



UNIVERSITAS INDONESIA

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

SKRIPSI

**SAVITRY PANDU WIJAYA
0806327603**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

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

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains

**SAVITRY PANDU WIJAYA
0806327603**

**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 : Savitry Pandu Wijaya

NPM : 0806327603

Tanda tangan : 

Tanggal : 28 Juni 2012

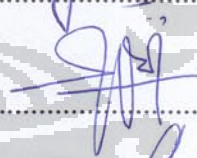
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Savitry Pandu Wijaya
NPM : 0806327603
Program studi : Biologi
Judul skripsi : Kemampuan Antagonisme Khamir Filum
Ascomycota dari Tanaman Saeh (*Broussonetia
papyrifera* Vent.) Asal Bandung terhadap
Aspergillus spp. UICC

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Ariyanti Oetari, Ph.D. (.....) 

Penguji I : Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. (.....) 

Penguji II : Dra. Lestari Rahayu K., M.Sc. (.....) 

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 28 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji bagi Allah SWT atas rahmat, hidayah, dan kemurahan hatiNya yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian hingga akhir penulisan skripsi. Shalawat dan salam penulis limpahkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga, dan sahabat. Penulis menyadari bahwa banyak bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ariyanti Oetari, Ph.D. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan dana penelitian, waktu, tenaga, dan kesabaran untuk membimbing, mengarahkan, dan memberi saran kepada penulis dalam melaksanakan penelitian dan menyusun skripsi;
2. Hibah Riset Unggulan Prioritas *Indigenous Studies* tahun 2010 atas nama Ariyanti Oetari, Ph.D. yang telah membiayai penelitian ini;
3. Wellyzar Sjamsuridzal, Ph.D. dan Lestari Rahayu, M.Sc. selaku dosen penguji dan seluruh dosen Biologi FMIPA UI yang telah memberikan berbagai saran dan membantu penulis selama penelitian;
4. Dr. rer. nat. Mufti Petala Patria, M.Sc., selaku Ketua Departemen Biologi dan Ketua Sidang, Dra. Nining Betawati Prihantini, M.Sc., selaku Sekretaris Departemen Biologi FMIPA UI, serta Dra. Titi Soedjiati, S.U., selaku Koordinator Pendidikan Departemen Biologi FMIPA UI;
5. Drs. Wisnu Wardhana, M.Si. selaku Penasehat Akademik yang telah memberikan saran dan dukungan selama penulis melakukan penelitian;
6. Seluruh karyawan Departemen Biologi FMIPA UI atas semua bantuan yang diberikan, terutama Ahmad Surpriyadi, S.Pi dan Asri Martini, S.Si;
7. Bapak Wijayanto Hidayat, M.Pd., Ibu Sri Hartati, M.M., dan Adik Saniar Rabithoh Wijaya sebagai keluarga yang selalu memberikan do'a, dukungan moril maupun materi, cinta, dan canda tawa kepada penulis;
8. Aviel Daning Avreza, Alein Oktaviani, S.Si, Handarini, M.Si, Dila Muliasari, Fitriani Anggraini, Nur Endah Satiti, Okky Rulistya, Diah Oktofa, Putri Pratiwi, Zulfa Hanif, Dayla, Yudi Yanto, Yuan Achda, Annisa Fauziah, Aulia Ayu, Apep, Ciwan, Kresna, Iwan, DIVAS (Nur El Fadhila, Hanum Puspa,

dan Seyla Fenina), CANNON (Chintya, Grand, Dhian, Nur Amalina, dan Oktarina), DEMON (Dessy, Michelle, Edvan, Omen, Alvin), CITRUS (Chiki, Faton, Rusli, dan Sentot), NADIN (Hana dan Bidin), RED (Fahreza dan Dachniar), Reno Fitri, M.Si, Dalia Sukmawati, M.Si, Retno Widowati, M.Si, Murniati Purba, S.Si, Dafina Ghossani, S.Si, Irvan Maulana, S.Si, Mbak Venti, teman-teman BIOSENTRIS, ZYGOMORPHIC, BIOGENESIS, BACILLUS, BLOSSOM, KSHL COMATA, dan semua pihak yang telah banyak membantu menyelesaikan skripsi atas bantuan yang diberikan hingga penyusunan skripsi.

Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca dan perkembangan ilmu pengetahuan selanjutnya.

Penulis

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Savitry Pandu Wijaya
NPM : 0806327603
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 Non eksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

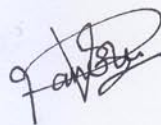
Kemampuan Antagonisme Khamir Filum *Ascomycota* dari Tanaman Saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) Asal Bandung terhadap *Aspergillus* spp. UICC

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan memublikasi 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



(Savitry Pandu Wijaya)

ABSTRAK

Nama : Savitry Pandu Wijaya
Program Studi : Biologi
Judul : Kemampuan Antagonisme Khamir Filum
Ascomycota dari Tanaman Saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) Asal Bandung terhadap
Aspergillus spp. UICC

Penelitian dilakukan untuk mengetahui kemampuan antagonisme khamir Filum *Ascomycota* dari tanaman saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) asal Bandung terhadap *Aspergillus* spp. UICC dari tanaman tomat terinfeksi menggunakan metode *co-culture*. Seluruh khamir yang diuji (*Candida quercitrusa* UICC Y-470, *Debaryomyces nepalensis* UICC Y-456, *Pichia burtonii* UICC Y-468, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471, dan *Wickerhamomyces anomalus* UICC Y-455) bersifat antagonis terhadap *Aspergillus* spp. UICC. *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 merupakan khamir antagonis paling potensial karena memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kapang dan mereduksi lebar hifa kapang *A. terreus* UICC sebesar 56,90% hingga inkubasi hari ke-3.

Kata kunci: antagonisme, *Ascomycota*, *Aspergillus*, *Broussonetia papyrifera*, *co-culture*, khamir, *Saccharomycetales* sp.

xii + 82 halaman; 21 gambar; 13 tabel; 11 lampiran
Daftar acuan: 59 (1995--2012)

ABSTRACT

Name : Savitry Pandu Wijaya
Study program : Biology
Title : The Antagonism Activity of *Ascomycota* Yeasts from Saeh Plant (*Broussonetia papyrifera* Vent.) from Bandung Against *Aspergillus* spp. UICC

This research investigated the antagonism activity of Phylum *Ascomycota* yeasts of saeh plant (*Broussonetia papyrifera* Vent.) from Bandung against *Aspergillus* spp. UICC from infected tomato plant using co-culture method. All the yeasts (*Candida quercitrusa* UICC Y-470, *Debaryomyces nepalensis* UICC Y-456, *Pichia burtonii* UICC Y-468, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471, and *Wickerhamomyces anomalus* UICC Y-455) are antagonists. *Saccharomycetales* sp. UICC Y-468 is the most potential antagonistic yeast by inhibiting the growth of hyphae and reducing hyphal length of *Aspergillus terreus* UICC up to 56.90% at day-3.

Keywords: antagonism, *Ascomycota*, *Aspergillus*, *Broussonetia papyrifera*, *Saccharomycetales* sp., yeast

xii + 82 pages; 21 pictures; 13 tables; 11 appendices
Bibliography: 59 (1995--2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Fungi	6
2.2 Khamir Antagonis	6
2.3 Tanaman Saeh (<i>Broussonetia papyrifera</i> Vent.)	10
2.4 Kapang Patogen pada Tanaman Tomat	12
2.5 Aplikasi Biokontrol	15
3. METODE PENELITIAN	16
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.2.1 Alat.....	16
3.2.2 Bahan	16
3.2.2.1 Mikroorganisme	16
3.2.2.2 Medium	17
3.2.2.3 Bahan kimia	17
3.2.2.4 Bahan habis pakai	18
3.3 Cara Kerja	18
3.3.1 Pembuatan medium	18
3.3.1.1 <i>Plate Count Agar</i> (PCA)	18
3.3.1.2 <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	18
3.3.1.3 <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB)	19
3.3.1.4 <i>Yeast Malt Agar</i> (YMA)	19
3.3.2 Pembuatan larutan penyangga sitrat-fosfat pH 5,0.....	19
3.3.3 Pemurnian khamir dan kapang	20
3.3.4 Pembuatan <i>stock culture</i> dan <i>working culture</i>	20
3.3.5 Pengamatan morfologi khamir	21
3.3.6 Pengamatan morfologi kapang	21
3.3.7 Enumerasi sel khamir dan spora kapang dengan metode TPC	22
3.3.8 Pengujian kemampuan antagonisme khamir terhadap kapang dalam medium cair dengan metode <i>co-culture</i>	22
3.3.9 Pengolahan dan analisis data	24

4. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Pengamatan Morfologi Khamir	25
4.2 Pengamatan Morfologi Kapang	32
4.3 Enumerasi Sel Khamir dan Spora Kapang	35
4.4 Uji Antagonisme dengan Metode <i>Co-culture</i>	37
4.4.1 Pengamatan pertumbuhan khamir pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme	38
4.4.2 Pengamatan pertumbuhan kapang pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme	39
4.4.3 Pengamatan pengukuran berat medium pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme	44
4.4.4 Pengaruh kemampuan antagonisme khamir terhadap morfologi sel Kapang dan ukuran sel khamir pada pengujian antagonisme	47
4.4.5 Pengamatan enumerasi pada kontrol dan perlakuan hasil pengujian antagonisme	54
5. KESIMPULAN DAN SARAN	58
DAFTAR ACUAN	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.2.1 Morfologi <i>Candida quercitrusa</i>	7
Gambar 2.2.2 Morfologi <i>Debaryomyces nepalensis</i>	8
Gambar 2.2.3 Morfologi <i>Pichia burtonii</i>	9
Gambar 2.2.4 Morfologi <i>Wickerhamomyces anomalus</i>	10
Gambar 2.3.1 Daun <i>Broussonetia papyrifera</i>	11
Gambar 2.4.1 Morfologi <i>Aspergillus niger</i>	13
Gambar 2.4.2 Morfologi <i>Aspergillus ochraceus</i>	13
Gambar 2.4.3 Morfologi <i>Aspergillus terreus</i>	14
Gambar 4.1.1 Morfologi koloni khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C	29
Gambar 4.1.2 Morfologi sel khamir <i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470, <i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456, dan <i>P. burtonii</i> UICC Y-468 umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu inkubasi 28° C	30
Gambar 4.1.3 Morfologi sel khamir <i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462, <i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471, dan <i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu inkubasi 28° C	31
Gambar 4.2.1. Morfologi koloni kapang umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu inkubasi 28° C	34
Gambar 4.2.2 Morfologi <i>Aspergillus</i> spp. UICC secara mikroskopik umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28° C	35
Gambar 4.4.2.1 Kontrol <i>A. niger</i> UICC dan perlakuan khamir terhadap	

kapang <i>A. niger</i> UICC dalam medium PDB pH 5 pada suhu 28° C	41
Gambar 4.4.2.2 Kontrol <i>A. ochraceus</i> UICC dan perlakuan khamir terhadap kapang <i>A. ochraceus</i> UICC dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	42
Gambar 4.4.2.3 Kontrol <i>A. terreus</i> UICC dan perlakuan khamir terhadap kapang <i>A. terreus</i> UICC dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	43
Gambar 4.4.3.1 Diagram batang pengukuran berat medium kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme menggunakan medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	46
Gambar 4.4.4.1 Diagram batang reduksi lebar hifa kapang dalam pengujian antagonisme menggunakan medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	48
Gambar 4.4.4.2 Hasil interaksi antagonisme pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C pada hari ke-3 inkubasi	49
Gambar 4.4.4.3 Diagram batang perubahan panjang dan lebar sel vegetatif rata-rata pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C pada hari ke-3 inkubasi	52
Gambar 4.4.4.4 Sel khamir pada kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C pada hari ke-3 inkubasi	53

DAFTAR TABEL

3.2.2.1.1 Daftar spesies khamir filum <i>Ascomycota</i> dari daun saeh (<i>Br. papyrifera</i>) asal Bandung yang digunakan pada penelitian	17
3.2.2.1.2 Daftar spesies kapang patogen daun tanaman tomat (<i>L. esculentum</i>) yang digunakan pada penelitian	17
4.1.1 Hasil pengamatan morfologi koloni khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C	28
4.1.2 Hasil pengamatan morfologi sel khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C	29
4.2.1 Hasil pengamatan morfologi koloni kapang umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28° C	33
4.2.2 Hasil pengamatan mikromorfologi kapang umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28° C	34
4.3.1 Hasil enumerasi sel khamir filum <i>Ascomycota</i> dalam medium PCA pada suhu 28° C	36
4.3.2 Hasil enumerasi kapang <i>Aspergillus</i> spp. UICC dalam medium PCA pada suhu 28° C	36
4.4.3.1 Pengamatan pengukuran berat medium kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	45

4.4.4.1 Reduksi lebar hifa kapang pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	48
4.4.4.2 Hasil pengukuran perubahan sel vegetatif khamir pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	51
4.4.5.1 Hasil enumerasi kapang pada kontrol dalam pengujian antagonisme pada medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	56
4.4.5.2 Hasil enumerasi khamir pada kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Penelitian	64
Lampiran 2. Standar Warna Faber Castell	65
Lampiran 3. Enumerasi Menggunakan Metode TPC	66
Lampiran 4. Uji Antagonisme Menggunakan Metode <i>Co-culture</i>	67
Lampiran 5. Hasil enumerasi khamir filum <i>Ascomycota</i> dalam medium PCA pada suhu 28° C	68
Lampiran 6. Hasil enumerasi <i>Aspergillus</i> spp. UICC dalam medium PCA pada suhu 28° C	69
Lampiran 7. Pengamatan pertumbuhan koloni khamir pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C	70
Lampiran 8. Pengamatan pertumbuhan koloni kapang pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C	72
Lampiran 9. Perhitungan berat medium kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	74
Lampiran 10. Pengamatan morfologi khamir secara mikroskopik pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	76
Lampiran 11. Hasil enumerasi khamir filum <i>Ascomycota</i> pada kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C	78

BAB 1 PENDAHULUAN

Mikroorganisme melakukan interaksi dengan mikroorganisme lain di habitat yang sama (Ray 2008: 50--51). Salah satu interaksi mikroorganisme pada habitat yang sama adalah interaksi antagonisme, yaitu interaksi yang merugikan suatu mikroorganisme, sedangkan mikroorganisme lain diuntungkan (Barton & Northup 2011: 161). Salah satu mikroorganisme yang memiliki kemampuan antagonisme adalah khamir. Khamir yang memiliki kemampuan antagonisme disebut khamir antagonis (Fonseca & Inacio 2006: 289).

Salah satu khamir antagonis adalah khamir *phylloplane* (khamir pada permukaan daun). Khamir *phylloplane* memiliki kemampuan beradaptasi dengan baik pada habitat, tumbuh dengan cepat, serta tahan terhadap kekeringan. Kemampuan tersebut dapat meningkatkan jumlah individu dalam populasi khamir dengan cepat, sehingga khamir dapat berkompetisi dengan mikroorganisme lain yang tumbuh di daun untuk memperoleh makanan dan ruang hidup. Aktivitas mikroorganisme *phylloplane* didukung oleh kelembaban dan ketersediaan air yang cukup tinggi di daun. Struktur trikum pada daun turut memengaruhi keberadaan dan kepadatan mikroorganisme *phylloplane* karena berperan dalam memerangkap mikroorganisme dari udara di sekitar daun (Fonseca & Inacio 2006: 265).

Daun menyediakan sumber nutrisi untuk pertumbuhan khamir. Khamir *phylloplane* termasuk ke dalam filum *Ascomycota* dan *Basidiomycota*. Khamir filum *Ascomycota* dilaporkan memiliki kemampuan antagonisme (Fonseca & Inacio 2006: 265). Oetari dkk. (2011:1) telah melakukan isolasi dan identifikasi terhadap khamir *phylloplane* pada tanaman saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) asal Garut dan Bandung, Jawa Barat. Isolat khamir filum *Ascomycota* yang diperoleh, antara lain *Debaryomyces nepalensis* S. Goto & Sugiyama, *Pichia burtonii* Boidin, Pignatelli, Lehoucq, Vey & Abadie, *Wickerhamomyces anomalus* (Hansen) Kurtzman, *Candida* Berkhout., dan *Saccharomycetales* sp.

Tanaman *Br. papyrifera* di Indonesia memiliki manfaat sebagai bahan pembuatan kertas daluang, namun seiring dengan masuknya kertas pabrik dari Eropa, daluang dianggap tidak layak. Hal tersebut mengakibatkan tradisi

pembuatan daluang dan keberadaan tanaman *Br. papyrifera* nyaris punah di Indonesia (Permadi 2005: 2). Manfaat lain dari tanaman *Br. papyrifera* adalah memiliki kemampuan menghasilkan senyawa antioksidan, anti inflamasi, antikanker dan antifungal yang bermanfaat bagi manusia (López-Lázaro 2009: 31 & 44). Orwa dkk. (2009: 4) melaporkan bahwa daun *Br. papyrifera* dapat menghasilkan senyawa yang berfungsi sebagai antimikroba dan diasumsikan fungi yang hidup pada daun *Br. papyrifera* memiliki kelebihan berupa kemampuan dalam menghambat pertumbuhan fungi patogen.

Menurut Blum (2000: 762), pertumbuhan fungi patogen pada tanaman dapat dihambat oleh khamir yang berasal dari daun. Golubev (2004: 209) melaporkan bahwa kemampuan antagonisme khamir akan lebih kuat apabila khamir tersebut melawan khamir dari habitat yang berbeda. Kemampuan antagonisme khamir berhubungan dengan aktivitas mikosin yang dihasilkan. Khamir antagonis akan menganggap khamir dari habitat berbeda sebagai kompetitor asing, sehingga aktivitas mikosin yang dihasilkan khamir untuk berkompetisi dengan khamir lain akan meningkat. Kalogiannis (2006: 69) melaporkan bahwa kemampuan antagonisme khamir dapat dimanfaatkan dalam melawan kapang patogen pada tanaman dan buah tomat.

Kapang sering menyebabkan kerusakan pada tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Blum 2000: 761). Oktaviani (2009: 108) melaporkan bahwa kapang *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) E. Cohn, *Aspergillus ochraceus* Wilhelm, dan *Aspergillus terreus* Thom ditemukan pada tanaman tomat terinfeksi. Herlina (2009: 62--63) melaporkan bahwa kerusakan pada tanaman tomat dapat berupa layu daun, kebusukan daun, dan daun menggulung yang akan mengakibatkan proses perkembangan, produksi, dan kualitas buah mengalami penurunan. Hal tersebut turut memengaruhi perekonomian negara, terutama negara Indonesia karena tomat merupakan hortikultura yang menjadi komoditi utama negara tersebut. Gandjar dkk. 2006: 100) melaporkan bahwa tomat yang terinfeksi oleh kapang *Aspergillus* berbahaya bagi manusia karena dapat menghasilkan mikotoksin.

Kapang dapat bersifat patogen dan merusak tanaman tomat karena menghasilkan enzim pendegradasi dinding sel tanaman tomat (Arya & Perello

2010: 4). Kapang dapat menginfeksi tanaman tomat melalui luka pada tanaman (Andersen & Frisvad 2004: 7505). Hal tersebut didukung oleh lapisan kulit tomat yang tipis, kandungan air yang tinggi, dan kisaran pH 4,5--5,0 pada tomat yang mendukung pertumbuhan kapang patogen tomat (Arya & Perello 2010: 4).

Pertumbuhan kapang dapat dihambat oleh khamir melalui beberapa mekanisme, antara lain antibiosis, kompetisi ruang dan nutrisi, parasitisme, dan predasi. Antibiosis adalah interaksi mikroorganisme dengan menghasilkan senyawa metabolit yang menghambat mikroorganisme lain. Kompetisi ruang dan nutrisi adalah persaingan mikroorganisme untuk mendapatkan makanan atau ruang. Parasitisme dan predasi adalah interaksi fisik antar mikroorganisme yang dapat merugikan mikroorganisme lain (Satyanarayana & Kunze 2009: 205).

Mekanisme antibiosis dilaporkan oleh Druvefors (2005: 9--18) antara khamir *Pichia anomala* (E.C. Hansen) Kurtzman dan kapang *Penicillium roqueforti* Thom. Khamir menghasilkan *killer toxin* yang dapat merusak membran sel kapang, menghambat transpor nutrisi ke dalam sel kapang, dan menghentikan fase pertumbuhan pada siklus sel kapang. Sekresi enzim β -1,3-glukanase oleh sel khamir mengakibatkan degradasi komponen dinding hifa kapang. Hasil interaksi adalah adanya penipisan dinding sel hifa kapang.

Mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi dilaporkan oleh Chan dan Tian (2005: 218) antara khamir *Pichia membranifaciens* E.C. Hansen dan kapang *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey. Sel khamir melakukan penempelan pada hifa kapang dan memproduksi enzim kitinase dan β -1,3-glukanase yang akan menguraikan komponen dinding hifa kapang dan dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi oleh khamir. Hasil interaksi memperlihatkan adanya penipisan dinding hifa kapang serta reduksi lebar hifa kapang.

Mekanisme predasi dilaporkan oleh Pimenta dkk. (2008: 87) antara khamir *Saccharomycopsis schoenii* (Nadson & Krasil'nikov) Kurtzman & Robne dan kapang *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc. Mekanisme predasi diawali dengan menempelnya sel khamir pada hifa kapang, kemudian sel khamir membentuk struktur haustoria yang memanjang ke dalam sitoplasma pada dinding sel hifa kapang. Hasil interaksi diperlihatkan dengan hifa kapang rusak, hifa patah, pertumbuhan hifa terhambat dan hifa kapang mengalami kematian.

Khamir antagonis yang melakukan mekanisme antagonisme dapat dimanfaatkan sebagai agen biokontrol terhadap kapang patogen (Saligkarias dkk. 2002: 151). Khamir digunakan sebagai agen biokontrol karena memiliki kemampuan berkolonisasi dengan cepat, bertahan di permukaan tubuh inang dalam jangka waktu lama, menghasilkan enzim litik pendegradasi dinding sel kapang, dan menghasilkan metabolit sekunder yang tidak membahayakan manusia (Raspor dkk. 2010: 337). Blum (2000: 762--764) melaporkan bahwa khamir *Candida oleophila* Montrocher Y-180 digunakan sebagai agen biokontrol kapang patogen tanaman tomat. Aplikasi dilakukan dengan menyemprotkan suspensi khamir *C. oleophila* Y-180 pada tanaman tomat dan khamir *C. oleophila* Y-180 terbukti dapat mengurangi bintik hitam pada tanaman tomat sebesar 50% akibat serangan *Septoria lycopersici* Speg. selama inkubasi 30 hari.

Beberapa agen biokontrol dari khamir filum *Ascomycota* telah terdaftar dan dipatenkan. Produk biokontrol yang telah dipatenkan dan dikomersilkan oleh Ecogen Incorporation di Pennsylvania adalah Aspire. Produk Aspire mengandung khamir *C. oleophila* yang diaplikasikan melalui penyemprotan atau perendaman, dan terbukti memiliki kemampuan melawan kapang patogen pada buah pasca panen (Droby dkk. 2002: 393--394). Khamir *Metschnikowia fructicola* C.P. Kurtzman & S. Droby digunakan sebagai khamir antagonis pada produk Shemer yang dipatenkan oleh Grogreen Minrab Group di Israel. Shemer digunakan untuk melawan kapang perusak buah anggur, stroberi, dan kentang (Druvefors 2004: 9).

Informasi mengenai kemampuan antagonisme khamir filum *Ascomycota* dari daun saeh (*Br. papyrifera*) asal Bandung, koleksi UICC terhadap kapang *Aspergillus niger* UICC, *Aspergillus ochraceus* UICC, dan *Aspergillus terreus* UICC dari tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi belum pernah dilaporkan dan belum diperoleh khamir antagonis potensial dalam menghambat pertumbuhan kapang tersebut. Namun demikian, pada prapenelitian telah dilakukan pengujian kemampuan antagonisme khamir *Rhodotorula dairenensis* UICC Y-457 dan *Candida metapsilosis* UICC Y-473 dari daun saeh terhadap kapang *A. niger* dari tanaman tomat terinfeksi dengan metode *strip* dan diperoleh bahwa khamir *C. metapsilosis* UICC Y-473 merupakan khamir antagonis potensial dalam

menghambat pertumbuhan kapang *A. niger* dengan persentase reduksi lebar koloni sebesar 65,17% selama inkubasi 6 hari.

Metode *strip* yang telah dilakukan hanya memperlihatkan kemampuan antagonisme khamir melalui reduksi lebar koloni kapang dan penundaan waktu sporulasi kapang. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian antagonisme dengan metode *co-culture* untuk mengetahui kemampuan antagonisme khamir melalui parameter berupa penghambatan pembentukan miselium dan waktu sporulasi, reduksi lebar hifa, konidiofor, dan kepala konidia kapang, serta peningkatan jumlah dan ukuran sel vegetatif khamir yang dibandingkan dengan kontrol.

Prinsip *co-culture* adalah membiakkan bersama mikroorganisme berbeda jenis di dalam suatu medium (Spadaro 2003: 33 & 36). Metode *co-culture* dapat memperlihatkan hasil interaksi antagonisme antara khamir dan kapang berupa penghambatan waktu sporulasi, penempelan sel khamir pada hifa kapang yang mengakibatkan hifa kapang berlubang, reduksi lebar hifa, serta perubahan morfologi hifa kapang (Bar-Shimon dkk. 2004: 144--145). Coelho dkk. (2007: 728) melakukan pengujian kemampuan antagonisme dengan metode *co-culture* khamir *Pichia ohmeri* (Etchells & T.A. Bell) Kreger van Rij terhadap kapang *Penicillium expansum* Link. dan terbukti khamir memiliki kemampuan antagonisme dalam penghambatan sporulasi dan reduksi lebar hifa kapang.

