biocontrol agents: Progress, problems and prospects. *Dalam: Arya, A. & A.E. Perello (eds.). 2010. Management of fungal plant pathogens*. CABI, London, UK: 100--120.
- Sharma, R.R., D. Singh, & R. Singh. 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biol. Control* **50**: 205--221.
- Sjamsuridzal, W. 2007. Yeast diversity and conservation Gunung Halimun National Park, Indonesia. Nagao Natural Environment Foundation, Depok: iii + 254 hlm.
- Sohn, H.Y., C.S. Kwon, & K.H. Son. 2010. Fungicidal effect of prenylated flavonol, papyriflanol A, isolated from *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. against *Candida albicans*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **20**(10): 1397--1402.
- Spadaro, D. 2003. Biological control of postharvest disease of pome fruit using yeast antagonist. Doctoral Thesis, Plant Pathology Sector, University of Turin, Turin: 126 hlm.
- Suganda, Her. 2001. Daluang dan tinda gentur dalam tradisi menulis masyarakat. *Kompas*: 26.
- Sukmawati, D., A. Oetari, & W. Sjamsuridzal. 2011. Isolation and identification of yeasts from *Broussonetia papyrifera* Vent. from Trowulan, Indonesia. *International Seminar on Current Reaserch Progress In Sciences and Technology*. September 2011, Bali, Indonesia: 1.
- Summerbell, R. 2002. Ascomycetes *Aspergillus*, *Fusarium*, *Sporothrix*, *Piedraia*, and their relatives. *Dalam: Howard, D.H. 2002. Pathogenic fungi in human and animal*. Marcel Dekker Inc., New York: 237--498.
- Tortora, G.J., B.R. Funke, & C.L. Case. 2001. *Microbiology: An introduction*. 7th ed. Benjamin Cumming Addison Wasley Longman, Inc., San Francisco: xxiv + 887 hlm.
- Viljoen, B.C. 2006. Yeast ecological interactions. Yeast-yeast, yeast-bacteria, yeast-fungi interaction, and yeast as biocontrol agents. *Dalam: Querol, A.*