Penelitian bertujuan untuk mengetahui kemampuan antagonisme khamir filum *Ascomycota* dari tanaman saeh (*Br. papyrifera*) asal Bandung yaitu *C. quercitrusa* UICC Y-470, *Deb. nepalensis* UICC Y-456, *P. burtonii* UICC Y-468, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471, dan *Wic. anomalus* UICC Y-455 serta memperoleh khamir antagonis potensial yang dapat menghambat pertumbuhan kapang dari tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi. Hipotesis penelitian adalah khamir filum *Ascomycota* dari daun saeh (*Br. papyrifera*) asal Bandung koleksi UICC memiliki kemampuan antagonisme terhadap kapang *Aspergillus* spp. UICC dari tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi dan khamir filum *Ascomycota* asal Bandung merupakan khamir antagonis potensial yang dapat menghambat pertumbuhan kapang tersebut. Khamir antagonis potensial yang diperoleh dari hasil pengujian diharapkan dapat menjadi agen biokontrol untuk tanaman tomat sebelum panen.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 FUNGI

Fungi adalah organisme eukariot, uniseluler dan multiseluler, serta bersifat kemoheterotrof yaitu memperoleh nutrisi terutama sumber karbon dari senyawa organik dengan cara absorpsi (Tortora *dkk.* 2010: 330). Dinding sel fungi sebagian besar tersusun atas β -glucan dan *chitin*. Fungi dapat bersifat parasit, saprofit, dan patogen (Deacon 2006: 5--6). Berdasarkan bentuk pertumbuhan, fungi dapat berupa filamen (*filamentous fungi*) dan sel tunggal (*unicellular fungi*). *Filamentous fungi* yaitu kapang (*mold*) dan cendawan (*mushroom*), sedangkan *unicellular fungi* yaitu khamir (*yeast*) (Kavanagh 2005: 2).

Berdasarkan alat reproduksi seksual yang dimiliki, kingdom *Eumycota* terbagi menjadi lima filum, yaitu *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*, dan *Glomeromycota* (Hogg 2005: 199). Alat reproduksi seksual filum *Chytridiomycota* yaitu zoospora berflagel. Alat reproduksi seksual filum *Zygomycota* yaitu zigospora. Alat reproduksi seksual dari filum *Ascomycota* adalah askospora. Alat reproduksi seksual dari filum *Basidiomycota* adalah basidiospora dan teliospora, sedangkan pada filum *Glomeromycota* belum diketahui alat reproduksi seksual (Madigan *dkk.* 2009: 601--606). Berdasarkan adanya alat reproduksi seksual, fungi terbagi menjadi fungi anamorfik dan teleomorfik. Fungi teleomorfik adalah fungi yang alat reproduksi seksualnya sudah diketahui, sedangkan fungi anamorfik adalah fungi yang belum diketahui alat reproduksi seksualnya (Webster & Weber 2007: 32).

2.2 KHAMIR ANTAGONIS

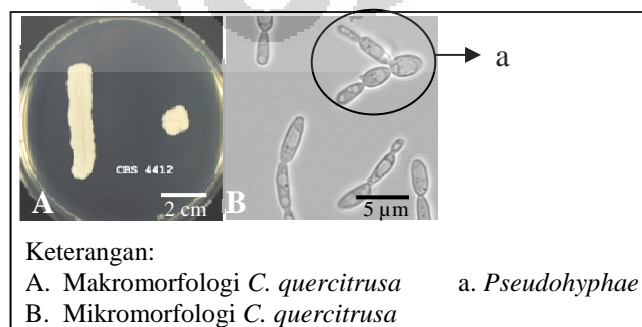
Khamir merupakan fungi uniseluler (Deacon 2006: 5). Dinding sel khamir tersusun atas *mannan* dan β -glucan. Khamir termasuk filum *Ascomycota* dan *Basidiomycota* (Webster & Weber 2007: 37--38). Khamir melakukan reproduksi aseksual dengan menghasilkan tunas, *fission*, *ballistoconidia*, *arthroconidia*, *pseudohyphae*, dan *true hyphae* (Sjamsuridzal 2007: 4). Khamir dapat melakukan

reproduksi seksual menggunakan askospora pada khamir filum *Ascomycota* dan basidiospora atau teliospora untuk filum *Basidiomycota* (Gandjar dkk. 2006: 64--67). Khamir dalam bentuk uniseluler dapat membentuk hifa. Perubahan tersebut dapat dipengaruhi oleh peningkatan suhu, perubahan pH menjadi netral, dan kekurangan nutrisi (Webster & Weber 2007: 5 & 277).

Khamir dapat hidup di permukaan daun dan disebut khamir *phylloplane*. Keterbatasan nutrisi dan ruang pada permukaan daun mengakibatkan kompetisi antar mikroorganisme *phylloplane* dan membuat khamir memiliki kemampuan antagonisme. Beberapa khamir *phylloplane* dari filum *Ascomycota* dilaporkan memiliki kemampuan antagonisme (Fonseca & Inacio 2006: 264--275).

Droby dkk. (2002: 393--398) melaporkan bahwa saat khamir *C. oleophila* dan kapang *Pen. digitatum* ditumbuhkan bersama, khamir *C. oleophila* dapat menghambat pertumbuhan *Pen. digitatum* melalui mekanisme parasitisme. Sel khamir menempel pada hifa kapang, kemudian mengeluarkan enzim β -glukanase dan kitinase untuk menguraikan komponen dinding hifa kapang. Hasil interaksi memperlihatkan hifa kapang berlubang, dan reduksi lebar hifa kapang.

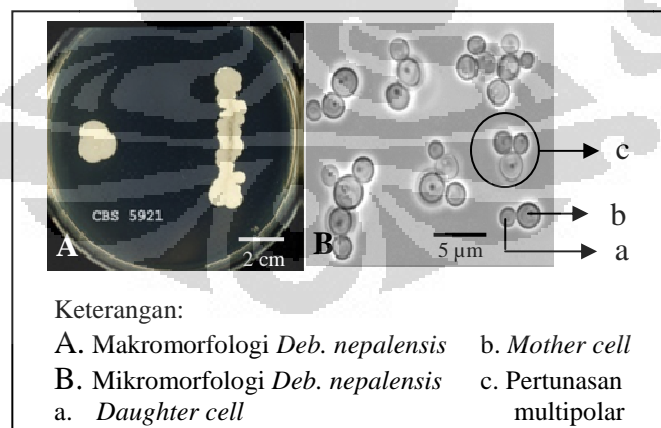
Genus *Candida* merupakan *Ascomycota* anamorfik. Genus *Candida* dapat menghasilkan hifa palsu dan hifa sejati. *Candida quercitrusa* (van Uden & do Carmo-Sousa) S.A. Meyer & Yarrow memiliki koloni berwarna putih, bertekstur *butyrous*, dan permukaan koloni rata apabila ditumbuhkan pada medium *Corn Meal Agar* selama 7 hari. Sel khamir *C. quercitrusa* berbentuk *ovoidal* dan pertunasan multipolar apabila ditumbuhkan 3 hari pada medium *Glucose Yeast Extract Peptone Broth* (Meyer dkk. 1998: 112 & 543) (Gambar 2.2.1). *Candida* ditemukan pada permukaan daun, tanah, dan buah (Deak 2008: 119, 139, & 140).



Gambar 2.2.1. Morfologi *Candida quercitrusa*
 [Sumber: CBS Database 2012: 49, telah diolah kembali.]

Rianti (2010: 30) melaporkan bahwa khamir *Debaryomyces nepalensis* S. Goto & Sugiyama UICC Y-317 merupakan khamir antagonis potensial yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus flavus* Link Her 39C pada pengujian antagonisme dengan metode *co-culture*. Diduga mekanisme interaksi antagonisme yang terjadi adalah kompetisi ruang dan nutrisi. Khamir *Deb. nepalensis* UICC Y-317 memiliki kemampuan mereduksi koloni kapang *A. flavus* Her 39C sebesar 79,72% selama inkubasi 6 hari.

Genus *Debaryomyces* merupakan *Ascomycota* teleomorfik (Rosa & Peter 2006: 20). Khamir *Deb. nepalensis* memiliki nama anamorfik *Candida naganishii* Nakase & M. Suzuki. Morfologi sel khamir *Deb. nepalensis* pada medium *Yeast Malt Broth* selama 3 hari pada suhu ruang berbentuk *spheroidal* atau *subspheroidal*. Morfologi koloni khamir *Deb. nepalensis* apabila ditumbuhkan pada medium *Yeast Malt Agar* selama 1 bulan pada suhu 17° C, terlihat koloni berwarna kekuningan, tekstur *butyrous*, tepi koloni rata, permukaan koloni kusam, dan pada waktu inkubasi 1--2 minggu di bawah suhu 20° C akan terlihat askospora berbentuk *spheroidal* dengan satu buah spora di dalam satu askus (Nakase dkk.1998: 114 & 164) (Gambar 2.2.2). Genus *Debaryomyces* dapat ditemukan pada permukaan daun, tanah, air, buah, dan makanan kering (Deak 2008: 119, 121, 140, & 143).

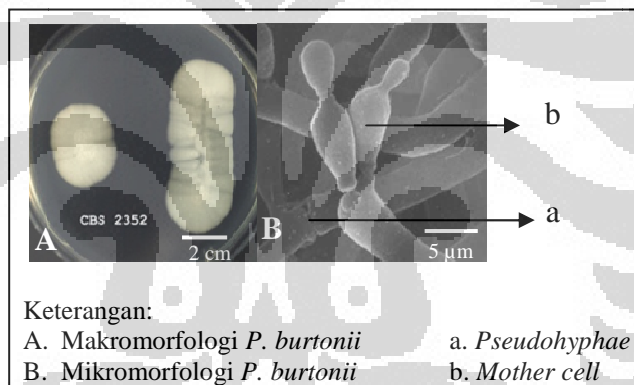


Gambar 2.2.2. Morfologi *Debaryomyces nepalensis*
 [Sumber: CBS Database 2012: 53, telah diolah kembali.]

Widyastuti (2008: 27--30) melaporkan bahwa pada pengujian antagonisme metode *co-culture*, khamir *Pichia guilliermondii* Wickerham terhadap *Penicillium*

expansum Link., khamir menghambat pertumbuhan *Pen. expansum* melalui mekanisme parasitisme. Kumpulan sel khamir menempel pada hifa kapang dan diikuti pengeluaran enzim degradasi dinding hifa kapang oleh sel khamir. Hasil interaksi memperlihatkan terjadi penipisan dinding sel hifa kapang, membran sel kapang berlubang, dan terjadi kematian sel kapang.

Genus *Pichia* merupakan khamir *Ascomycota* teleomorfik. Khamir *P. burtonii* memiliki nama anamorfik *Candida variabilis* (Lindner) Berkhout. Khamir *P. burtonii* memiliki koloni berwarna kuning kecokelatan, bertekstur *butyrous*, dan sel berbentuk oval (Gambar 2.2.3), dapat membentuk *true hyphae*, dan askospora apabila ditumbuhkan pada medium *Malt Extract Agar* 5% selama 3--5 hari pada suhu 25° C. Masing-masing askus berisi 1--4 askospora berbentuk topi (Kurtzman 1998: 116 & 293). Genus *Pichia* dapat ditemukan pada permukaan daun, buah, dan makanan fermentasi (Deak 2008: 137, 139, & 157).



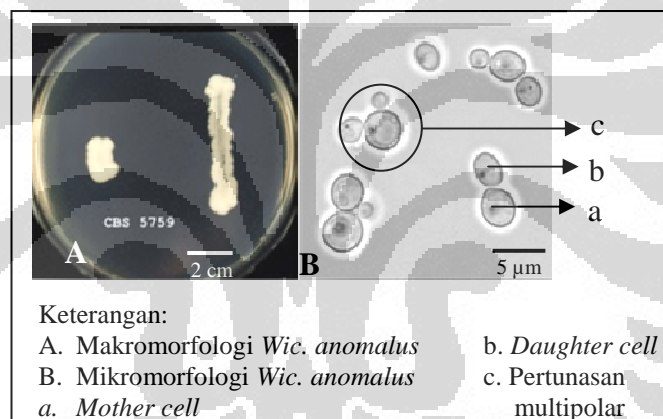
Gambar 2.2.3. Morfologi *Pichia burtonii*
 [Sumber: CBS Database 2012: 55, telah diolah kembali.]

Druvefors (2005: 9--18) melaporkan bahwa pada pengujian antagonisme dengan metode *co-culture* antara khamir *Pichia anomala* (E.C. Hansen) Kurtzman dan kapang *Penicillium roqueforti* Thom, khamir *P. anomala* dapat menghambat kapang *Pen. roqueforti* melalui mekanisme kompetisi nutrisi dan antibiosis. Sel khamir menempel pada hifa kapang, kemudian khamir menghasilkan enzim degradasi dinding hifa kapang. Hasil interaksi memperlihatkan membran sel kapang rusak, dinding hifa kapang mengalami penipisan dan berlubang.

Genus *Wickerhamomyces* merupakan sinonim genus *Pichia*. Khamir *P. anomala* sekarang dikenal sebagai *Wickerhamomyces anomalus*. Khamir *Wic.*

anomalus memiliki nama anamorfik *Candida pelliculosa* Redaelli (Kurtzman & Cletus 2010: 939). Genus *Wickerhamomyces* berbeda dengan genus *Pichia* karena genus *Wickerhamomyces* tidak memiliki kemampuan memfermentasi sukrosa dan tidak dapat tumbuh pada medium dengan konsentrasi gula tinggi (Kurtzman & Fell 1998: 287--288).

Khamir *P. anomala* memiliki koloni berwarna putih kecokelatan, bertekstur *butyrous*, dan sel berbentuk *spheroidal* (Gambar 2.2.4). Khamir *P. anomala* dapat membentuk *pseudohyphae*, menghasilkan bau aromatik, dan askospora berbentuk topi apabila ditumbuhkan pada medium *Malt Extract Agar* 5% selama 3--10 hari (Kurtzman 1998: 287--288). Khamir *P. anomala* dapat ditemukan pada permukaan daun, buah, dan minuman fermentasi (Deak 2008: 119, 121, 140, 143).



Gambar 2.2.4. Morfologi *Wickerhamomyces anomalus*
 [Sumber: CBS Database 2012: 68, telah diolah kembali.]

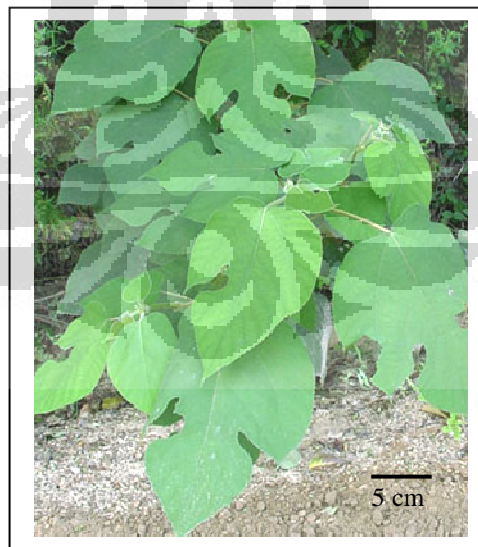
2.3 TANAMAN SAEH (*Broussonetia papyrifera* Vent.)

Daun mendukung pertumbuhan mikroorganisme karena daun dapat menyediakan nutrisi berupa gula, asam organik, dan asam amino yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme *phylloplane*. Keberadaan khamir *phylloplane* memberikan keuntungan pula bagi daun, antara lain berperan dalam siklus nutrisi pada ekosistem terestrial dan berpotensi sebagai agen biokontrol terhadap kapang patogen pada daun. Senyawa antimikroba dan antifungal yang dihasilkan oleh khamir dapat berperan dalam mencegah pertumbuhan kapang patogen yang menyerang daun (Fonseca & Inacio 2006: 265, 293, & 294).

Salah satu daun yang dapat menjadi habitat mikroorganisme *phylloplane* adalah daun *Br. papyrifera*. Keberadaan mikroorganisme *phylloplane* didukung oleh struktur daun dan habitat dari tanaman *Br. papyrifera* (Orwa dkk. 2009: 4). Daun *Br. papyrifera* merupakan daun tunggal berbentuk ovatus dengan 3--5 lobus. Daun *Br. papyrifera* memiliki permukaan kasar dan diselubungi oleh struktur seperti rambut (Gambar 2.3.1) (Whistler & Elevitch 2006: 1).

Tanaman *Br. papyrifera* merupakan tanaman dari famili *Moraceae* yang tumbuh di daerah beriklim tropis dengan ketinggian 0--1.500 meter di atas permukaan air laut. Tanaman tersebut dapat ditemukan di Thailand, Myanmar, Vietnam, Taiwan, dan Indonesia (Whistler & Elevitch 2006: 1 & 4). Tanaman *Br. papyrifera* di Indonesia dapat ditemukan di Pulau Jawa, Sumatera, Sulawesi, Kalimantan, dan Maluku (Permadi 2010: 1--6).

Tanaman *Br. papyrifera* memiliki banyak manfaat. Tanaman tersebut di Indonesia digunakan sebagai bahan pembuatan kertas daluang (Permadi 2005: 2). Selain itu, daun *Br. papyrifera* dapat digunakan sebagai antiseptik, antimikroba, dan antifungal. Tanaman *Br. papyrifera* dilaporkan dapat menghasilkan senyawa *Broussonin A* yang berfungsi sebagai anti mikroba. Selain itu, dihasilkan pula *butylated hydroxytoluene* sebagai senyawa anti oksidan (Dweck 2003: 4--5).



Gambar 2.3.1. Tanaman *Broussonetia papyrifera*

[Sumber: Swearingen 2009: 1.]

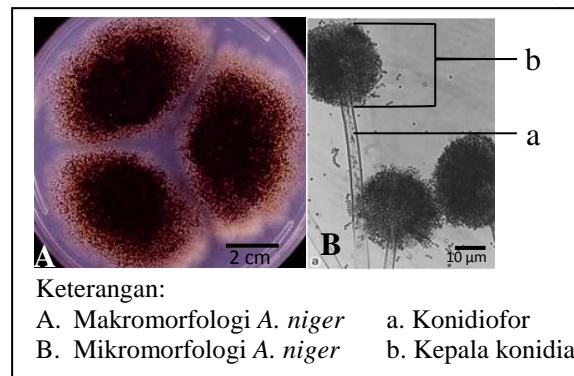
2.4 KAPANG PATOGEN PADA TANAMAN TOMAT

Kapang merupakan fungi multiseluler yang termasuk ke dalam filum *Ascomycota*, *Basidiomycota*, dan *Zygomycota* (Hibbett dkk. 2007: 510). Pembagian kapang ke dalam filum tersebut berdasarkan keberadaan alat reproduksi seksual. Alat reproduksi seksual kapang berupa zigospora pada filum *Zygomycota*, askospora pada filum *Ascomycota* dan basidiospora pada filum *Basidiomycota*. Kapang juga dapat melakukan reproduksi secara aseksual menggunakan sporangiospora dan konidia (Talaro 2009: 137).

Kapang dilaporkan sebagai salah satu penyebab kerusakan pada tanaman dan buah pascapanen. Kapang genus *Aspergillus* termasuk ke dalam filum *Ascomycota* dan sering menyebabkan kerusakan pada tanaman tomat. Oktaviani (2009: 108) melaporkan bahwa kapang *Aspergillus niger* van Tieghem, *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) E. Cohn, *Aspergillus ochraceus* Wilhelm, dan *Aspergillus terreus* Thom merupakan kapang dari genus *Aspergillus* yang ditemukan pada tanaman tomat terinfeksi. Menurut Andersen dan Frisvad (2004: 7510), kapang *Aspergillus* lebih banyak ditemukan di daerah kering dan beriklim panas.

Pitt dan Hocking (2009: 315) melaporkan bahwa kapang *A. niger* dapat menyebabkan kebusukan pada buah pascapanen, antara lain apel, pir, jeruk, anggur, mangga, dan melon. Menurut Modi (2009: 110), kapang *A. niger* dapat menyebabkan kerusakan berupa kebusukan berwarna hitam pada tomat dan sayuran, terutama bawang. Pitt dan Hocking (2009: 315) melaporkan bahwa penyakit yang disebabkan kapang *A. niger* dapat menyebar dengan cepat. Buah yang terinfeksi oleh kapang *A. niger* sangat berbahaya untuk dikonsumsi karena kapang tersebut dapat menghasilkan mikotoksin berupa *ochratoxin A*.

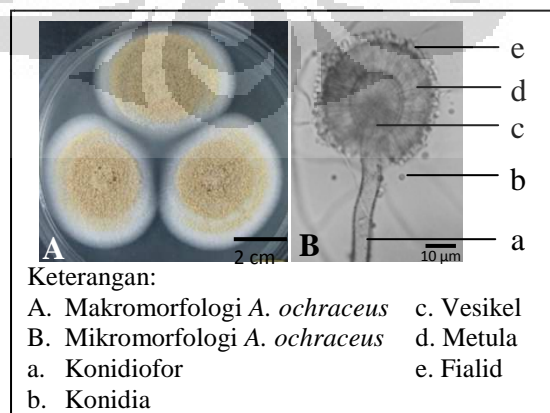
Klich (2002: 62) melaporkan bahwa kapang *A. niger* memiliki koloni berwarna hitam, spora berwarna kuning saat muda kemudian menghitam saat tua, dan bertekstur *granular*. Kepala konidia bertipe *biseriate* (tersusun atas metula dan fialid) dan *full fertile* dengan bentuk vesikel *radiate* (Gambar 2.4.1). Konidia berbentuk *globose* dengan ornamen berduri apabila ditumbuhkan pada medium *Malt Extract Agar* selama 7 hari pada suhu 25°C.



Gambar 2.4.1. Morfologi *Aspergillus niger*
 [Sumber: Ellis *dkk.* 2007: 12, telah diolah kembali.]

Arya dan Perello (2010: 38) melaporkan bahwa kapang *A. ochraceus* adalah kapang patogen yang sering menyerang biji-bijian. Rai dan Bridge (2009: 158) melaporkan bahwa kapang *A. ochraceus* dapat pula menginfeksi tanaman anggur. Kapang *A. ochraceus* dapat menghasilkan *ochratoxin A* yang berbahaya bagi manusia.

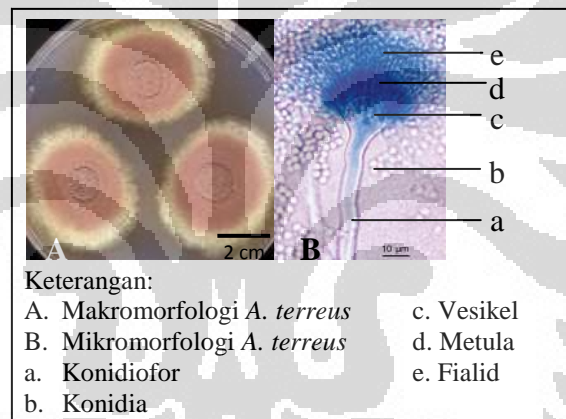
Klich (2002: 66) melaporkan bahwa kapang *A. ochraceus* memiliki koloni berwarna kuning muda, miselium berwarna putih, dan sebalik koloni membentuk pigmen berwarna kuning atau jingga pucat apabila ditumbuhkan pada medium *Malt Extract Agar* selama 7 hari. Kapang *A. ochraceus* memiliki kepala konidia berbentuk *radiate*, konidia berbentuk *spherical* hingga *ellipsoidal* dengan permukaan halus, dan vesikel berbentuk *globose* hingga *elongate*. Kepala konidia bertipe *biseriate* dan *full fertile* (Gambar 2.4.2). Kapang *A. ochraceus* dapat ditemukan di tanah, *rhizosphere*, biji-bijian, dan sebagian besar bahan pangan.



Gambar 2.4.2. Morfologi *Aspergillus ochraceus*
 [Sumber: Ellis *dkk.* 2007: 12, telah diolah kembali.]

Pitt dan Hocking (2009: 332) melaporkan bahwa kapang *A. terreus* banyak menginfeksi dan menyebabkan busuk pada tanaman kacang. Selain itu, kapang *A. terreus* ditemukan pula pada buah tomat dan pir. Arya dan Perello (2010: 135) melaporkan bahwa infeksi kapang *A. terreus* dapat berupa bintik hitam pada daun dan buah dari tanaman yang terinfeksi.

Klich (2002: 98) melaporkan bahwa kapang *A. terreus* apabila ditumbuhkan pada medium *Malt Extract Agar* selama 7 hari pada suhu 25° C memperlihatkan koloni berwarna jingga hingga jingga keabuan, tekstur koloni *granular*, dan sebalik koloni berwarna kuning keabuan. Konidiofor halus dan tidak berwarna, tipe kepala konidia *biseriate*, dan 3/4 *fertile* hingga *full fertile* (Gambar 2.4.3). Konidia berbentuk *globose* hingga *ellipsoidal* dan berdinding halus. Kapang *A. terreus* dapat ditemukan di tanah dan bahan pangan.



Gambar 2.4.3. Morfologi *Aspergillus terreus*
[Sumber: Ellis *dkk.* 2007: 13, telah diolah kembali.]

Tomat dapat menjadi salah satu habitat dari kapang genus *Aspergillus* karena didukung oleh morfologi tomat yang memiliki lapisan kulit tipis (Andersen & Frisvad 2004: 7505). Selain itu, buah tomat memiliki kisaran pH 4,5--5,0 yang mendukung pertumbuhan kapang. Kapang dapat bersifat patogen dan merusak tanaman tomat karena menghasilkan enzim pendegradasi dinding sel tanaman tomat (Arya & Perello 2010: 4). Kapang dapat menginfeksi tanaman tomat melalui luka pada tanaman (Andersen & Frisvad 2004: 7505). Penyakit pada tanaman tomat mengakibatkan kekeringan daun, layu daun, busuk daun, dan daun menggulung. Kerusakan tersebut mengakibatkan proses perkembangan, produksi, dan kualitas buah mengalami penurunan (Herlina 2009: 62--63).