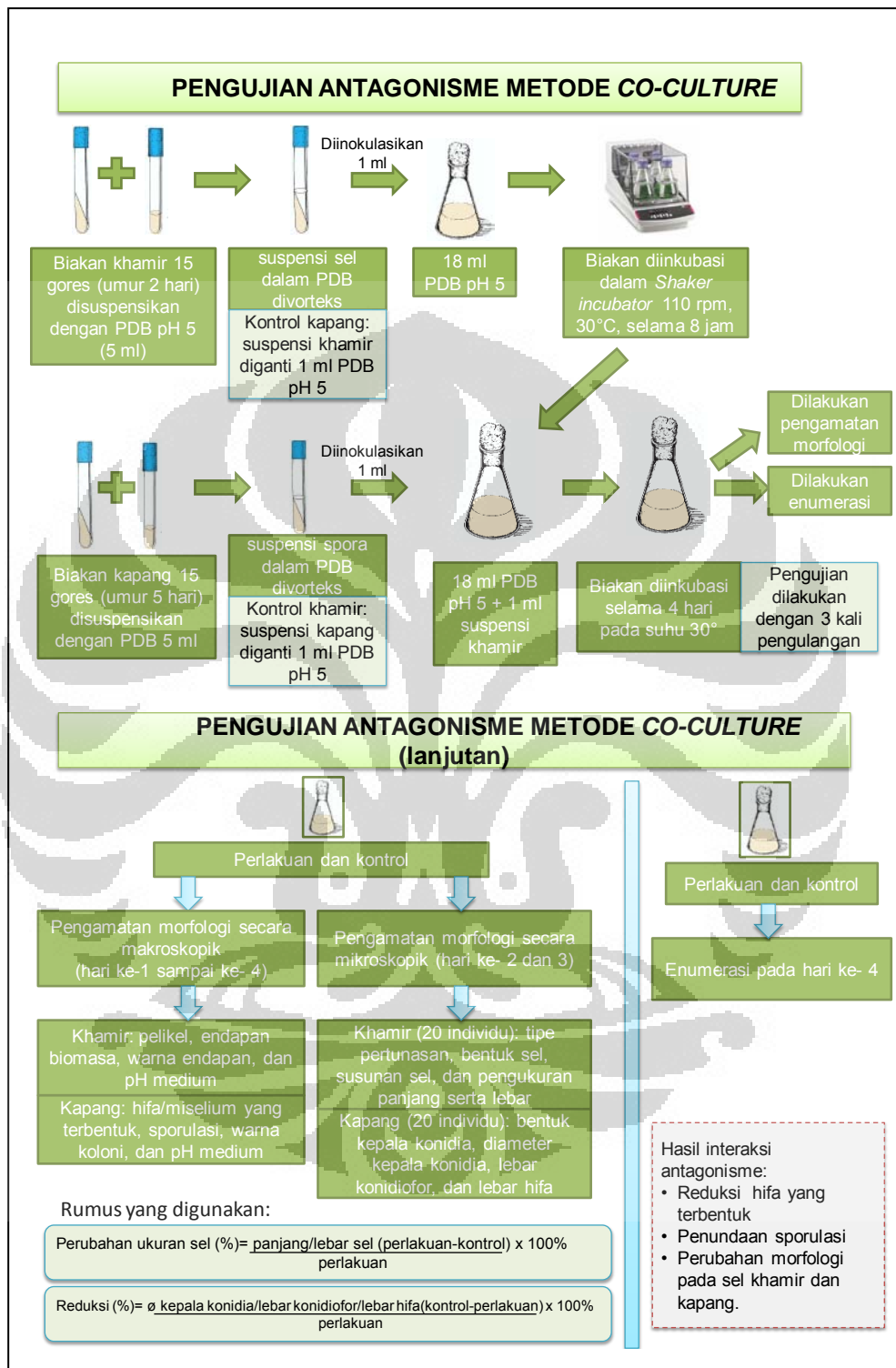
- & G. Fleet (eds.). 2006. *Yeast in food and beverages*. Springer, Germany: 83--110.
- Whistler, W. A. & C. R. Elevitch. 2006. *Broussonetia papyrifera* (paper mulberry). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*: 1--13.
- Widyastuti, S. 2008. Physical interactions between yeast *Pichia guilliermondii* and post-harvest fruit pathogen *Penicillium expansum*. *Hayati J. Biosci.* **15**(1): 27--31.
- Yarrow, D. 1998. Methods for the isolations, maintenance and identification of yeast. *Dalam*: Kurtzman, C.P & J.W. Fell (eds.). 1998. *The yeast a taxonomic study*. 4th Ed. Elsevier, Amsterdam: 77--100.
- Zhang Hong Yin, Cheng Xin Fu, Xiau Dong Zeng, Dan He, Li Jun Shan, & Xi Zhan. 2004. Effects of *Cryptococcus laurentii* (Kufferath) Skinner in combination with sodium bicarbonate on biocontrol of postharvest green mold decay of citrus fruit. *Bot. Bull. Acad. Sin.* **45**: 159--164.
- Zhang Hong Yin, Xiaodong Zeng, & Dongmin Su. 2005. Postharvest control of blue mold rot of pear by microwave treatment and *Cryptococcus laurentii*. *Journal of food engineering.* **77**: 539--544.
- Zhang Hong Yin, Zheng Xiao Dong, & Yu Ting. 2007. Biological control of postharvest diseases of peach with *Cryptococcus laurentii*. *Food control.* **18**: 287--291.
- Zhang Hong Yin, S. Wang, X. Huang, Y. Dong, & X. Zheng. 2008. Integrated control of postharvest blue mold decay of pears with hot water treatment and *Rhodotorula glutinis*. *Postharvest biology and technology.* **49**: 308--313.
- Zhang Hong Yin, L. Wang, L. Ma, Y. Dong, S. Jiang, B. Xu, & X. Zheng. 2009. Biocontrol of major postharvest pathogens on apple using *Rhodotorula glutinis* and its effects on postharvest quality parameters. *Biological control.* **48**: 79--83.
- Zheng Xiao Dong, Zhang Hong Yin, & Sun Ping. 2005. Biological control of postharvest green mold decay of orange by *Rhodotorula glutinis*. *Eur Food Res. Technol.* **220**: 355--357.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja penelitian