2.5 APLIKASI BIOKONTROL

Khamir antagonis dapat digunakan sebagai alternatif pengganti fungisida sintetik dalam menghambat pertumbuhan kapang patogen tanaman serta buah pascapanen dan dikenal sebagai agen biokontrol. Agen biokontrol adalah mikroorganisme antagonis yang dapat digunakan sebagai penghambat dan pencegah pertumbuhan mikroorganisme patogen (Saligkarias dkk. 2002: 151). Menurut Druvefors (2004: 8), biokontrol adalah penggunaan mikroorganisme antagonis yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain penyebab kerusakan pada tanaman dan buah setelah panen.

Fonseca dan Inacio (2006: 263--264) melaporkan bahwa mikroorganisme epifit dapat digunakan sebagai agen biokontrol. Raspor dkk. 2010 (336--337) menyatakan bahwa khamir *C. oleophila* dan *P. guilliermondii* merupakan agen biokontrol yang tidak menghasilkan toksin dan tidak menyebabkan alergi setelah dikonsumsi. Buzzini dan Martini (2006: 547--548) melaporkan bahwa *Candida* spp., *Kluyveromyces* spp., *Pichia* and *Yarrowia* spp. merupakan khamir yang aman untuk dikonsumsi, digunakan dalam industri fermentasi dan memiliki status *Generally Regarded as Safe* (GRAS).

Kemampuan khamir sebagai agen biokontrol kapang penginfeksi tanaman tomat telah dilaporkan. Handarini (2009: 95) melaporkan bahwa khamir *Candida* sp. UICC Y-328 dapat digunakan sebagai biokontrol kapang *A. ochraceus* D1.22.SS.M3 pada buah tomat. Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 diaplikasikan dalam bentuk suspensi sel, sedangkan kapang *A. ochraceus* D1.22.SS.M3 diaplikasikan dalam bentuk suspensi spora pada buah tomat. Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 terbukti dapat mereduksi kebusukan tomat akibat infeksi *A. ochraceus* D1.22.SS.M3 sebesar 20% hingga inkubasi 15 hari.

Zhao dkk. (2008: 113--120) melaporkan bahwa khamir *P. guilliermondii* digunakan sebagai biokontrol kapang *Rhizopus nigricans* Ehrenberg pada buah tomat. Khamir *P. guilliermondii* diaplikasikan dalam bentuk suspensi sel khamir dengan cara disiramkan pada buah tomat dan diinokulasikan lebih awal daripada suspensi spora kapang. Khamir *P. guilliermondii* terbukti memiliki kemampuan mereduksi kebusukan tomat akibat infeksi *R. nigricans* sebesar 25 % selama inkubasi 4 hari.

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, mulai bulan Februari hingga Mei 2012.

3.2 ALAT DAN BAHAN

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf [Hirayama HA 240 MIV dan Hirayama HL 36 AE], lemari pendingin [GASSIO dan AMB-HI-LO], kompor listrik [Sanyo], oven [Heraeus], pemanas air [SHARP], timbangan digital [And EW-300G], vorteks [Bio-Rad dan Maxi Mix II Type 37600], mikropipet 200 dan 1000 [Gilson], *tips*, mikroskop trinokular [Carl ZEISS Primo Star], mikroskop stereo [Carl ZEISS], mikroskop cahaya [Boeco], *shaker incubator*, inkubator statis [Imperial III], Erlenmeyer 250 ml, Erlenmeyer 500 ml, Erlenmeyer 1000 ml, *beaker glass*, gelas ukur, cawan petri [Normax], tabung reaksi [Pyrex], batang pengaduk, jarum tanam bulat, jarum tanam tajam, pinset, botol alkohol, *object glass*, *cover glass*, pipet, pembakar spiritus, korek api dan *transfer box*.

3.2.2 Bahan

3.2.2.1 Mikroorganisme

Mikroorganisme yang digunakan adalah khamir dan kapang koleksi *University of Indonesia Culture Collection* (UICC). Khamir yang digunakan adalah khamir filum *Ascomycota* dari daun saeh (*Br. papyrifera*) asal Bandung dan merupakan daun ke-5 dari bagian atas tanaman (Tabel 3.2.2.1.1), sedangkan kapang yang digunakan berasal dari daun tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi asal Bogor dan Tangerang (Tabel 3.2.2.1.2).

Tabel 3.2.2.1.1. Daftar spesies khamir filum *Ascomycota* dari daun saeh (*Br. papyrifera*) asal Bandung yang digunakan pada penelitian

No.	Nama spesies	Asal khamir
1	<i>Candida quercitrusa</i> UICC Y-470	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman usia 1,5 tahun
2	<i>Debaryomyces nepalensis</i> UICC Y-456	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman usia 6 bulan
3	<i>Pichia burtonii</i> UICC Y-468	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman usia 1,5 tahun
4	<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman usia 1,5 tahun
5	<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman usia 1,5 tahun
6	<i>Wickerhamomyces anomalus</i> UICC Y-455	Daun tanaman urutan ke-5 dari ujung atas, tanaman usia 6 bulan

Tabel 3.2.2.1.2. Daftar spesies kapang *Aspergillus* spp. UICC dari daun tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi yang digunakan pada penelitian

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

3.2.2.2 Medium

Medium yang digunakan adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Yeast Malt Agar* (YMA), *Plate Count Agar* (PCA), dan *Potato Dextrose Broth* (PDB) dengan pH 5,0. Medium PDA digunakan sebagai medium pemurnian kapang, pembuatan *working culture* kapang, dan pembuatan *stock culture* khamir dan kapang. Medium YMA digunakan sebagai medium pemurnian dan pembuatan *working culture* khamir. Medium PDB pH 5,0 digunakan sebagai medium pengujian antagonisme. Medium PCA digunakan sebagai medium perhitungan jumlah sel khamir dan kapang dengan metode *Total Plate Count* (TPC).

3.2.2.3 Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah akuades steril, tetrasiklin [Kimia Farma], alkohol teknis 70%, aseton teknis, *lactophenol cotton blue* [Merck], Na₂HPO₄ [Merck], asam sitrat [Wako], dan minyak imersi [Merck].

3.2.2.4 Bahan habis pakai

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

3.3 CARA KERJA

Skema kerja dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3.1 Pembuatan medium

3.3.1.1 *Plate Count Agar (PCA)*

Medium PCA dibuat sesuai dengan prosedur pada kemasan [Britania]. Medium PCA dibuat dengan melarutkan 23,5 g bubuk PCA ke dalam akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml. Campuran medium dipanaskan di atas penangas hingga homogen. Medium disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Medium didiamkan hingga suhu mencapai kurang lebih 40° C, kemudian ditambahkan 500 mg tetrasiklin. Medium dituang sebanyak 20 ml untuk setiap cawan petri secara aseptik.

3.3.1.2 *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Medium PDA dibuat sesuai dengan prosedur pada kemasan [Liofilchem]. Medium PDA dibuat dengan melarutkan 42 g bubuk PDA ke dalam akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml. Campuran medium dipanaskan dan di aduk di atas penangas hingga homogen. Medium yang telah homogen dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak lima mililiter, dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Tabung yang berisi medium PDA dimiringkan dan dibiarkan hingga mengeras. Pada pembuatan medium PDA dalam cawan petri, campuran medium disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Medium ditunggu hingga suhu mencapai kurang lebih 40° C, kemudian ditambahkan 500 mg tetrasiklin. Medium dituang sebanyak 20 ml pada setiap cawan petri secara aseptik.

3.3.1.3 *Potato Dextrose Broth (PDB)*

Medium PDB dibuat sesuai dengan prosedur pada kemasan [Difco]. Medium PDB dibuat dengan melarutkan 24 g PDB ke dalam akuades hingga volume akhir mencapai 1.000 ml. Medium dididihkan di atas penangas hingga larut, kemudian dipipet ke dalam tabung reaksi. Medium dalam Erlenmeyer juga dididihkan di atas penangas dan disterilkan. Medium disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada tekanan 2 atm dengan suhu 121° C.

3.3.1.4 *Yeast Malt Agar (YMA)*

Pembuatan medium YMA berdasarkan Atlas (2010: 1934). Sebanyak 3 g *yeast extract*, 3 g *malt extract*, 5 g pepton, 10 g glukosa, dan 15 g agar dilarutkan dalam akuades hingga volume total mencapai 1.000 ml. Campuran medium dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak lima mililiter, dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Tabung yang berisi medium YMA dimiringkan dan dibiarkan mengeras. Pembuatan medium YMA dalam cawan petri, campuran medium disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Medium ditunggu hingga suhu mencapai kurang lebih 40° C, kemudian ditambahkan 500 mg tetrasiklin. Medium dituang sebanyak 20 ml pada setiap cawan petri secara aseptik.

3.3.2 Pembuatan larutan penyangga sitrat-fosfat pH 5,0

Pembuatan larutan stok penyangga sitrat-fosfat pH 5,0 berdasarkan Gomori (1995: 141) yang dimodifikasi. Larutan stok Na_2HPO_4 0,2 M dibuat dengan melarutkan 28,4 g Na_2HPO_4 dalam akuades hingga volume total mencapai 1.000 ml. Larutan stok asam sitrat 0,1 M dibuat dengan melarutkan 21,01 g asam sitrat dalam akuades hingga volume total mencapai 1.000 ml. Larutan penyangga sitrat-fosfat pH 5,0 sebanyak 1.000 ml dibuat dengan menyampur 275 ml larutan Na_2HPO_4 0,2 M dengan 225 ml larutan asam sitrat 0,1 M. Campuran ditambahkan akuades hingga volume total mencapai 1.000 ml, dan derajat keasaman diukur dengan pH meter.

3.3.3 Pemurnian khamir dan kapang

Pemurnian khamir dilakukan pada medium YMA, sedangkan kapang pada medium PDA di dalam cawan petri. Pemurnian khamir dan kapang dilakukan berdasarkan Benson (2001: 82 & 85). Koloni khamir atau kapang dari *original culture* diambil dengan jarum tanam bulat untuk pemurnian khamir dan jarum tanam tajam untuk pemurnian kapang. Koloni khamir digoreskan pada medium dengan teknik *quadrant streak*, sedangkan kapang dengan teknik *radiant streak*.

Metode *quadrant streak* pada pemurnian khamir dilakukan dengan melakukan *streak* biakan pada empat bagian berbeda pada medium cawan petri. Biakan khamir kemudian diinkubasi pada suhu 28° C selama 2 hari hingga terbentuk koloni representatif. Metode *radiant streak* diawali dengan *streak* biakan pada satu area, kemudian *streak* lurus pada arah berlawanan dari *streak* pertama. Hasil pemurnian diinkubasi pada suhu 28° C hingga bersporulasi. Koloni dinyatakan murni apabila menunjukkan representatif dari *original culture* dan tidak terdapat jenis lain yang tumbuh. Koloni tunggal yang terpisah dari koloni lain ditumbuhkan kembali sebagai *stock culture* dan *working culture*.

3.3.4 Pembuatan *stock culture* dan *working culture*

Pembuatan *stock culture* dan *working culture* khamir dilakukan dengan mengambil koloni khamir dengan ose kemudian digoreskan secara zigzag sebanyak 15 gores pada permukaan medium PDA tabung miring untuk *stock culture* dan digoreskan penuh hingga ujung medium YMA tabung miring untuk pembuatan *working culture*. Pembuatan *stock culture* dan *working culture* kapang dilakukan pada medium PDA tabung miring. Koloni kapang diambil dengan jarum tanam tajam kemudian ditusukkan ke 1/3 bagian bawah medium dan ditarik hingga ujung medium untuk *stock culture*, dan digoreskan secara zigzag untuk *working culture*. *Stock culture* diinkubasikan pada suhu 28° C hingga terbentuk koloni khamir dan bersporulasi untuk kapang. Biakan khamir dan kapang untuk *stock culture* yang telah tumbuh disimpan dalam *refrigerator* pada suhu 4° C, sedangkan *working culture* khamir dan kapang diinkubasi pada suhu 28° C.

3.3.5 Pengamatan morfologi khamir

Pengamatan morfologi khamir dilakukan menggunakan koloni tunggal representatif yang tumbuh pada medium YMA cawan petri hasil pemurnian. Pengamatan morfologi khamir dilakukan berdasarkan Barnett dkk. (2000: 23--25). Komponen pengamatan makromorfologi khamir, antara lain warna koloni, permukaan koloni, tekstur koloni, profil koloni, dan tepi koloni. Pengamatan mikromorfologi khamir dilakukan dengan membuat preparat terlebih dahulu. Pengamatan mikromorfologi khamir dilakukan dengan mengamati bentuk sel, ukuran sel, ada atau tidak ada pertunasan (*budding*), tipe pertunasan, ukuran sel dan ada atau tidak ada hifa yang dihasilkan, yaitu *pseudohyphae* atau *true hyphae*.

Penentuan warna koloni berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 2). Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mikroskop trinokular. Perbesaran yang digunakan adalah 10 x 100. Adapun hal-hal lain yang perlu dicatat pada pengamatan adalah umur kode biakan, nama biakan, umur biakan, medium yang digunakan dan tipe medium, dan suhu inkubasi.

3.3.6 Pengamatan morfologi kapang

Pengamatan morfologi kapang dilakukan menggunakan koloni tunggal representatif yang tumbuh pada medium PDA cawan petri hasil pemurnian. Pengamatan morfologi kapang dilakukan berdasarkan Klich (2002: 5). Komponen pengamatan makromorfologi kapang dilakukan dengan mengamati warna koloni, permukaan koloni, tekstur koloni, sebalik koloni, sporulasi, ada atau tidak *exudate drop*, *growing zone*, *radial furrow*, dan zonasi. Pengamatan mikromorfologi kapang dilakukan dengan membuat preparat terlebih dahulu. Pengamatan mikromorfologi kapang dilakukan dengan mengamati alat reproduksi yang terbentuk, keberadaan septum hifa, bentuk konidia, tipe kepala konidia, spora, konidiofor, sporangiofor, metula, fialid, dan vesikel.

Penentuan warna koloni berdasarkan standar warna Faber Castell (Lampiran 2). Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mikroskop trinokular. Perbesaran yang digunakan adalah 10 x 40. Adapun yang perlu dicatat pada pengamatan adalah umur kode biakan, nama biakan, umur biakan, medium yang digunakan dan tipe medium (pada cawan petri atau tabung), dan suhu inkubasi.

3.3.7 Enumerasi sel khamir dan spora kapang dengan metode TPC

Enumerasi sel khamir dan kapang menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dilakukan berdasarkan Madigan dkk. (2012: 647). Biakan khamir dari *working culture* ditumbuhkan terlebih dahulu pada medium YMA miring sebanyak 15 gores dan diinkubasi selama 2 hari dan biakan kapang ditumbuhkan pada medium PDA miring sebanyak 15 gores dan diinkubasi selama 5 hari. Masing-masing biakan khamir dan kapang kemudian disuspensikan dengan lima mililiter akuades steril dan dihomogenkan dengan vorteks. Sebanyak satu mililiter suspensi sel khamir diambil untuk dilakukan pengenceran ke dalam sembilan mililiter akuades steril hingga faktor pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , sedangkan pengenceran spora kapang dilakukan hingga faktor pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . Suspensi dari masing-masing faktor pengenceran diambil sebanyak 0,1 ml dan diinokulasikan pada cawan petri berisi medium PCA, kemudian disebar dengan spatel *Drygalsky* dengan tiga kali pengulangan (Lampiran 3). Jumlah sel khamir dan kapang yang terbentuk kemudian dihitung berdasarkan Cappuccino dan Sherman (2002: 123) dengan rumus sebagai berikut:

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

3.3.8 Pengujian kemampuan antagonisme khamir terhadap kapang dalam medium PDB pH 5,0 dengan metode *co-culture*

Kemampuan antagonisme khamir filum *Ascomycota* asal Bandung diketahui melalui pengujian antagonisme dengan metode *co-culture* berdasarkan Oetari dkk. (2007: 37) yang dimodifikasi. Pengujian diawali dengan inokulasi khamir pada YMA miring sebanyak 15 gores dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu 27°C . Sebanyak satu ose biakan kapang diinokulasikan pula pada PDA miring sebanyak 15 gores dan diinkubasi pada suhu 27°C hingga bersporulasi.

Sebanyak lima mililiter medium PDB pH 5,0 steril ditambahkan ke dalam biakan khamir, kemudian dikerik menggunakan jarum ose dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak satu mililiter suspensi sel khamir (1×10^8 CFU/ml) ditambahkan ke dalam 18 ml medium PDB pH 5,0, kemudian dikocok

secara resiprokal 110 rpm pada suhu 30° C selama 8 jam. Biakan kapang ditambahkan lima mililiter medium PDB pH 5,0 steril dan dikerik dengan jarum ose, kemudian dihomogenkan dengan vorteks. Sebanyak satu mililiter suspensi spora kapang (1×10^4 CFU/ml) ditambahkan ke dalam 18 ml medium PDB pH 5,0 yang telah ditumbuhi oleh sel khamir, kemudian medium PDB pH 5,0 yang telah berisi sel khamir dan sel kapang diinkubasi selama 4 hari pada suhu 28° C.

Kontrol khamir dibuat dengan menginokulasikan satu mililiter suspensi sel khamir ke dalam 18 ml medium PDB pH 5,0, kemudian diinkubasi dengan pengocokan secara resiprokal 110 rpm pada suhu 30° C selama 8 jam. Sebanyak satu mililiter PDB pH 5,0 steril ditambahkan ke dalam medium PDB pH 5,0 yang telah ditumbuhi oleh sel khamir, kemudian diinkubasi pada suhu 28° C. Kontrol kapang dibuat dengan menambahkan satu mililiter PDB pH 5,0 steril ke dalam 18 ml PDB pH 5,0, kemudian diinkubasi selama 8 jam. Sebanyak satu mililiter suspensi spora kapang ditambahkan ke dalam 19 ml PDB pH 5,0, kemudian diinkubasi pada suhu 28° C (Lampiran 4).

Pengamatan pertumbuhan koloni khamir dan kapang dilakukan setiap hari selama 4 hari inkubasi dan dibandingkan dengan kontrol. Pertumbuhan khamir diamati dari pembentukan pelikel, ada atau tidak ada endapan biomassa khamir, warna endapan, dan pH medium. Pertumbuhan kapang dilihat dari pembentukan hifa, waktu sporulasi, warna koloni, dan pH medium. Penimbangan berat medium dilakukan setiap hari. Pengamatan morfologi sel khamir dan kapang dilakukan pada inkubasi hari ke-3 dan dibandingkan dengan kontrol. Pengamatan morfologi sel khamir sebanyak 20 individu dilakukan dengan mengamati bentuk sel khamir, panjang dan lebar sel vegetatif khamir, tipe pertunasan, dan ada atau tidak ada *pseudohyphae* atau *true hyphae*. Pengamatan morfologi sel kapang sebanyak 20 individu dilakukan dengan mengamati bentuk kepala konidia, bentuk vesikel, susunan fialid dan metula, diameter kepala konidia, lebar konidiofor, dan lebar hifa kapang. Enumerasi sel khamir dan kapang dengan metode TPC dilakukan kembali pada inkubasi hari ke-4.

Interaksi antagonisme antara khamir dan kapang diketahui melalui pembentukan miselium di permukaan medium, penghambatan waktu sporulasi, perubahan struktur sel kapang, reduksi lebar konidiofor, lebar hifa, dan diameter

kepala konidia kapang, serta peningkatan sel vegetatif khamir dibandingkan dengan kontrol. Data hasil pengukuran diameter kepala konidia, lebar konidiofor, dan lebar hifa kapang yang diperoleh, kemudian dilakukan perhitungan persentase reduksi lebar hifa, lebar konidiofor, dan diameter kepala konidia kapang berdasarkan Hifziyah (2009: 29) yang telah dimodifikasi dengan rumus:

$$\text{Besar reduksi (\%)} = \frac{\text{Lebar hifa/lebar konidiofor/diameter kepala konidia kapang (kontrol-perlakuan)}}{\text{Lebar hifa/lebar konidiofor/diameter kepala konidia kapang (kontrol)}} \times 100\%$$

Data hasil pengukuran panjang dan lebar sel vegetatif khamir yang telah diperoleh, kemudian dilakukan perhitungan persentase peningkatan panjang dan lebar sel vegetatif khamir berdasarkan Hifziyah (2009: 29) yang telah dimodifikasi dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Besar peningkatan (\%)} = \frac{\text{Panjang/lebar sel vegetatif khamir (perlakuan-kontrol)}}{\text{Panjang/lebar sel vegetatif khamir (perlakuan)}} \times 100\%$$

3.3.9 Pengolahan dan analisis data

Data yang diperoleh disusun dalam bentuk tabel dan gambar, meliputi data kualitatif dan data kuantitatif. Data kualitatif meliputi data morfologi koloni khamir dan kapang, data pertumbuhan morfologi khamir dan kapang hasil pengujian antagonisme, dan data waktu sporulasi. Data kuantitatif meliputi data enumerasi sel khamir dan kapang, data pengukuran lebar konidiofor, diameter kepala konidia, lebar hifa kapang, serta data pengukuran panjang dan lebar sel vegetatif khamir. Data kualitatif dianalisis secara deskriptif, sedangkan data kuantitatif dianalisis dengan penghitungan standar deviasi.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 PENGAMATAN MORFOLOGI KHAMIR

Khamir yang diamati adalah enam spesies khamir filum *Ascomycota* dari daun tanaman saeh (*Br. papyrifera*) asal Desa Tanggulan, Bandung. Khamir tersebut merupakan koleksi UICC. Pengamatan morfologi dilakukan untuk mengetahui deskripsi makromorfologi dan mikromorfologi dari khamir.

Hasil pengamatan morfologi khamir *Candida quercitrusa* UICC Y-470 berumur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C memperlihatkan koloni khamir berwarna *white* 101 berdasarkan standar warna Faber Castell, bertekstur *butyrous*, permukaan licin mengkilap, tepi koloni rata, profil menggunung, dan tidak membentuk pigmen sebalik koloni (Tabel 4.1.1 dan Gambar 4.1.1A). Khamir *C. quercitrusa* UICC Y-470 memiliki sel berbentuk bulat telur hingga elips, melakukan reproduksi aseksual melalui pertunasan multipolar, dapat membentuk *pseudohyphae*, memiliki kisaran panjang dan lebar sel masing-masing sebesar 6,1--7,8 µm dan 3,5--6,5 µm (Tabel 4.1.2 dan Gambar 4.1.2). Hasil pengamatan tidak memperlihatkan adanya askospora yang menunjukkan khamir *C. quercitrusa* UICC Y-470 merupakan khamir anamorfik. Meyer dkk. (1998: 112 & 543) mendeskripsikan bahwa koloni khamir *C. quercitrusa* berwarna putih dan bertekstur *butyrous* apabila ditumbuhkan pada medium *Corn Meal Agar* selama 7 hari pada suhu 27° C. Sel khamir *C. quercitrusa* berbentuk *ovoidal* dengan ukuran sel (2,0--5,0) x (4,5--7,0) µm dan memiliki tipe pertunasan multipolar apabila ditumbuhkan selama 3 hari pada medium *Glucose Yeast Extract Peptone Broth*. *Candida* merupakan fungi dimorfik dan merupakan *Ascomycota* anamorfik. Deak (2008: 119, 137, 139, & 140) melaporkan bahwa *Candida* dapat ditemukan pada daun, tanah, dan buah.

Hasil pengamatan khamir *Debaryomyces nepalensis* UICC Y-456 berumur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C memperlihatkan koloni berwarna *white* 101 berdasarkan standar warna Faber Castell, bertekstur *butyrous*, permukaan koloni kusam, profil dan tepi koloni rata, dan tidak membentuk

pigmen sebalik koloni (Tabel 4.1.1 dan Gambar 4.1.1B). Khamir *Deb. nepalensis* UICC Y-456 memiliki sel berbentuk bulat hingga semibulat, tidak ditemukan adanya askospora, namun memperlihatkan adanya pembentukan tunas dengan tipe pertunasan multipolar, memiliki kisaran panjang dan lebar sel sebesar 5,4--7,8 μm dan 4,2--7,5 μm (Tabel 4.1.2 dan Gambar 4.1.2). Diduga tidak terbentuknya askospora karena lingkungan dan nutrien dalam medium mampu mendukung pertumbuhan khamir. Nakase dkk. (1998: 114 & 164) mendeskripsikan bahwa khamir *Deb. nepalensis* apabila ditumbuhkan pada medium *Yeast Malt Agar* selama 1 bulan pada suhu 17° C memperlihatkan koloni berwarna putih, bertekstur *butyrous* dengan permukaan kusam. Khamir *Deb. nepalensis* memiliki sel berbentuk *spheroidal* dengan ukuran (2,0--6,0) x (2,5--6,5) μm apabila ditumbuhkan pada medium *Yeast Malt Broth* selama 3 hari pada suhu 27° C. Rosa dan Peter (2006: 20) menyatakan bahwa khamir *Deb. nepalensis* merupakan *Ascomycota* teleomorfik dan memiliki nama anamorfik *C. naganishii*. Menurut Deacon (2006: 103), askospora terbentuk apabila kondisi lingkungan tidak mendukung untuk pertumbuhan, antara lain kekurangan nutrien. Menurut Deak (2008: 119, 121, 140, & 143), genus *Debaryomyces* dapat ditemukan pada permukaan daun, tanah, air, buah, dan makanan kering.

Hasil pengamatan morfologi khamir *Pichia burtonii* UICC Y-468 berumur 2 hari pada medium YMA dengan suhu 28° C memperlihatkan koloni berwarna *white* 101 berdasarkan standar warna Faber Castell, bertekstur *butyrous*, permukaan licin mengilap, profil menggunung, tepi berfilamen, dan tidak membentuk pigmen sebalik koloni (Gambar 4.1.1C). Khamir *P. burtonii* UICC Y-468 memiliki sel berbentuk bulat telur hingga elips, membentuk *pseudohyphae*, tidak ditemukan askospora, memiliki kisaran panjang dan lebar sel sebesar 5,3--7,6 μm dan 3,5--6,5 μm (Tabel 4.1.2 dan Gambar 4.1.2). Diduga tidak terbentuknya askospora karena lingkungan dan nutrien dalam medium mampu mendukung pertumbuhan khamir. Menurut deskripsi Kurtzman (1998: 116 & 293), koloni khamir *P. burtonii* berwarna putih, bertekstur *butyrous*, dan sel berbentuk *ovoidal* hingga *elongate* dengan ukuran (2,3--5,7) x (6,0--9,0) μm . Khamir *P. burtonii* dapat membentuk *pseudohyphae* dan askospora apabila ditumbuhkan pada medium *Malt Extract Agar 5%* selama 5 hari pada suhu 25° C.

Menurut Deacon (2006: 103), askospora terbentuk apabila kondisi lingkungan tidak mendukung untuk pertumbuhan, antara lain kekurangan nutrisi. Menurut Kurtzman (1998: 116 & 293), *Pichia* merupakan khamir *Ascomycota* teleomorfik dan khamir *P. burtonii* memiliki nama anamorfik *C. variabilis*. Deak (2008: 119, 137, 139, & 157) melaporkan bahwa *Pichia* dapat ditemukan pada permukaan daun, buah, dan makanan fermentasi.

Hasil pengamatan morfologi khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 saat berumur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C memperlihatkan koloni berwarna *white* 101 berdasarkan standar warna Faber Castell, bertekstur *butyrous*, permukaan licin mengkilap, profil menggantung, tepi rata, dan tidak membentuk pigmen sebalik koloni (Tabel 4.1.1 dan Gambar 4.1.1D). *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 memiliki sel berbentuk elips, tidak ditemukan askospora, melakukan reproduksi aseksual melalui pertunasan multipolar, membentuk *pseudohyphae*, memiliki kisaran panjang dan lebar sel sebesar 4,5--9,0 µm dan 2,8--7,3 µm (Tabel 4.1.2 dan Gambar 4.1.3). Morfologi *Saccharomycetales* sp. belum dideskripsikan pada monograf.

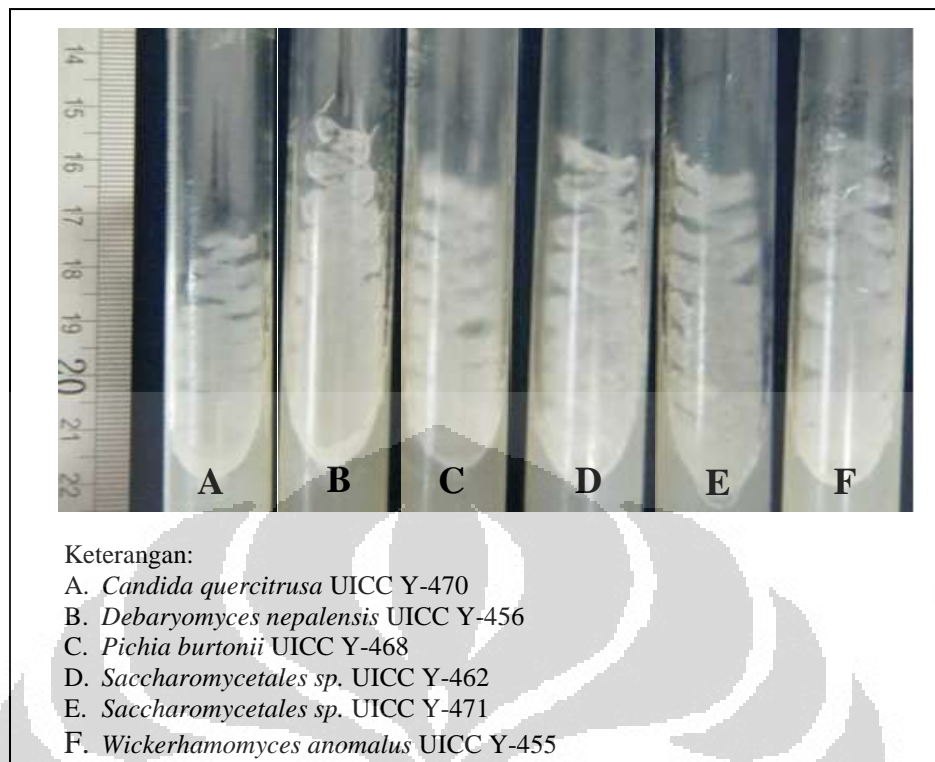
Hasil pengamatan morfologi khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471 berumur 2 hari pada medium YMA dengan suhu 28° C memperlihatkan koloni berwarna *white* 101 berdasarkan standar warna Faber Castell, bertekstur *butyrous*, permukaan licin mengkilap, profil menggantung, tepi rata, dan tidak membentuk pigmen sebalik koloni (Tabel 4.1.1 dan Gambar 4.1.1E). *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471 memiliki sel berbentuk elips, tidak ditemukan adanya askospora, namun memperlihatkan khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471 melakukan reproduksi secara aseksual melalui pertunasan multipolar (Gambar 4.1.3). Khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471 memiliki kisaran panjang dan lebar sel sebesar 4,4--8,2 µm dan 3,2--5,4 µm (Tabel 4.1.2). Deskripsi morfologi khamir *Saccharomycetales* sp. belum dideskripsikan pada monograf.

Hasil pengamatan khamir *Wickerhamomyces anomalus* UICC Y-455 berumur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C memperlihatkan koloni berwarna *white* 101 berdasarkan standar warna Faber Castell, bertekstur *butyrous*, permukaan licin mengkilap, profil menggantung, tepi rata, dan tidak membentuk pigmen sebalik koloni (Tabel 4.1.1 dan Gambar 4.1.1F). Khamir *Wic. anomalus*

UICC Y-455 memiliki sel berbentuk elips, tidak ditemukan adanya askospora, namun terdapat pembentukan tunas dengan tipe pertunasan multipolar (Gambar 4.1.3). Diduga tidak terbentuknya askospora karena lingkungan dan nutrisi dalam medium mampu mendukung pertumbuhan khamir. Khamir *Wic. anomalous* UICC Y-455 memiliki kisaran panjang dan lebar sel sebesar 4,3--9,1 μm dan 3,5--7,9 μm (Tabel 4.1.2). Menurut Kurtzman dan Cletus (2010: 939), khamir *Wic. anomalous* merupakan sinonim dari *P. anomala*, sehingga deskripsi morfologi sama dengan deskripsi morfologi *P. anomala*. Menurut Kurtzman (1998: 287--288), khamir *P. anomala* memiliki koloni berwarna putih hingga putih kecokelatan, bertekstur *butyrous*, dan sel berbentuk *spheroidal* dengan ukuran (1,9--4,1) x (2,1--6,1) μm , dapat membentuk *pseudohyphae* dan askospora berbentuk topi apabila ditumbuhkan pada medium *Malt Extract Agar 5%* selama 3--10 hari pada suhu 25° C. Menurut Deacon (2006: 103), askospora dan *pseudohyphae* terbentuk apabila kondisi lingkungan kekurangan nutrisi dan tidak mendukung untuk pertumbuhan. Kurtzman dan Cletus (2010: 939) melaporkan bahwa khamir *Wic. anomalous* merupakan *Ascomycota* teleomorfik dan memiliki nama anamorfik *C. pelliculosa*. Deak (2008: 119, 121, 140, 143) melaporkan bahwa *P. anomala* dapat ditemukan pada permukaan daun, buah, dan minuman fermentasi.

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

Nama spesies	Warna koloni	Tekstur koloni	Permukaan koloni	Profil koloni	Tepi Koloni	Sebalik koloni
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470	White 101	<i>Butyrous</i>	Licin mengilap	Menggunung	Rata	Hialin
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456	White 101	<i>Butyrous</i>	Licin kusam	Rata	Rata	Hialin
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468	White 101	<i>Butyrous</i>	Licin mengilap	Menggunung	<i>Filamentous</i>	Hialin
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462	White 101	<i>Butyrous</i>	Licin mengilap	Menggunung	Rata	Hialin
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471	White 101	<i>Butyrous</i>	Licin mengilap	Menggunung	Rata	Hialin
<i>Wic. anomalous</i> UICC Y-455	White 101	<i>Butyrous</i>	Licin mengilap	Menggunung	Rata	Hialin

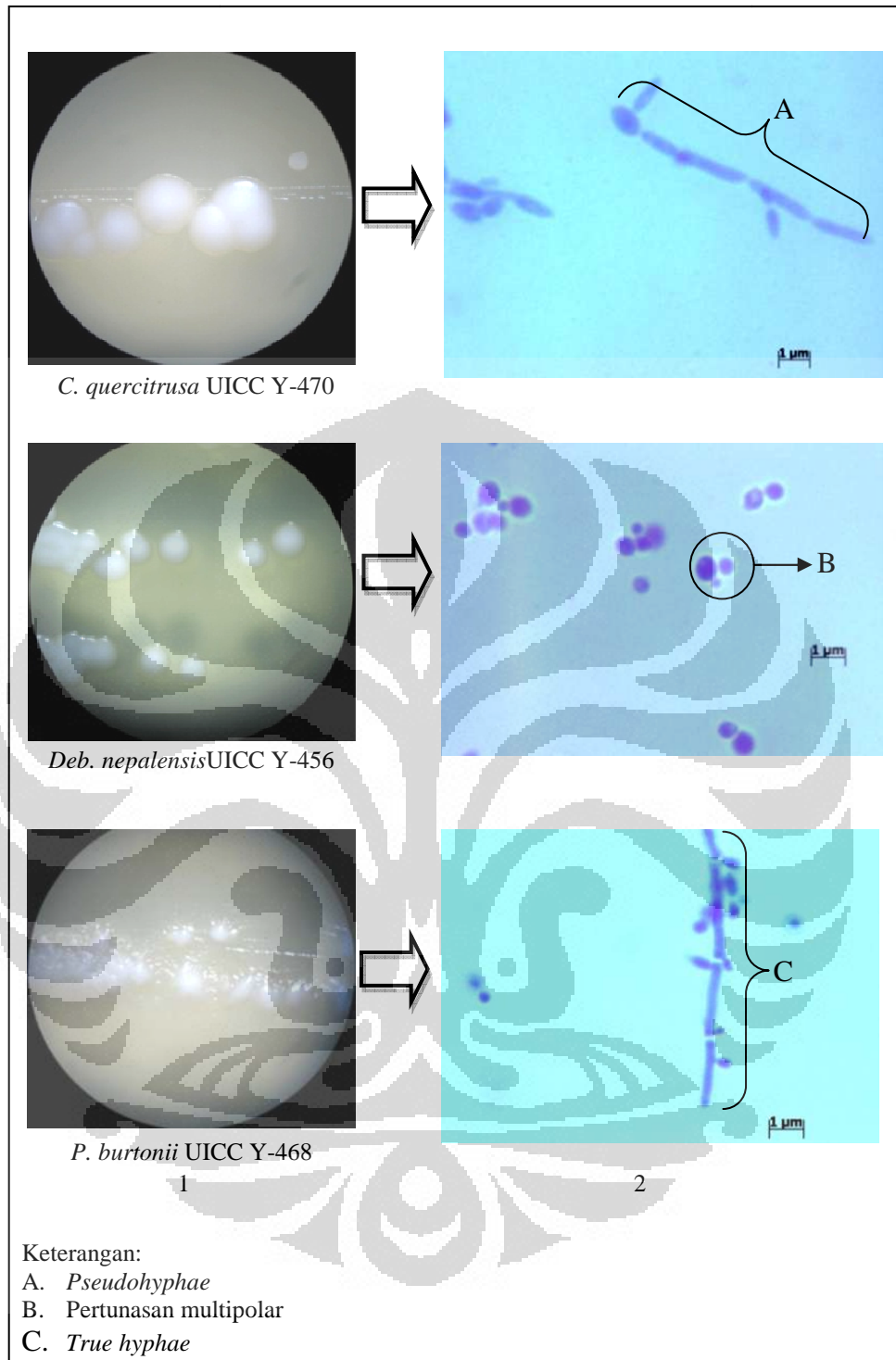


Gambar 4.1.1 Morfologi koloni khamir umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu inkubasi 28° C

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

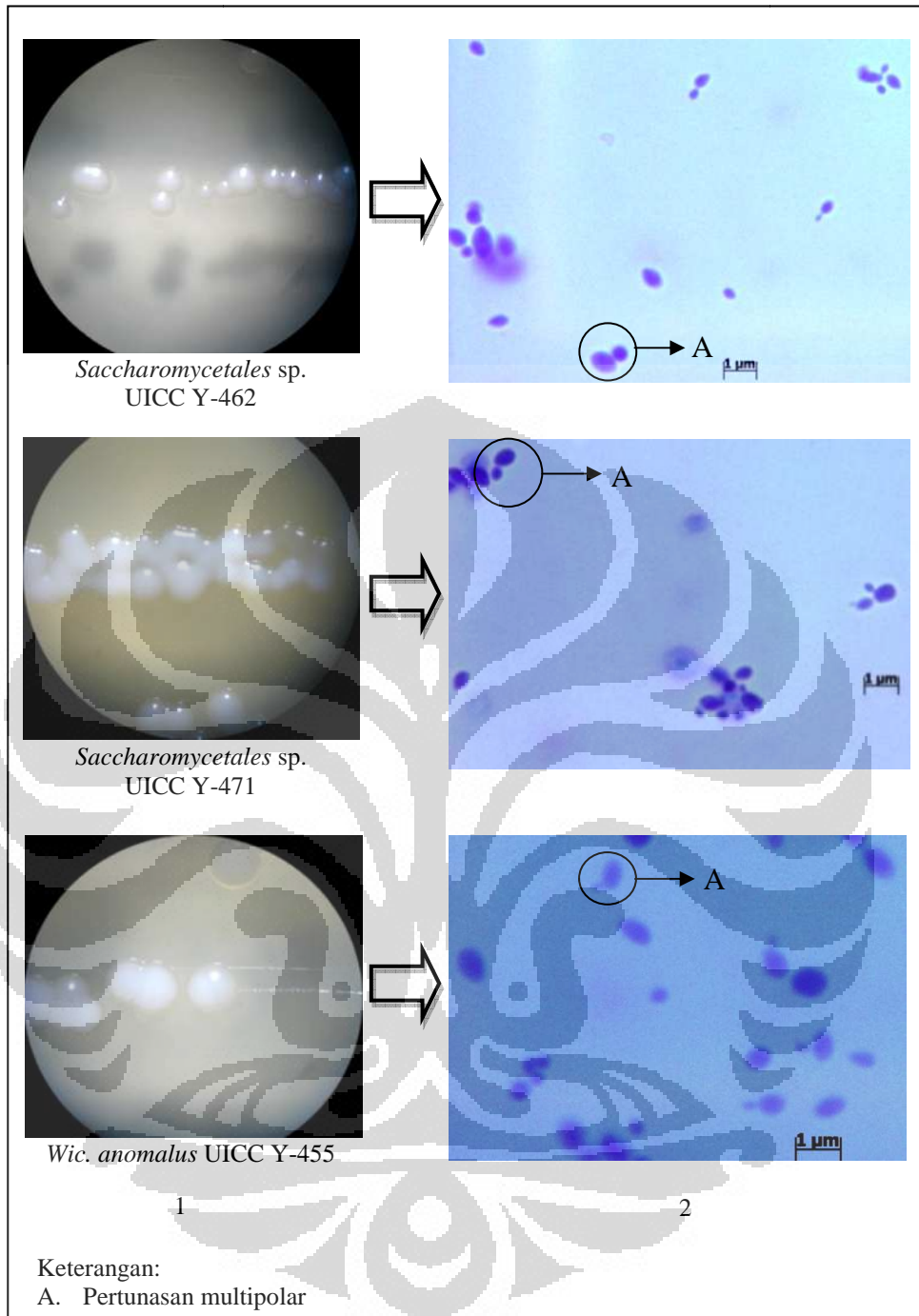
Tabel 4.1.2. Hasil pengamatan morfologi khamir secara mikroskopik umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu inkubasi 28° C

Nama spesies	Kisaran ukuran sel (µm)		Tipe pertunasan	Membentuk <i>true hyphae</i> / <i>pseudohyphae</i>	Susunan sel
	Panjang	Lebar			
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470	6,1--7,8	3,5--6,5	Multipolar	Ya	Sendiri, berpasangan, berkelompok
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456	5,4--7,8	4,2--7,5	Multipolar	Tidak	Sendiri, berpasangan
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468	5,3--7,6	3,5--6,5	Multipolar	Ya	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462	4,5--9,0	2,8--7,3	Multipolar	Ya	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471	4,4--8,2	3,2--5,4	Multipolar	Tidak	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455	4,3--9,1	3,5--7,9	Multipolar	Tidak	Sendiri, berantai



Gambar 4.1.2. Morfologi khamir *C. quercitrusa* UICC Y-470, *Deb. nepalensis* UICC Y-456, dan *P. burtonii* UICC Y-468 secara makroskopik (1) dan mikroskopik (2) umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]



Gambar 4.1.3. Morfologi khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471, dan *Wic. anomalus* UICC Y-455 secara makroskopik (1) dan mikroskopik (2) umur 2 hari dalam medium YMA pada suhu 28° C

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

4.2 PENGAMATAN MORFOLOGI KAPANG

Kapang genus *Aspergillus* yang digunakan dalam penelitian merupakan koleksi UICC hasil isolasi dari tanaman tomat (*L. esculentum*) terinfeksi asal Bogor dan Tangerang. Kapang tersebut, antara lain *Aspergillus niger* UICC, *Aspergillus ochraceus* UICC, dan *Aspergillus terreus* UICC. Menurut Klich (2002: 62--66), kapang *A. niger*, *A. ochraceus*, dan *A. terreus* merupakan kapang kontaminan pada sebagian besar bahan pangan.

Pengamatan morfologi kapang *A. niger* UICC berumur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28° C memperlihatkan koloni kapang berwarna *dark sepia* 175 berdasarkan standar warna Faber Castell, bertekstur *granular*, menghasilkan *exudate drops* berwarna bening, terdapat *growing zone*, terdapat zonasi, dan tidak membentuk pigmen sebalik koloni (Tabel 4.2.1 dan Gambar 4.2.1A). Kapang *A. niger* UICC memiliki kepala konidia berbentuk *radiate*, kepala konidia bertipe *biseriate* (tersusun atas metula dan fialid), *full fertile*, konidia berbentuk bulat, memiliki kisaran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor sebesar 20,64--41,84 µm dan 2,22--3,45 µm (Tabel 4.2.2 dan Gambar 4.2.2A). Klich (2002: 62) mendeskripsikan bahwa kapang *A. niger* memiliki koloni berwarna cokelat kehitaman, spora berwarna kuning saat muda dan menghitam saat tua, dan bertekstur *granular*. Kepala konidia berbentuk *radiate*, kepala konidia bertipe *biseriate* dan *full fertile* dengan diameter kepala konidia adalah 15--20 µm. Konidia berbentuk *globose* dan berduri apabila ditumbuhkan pada medium *Malt Extract Agar* selama 7 hari pada suhu 25° C.

Pengamatan morfologi kapang *A. ochraceus* UICC berumur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28° C memperlihatkan koloni berwarna *gold ochre* 183 berdasarkan standar warna Faber Castell, bertekstur *powdery*, menghasilkan *exudate drops* berwarna bening, terdapat *growing zone*, dan tidak membentuk pigmen sebalik koloni (Tabel 4.2.1 dan Gambar 4.2.1B). Kapang *A. ochraceus* UICC memiliki vesikel berbentuk bulat, kepala konidia berbentuk *radiate* dan bertipe *biseriate*, *full fertile*, memiliki kisaran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor masing-masing sebesar 10,51--15,89 µm dan 1,41--2,55 µm (Tabel 4.2.2 dan Gambar 4.4.2B). Klich (2002: 66) melaporkan bahwa kapang *A. ochraceus* memiliki koloni berwarna kuning muda apabila ditumbuhkan pada

medium *Malt Extract Agar* selama 7 hari. Kapang *A. ochraceus* memiliki kepala konidia berbentuk *radiate*, konidia berbentuk *spherical* hingga *ellipsoidal* dengan permukaan halus, dan vesikel berbentuk *globose* hingga *elongate*. Kepala konidia bertipe *biseriate*, *full fertile*, dan diameter kepala konidia sebesar 10--15 μm .

Hasil pengamatan kapang *A. terreus* UICC berumur 5 hari dalam medium PDA pada suhu 28° C memperlihatkan koloni berwarna *raw umber* 180 berdasarkan standar warna Faber Castell, bertekstur *granular*, menghasilkan *exudate drops* berwarna bening, terdapat *growing zone*, dan tidak menghasilkan pigmen pada sebalik koloni (Tabel 4.2.1 dan Gambar 4.2.1C). Kapang *A. terreus* UICC memiliki vesikel berbentuk bulat, kepala konidia berbentuk *radiate* dan bertipe *biseriate*, *full fertile*, memiliki kisaran diameter kepala konidia dan lebar konidiofor sebesar 7,970--10,70 μm dan 0,10--3,09 μm (Tabel 4.2.2 dan Gambar 4.2.2C). Klich (2002: 66) melaporkan bahwa kapang *A. terreus* apabila ditumbuhkan pada medium *Malt Extract Agar* selama 7 hari pada suhu 25° C memperlihatkan koloni berwarna jingga pucat hingga jingga keabuan, miselium berwarna putih, tekstur koloni *granular*, dan sebalik koloni berwarna kuning keabuan. Konidiofor berdinding halus, kepala konidia bertipe *biseriate*, *3/4 fertile* hingga *full fertile*, dan konidia berbentuk bulat.

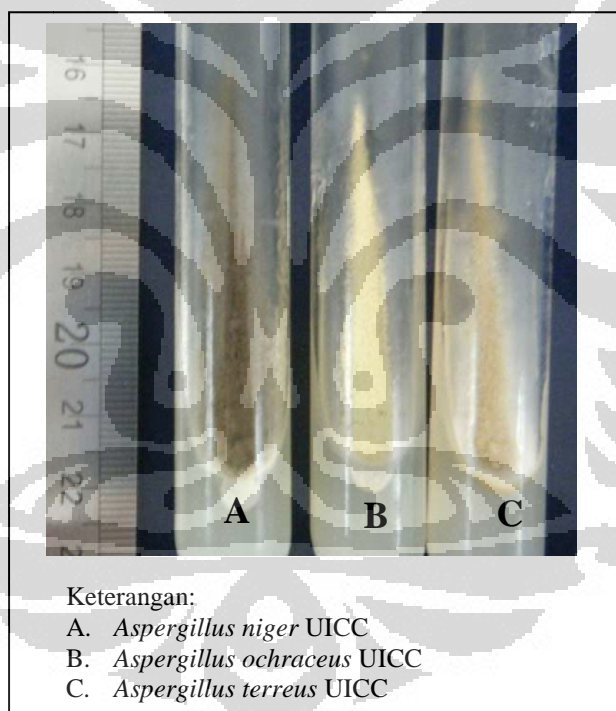
Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa kapang *Aspergillus* spp. UICC tidak membentuk askospora. Hal tersebut karena genus *Aspergillus* termasuk *Ascomycota* anamorfik. Webster dan Weber (2007: 32) menyatakan bahwa genus *Aspergillus* merupakan *Ascomycota* anamorfik. Kapang *Aspergillus* melakukan reproduksi secara aseksual dengan membentuk konidia.