Lampiran 2. Cara kerja *co-culture*



Lampiran 3. Standar warna Faber Castell

101	white	166	grass green
103	ivory	171	light green
102	cream	170	apple green
104	zinc yellow	168	moss green
105	lemon cadmium	167	sap green
106	light chrome	158	sea green
107	lemon	159	Hooker's green
108	canary yellow	165	juniper green
109	orange yellow	172	grey green
111	tangerine	174	cedar green
113	light orange	173	olive green
115	dark orange	175	dark sepia
117	vermilion	177	sepia light
118	scarlet lake	176	van Dyck brown
121	pale geranium lake	178	nougat
126	dark carmine	180	raw umber
127	light carmine	179	bistre
123	fuchsia	182	brown ochre
133	wine red	183	gold ochre
125	dark magenta	185	light ochre
142	madder	184	ochre
128	rose madder lake	186	terracotta
129	pink madder lake	191	Pompeian red
119	light magenta	188	sanguine
134	magenta	187	burnt ochre
135	red violet	189	cinnamon
136	dark violet	190	Venetian red
138	violet	192	Indian red
139	light violet	193	burnt carmine
140	light ultramarine	169	caput mortuum
160	manganese violet	194	purple
137	blue violet	124	rose carmine
141	Delft blue	130	dark flesh
157	dark indigo	131	medium flesh
144	light cobalt blue	132	light flesh
120	ultramarine	270	warm grey I
143	deep cobalt	271	warm grey II
146	sky blue	272	warm grey III
147	light blue	273	warm grey IV
145	light phthalo blue	274	warm grey V
152	dark phthalo blue	275	warm grey VI
110	zinc blue	230	cold grey I
151	Prussian blue	231	cold grey II
149	oriental blue	232	cold grey III
155	night green	233	cold grey IV
153	peacock blue	234	cold grey V
154	aquamarine	235	cold grey VI
156	blue green	181	Payne's grey
161	viridian	199	black
163	emerald green	099	soft black
162	true green	250	gold
112	leaf green	251	silver
		252	copper

Lampiran 4. Hasil pengamatan berat medium pada perlakuan pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

No.	Perlakuan	Berat kolf (gr)	Berat medium awal (gr)	Berat medium (gr)			
				Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
1	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. niger</i> UICC	70,79	89,31	89,2	89,07	88,79	88,58
		Penurunan berat:		0,11	0,13	0,28	0,21
		Persentase penurunan:		0,12%	0,14%	0,31%	0,23%
2	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	74,2	92,69	92,51	92,38	92,14	91,94
		Penurunan berat:		0,18	0,13	0,24	0,2
		Persentase penurunan:		0,19%	0,14%	0,26%	0,21%
3	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	75,41	93,57	92,73	92,25	91,94	91,71
		Penurunan berat:		0,84	0,48	0,41	0,23
		Persentase penurunan:		0,89%	0,51%	0,44%	0,25%
4	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. niger</i> UICC	74,91	93,54	93,40	93,27	92,99	92,74
		Penurunan berat:		0,14	0,13	0,28	0,25
		Persentase penurunan:		0,15%	0,13%	0,3%	0,26%
5	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	75,23	93,52	92,71	92,47	92,91	91,98
		Penurunan berat:		0,81	0,24	0,26	0,23
		Persentase penurunan:		0,86%	0,25%	0,28%	0,24%
6	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	76,29	95,02	94,69	94,5	94,22	93,99
		Penurunan berat:		0,33	0,19	0,28	0,23
		Persentase penurunan:		0,34%	0,2%	0,29%	0,24%
7	<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. niger</i> UICC	76,1	94,9	94,43	94,29	94,03	93,77
		Penurunan berat:		0,47	0,14	0,26	0,26
		Persentase penurunan:		0,49%	0,14%	0,26%	0,24%
8	<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	72,68	91,18	91,05	90,18	90,65	90,43
		Penurunan berat:		0,13	0,16	0,24	0,22
		Persentase penurunan:		0,14%	0,17%	0,26%	0,24%
9	<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	75,89	94,12	94	93,87	93,61	93,4
		Penurunan berat:		0,12	0,13	0,26	0,21
		Persentase penurunan:		0,12%	0,13%	0,27%	0,22%
10	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. niger</i> UICC	76,19	93,82	93,62	93,46	93,22	92,22
		Penurunan berat:		0,2	0,16	0,24	0,3
		Persentase penurunan:		0,21%	0,17%	0,25%	0,32%
11	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	82,83	101,38	101,27	101,13	100,84	100,66
		Penurunan berat:		0,11	0,14	0,36	0,21
		Persentase penurunan:		0,11%	0,14%	0,36%	0,21%
12	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	77,16	92,58	90,84	89,9	89,57	89,34
		Penurunan berat:		1,74	0,94	0,33	0,23
		Persentase penurunan:		1,87%	1,03%	0,36%	0,25%