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

Nama spesies	Komponen pengamatan						
	Warna koloni	Tekstur koloni	<i>Exudate drops</i>	<i>Growing zone</i>	Zonasi	<i>Radial furrow</i>	Sebalik koloni
<i>A. niger</i> UICC	<i>Dark sepia</i> 175	<i>Granular</i>	Ada	Ada	Ada	-	Hialin
<i>A. ochraceus</i> UICC	<i>Gold ochre</i> 183	<i>Powdery</i>	Ada	Ada	Ada	-	Hialin
<i>A. terreus</i> UICC	<i>Raw umber</i> 180	<i>Granular</i>	Ada	Ada	Ada	-	Hialin

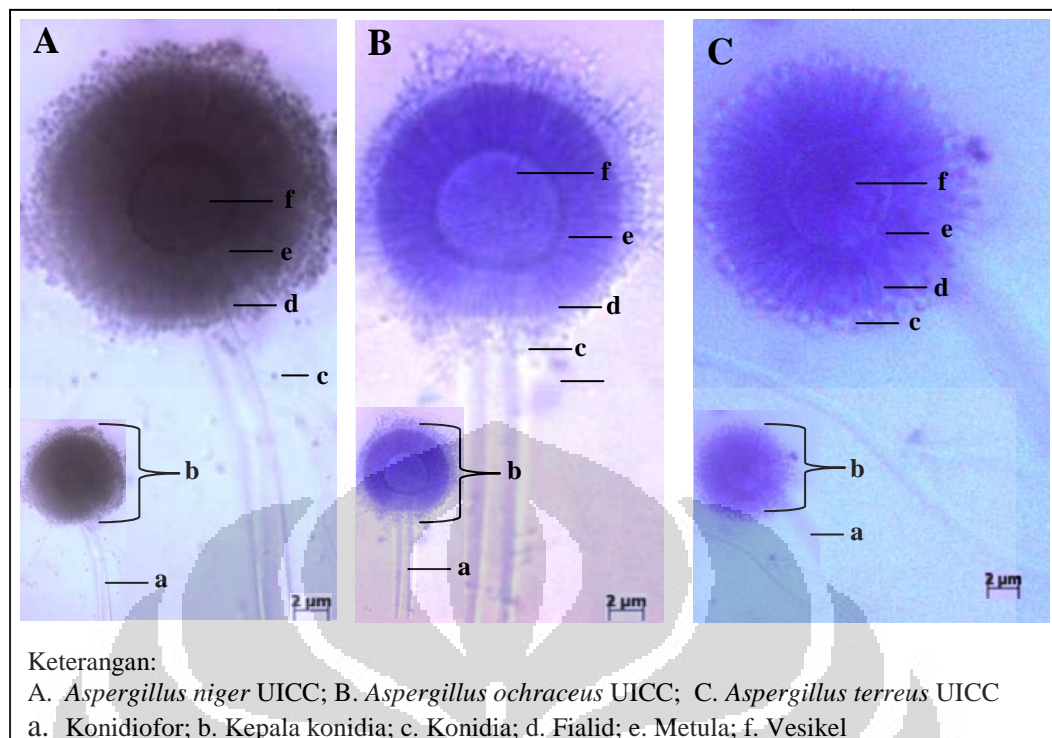
Tabel 4.2.2. Hasil pengamatan mikromorfologi kapang umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu inkubasi 28° C

Nama spesies	Bentuk vesikel	Bentuk kepala konidia	Tipe kepala konidia	Susunan fialid dan metula	Kisaran diameter kepala konidia (µm)	Kisaran lebar konidiofor (µm)	Bentuk konidia
<i>A. niger</i> UICC	Bulat	<i>Radiate</i>	<i>Biseriate</i>	<i>Full fertile</i>	20,64--41,84	2,22--3,45	Bulat
<i>A. ochraceus</i> UICC	Bulat	<i>Radiate</i>	<i>Biseriate</i>	<i>Full fertile</i>	10,51--15,89	1,41--2,55	Bulat hingga oval
<i>A. terreus</i> UICC	Bulat hingga semibulat	<i>Radiate</i>	<i>Biseriate</i>	<i>Full fertile</i>	7,97--10,70	0,10--3,09	Bulat hingga oval



Gambar 4.2.1. Morfologi koloni kapang umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu inkubasi 28° C

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]



Gambar 4.2.2. Morfologi kapang *Aspergillus* spp. UICC secara mikroskopik umur 5 hari dalam medium PDA pada suhu inkubasi 28° C [Sumber: Dokumentasi pribadi.]

4.3 ENUMERASI SEL KHAMIR DAN SPORA KAPANG

Enumerasi dilakukan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) untuk memberikan informasi mengenai jumlah sel khamir dan kapang yang hidup. Hasil enumerasi dapat mewakili jumlah sel yang digunakan sebagai inokulum pada pengujian antagonisme. Hasil enumerasi memperlihatkan bahwa jumlah sel khamir filum *Ascomycota* lebih banyak daripada jumlah spora kapang *Aspergillus* spp. UICC. Sel khamir filum *Ascomycota* memiliki kisaran jumlah sel sebesar $(0,33\text{--}8,33) \times 10^8$ CFU/ml (Tabel 4.3.1 dan Lampiran 5), sedangkan kapang *Aspergillus* spp. UICC memiliki kisaran jumlah sel sebesar $(0,21\text{--}2,90) \times 10^8$ CFU/ml (Tabel 4.3.2 dan Lampiran 6). Jumlah sel khamir yang digunakan pada pengujian sebesar 1×10^8 CFU/ml dan spora kapang sebesar 1×10^4 CFU/ml. Penyeragaman jumlah sel khamir filum *Ascomycota* dan kapang *Aspergillus* spp. UICC pada pengujian antagonisme bertujuan untuk mengetahui kemampuan antagonisme masing-masing khamir dengan kisaran jumlah sel yang sama. Raspor dkk. (2010: 337--338) melaporkan bahwa pada pengujian antagonisme

khamir *C. oleophila* dan *P. guilliermondii* terhadap kapang *Botrytis cinerea* Pers., jumlah awal sel khamir yang digunakan adalah 1×10^8 CFU/ml dan jumlah awal spora kapang yang digunakan adalah 1×10^4 CFU/ml. Hasil menunjukkan bahwa dengan jumlah sel khamir yang sama, *C. oleophila* dan *P. guilliermondii* memiliki kemampuan berbeda dalam mereduksi hifa kapang *B. cinerea* dengan persentase masing-masing sebesar 24,1% dan 32,1% selama inkubasi 7 hari.

Tabel 4.3.1. Hasil enumerasi sel khamir filum *Ascomycota* dalam medium PCA pada suhu 28° C

Spesies	Faktor pengenceran	Rata-rata (CFU/ml)	Kisaran jumlah sel (CFU/ml)
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470	10^{-5}	>300	$(6,47--8,33) \times 10^8$
	10^{-6}	64,67	
	10^{-7}	8,33	
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456	10^{-5}	>300	$(5,67--6,33) \times 10^8$
	10^{-6}	56,67	
	10^{-7}	6,33	
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468	10^{-5}	298,33	$(2,98--4,33) \times 10^8$
	10^{-6}	35,67	
	10^{-7}	4,33	
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462	10^{-5}	69,00	$(0,33--1,00) \times 10^8$
	10^{-6}	10,00	
	10^{-7}	0,33	
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471	10^{-5}	>300	$(6,97--7,33) \times 10^8$
	10^{-6}	69,67	
	10^{-7}	7,33	
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455	10^{-5}	186	$(1,86--4,33) \times 10^8$
	10^{-6}	39,67	
	10^{-7}	4,33	

Tabel 4.3.2. Hasil enumerasi kapang *Aspergillus* spp. UICC dalam medium PCA pada suhu 28° C

Spesies	Faktor pengenceran	Rata-rata (CFU/ml)	Kisaran jumlah sel (CFU/ml)
<i>A. niger</i> UICC	10^{-4}	209,33	$(0,21--0,57) \times 10^8$
	10^{-5}	46,67	
	10^{-6}	5,67	
<i>A. ochraceus</i> UICC	10^{-4}	>300	$(1,63--2,87) \times 10^8$
	10^{-5}	162,67	
	10^{-6}	28,67	
<i>A. terreus</i> UICC	10^{-4}	>300	$(1,42--2,90) \times 10^8$
	10^{-5}	141,67	
	10^{-6}	29,00	

Jumlah sel khamir filum *Ascomycota* yang lebih banyak daripada jumlah spora kapang *Aspergillus* spp. UICC yang digunakan pada pengujian antagonisme

diharapkan memberikan kesempatan pada khamir dalam menguasai nutrisi dan ruang dalam medium. Widyastuti (2008: 28) melaporkan bahwa jumlah awal sel khamir *P. guilliermondii* yang diinokulasikan sebanyak 1×10^8 CFU/ml dan jumlah spora kapang *Pen. expansum* yang diinokulasikan sebanyak 1×10^5 CFU/ml. Kemampuan antagonisme khamir *P. guilliermondii* dalam menghambat pertumbuhan kapang *Pen. expansum* diperlihatkan dari hifa kapang berlubang.

4.4 UJI ANTAGONISME DENGAN METODE *CO-CULTURE*

Pengujian antagonisme dengan metode *co-culture* dilakukan pada enam spesies khamir filum *Ascomycota* dari daun saeh (*Br. papyrifera*) asal Bandung koleksi UICC terhadap kapang *Aspergillus* spp. UICC dari tanaman tomat terinfeksi. Penggunaan metode *co-culture* pada pengujian antagonisme bertujuan untuk melihat interaksi antagonisme melalui kontak fisik antara khamir dan kapang. Bar-Shimon dkk. (2004: 144--145) melaporkan bahwa dengan metode *co-culture* dapat terlihat interaksi antagonisme antara khamir dan kapang berupa penempelan sel khamir pada hifa kapang yang mengakibatkan hifa kapang berlubang, reduksi lebar hifa, serta perubahan morfologi hifa kapang.

Selang waktu delapan jam yang digunakan pada pengujian antagonisme bertujuan untuk memberikan keuntungan bagi khamir dalam memanfaatkan sumber karbon pada medium PDB yang akan digunakan dalam pertumbuhan khamir. Nutrien yang telah dimanfaatkan oleh khamir mengakibatkan proses germinasi spora kapang terhambat, sehingga menghambat pula pembentukan hifa dan sporulasi kapang. Handarini (2009: 43) melakukan pengujian kemampuan antagonisme *Candida* sp. UICC Y-328 terhadap *A. ochraceus* UICC. Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 diinokulasikan delapan jam lebih awal daripada inokulasi kapang *A. ochraceus* UICC. Selang waktu inokulasi bertujuan memberikan kesempatan kepada khamir untuk beradaptasi serta memperoleh nutrisi dan ruang pada medium. Hasil penelitian membuktikan bahwa dengan inokulasi sel khamir delapan jam lebih awal dari kapang, membuat khamir *Candida* sp. UICC Y-328 memiliki kemampuan menghambat pembentukan miselium, sporulasi, dan reduksi lebar hifa kapang *A. ochraceus* UICC sebesar 56,45% hingga inkubasi hari ke-6.

4.4.1 Pengamatan koloni khamir pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme

Hasil pengamatan koloni khamir pada kontrol dan perlakuan dalam medium PDB pH 5,0 selama 4 hari inkubasi pada suhu 28° C memperlihatkan adanya kekeruhan medium pada kontrol dan perlakuan. Pertumbuhan khamir diperlihatkan dengan adanya endapan biomassa khamir, pelikel pada permukaan medium, dan kekeruhan pada medium. Endapan biomassa khamir dan pelikel pada kontrol dan perlakuan memperlihatkan endapan berwarna *white* 101 dan *ivory* 103 berdasarkan standar warna Faber Castell. Selain endapan biomassa khamir, terdapat pula pelikel yang diperlihatkan khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 dan *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471 pada kontrol dan perlakuan (Lampiran 7). Yarrow (1998: 81) dan Sjamsuridzal (2007: 9) melaporkan bahwa khamir apabila ditumbuhkan pada medium cair, maka akan memperlihatkan pertumbuhan berupa endapan biomassa khamir di dasar medium dan pelikel di permukaan medium. Endapan biomassa khamir dapat berbentuk *compact*, *coherent*, *flocculent*, atau *mucoïd*. Pelikel dapat berbentuk kering, lembab, kusam, halus, berkerut, atau menempel pada sisi labu.

Medium PDB yang digunakan pada pengujian antagonisme mendukung pertumbuhan khamir yang diperlihatkan melalui pembentukan endapan biomassa khamir dan pelikel. Pati dan glukosa yang terkandung di dalam medium PDB menjadi sumber karbon yang digunakan untuk pertumbuhan khamir. Enzim ekstraseluler litik pada khamir digunakan untuk menguraikan polisakarida dari ekstrak kentang menjadi glukosa yang dapat diserap oleh sel khamir untuk biosintesis molekul pembangun tubuh, antara lain protein, karbohidrat, lipid, dan asam nukleat untuk kemudian membentuk dinding sel, meningkatkan ukuran dan volume sel, serta perbanyakkan sel. Hasil pengamatan menunjukkan adanya penurunan pH medium pada kontrol dan perlakuan menjadi 4,7. Hal tersebut diduga karena khamir melakukan metabolisme yang dapat menghasilkan asam organik, sehingga menyebabkan terjadi penurunan pH medium. Atlas (2010: 1415) melaporkan bahwa medium PDB umum digunakan untuk penumbuhan berbagai jenis khamir dan kapang. Medium PDB memiliki komposisi, antara lain *potato infusion* 200 g dan *glucose* 20 g. Kavanagh (2005: 13--22) melaporkan

bahwa sumber karbon menjadi nutrisi penting untuk pertumbuhan khamir. Polisakarida yang terkandung di dalam substrat akan diuraikan oleh enzim ekstraseluler khamir menjadi monosakarida, kemudian monosakarida tersebut diserap oleh khamir melalui membran sel, kemudian digunakan dalam metabolisme agar diperoleh ATP yang akan digunakan sel khamir untuk melakukan pertumbuhan, pembentukan dinding sel, diferensiasi sel, serta memperbanyak sel. Rodrigues dkk. (2005: 101) melaporkan bahwa khamir dapat melakukan metabolisme pada gula heksosa, sehingga dihasilkan asam organik ataupun alkohol melalui proses glikolisis dan siklus asam trikarboksilat. Asam organik yang terbentuk dari hasil metabolisme tersebut dapat membuat pH turun dan medium semakin asam.

4.4.2 Pengamatan koloni kapang pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme

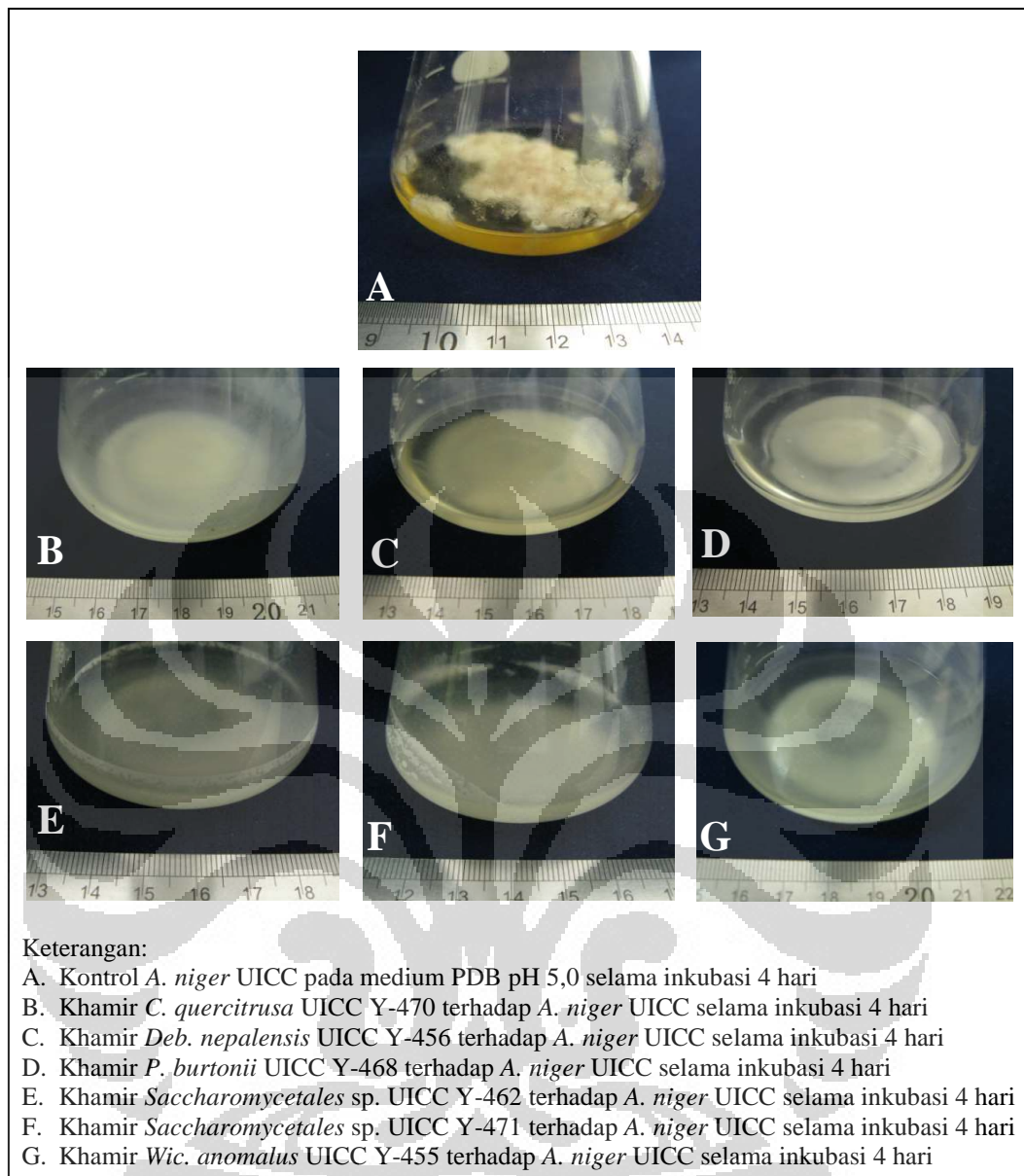
Hasil pengamatan koloni kapang pada medium PDB pH 5,0 hingga inkubasi hari ke-4 pada kontrol memperlihatkan adanya pembentukan miselium kapang *A. niger* UICC pada inkubasi hari ke-1, namun *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC belum memperlihatkan adanya pertumbuhan miselium. Pada inkubasi hari ke-2, kapang *A. niger* UICC mulai bersporulasi, sedangkan kapang *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC mulai membentuk miselium, dan sporulasi kapang *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC terjadi pada hari inkubasi ke-3 (Lampiran 8). Miselium terus menebal dan berada di permukaan medium dan warna medium yang semula bening menjadi keruh. Pertumbuhan miselium dan sporulasi kapang pada permukaan medium diduga karena kapang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. Carlile dkk. (2001: 135 & 137) melaporkan bahwa kapang yang ditumbuhkan pada medium cair memperlihatkan adanya pertumbuhan miselium dan sporulasi pada permukaan medium.

Hasil pengamatan pengujian antagonisme khamir Filum *Ascomycota* yang ditumbuhkan bersama kapang *Aspergillus* spp. UICC pada medium PDB pH 5,0 hingga inkubasi hari ke-4 tidak memperlihatkan terbentuknya miselium (Gambar 4.4.2.1, 4.4.2.2, dan 4.4.2.3). Hal tersebut diduga karena nutrisi yang digunakan sel kapang untuk melakukan germinasi spora digunakan pula oleh sel khamir,

namun sel khamir telah terlebih dahulu memanfaatkan nutrisi dan ruang pada medium. Handarini (2009: 43) melaporkan bahwa pada pengujian antagonisme dengan metode *co-culture* dalam medium PDB pH 5,0. Khamir *Candida* sp. UICC Y-328 memiliki kemampuan antagonisme diperlihatkan melalui penghambatan pembentukan miselium dan reduksi lebar hifa kapang *A. ochraceus* UICC sebesar 56,45% selama inkubasi 6 hari.

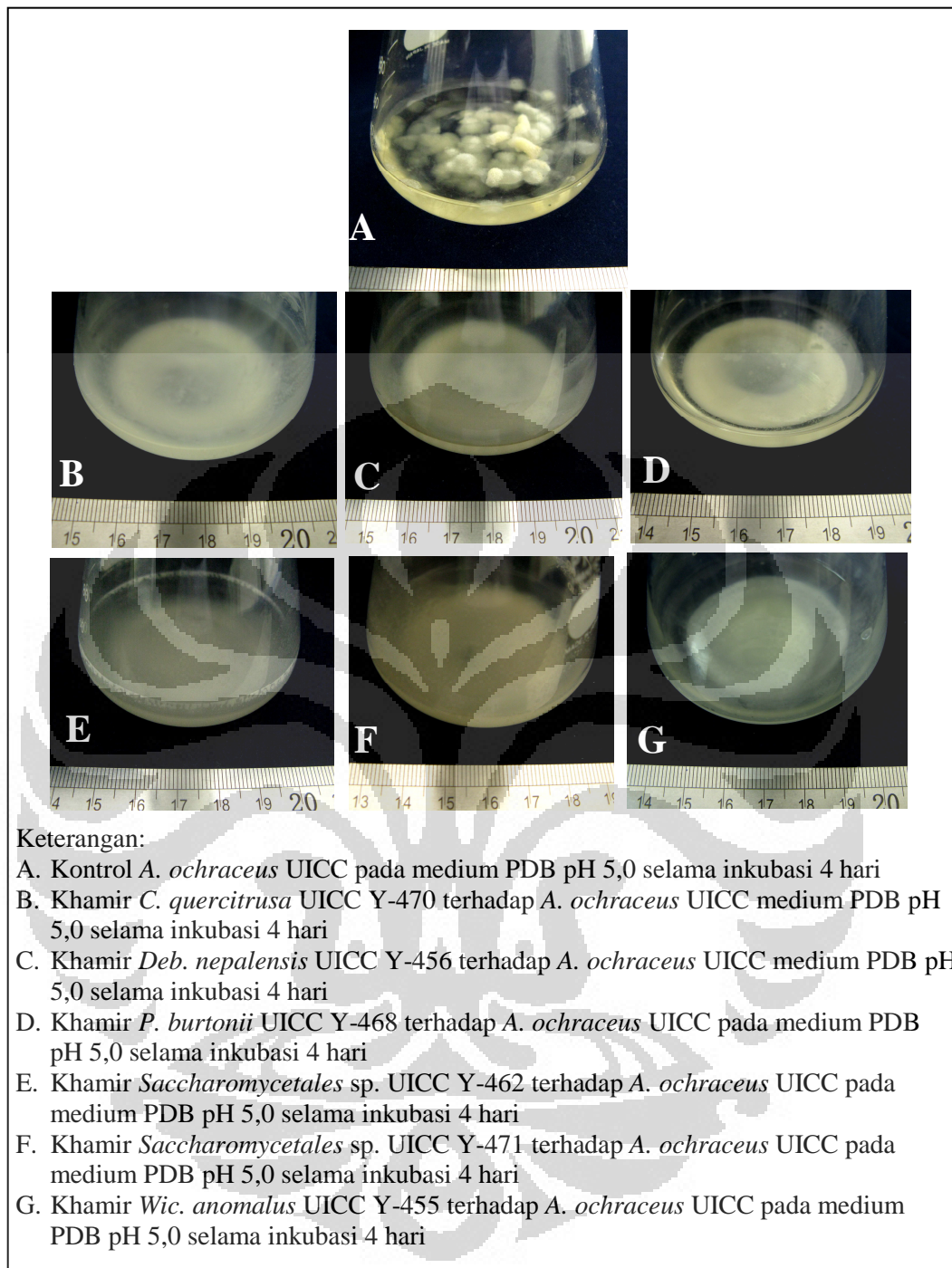
Medium PDB digunakan pada pengujian antagonisme dapat mendukung pertumbuhan kapang karena medium PDB menyediakan sumber karbon dalam bentuk polisakarida dari ekstrak kentang dan gula dekstrosa yang menjadi sumber karbon bagi pertumbuhan kapang. Sumber karbon tersebut diduga digunakan oleh spora kapang untuk bergerminasi membentuk hifa. Hifa terus tumbuh dan mengeluarkan enzim ekstraseluler untuk mendegradasi polisakarida menjadi monosakarida yang dapat diserap oleh kapang untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan sel kapang hingga terbentuk konidiofor dan struktur penghasil konidia yaitu fialid. Konidia yang dihasilkan diperlihatkan dari warna pada koloni kapang. Atlas (2010: 1415) melaporkan bahwa medium PDB digunakan untuk penumbuhan berbagai jenis khamir dan kapang. Medium PDB memiliki komposisi, antara lain *potato infusion* 200 g dan *glucose* 20 g. Carlile dkk. (2001: 192--195) menyatakan bahwa glukosa merupakan komponen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perbanyakan jumlah individu. Konidia akan bergerminasi, kemudian konidia kapang membentuk hifa dan struktur konidiofor hingga terbentuk struktur penghasil konidia dan konidia. Konidia yang dihasilkan diperlihatkan dari terbentuknya warna pada koloni kapang.

Selain pembentukan miselium dan sporulasi, terjadi pula penurunan pH medium pada kontrol dan perlakuan yang diduga akibat dari metabolisme kapang. Sel kapang akan menguraikan glukosa menjadi asam organik yang akan mengakibatkan medium semakin asam dan pH medium turun. Carlile dkk. (2001: 150) melaporkan bahwa kapang dapat menggunakan sumber karbon dan menguraikannya hingga menghasilkan berbagai asam organik melalui jalur asam trikarboksilat.



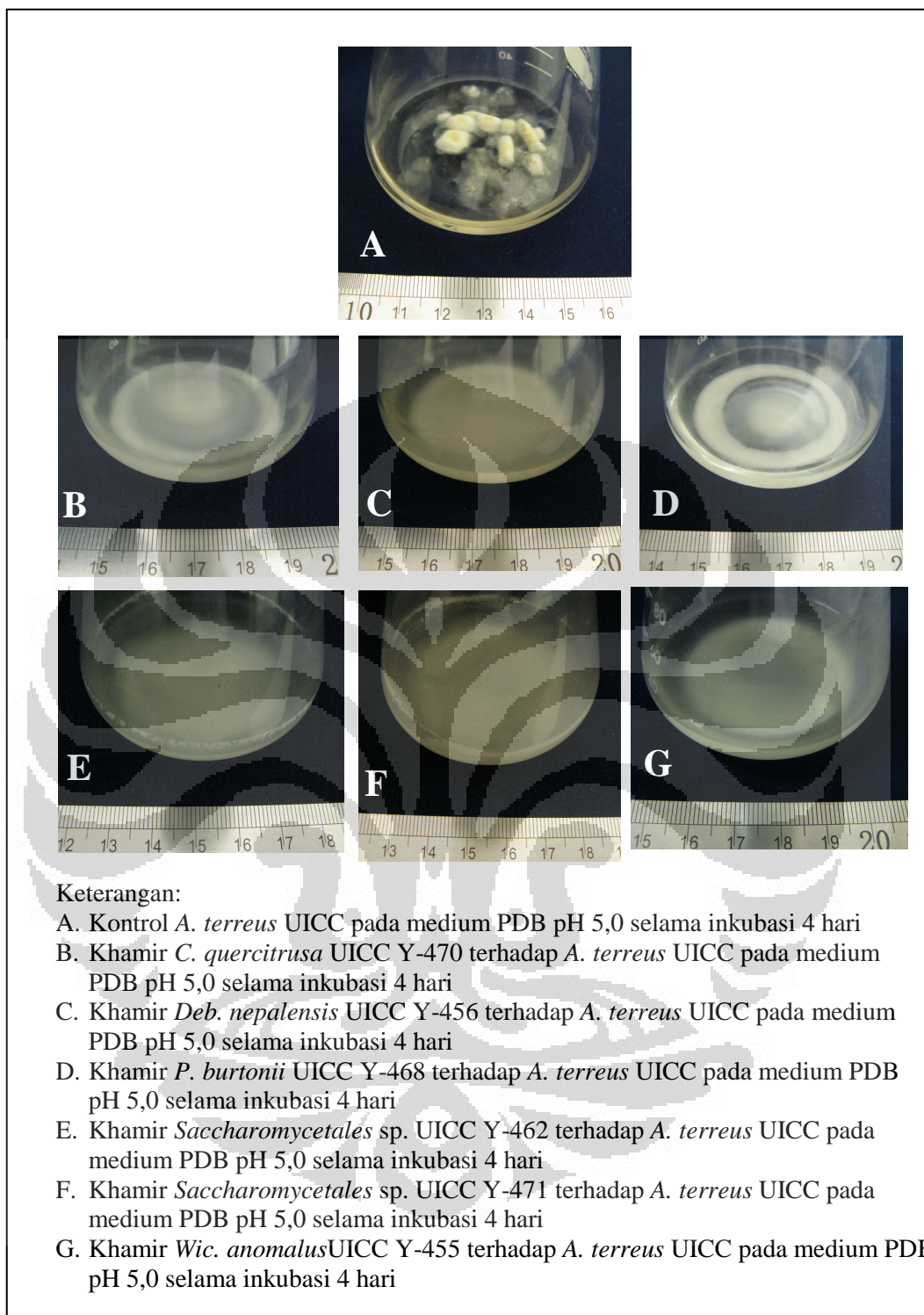
Gambar 4.4.2.1. Kontrol *A. niger* UICC dan perlakuan khamir terhadap kapang *A. niger* UICC dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]



Gambar 4.4.2.2. Kontrol *A. ochraceus* UICC dan perlakuan khamir terhadap kapang *A. ochraceus* UICC dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]



Gambar 4.4.2.3. Kontrol *A. terreus* UICC dan perlakuan khamir terhadap kapang *A. terreus* UICC dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C

[Sumber: Dokumentasi pribadi.]

4.4.3 Pengamatan pengukuran berat medium pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme

Hasil pengukuran berat medium PDB pH 5,0 pada kontrol dan perlakuan, secara umum memperlihatkan terjadinya penurunan berat medium dengan kisaran sebesar 0,33--1,76% pada inkubasi hari ke-4 (Tabel 4.4.3.1, Gambar 4.4.3.1, dan Lampiran 9). Hal tersebut mengindikasikan bahwa berkurangnya berat medium PDB karena sel khamir dan kapang menggunakan nutrisi yang ada pada medium. Medium PDB yang menyediakan sumber karbon dalam bentuk pati dan glukosa digunakan khamir dan kapang untuk melakukan pertumbuhan dan memperbanyak sel. Pati dari ekstrak kentang pada medium didegradasi terlebih dahulu oleh khamir dan kapang menggunakan enzim litik pendegradasi dinding sel kapang menjadi monosakarida yang akan dimetabolisme oleh khamir dan kapang.

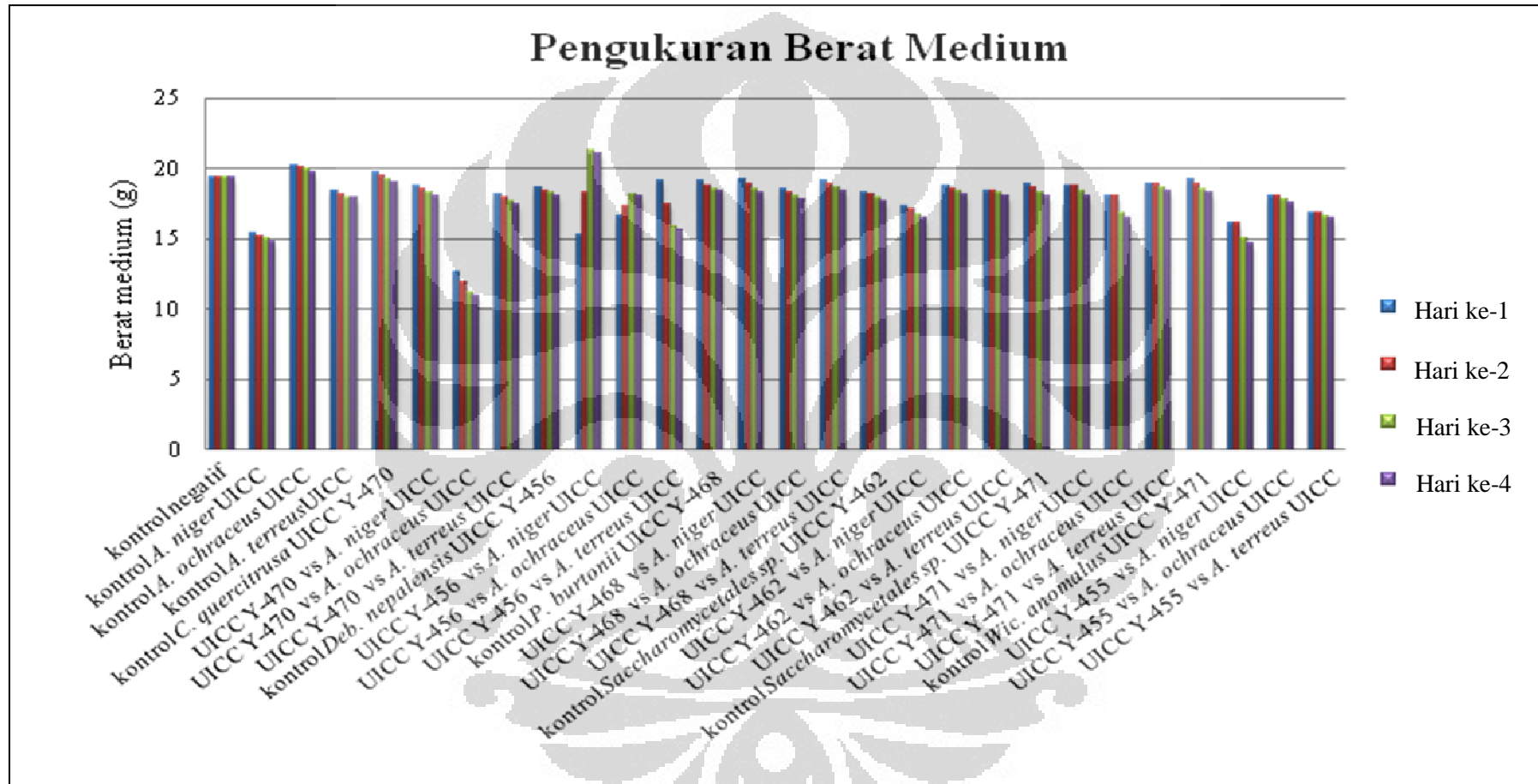
Selain itu, diduga khamir menggunakan sel kapang sebagai sumber nutrisi. Sel khamir akan menempel pada hifa kapang, kemudian akan mengeluarkan enzim ekstraseluler, seperti kitinase dan glukonase yang akan mendegradasi polisakarida penyusun dinding hifa kapang menjadi monosakarida yang akan dijadikan sumber karbon bagi khamir. Hal tersebut akan mengakibatkan dinding hifa kapang menipis dan hifa kapang dapat mengalami kematian. Hifa yang digunakan sebagai sumber nutrisi khamir akan habis dan akan memengaruhi pula dari berat medium pertumbuhan. Coelho dkk. (2007: 727--729) melaporkan bahwa pada pengujian antagonisme khamir *P. ohmeri* terhadap kapang *Pen. expansum*, sel khamir menempel pada hifa kapang dan mengeluarkan enzim β -1,3-glukanase yang akan mendegradasi β -1,3-D-glukan pada hifa kapang menjadi glukosa dan memanfaatkan glukosa untuk pertumbuhan sel khamir.

Sundari dan Sugoro (2006: 922) melaporkan bahwa perhitungan berat medium menjadi salah satu parameter untuk mengetahui kemampuan isolat khamir yang diisolasi dari rumen kerbau dalam mendegradasi serbuk rumput. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa isolat khamir memiliki kemampuan memanfaatkan serbuk rumput. Kemampuan khamir terlihat dari berkurangnya berat medium serbuk rumput dengan kisaran reduksi 1,25--4,49%. Medium akan

digunakan khamir sebagai sumber nutrien untuk melakukan metabolisme yang akan menghasilkan gas dan produk metabolit, seperti amonia dan asam lemak.

Tabel 4.4.3.1. Perhitungan berat medium kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C

Kontrol dan perlakuan	Reduksi berat medium pada hari ke-4 inkubasi (%)
kontrol <i>A. niger</i> UICC	1,76
kontrol <i>A. ochraceus</i> UICC	1,27
kontrol <i>A. terreus</i> UICC	1,72
kontrol <i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470	1,26
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,89
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,82
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	0,51
kontrol <i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456	0,39
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,43
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,67
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	0,90
kontrol <i>P. burtonii</i> UICC Y-468	0,98
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,60
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,56
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	1,36
kontrol <i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462	0,39
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,67
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,66
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	0,50
kontrol <i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471	0,50
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,50
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,49
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	0,33
Kontrol <i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455	0,71
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. niger</i> UICC	0,95
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	0,91
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	1,28



Gambar 4.4.3.1. Diagram batang perhitungan berat medium kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme menggunakan medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C

4.4.4 Pengaruh kemampuan antagonisme khamir terhadap morfologi sel kapang dan ukuran sel khamir dalam pengujian antagonisme

Hasil pengamatan mikromorfologi dalam pengujian antagonisme pada inkubasi hari ke-3 memperlihatkan adanya pertumbuhan hifa dan kepala konidia kapang *A. niger* UICC dan *A. ochraceus* UICC pada kontrol, sedangkan kapang *A. terreus* UICC pada kontrol hanya memperlihatkan adanya pertumbuhan hifa. Hasil pengamatan memperlihatkan bahwa khamir *P. burtonii* UICC Y-468 dan khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 mengelilingi dan menempel pada hifa kapang *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC (Gambar 4.4.4.2). Kisaran kemampuan kedua khamir dalam mereduksi lebar hifa kapang adalah 39,05--56,90%. Khamir yang mampu mereduksi lebar hifa tertinggi adalah khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 yang ditumbuhkan bersama *A. terreus* UICC sebesar 56,90%, sedangkan khamir yang mereduksi lebar hifa terendah yaitu khamir *P. burtonii* UICC Y-468 yang ditumbuhkan bersama *A. ochraceus* UICC dengan persentase reduksi sebesar 39,05% (Tabel 4.4.4.1 dan Gambar 4.4.4.1).

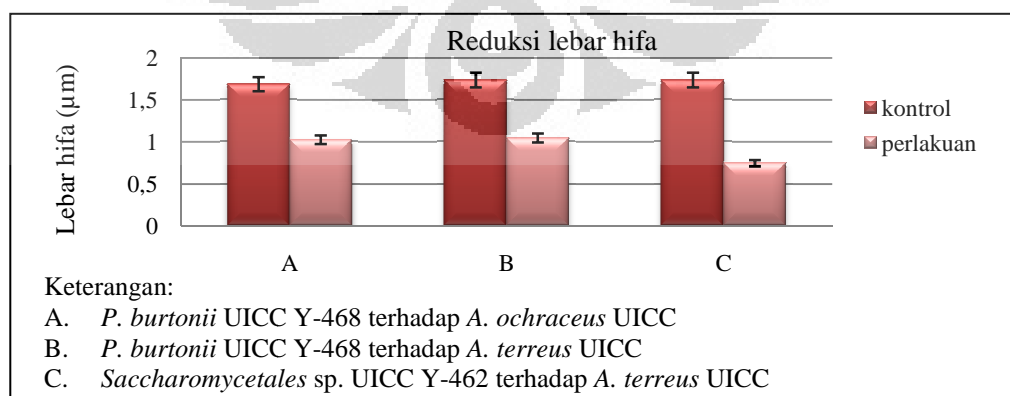
Sel khamir *P. burtonii* UICC Y-468 yang mengelilingi hifa kapang *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC diduga melakukan kompetisi ruang dan nutrien. Kompetisi antara khamir *P. burtonii* UICC Y-468 dengan kapang *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC diperlihatkan melalui peningkatan jumlah dan ukuran sel khamir. Hal tersebut disebabkan sel khamir memiliki kemampuan menyerap nutrien pada medium lebih banyak dibandingkan sel kapang. Hasil interaksi antagonisme yang terjadi mengakibatkan sel kapang kekurangan nutrien dan diperlihatkan melalui reduksi lebar hifa kapang. Chan dan Tian (2005: 218) melaporkan bahwa kompetisi ruang dan nutrien terjadi antara khamir *P. membranifaciens* dan kapang *M. fructicola* yang diperlihatkan dengan peningkatan jumlah sel khamir dan penempelan sel khamir pada hifa kapang. Hasil interaksi berupa penipisan dinding hifa kapang dan reduksi lebar hifa kapang *M. fructicola*.

Penempelan sel khamir *P. burtonii* UICC Y-468 dan *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 pada hifa kapang *A. terreus* UICC diduga merupakan mekanisme antibiosis dan parasitisme. Sel khamir melakukan penempelan pada hifa kapang, kemudian sel khamir mengeluarkan enzim litik pengurai komponen dinding hifa,

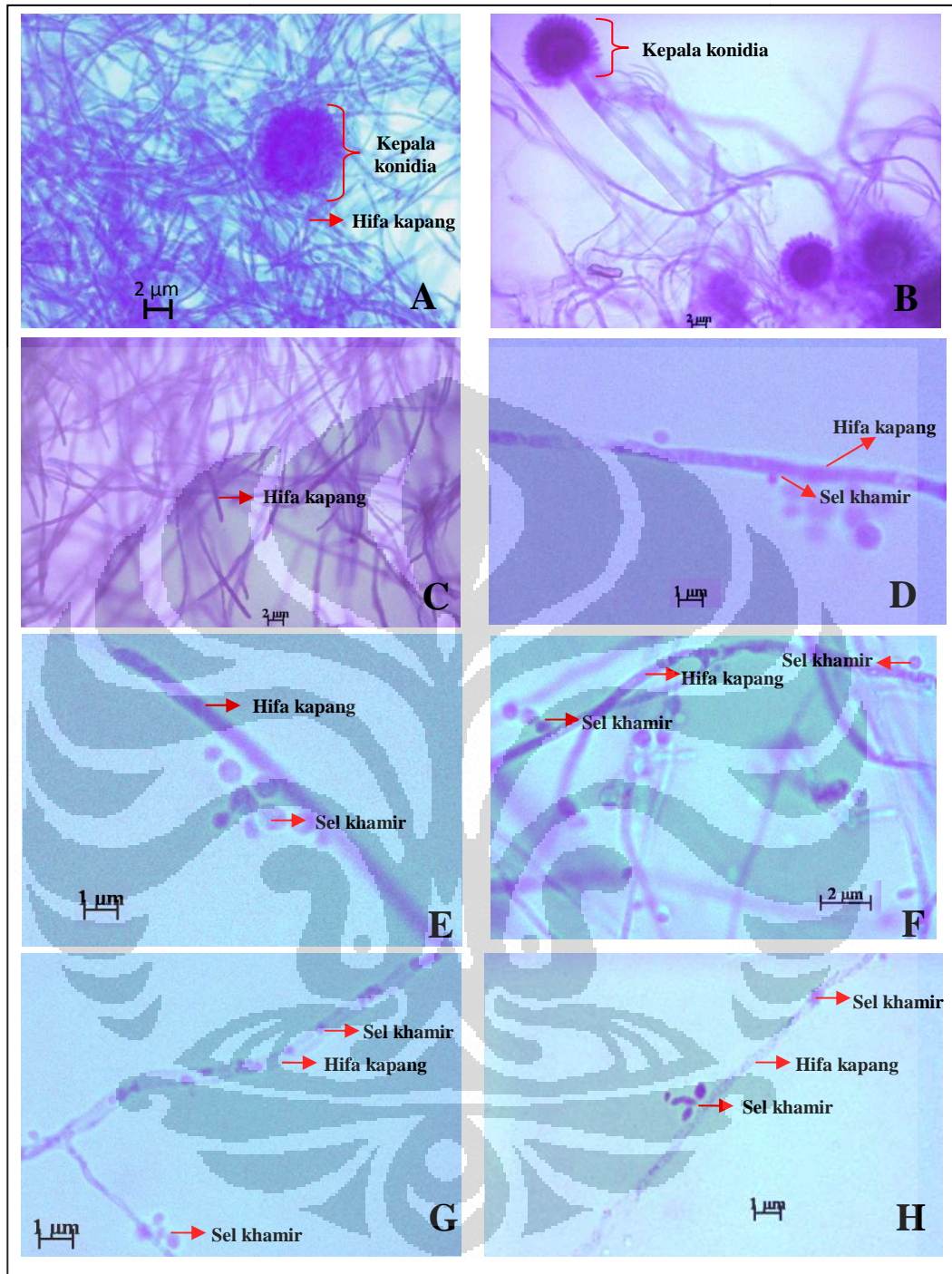
seperti β -glukanase dan kitinase yang akan menguraikan glukukan dan kitin pada hifa kapang menjadi monomer. Monomer dinding hifa kapang dimanfaatkan oleh sel khamir sebagai sumber nutrisi. Proses tersebut merupakan cara khamir untuk menyerap nutrisi yang terkandung di dalam hifa kapang. Coelho dkk. (2007: 727--731) melaporkan bahwa interaksi antagonisme yang terjadi pada khamir *P. ohmeri* terhadap kapang *Pen. expansum* adalah antibiosis dan parasitisme. Mekanisme antibiosis terjadi saat sel khamir menempel pada hifa kapang *Pen. expansum*, kemudian sel khamir mengeluarkan enzim ekstraseluler pendegradasi dinding hifa kapang. Enzim ekstraseluler akan menguraikan komponen dinding hifa kapang menjadi monomer dan mengakibatkan cairan yang ada pada hifa kapang keluar, sedangkan parasitisme terjadi saat monomer dari komponen dinding hifa kapang yang telah diuraikan oleh enzim ekstraseluler dan cairan dari sel kapang *Pen. expansum* dimanfaatkan oleh sel khamir sebagai sumber nutrisi. Hasil interaksi diperlihatkan dari hifa kapang yang menipis dan berlubang.

Tabel 4.4.4.1. Reduksi lebar hifa kapang dalam pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C pada inkubasi hari ke-3

Nama perlakuan	Hari ke-	Lebar hifa rata-rata (μm)		Persentase reduksi (%)
		Kontrol	Perlakuan	
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	3	1,69 \pm 0,17	1,03 \pm 0,16	39,05
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	3	1,74 \pm 0,11	1,05 \pm 0,23	39,65
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	3	1,74 \pm 0,11	0,75 \pm 0,35	56,90



Gambar 4.4.4.1. Diagram batang reduksi lebar hifa kapang dalam pengujian antagonisme menggunakan medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C pada inkubasi hari ke-3



Keterangan:

- A. Kontrol *A. niger* UICC
- B. Kontrol *A. ochraceus* UICC
- C. Kontrol *A. terreus* UICC
- D. Khamir *P. burtonii* UICC Y-468 terhadap *A. ochraceus* UICC
- E dan F. Khamir *P. burtonii* UICC Y-468 terhadap *A. terreus* UICC
- G dan H. Khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 terhadap *A. terreus* UICC

Gambar 4.4.4.2. Hasil interaksi antagonisme dalam pengujian antagonisme menggunakan medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C

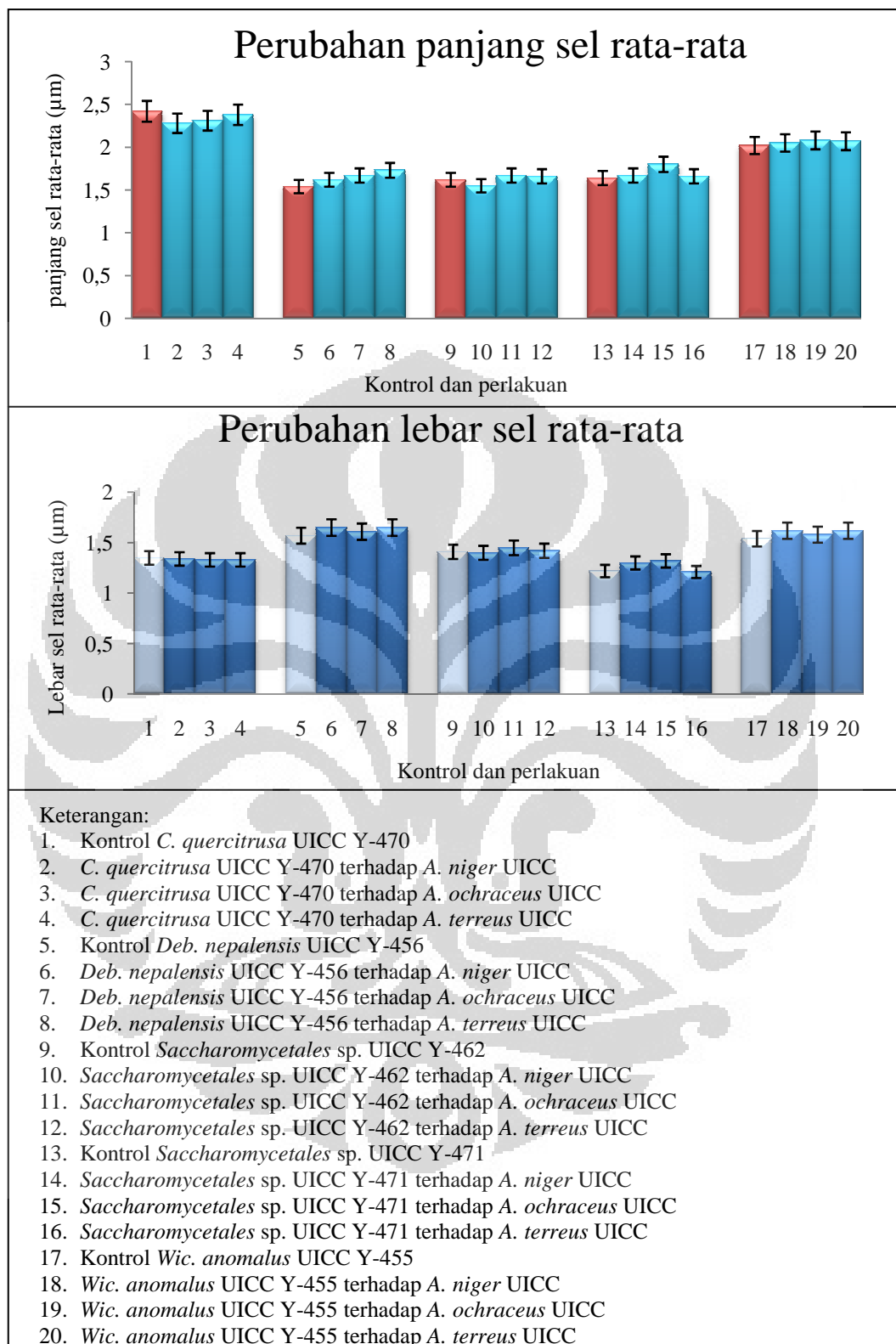
Penempelan khamir *P. burtonii* UICC Y-468 dan *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 pada hifa kapang *Aspergillus* spp. UICC diduga merupakan cara khamir menghalangi penyerapan nutrisi oleh hifa kapang yang mengakibatkan penyerapan nutrisi dan pertumbuhan hifa kapang terhambat dan diperlihatkan melalui reduksi lebar hifa kapang *Aspergillus* spp. UICC yang ditempel oleh sel khamir. Widyastuti (2008: 30) melaporkan bahwa penempelan sel khamir pada hifa kapang akan menghalangi penyerapan nutrisi ke dalam hifa kapang dan enzim hidrolitik yang digunakan untuk mendegradasi substrat. Hal tersebut mengakibatkan hifa kapang kekurangan nutrisi dan pertumbuhannya terhambat.

Pengamatan ukuran panjang dan lebar sel khamir pada inkubasi hari ke-3 memperlihatkan bentuk, tipe pertunasan, dan susunan sel khamir pada perlakuan tidak berbeda dengan kontrol (Lampiran 10). Khamir filum *Ascomycota* yang ditumbuhkan bersama kapang *Aspergillus* spp. UICC pada medium PDB pH 5,0 memperlihatkan adanya peningkatan dan reduksi ukuran panjang dan lebar sel khamir (Tabel 4.4.4.2 dan Gambar 4.4.4.3). Secara umum, khamir filum *Ascomycota* yang digunakan mengalami peningkatan ukuran panjang dan lebar sel (Tabel 4.4.4.3). Peningkatan ukuran sel khamir tertinggi terjadi pada khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471 yang ditumbuhkan bersama *A. ochraceus* UICC dengan persentase peningkatan ukuran panjang dan lebar sel sebesar 8,89% dan 9,09%, sedangkan peningkatan ukuran panjang dan lebar sel khamir terendah terjadi pada khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471 yang ditumbuhkan bersama *A. terreus* UICC dengan persentase peningkatan ukuran panjang dan lebar sel sebesar 1,20% dan 0,83%. Peningkatan ukuran sel khamir diduga karena khamir telah diinokulasikan terlebih dahulu daripada kapang dan khamir dapat beradaptasi terhadap medium, dapat memanfaatkan nutrisi dan memperbanyak diri lebih baik daripada kapang. Peningkatan ukuran sel khamir diduga pula karena sel khamir memanfaatkan kapang sebagai sumber nutrisi melalui produksi enzim ekstraseluler yang menguraikan dinding hifa kapang menjadi monosakarida yang dimanfaatkan oleh khamir. Pimenta dkk. (2008: 88) melaporkan bahwa penempelan khamir *Sacch. schoenii* pada kapang *Pen. digitatum* mengakibatkan populasi sel khamir dan ukuran sel khamir meningkat. Diduga sel khamir memanfaatkan kapang *Pen. digitatum* sebagai sumber nutrisi.