Lampiran 5. Hasil pengamatan berat medium pada kontrol khamir dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

No.	Spesies	Berat kolf (gr)	Berat medium awal (gr)	Berat medium (gr)				
				Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	
1	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-515	75,62	94,33	94,21	94,08	93,82	93,60	
				Penurunan berat:	0,12	0,13	0,26	0,22
				Persentase penurunan:	0,13%	0,14%	0,27%	0,23%
2	<i>Cryp. flavescens</i> UICC Y-525	75,21	93,45	93,28	93,15	92,87	92,64	
				Penurunan berat:	0,17	0,13	0,28	0,23
				Persentase penurunan:	0,18%	0,14%	0,3%	0,24%
3	<i>Cryp. flavus</i> UICC Y-534	74,78	95,21	92,98	92,85	92,61	92,4	
				Penurunan berat:	2,23	0,13	0,24	0,21
				Persentase penurunan:	2,24%	0,14%	0,24%	0,22%
4	<i>Rh. glutinis</i> UICC Y-520	76,52	93,97	93,69	93,54	93,29	93,07	
				Penurunan berat:	0,28	0,15	0,25	0,22
				Persentase penurunan:	0,29%	0,16%	0,26%	0,23%
5	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-522	72	90,89	90,52	90,33	90,07	89,85	
				Penurunan berat:	0,37	0,19	0,26	0,22
				Persentase penurunan:	0,41%	0,21%	0,28%	0,24%
6	<i>Rh. mucilaginosa</i> UICC Y-531	74,16	92,58	92,43	92,28	92,04	91,8	
				Penurunan berat:	0,15	0,15	0,24	0,24
				Persentase penurunan:	0,16%	0,16%	0,26%	0,26%

Lampiran 6. Hasil pengamatan berat medium pada kontrol kapang dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C

No.	Spesies	Berat kolf (gr)	Berat medium awal (gr)	Berat medium (gr)				
				Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	
1	<i>Aspergillus niger</i> UICC	75,62	94,33	94,21	94,08	93,82	93,60	
				Penurunan berat:	0,12	0,13	0,26	0,22
				Persentase penurunan:	0,13%	0,14%	0,27%	0,23%
2	<i>Aspergillus ochraceus</i> UICC	75,21	93,45	93,28	93,15	92,87	92,64	
				Penurunan berat:	0,17	0,13	0,28	0,23
				Persentase penurunan:	0,18%	0,14%	0,3%	0,24%
3	<i>Aspergillus terreus</i> UICC	74,78	95,21	92,98	92,85	92,61	92,4	
				Penurunan berat:	2,23	0,13	0,24	0,21
				Persentase penurunan:	2,24%	0,14%	0,24%	0,22%