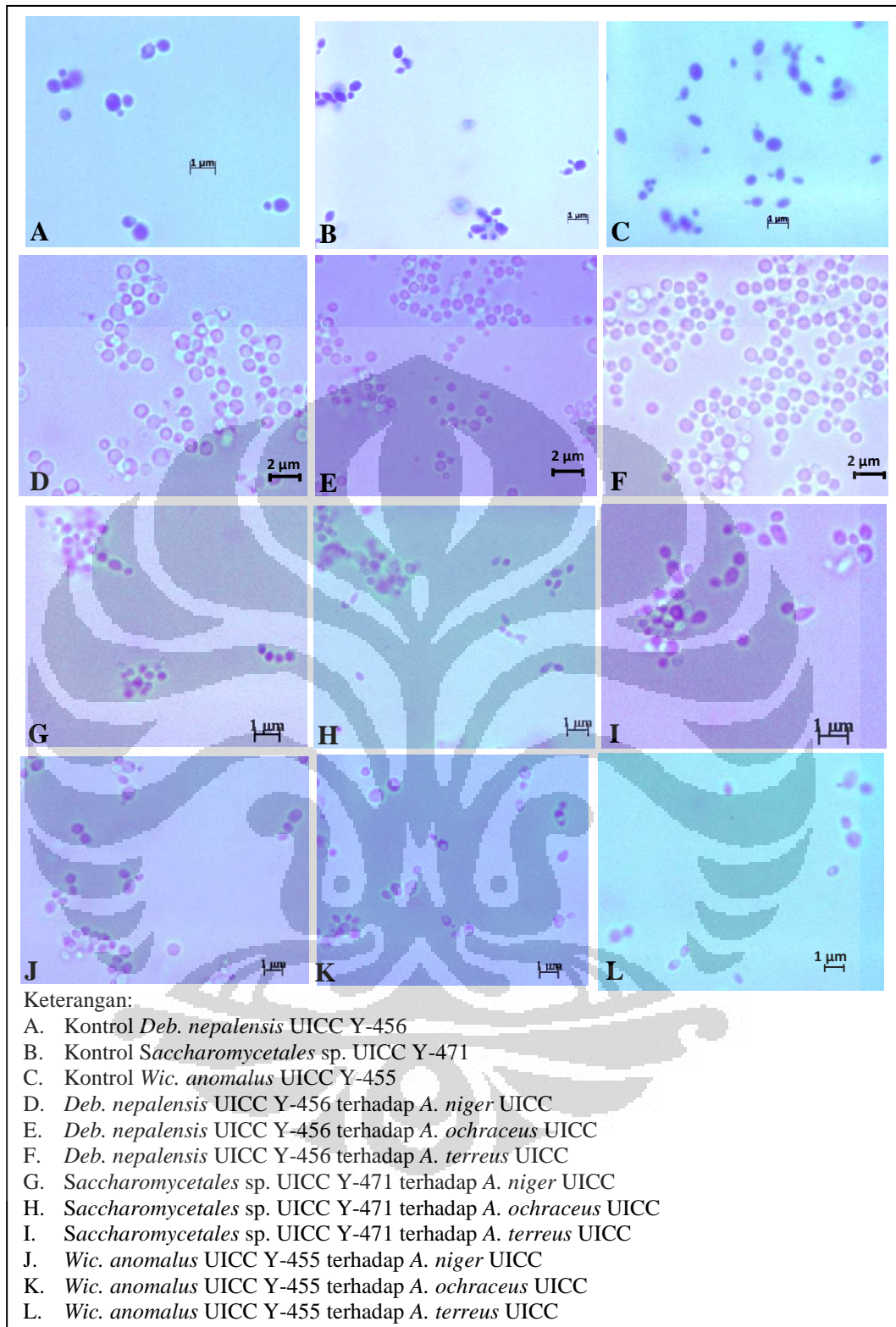
Tabel 4.4.4.2. Hasil pengukuran perubahan sel vegetatif khamir pada pengujian antagonisme pada medium PDB pH 5,0 suhu 28°C

Nama perlakuan	Panjang sel vegetatif rata-rata (µm)		Persentase perubahan panjang sel (%)	Lebar sel vegetatif rata-rata (µm)		Persentase perubahan lebar sel (%)
	Kontrol	Perlakuan		Kontrol	Perlakuan	
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. niger</i> UICC	2,42 ± 0,51	2,28 ± 0,25	-6,14	1,35 ± 0,07	1,34 ± 0,30	-0,75
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	2,42 ± 0,51	2,31 ± 0,17	-4,76	1,35 ± 0,07	1,33 ± 0,34	-1,50
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	2,42 ± 0,51	2,38 ± 0,37	-1,68	1,35 ± 0,07	1,33 ± 0,34	-1,50
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. niger</i> UICC	1,54 ± 0,06	1,62 ± 0,20	4,94	1,57 ± 0,10	1,65 ± 0,15	4,85
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	1,54 ± 0,06	1,67 ± 0,18	7,78	1,57 ± 0,10	1,61 ± 0,13	3,09
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	1,54 ± 0,06	1,73 ± 0,16	10,98	1,57 ± 0,10	1,65 ± 0,16	4,85
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. niger</i> UICC	1,62 ± 0,09	1,60 ± 0,20	-1,25	1,41 ± 0,07	1,40 ± 0,18	-0,71
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	1,62 ± 0,09	1,67 ± 0,04	2,99	1,41 ± 0,07	1,45 ± 0,02	2,76
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	1,62 ± 0,09	1,66 ± 0,36	2,41	1,41 ± 0,07	1,42 ± 0,04	0,70
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. niger</i> UICC	1,64±0,13	1,67±0,18	1,80	1,22 ± 0,11	1,30 ± 0,20	6,15
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	1,64 ± 0,13	1,66 ± 0,35	1,20	1,22 ± 0,11	1,31 ± 0,12	0,83
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. niger</i> UICC	2,02 ± 0,25	2,05 ± 0,30	1,85	1,54 ± 0,26	1,62 ± 0,15	4,23
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	2,02 ± 0,25	2,08 ± 0,35	2,78	1,54 ± 0,26	1,58 ± 0,09	2,89
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	2,02 ± 0,25	2,07 ± 0,37	2,57	1,54 ± 0,26	1,62 ± 0,15	5,03

Tanda (-) : Terjadi reduksi ukuran sel vegetatif



Gambar 4.4.4.3. Diagram batang perubahan panjang dan lebar sel vegetatif rata-rata dalam pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C pada inkubasi hari ke-3



Gambar 4.4.4.4. Sel khamir pada kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C pada inkubasi hari ke-3

Hasil pengamatan memperlihatkan pula adanya reduksi ukuran sel vegetatif khamir *C. quercitrusa* UICC Y-470 dan *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 yang ditumbuhkan bersama kapang *A. niger* UICC dan *A. terreus* UICC. Hal tersebut mengindikasikan adanya gangguan pertumbuhan yang diakibatkan oleh kapang. Sel khamir diduga berkompetisi dengan kapang dalam hal pemanfaatan nutrisi pada medium. Handarini (2009: 27) melaporkan bahwa pada pengujian antagonisme antara khamir *Candida* sp. UICC Y-328 dan kapang *A. terreus* UICC memperlihatkan ukuran khamir yang diinokulasikan spora kapang lebih kecil daripada ukuran sel vegetatif khamir pada kontrol. Diduga sel *Candida* sp. UICC Y-328 tidak mampu beradaptasi dan menguasai nutrisi yang ada pada medium, sehingga sel khamir mengalami gangguan akibat berkompetisi dengan kapang.

Lama inkubasi diduga memengaruhi pertumbuhan khamir untuk mencapai jumlah sel maksimum, sehingga ada spesies khamir yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan hifa dan sporulasi kapang dengan baik, namun ada spesies khamir dengan waktu 8 jam belum mampu untuk melakukan perbanyakan diri dan dominasi ruang, sehingga hifa kapang masih dapat tumbuh. Zhao dkk. (2008: 116) melaporkan bahwa interval waktu 6, 12, dan 24 jam untuk inokulasi antara *P. guilliermondii* dengan *R. nigricans* dapat memengaruhi kemampuan khamir untuk beradaptasi dengan substrat, memanfaatkan nutrisi dan ruang, serta memperbanyak diri. Waktu inkubasi khamir 24 jam memperlihatkan kemampuan khamir menghambat pertumbuhan kapang paling baik.

4.4.5. Pengamatan hasil enumerasi pada pengujian antagonisme

Perhitungan sel khamir dan kapang menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dilakukan pada inkubasi hari ke-5. Perhitungan bertujuan untuk mengetahui jumlah sel khamir dan kapang yang tumbuh setelah berada pada satu medium. Jumlah awal sel khamir dalam pengujian sebesar 1×10^8 CFU/ml, sedangkan jumlah awal spora yang digunakan dalam pengujian sebesar 1×10^4 CFU/ml. Enumerasi yang dilakukan pada inkubasi hari ke-5 dalam pengujian antagonisme memperlihatkan kapang *A. niger* UICC pada kontrol mengalami penurunan jumlah CFU/ml dibandingkan sebelum pengujian dengan kisaran $(0,7--1,0) \times 10^6$ CFU/ml, sedangkan kapang *A. ochraceus* UICC dan *A. terreus* UICC

pada kontrol dalam pengujian antagonisme mengalami mortalitas sebesar 100 % pada inkubasi hari ke-5. Secara umum, khamir pada perlakuan yang dibandingkan dengan kontrol dalam pengujian antagonisme memperlihatkan adanya peningkatan jumlah CFU/ml dengan kisaran 6,45--85,22%. Peningkatan jumlah sel khamir tertinggi terjadi pada *Saccharomycetales* sp.UICC Y-462 yang ditumbuhkan bersama kapang *A. terreus* UICC sebesar 85,22%, sedangkan penurunan jumlah sel khamir terendah terjadi pada khamir *Deb. nepalensis* UICC Y-456 yang ditumbuhkan bersama kapang *A. ochraceus* UICC sebesar 6,45% (Tabel 4.4.5.2).

Hasil enumerasi memperlihatkan tidak adanya pertumbuhan kapang pada perlakuan, kecuali pada khamir *Saccharomycetales* sp.UICC Y-462 yang ditumbuhkan bersama *A. niger* UICC. Hasil enumerasi menunjukkan adanya korelasi dengan hasil pengamatan mikromorfologi pada perlakuan yang dilakukan pada inkubasi hari ke-3 yang diperlihatkan dengan pertumbuhan hifa kapang ditemplei oleh sel khamir dan reduki lebar hifa kapang (Lampiran 11).

Hasil enumerasi pada khamir yang ditumbuhkan bersama spora kapang, umumnya mengalami peningkatan jumlah sel khamir dibandingkan dengan kontrol. Peningkatan jumlah sel khamir pada perlakuan diduga karena khamir telah diinokulasikan terlebih dahulu daripada kapang dan khamir dapat beradaptasi terhadap medium, dapat memanfaatkan nutrien dan memperbanyak diri lebih baik daripada kapang. Selain itu, peningkatan jumlah sel khamir diduga karena sel khamir dapat mengeluarkan enzim ekstraseluler pendegradasi dinding hifa kapang, sehingga komponen polisakarida dari dinding hifa kapang diurai menjadi monosakarida yang dimanfaatkan khamir sebagai sumber karbon. Pimenta dkk. (2008: 88) melaporkan bahwa pada pengujian antagonisme antara khamir *Sacch. schoenii* dan kapang *Pen. digitatum* terjadi peningkatan jumlah sel khamir 3 minggu setelah inokulasi. Hasil penelitian memperlihatkan jumlah sel khamir mengalami peningkatan setelah inkubasi hari ke-4 karena sel khamir memanfaatkan nutrien yang ada pada kapang dengan melakukan penempelan pada hifa kapang dan mengeluarkan struktur seperti pasak yang akan merusak hifa kapang, kemudian sel khamir memanfaatkan hifa kapang sebagai sumber nutrien melalui enzim litik yang akan menguraikan komponen dinding hifa kapang.

Nutrien digunakan untuk pertumbuhan khamir meningkat, sehingga terjadi peningkatan jumlah sel khamir.

Tabel 4.4.5.1. Hasil enumerasi kapang pada kontrol dalam pengujian antagonisme pada medium PDB pH 5,0 suhu 28° C pada inkubasi hari ke-5

Kontrol	Kisaran CFU/ml	Pertumbuhan kapang
<i>A. niger</i> UICC	$(0,7--1,0) \times 10^6$	Ada pertumbuhan
<i>A. ochraceus</i> UICC	-	Tidak ada pertumbuhan
<i>A. terreus</i> UICC	-	Tidak ada pertumbuhan

Tabel 4.4.5.2. Hasil enumerasi khamir pada kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C pada inkubasi hari ke-5

Kontrol dan perlakuan	Kisaran CFU/ml	Persentase peningkatan jumlah sel (%)	
		Khamir	Kapang
Kontrol <i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470	$(7,0--10) \times 10^7$		
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. niger</i> UICC	$(7,5--8,1) \times 10^7$	- 19,00	-
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	$(4,5--7,4) \times 10^7$	-26,00	-
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	$(1,1--1,4) \times 10^8$	28,57	-
Kontrol <i>Deb nepalensis</i> UICC Y-456	$(7,5--8,7) \times 10^7$		
<i>Deb nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. niger</i> UICC	$(6,5--6,7) \times 10^7$	-22,99	-
<i>Deb nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	$(8,0--9,3) \times 10^7$	6,45	-
<i>Deb nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	$(1,3--1,5) \times 10^8$	42,00	-
Kontrol <i>P. burtonii</i> UICC Y-468	$(3,5--4,6) \times 10^7$		
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. niger</i> UICC	$(4,0--4,7) \times 10^7$	12,50	-
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	$(4,0--4,8) \times 10^7$	14,63	-
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	$(4,2--4,5) \times 10^7$	16,67	-
Kontrol <i>Saccharomycetales</i> sp.UICC Y-462	$(8,0--8,8) \times 10^7$		
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. niger</i> UICC	$(1,0--2,0) \times 10^8$	77,27	40,12
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	$(1,5--1,3) \times 10^8$	32,30	-
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	$(1,0--1,3) \times 10^8$	85,22	-
Kontrol <i>Saccharomycetales</i> sp.UICC Y-471	$(2,0--3,4) \times 10^7$		
<i>Saccharomycetales</i> sp.UICC Y-471 terhadap <i>A. niger</i> UICC	$(3,0--6,3) \times 10^7$	46,03	-
<i>Saccharomycetales</i> sp.UICC Y-471 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	$(6,0--6,1) \times 10^7$	44,26	-
<i>Saccharomycetales</i> sp.UICC Y-471 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	$(4,0--5,4) \times 10^7$	37,04	-
Kontrol <i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455	$(6,2--6,5) \times 10^7$		
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. niger</i> UICC	$(6,0--6,5) \times 10^7$	-3,33	-
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	$(6,1--10,0) \times 10^7$	35,00	-
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	$(3,0--5,5) \times 10^7$	-18,18	-

Penelitian ini memberikan informasi bahwa khamir filum *Ascomycota* dari daun saeh (*Br. papyrifera*) asal Bandung koleksi UICC antara lain *C. quercitrusa* UICC Y-470, *Deb. nepalensis* UICC Y-456, *P. burtonii* UICC Y-468, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471, dan *Wic. anomalus* UICC Y-455 memiliki kemampuan antagonisme dalam melawan kapang *Aspergillus* spp. UICC dari tanaman tomat terinfeksi. Kemampuan tersebut diperlihatkan melalui penghambatan pertumbuhan miselium, reduksi lebar hifa kapang, peningkatan panjang sel dan lebar sel vegetatif khamir, dan peningkatan jumlah sel khamir hingga inkubasi hari ke-4. *Saccharomycetales* UICC Y-462 merupakan khamir antagonis paling potensial yang dapat menghambat pertumbuhan miselium kapang *A. terreus* UICC dan memiliki kemampuan mereduksi lebar hifa kapang sebesar 56,90%. Hasil yang diharapkan dari penelitian ini adalah khamir yang memiliki kemampuan antagonisme dapat digunakan sebagai agen biokontrol terhadap kapang penginfeksi tanaman tomat.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

1. Khamir Filum *Ascomycota* dari daun saeh (*Br. papyrifera*) asal Bandung koleksi UICC, yaitu *C. quercitrusa* UICC Y-470, *Deb. nepalensis* UICC Y-456, *P. burtonii* UICC Y-468, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462, *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471, dan *Wic. anomalus* UICC Y-455 memiliki kemampuan antagonisme terhadap kapang *Aspergillus* spp. UICC dari tanaman tomat terinfeksi, yang diperlihatkan melalui penghambatan pertumbuhan miselium, reduksi lebar hifa kapang dengan kisaran 39,05--56,90%, peningkatan panjang sel dan lebar sel vegetatif khamir dengan kisaran 1,20--8,89% dan 0,83--9,09%, serta peningkatan jumlah sel khamir hingga inkubasi hari ke-4.
2. Khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 merupakan khamir antagonis paling potensial yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan kapang dan mereduksi lebar hifa kapang *A. terreus* UICC sebesar 56,90% hingga inkubasi hari ke-4.

5.2 SARAN

1. Perlu dilakukan pengamatan morfologi secara mikroskopik untuk mengetahui lebih lanjut deskripsi dari khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 dan *Saccharomycetales* sp. UICC Y-471.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) atau *Transmission Electron Microscopy* (TEM) agar dapat diamati perubahan morfologi kapang akibat interaksi antagonisme dengan khamir antagonis.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk pemanfaatan khamir *Saccharomycetales* sp. UICC Y-462 sebagai agen biokontrol kapang dari tanaman tomat terinfeksi.

DAFTAR ACUAN

- Andersen, B. & J.C. Frisvad. 2004. Natural occurrence of fungi and fungal metabolites in moldy tomatoes. *J. Agr. Food Chem.* **52**: 7505--7513.
- Arya, A & A.E. Perelló. 2010. *Management of fungal plant pathogens*. CAB International, UK: xii + 388 hlm.
- Atlas, R.M. 2010. *Handbook of microbiological media*. 4th ed. CRC Press, New York: 2036 hlm.
- Barnett, J.A., R.W. Payne & D. Yarrow. 2000. *Yeast characteristics and identification*. 3th ed. Cambridge University Press, UK: 1139 hlm.
- Barton, L.L. & D.E. Northup. 2011. *Microbial ecology*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey: xxvi + 420 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*. *J. Genet.* **45**: 140--148.
- Benson, H.J. 2001. *Microbiological application: Laboratory manual in general microbiology*. The McGraw-Hills Company, New York: xi + 478 hlm.
- Blum, L.E.B. 2000. Reduction of incidence and severity of *Septoria lycopersici* leaf spot of tomato with bacteria and yeasts. *Ciência Rural* **30**(5): 761--765.
- Buzzini, P. & A. V. Martini. 2006. Yeast Biodiversity and Biotechnology. *Dalam*: Peter, G. & C. Rosa. 2006. *The yeast handbook: Biodiversity and ecophysiology of yeasts*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: 532--559.
- Carlile, M.J., S.C. Watkinson, G.W. Gooday. 2001. *The fungi*. 2nd ed. Academic Press, London: xvii + 588 hlm.
- Chan, Z & S. Tian. 2005. Interaction of antagonistic yeast against postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action. *Postharvest Biol. Technol.* **36**: 215--223.
- Coelho, A.R., M.G. Celii, E.Y.S. Ono, G. Wosiacki, F.L. Hoffmann, F.C. Pagnocca & E.Y. Hirooka. 2007. *Penicillium expansum* versus antagonist yeast and patulin degradation in vitro. *Braz. Arch. Biol. Technol.* **50**(4): 725--733.

- Deacon, J.W. 2006. *Fungal biology*. 4th ed. Blackwell Publishing Ltd, United Kingdom: 380 hlm.
- Deak, T. 2008. *Handbook of food spoilage yeasts*. 2nd ed. CRC Press, New York: xxi + 325 hlm.
- Digital. 2008. Colour chart for Faber Castell polychromos pencils and pastels. <http://www.drawinganddrafting.com/au/category2471.htm>, 25 Mei 2012, pk. 22.30.
- Druvefors, U.A., V. Passoth & J. Schnürer. Nutrient effects on biocontrol of *Penicillium roqueforti* by *Pichia anomala* J121 during airtight storage of wheat. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**(4): 1865--1869.
- Dweck, A.C. 2003. A review of the Paper Mulberry (*Broussonetia papyrifera*) (L.) Hert. ex Vent. 7 hlm. www.rarefruit.org/PDF_files/Broussonetia_papyrifera.pdf. 27 Maret 2012, pk. 15.53.
- Fonseca, Á. & J. Inácio. 2006. Phylloplane yeast. *Dalam: Peter, G. & C. Rosa. 2006. The yeast handbook: Biodiversity and ecophysiology of yeasts.* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: 263--301.
- Gandjar, I., W. Sjamsuridzal & A. Oetari. 2006. *Mikologi dasar dan terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta: xii + 234 hlm.
- Golubev, W.I. 2006. Antagonistic interactions among yeasts. *Dalam: Peter, G. & C. Rosa. 2006. The yeast handbook: Biodiversity and ecophysiology of yeasts.* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg: 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.
- Handarini. 2009. Pengujian kemampuan antagonistik khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi. Makalah 1 pada Tesis Pasca Sarjana tentang "Pengujian kemampuan antagonistik khamir epifit asal Kebun Raya Cibodas dan potensi *Candida* sp. Berkhout UICC Y-328 sebagai agen biokontrol *Aspergillus ochraceus* Wilhem pada tomat pascapanen". Tesis, Departemen Biologi, FMIPA UI: xi + 77 hlm.
- Herlina, L. 2009. Potensi *Trichoderma harzianum* sebagai biofungisida pada tanaman tomat. *Biosaintifika* **1**(1): 62--69.

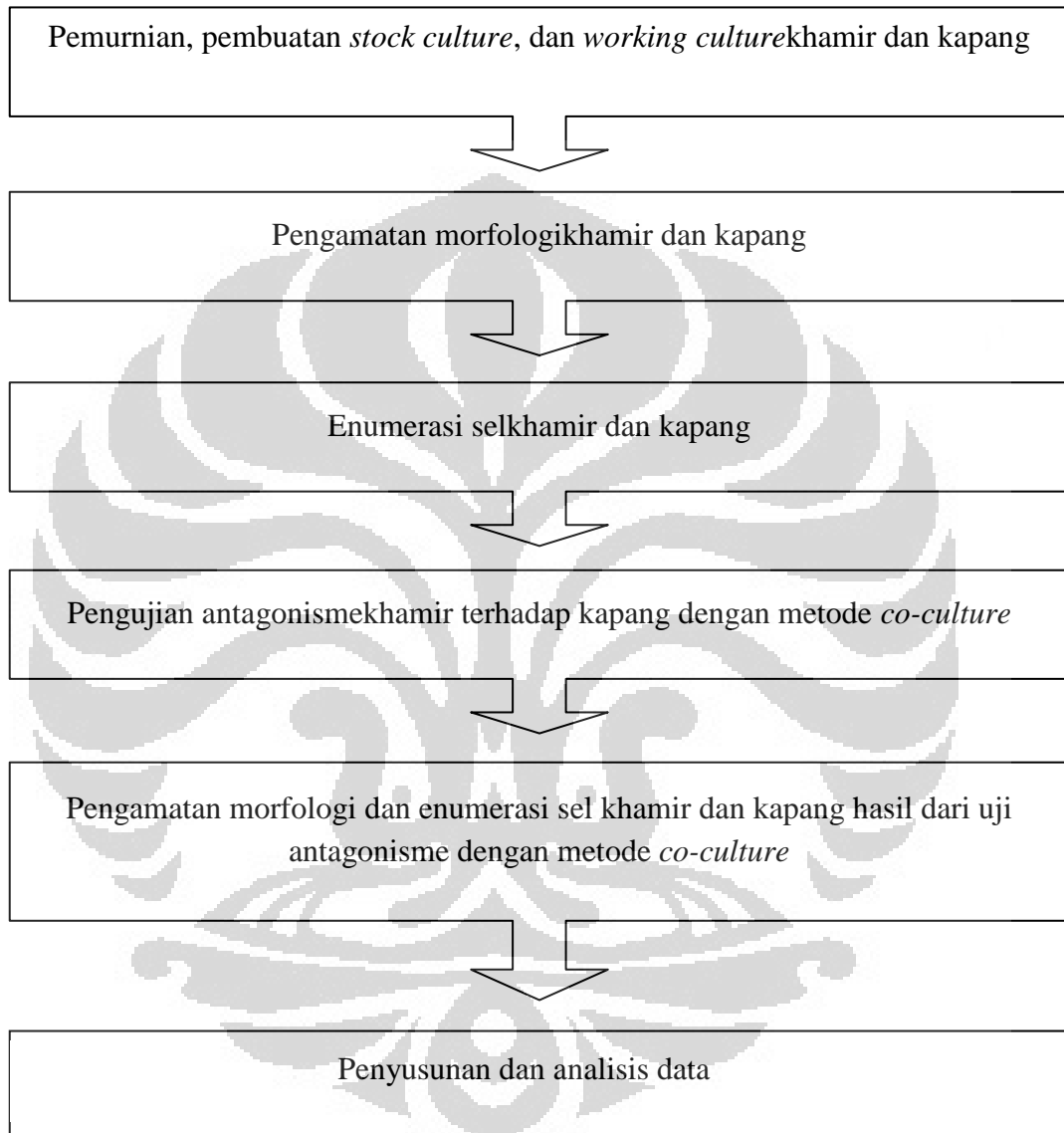
- Hogg, S. 2005. *Essential microbiology*. Wiley & Sons Ltd., UK: x + 468 hlm.
- Kalogiannis, S., S.E. Tjamos, A. Stergiou, P.P. Antoniou, B.N. Ziogas & E.C. Tjamos. 2006. Selection and evaluation of phyllosphere yeasts as biocontrol agents against grey mould of tomato. *Europ. J. Plant Path.* **116**: 69--76.
- Kavanagh, K. 2005. *Fungi, biology and applications*. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex: xi + 267 hlm
- Klich, M.A. 2002. *Identification of common Aspergillus species*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Netherlands: v + 116 hlm.
- Kurtzman, C.P. 1998. *Pichia* E.G. Hansen emend. Kurtzman. *Dalam*: Kurtzman, C.P. & J.W. Fell. 1998. *The yeasts, A taxonomic study*. 4th ed. Elsevier, New York: 273--352 hlm.
- Kurtzman, C.P. & J.W. Fell. 1998. *The yeasts, A taxonomic study*. 4th ed. Elsevier, New York: 1055 hlm.
- Kurtzman, C.P. & Cletus. 2011. Systematics of *Wickerhamomyces (Pichia) anomalus* and its relatives. *ARS*: 939-954.
- López-Lázaro, M. 2009. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Med. Chem* **9**: 31--59.
- Madigan, M.T., J.M. Mertinko, D.A. Stahl & D.P. Clark. 2012. *Brock: Biology of microorganism*. 13th ed. Benjamin Cummings, San Francisco: xv + 1155 hlm.
- Meyer, S.A., R.W. Payne, & D. Yarrow. 1998. *Candida* Berkhout. *Dalam*: Kurtzman, C.P. & J.W. Fell. 1998. *The yeasts, A taxonomic study*. 4th ed. Elsevier, New York: 454--573 hlm.
- Modi, H.A. 2009. *Microbial spoilage of foods*. Aavishkar Publishers, India: xiv + 178 hlm.
- Nakase, T., M. Suzuki, H.J. Phaff, & C.P. Kurtzman. 1998. *Debaryomyces* Lodder & Kreger-van Rij. *Dalam*: Kurtzman, C.P. & J.W. Fell. 1998. *The yeasts, A taxonomic study*. 4th ed. Elsevier, New York: 157--173 hlm.
- Oetari, A, W. Sjamsuridzal, & D. Sukmawati. 2011. Yeasts from *Broussonetia papyrifera* Vent. from Bandung and Garut, Indonesia. Poster Penelitian Ilmiah, Bandung: 1 hlm.

- Oktaviani, A. 2009. Isolasi fungi dari tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) terinfeksi serta pengujian khamir genus *Candida* Berkhout, *Cryptococcus* Vuillemin, *Debaryomyces* Lodder & Kreger-van Rij Nom. Cons., *Metschnikowia* Kamienski, dan *Rhodotorula* F.C. Harrison sebagai biokontrol. Skripsi, Departemen Biologi, FMIPA UI: xi + 112 hlm.
- Orwa, C., A. Mutua, R. Kindt, R. Jamnadass, & A. Simons. 2009. *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/pdf.27> Maret 2012, pk. 15.53.
- Permadi, T. 2005. Konservasi tradisi pembuatan daluang sebagai upaya penyelamatan teknologi tradisional nusantara. Fakultas Pendidikan Bahasa dan Seni, Universitas Pendidikan Indonesia: 19 hlm.
- Permadi, T. 2010. Asal-usul pemanfaatan dan karakteristik daluang: Bahan naskah dalam tradisi nusantara. Bandung: 1--29.
- Pimenta, R.S., F.L. Silva, J.F.M. Silva, P.B. Morais, D.T. Braga, C.A. Rosa & A. Corrêa. 2008. Biological control of *Penicillium italicum*, *P. digitatum*, and *P. expansum* by the predacious yeast *Saccharomycopsis schoenii* on orange. *Braz. J. Microbiol.* **39**: 85--90.
- Pitt, J.I. & A.D. Hocking. 2009. *Fungi and food spoilage*. 3th ed. Springer Science Business Media, New York: xv + 519 hlm.
- Raspor, P., D. Mikli-Milek, M. Avbelj, & N. Cadez. 2010. Biocontrol of grey mould disease on grape caused by *Botrytis cinerea* with autochthonous wine yeasts. *Food Technol. Biotechnol.* **48**(3): 336--343.
- Ray, B. 2008. *Fundamental food microbiology*. 3th ed. CRC Press, USA: 608 hlm.
- Rodrigues, F., P. Ludovico, & C. Leao. Sugar metabolism in yeasts: an Overview of aerobic and anaerobic glucose catabolism. *J. Biol. Chem.* **6**: 101-112.
- Rosa, C.A. & G. Peter. 2006. *Biodiversity and ecophysiology of yeasts*. Springer-Verlag, Germany: x + 579 hlm.
- Saligkarias, I.D., F.T. Gravanis, & H.A.S. Epton. 2002. Biological control of *Botrytis cinerea* on tomato plants by use of epiphytic yeasts *Candida guilliermondii* strains 101 and US 7 and *Candida oleophila* I-182: II a study on mode of action. *Biol. Control* **25**: 151--161.

- Samson, R.A., E.S. Hoekstra, & J.C. Frisvad. 2004. *Introduction to food and airborne fungi. 7th ed.* Centra albureau voor Schimmelcultures, Utrecht: 389 hlm.
- Satyanarayana, T. & G. Kunze. 2009. *Yeast biotechnology: Diversity and applications.* Springer Science Business Media, Germany: xxi + 744 hlm.
- Sipiczki, M. 2006. *Metschnikowia* strains isolated from botrytized grapes antagonize fungal and bacterial growth by iron depletion. *Appl. Env. Microbiol.* **72**(10): 6716--6724.
- Sjamsuridzal, W. 2007. *Yeasts diversity and conservation in Gunung Halimun National Park Indonesia.* Department of Biology Faculty of Mathematics and Natural Science University of Indonesia, Jakarta: iii + 254 hlm.
- 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.
- Talaro, K.P. 2009. *Foundations in microbiology. 7th ed.* Mc. Graw Hill Companies, Inc., New York: xxxii + 830 hlm.
- Tortora, G. J., B. R. Funke, & C. L. Case. 2010. *Microbiology: An introduction.* 7th ed. Addison Wesley Longman, Inc., New York: xxiv + 887 hlm.
- Webster, J & R.W.S Weber. 2007. *Introduction to fungi.* 3th ed. Cambridge University Press, United Kingdom: xx + 841 hlm.
- Widyastuti, S. 2008. Physical interactions between yeast *Pichia guilliermondii* and post-harvest fruit pathogen *Penicillium expansum*. *Hayati J. Biosci.* **15**(1): 27--31.
- Whistler, W. A. & C. R. Elevitch. 2006. *Broussonetia papyrifera* (paper mulberry). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*: 1--13.
- Yarrow, D. 1998. Methods for the isolation, maintenance and identification of yeasts. *Dalam*: Kurtzman, C.P. & J.W. Fell. 1998. *The yeasts, A taxonomic study.* 4th ed. Elsevier, New York: 77--100 hlm.
- Zhao, Y. , K. Tu, X. Shao, W. Jing, & Z. Su. 2008. Effects of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit. *J. Postharvbio* **49**: 113--120.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema kerja penelitian

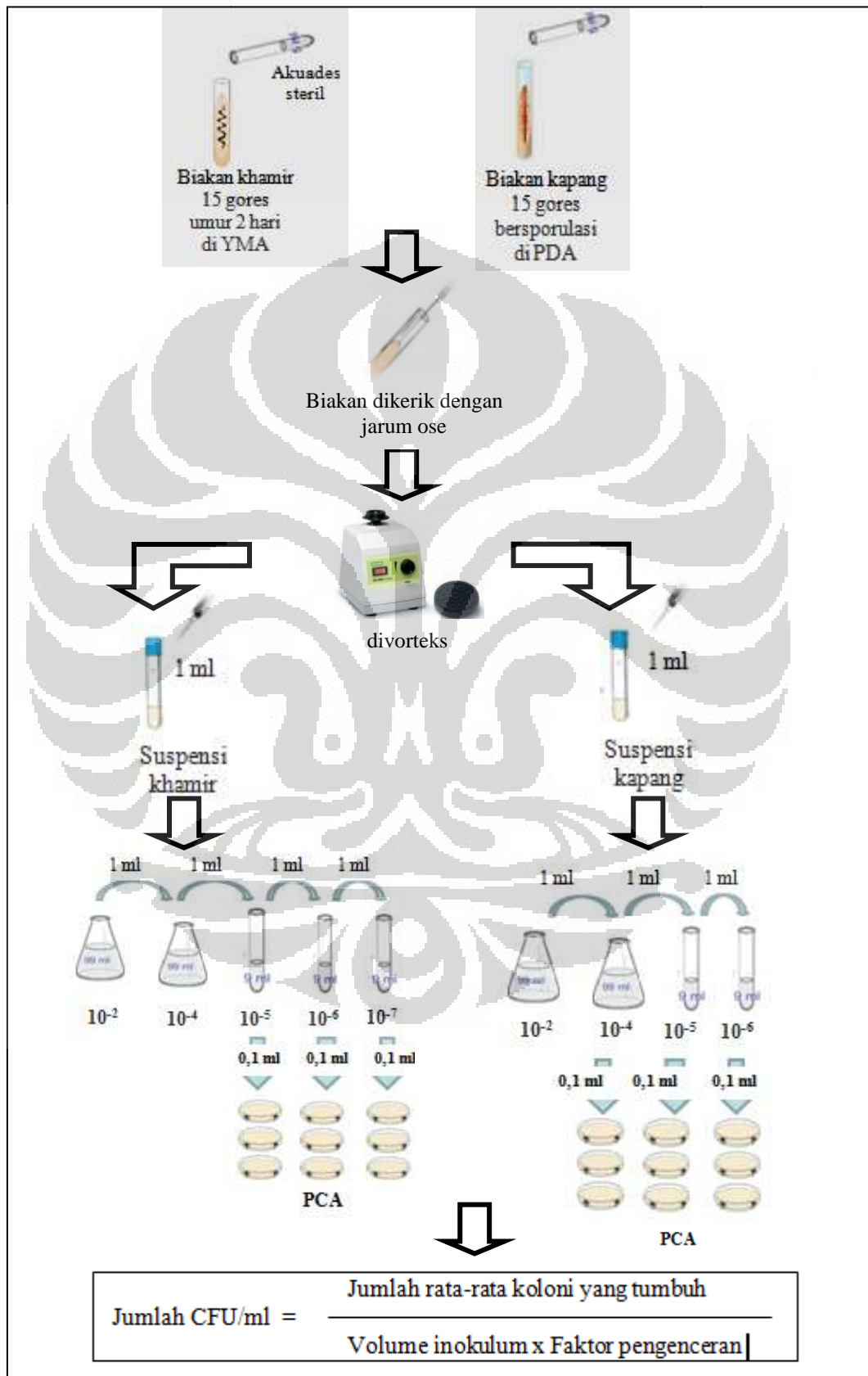


Lampiran 2
Standar warna Faber Castell

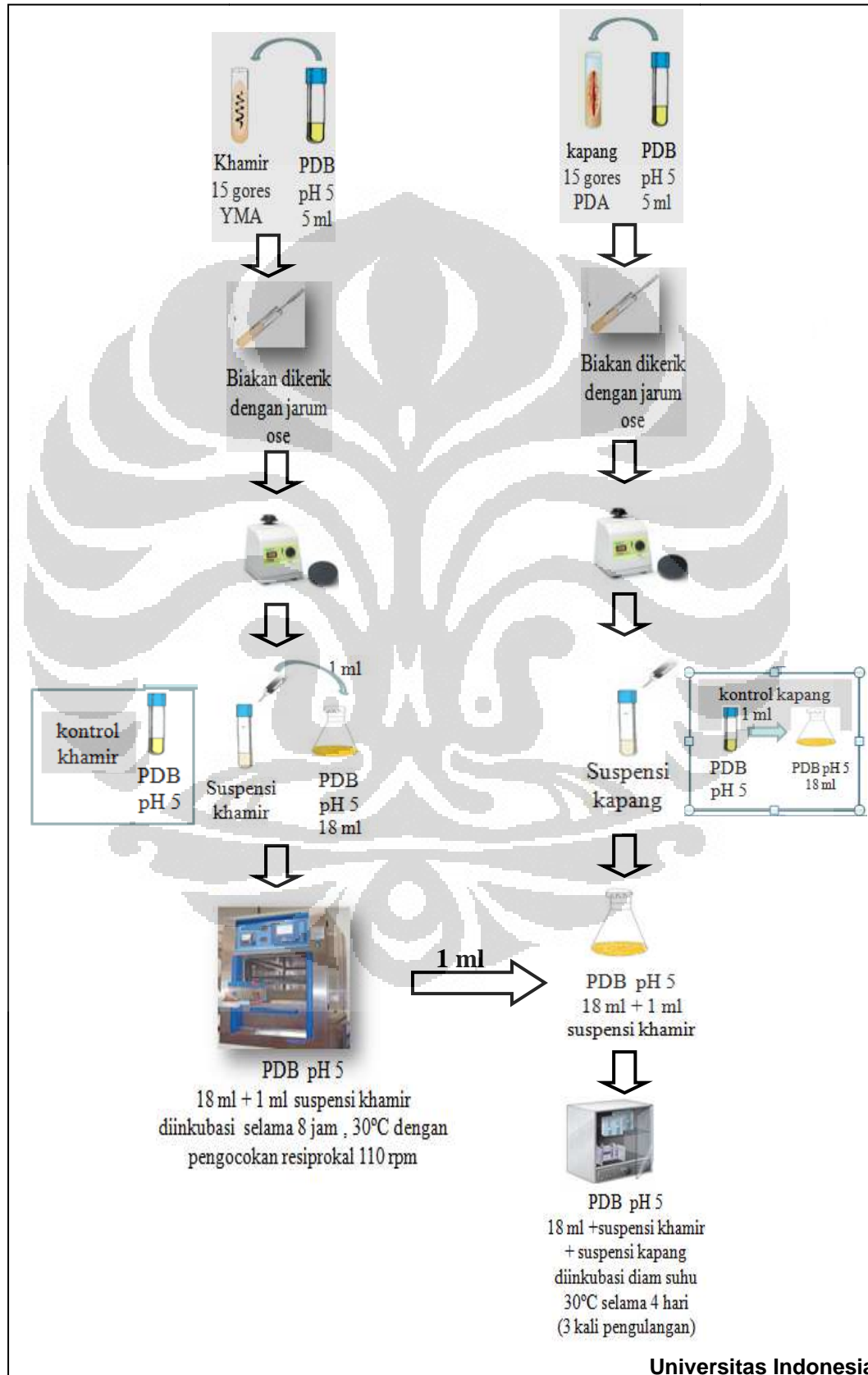
101	white	166	grass green
103	ivory	171	light green
102	cream	170	apple green
104	zinc yellow	168	moss green
105	lemon cadmium	167	sap green
106	light chrome	158	sea green
107	lemon	159	Hooker's green
108	canary yellow	165	juniper green
109	orange yellow	172	grey green
111	tangerine	174	cedar green
113	light orange	173	olive green
115	dark orange	175	dark sepia
117	vermillion	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
135	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

[Sumber: Digital 2008:1].

Lampiran 3
 Enumerasi menggunakan metode TPC



Lampiran 4

Uji antagonisme menggunakan metode *co-culture*

Lampiran 5

Hasil enumerasi khamir filum *Ascomycota* dalam medium PCA pada suhu 28° C

Spesies	Faktor pengenceran	Pengulangan	Jumlah sel (CFU/ml)		Rata-rata (CFU/ml)
			24 jam	48 jam	
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470	10 ⁻⁵	1	>300	>300	>300
		2	>300	>300	
		3	>300	>300	
	10 ⁻⁶	1	49	52	64,67
		2	85	85	
		3	57	57	
	10 ⁻⁷	1	9	10	8,33
		2	2	3	
		3	12	12	
Kisaran jumlah sel					(6,47--8,33) x 10⁸
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456	10 ⁻⁵	1	>300	>300	>300
		2	>300	>300	
		3	>300	>300	
	10 ⁻⁶	1	57	57	56,67
		2	60	62	
		3	48	51	
	10 ⁻⁷	1	3	3	6,33
		2	6	9	
		3	5	7	
Kisaran jumlah sel					(5,67--6,33) x 10⁸
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468	10 ⁻⁵	1	312	365	298,33
		2	206	288	
		3	143	242	
	10 ⁻⁶	1	19	32	35,67
		2	22	41	
		3	16	34	
	10 ⁻⁷	1	0	6	4,33
		2	0	6	
		3	0	1	
Kisaran jumlah sel					(2,98--4,33) x 10⁸
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462	10 ⁻⁵	1	62	62	69
		2	66	66	
		3	79	79	
	10 ⁻⁶	1	9	9	10
		2	9	9	
		3	12	12	
	10 ⁻⁷	1	0	0	0,33
		2	0	0	
		3	1	1	
Kisaran jumlah sel					(0,33--1,00) x 10⁸
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471	10 ⁻⁵	1	>300	>300	>300
		2	>300	>300	
		3	>300	>300	
	10 ⁻⁶	1	60	64	69,67
		2	71	73	
		3	63	72	
	10 ⁻⁷	1	5	5	7,33
		2	9	12	
		3	4	5	
Kisaran jumlah sel					(6,97--7,33) x 10⁸

Lampiran 5

(Lanjutan) Hasil enumerasi khamir filum *Ascomycota* dalam medium PCA pada suhu 28° C

Spesies	Faktor pengenceran	Pengulangan	Jumlah sel (CFU/ml)		Rata-rata (CFU/ml)	
			24 jam	48 jam		
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455	10 ⁻⁵	1	163	166	186	
		2	206	206		
		3	181	186		
	10 ⁻⁶	1	47	48	39,67	
		2	31	31		
		3	38	40		
	10 ⁻⁷	1	1	1	4,33	
		2	1	4		
		3	1	8		
	Kisaran jumlah sel					(1,86--4,33) x 10 ⁸

Lampiran 6

Hasil enumerasi *Aspergillus* spp. UICC dalam medium PCA pada suhu 28° C

Spesies	Faktor pengenceran	Pengulangan	Jumlah sel (CFU/ml)		Rata-rata (CFU/ml)	
			72 jam	96 jam		
<i>A. niger</i> UICC	10 ⁻⁴	1	200	200	209,33	
		2	192	192		
		3	236	236		
	10 ⁻⁵	1	31	31	46,67	
		2	39	39		
		3	70	70		
	10 ⁻⁶	1	5	5	5,67	
		2	4	4		
		3	8	8		
	Kisaran jumlah sel					(0,21--0,57) x 10 ⁸
	<i>A. ochraceus</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	>300	>300
			2	>300	>300	
3			>300	>300		
10 ⁻⁵		1	193	193	162,67	
		2	181	181		
		3	114	114		
10 ⁻⁶		1	25	25	28,67	
		2	43	43		
		3	18	18		
Kisaran jumlah sel					(1,63--2,87) x 10 ⁸	
<i>A. terreus</i> UICC		10 ⁻⁴	1	>300	>300	>300
			2	>300	>300	
	3		>300	>300		
	10 ⁻⁵	1	147	153	141,67	
		2	105	107		
		3	162	165		
	10 ⁻⁶	1	21	32	29,00	
		2	24	29		
		3	21	26		
	Kisaran jumlah sel					(1,42--2,90) x 10 ⁸

Lampiran 7

Pengamatan pertumbuhan koloni khamir pada penujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C

Pengamatan	<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 pada kontrol hari ke-				<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 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 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>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 pada kontrol hari ke-				<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 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 khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan		Ivory 103				Ivory 103				Ivory 103				Ivory 103		
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>P. burtonii</i> UICC Y-468 pada kontrol hari ke-				<i>P. burtonii</i> UICC Y-68 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 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 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

Lampiran 7

(Lanjutan) Pengamatan pertumbuhan koloni khamir pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C

Pengamatan	<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 pada kontrol hari ke-				<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 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 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>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 pada kontrol hari ke-				<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 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 khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan		Ivory 103				Ivory 103				Ivory 103				Ivory 103		
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>Wic. anomalous</i> UICC Y-455 pada kontrol hari ke-				<i>Wic. anomalous</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. niger</i> UICC hari ke-				<i>Wic. anomalous</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Wic. anomalous</i> UICC Y-455 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 khamir	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Warna endapan		Ivory 103				Ivory 103				Ivory 103				Ivory 103		
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 (+) adalah ada pembentukan endapan atau pelikel
Tanda (-) adalah tidak ada pertumbuhan endapan atau pelikel

Lampiran 8
 Pengamatan koloni kapang pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C

Pengamatan	<i>A. ochraceus</i> UICC pada kontrol hari ke-				<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 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 miselium	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Waktu sporulasi	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni	Ivory 103				Tidak terlihat pertumbuhan koloni				Tidak terlihat pertumbuhan koloni				Tidak terlihat pertumbuhan koloni			
pH medium	4,7	4,7	4,4	4,4	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>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-				<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pertumbuhan miselium	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Waktu Sporulasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni	Tidak terlihat pertumbuhan koloni				Tidak terlihat pertumbuhan koloni				Tidak terlihat pertumbuhan 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

Lampiran 8

(Lanjutan) Pengamatan koloni kapang pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu inkubasi 28° C

Pengamatan	<i>A. terreus</i> UICC pada kontrol hari ke-				<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-				<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-				<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 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 miselium	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Waktu sporulasi	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni					Tidak terlihat pertumbuhan koloni				Tidak terlihat pertumbuhan koloni				White 101			
pH medium	4,7	4,7	4,4	4,4	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>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-				<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-				<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. terreus</i> UICC hari ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pertumbuhan miselium	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Waktu sporulasi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Warna koloni	Tidak terlihat pertumbuhan koloni				Tidak terlihat pertumbuhan koloni				Tidak terlihat pertumbuhan 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 miselium atau sporulasi

Tanda (-) : tidak ada pertumbuhan miselium atau sporulasi

Lampiran 9

Perhitungan berat medium kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C

Kontrol dan perlakuan	Berat hari ke-0 (g)	Berat hari ke-1 (g)	Reduksi berat medium (%)	Berat hari ke-2 (g)	Reduksi berat medium (%)	Berat hari ke-3 (g)	Reduksi berat medium (%)	Berat hari ke-4 (g)	Reduksi berat medium (%)
kontrol <i>A. niger</i> UICC	15,36	15,19	1,11	15,02	1,12	14,8	1,46	14,54	1,76
kontrol <i>A. ochraceus</i> UICC	20,27	20,1	0,84	19,93	0,85	19,7	1,15	19,45	1,27
kontrol <i>A. terreus</i> UICC	18,36	18,17	1,03	17,98	1,05	17,98	0,00	17,67	1,72
kontrol <i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470	19,73	19,48	1,27	19,23	1,28	19	1,20	18,76	1,26
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. niger</i> UICC	18,82	18,56	1,38	18,3	1,40	18,07	1,26	17,91	0,89
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	12,67	11,94	5,76	11,21	6,11	10,97	2,14	10,88	0,82
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	18,11	17,92	1,05	17,73	1,06	17,5	1,30	17,41	0,51
kontrol <i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456	18,69	18,47	1,18	18,25	1,19	18,02	1,26	17,95	0,39
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. niger</i> UICC	15,25	18,3	-20,00	21,35	-16,67	21,1	1,17	21,01	0,43
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	16,55	17,38	-5,02	18,21	-4,78	17,99	1,21	17,87	0,67
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	19,08	17,48	8,39	15,88	9,15	15,63	1,57	15,49	0,90
kontrol <i>P. burtonii</i> UICC Y-468	19,1	18,83	1,41	18,56	1,43	18,38	0,97	18,2	0,98
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. niger</i> UICC	19,24	18,86	1,98	18,48	2,01	18,24	1,30	18,13	0,60
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	18,48	18,28	1,08	18,08	1,09	17,86	1,22	17,76	0,56

Lampiran 9

(Lanjutan) Perhitungan berat medium kontrol dan perlakuan pada pengujian antagonisme dalam medium PDB pH 5,0 pada suhu 28° C

	Berat hari ke-0 (g)	Berat hari ke-1 (g)	Reduksi berat medium (%)	Berat hari ke-2 (g)	Reduksi berat medium (%)	Berat hari ke-3 (g)	Reduksi berat medium (%)	Berat hari ke-4 (g)	Reduksi berat medium (%)
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	19,13	18,87	1,36	18,61	1,38	18,38	1,24	18,13	1,36
kontrol <i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462	18,33	18,14	1,04	17,95	1,05	17,73	1,23	17,66	0,39
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. niger</i> UICC	17,37	17,07	1,73	16,77	1,76	16,53	1,43	16,42	0,67
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	18,77	18,57	1,07	18,37	1,08	18,12	1,36	18	0,66
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	18,43	18,43	0,00	18,25	0,98	18,05	1,10	17,96	0,50
kontrol <i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471	18,94	18,61	1,74	18,28	1,77	18,1	0,98	18,01	0,50
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. niger</i> UICC	18,76	18,76	0,00	18,45	1,65	18,07	2,06	17,98	0,50
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	18,05	18,05	0,00	16,8	6,93	16,47	1,96	16,39	0,49
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	18,92	18,92	0,00	18,66	1,37	18,42	1,29	18,36	0,33
Kontrol <i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455	19,3	18,89	2,12	18,48	2,17	18,25	1,24	18,12	0,71
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. niger</i> UICC	16,07	16,07	0,00	14,99	6,72	14,69	2,00	14,55	0,95
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	18,05	18,05	0,00	17,82	1,27	17,59	1,29	17,43	0,91
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	16,89	16,89	0,00	16,66	1,36	16,44	1,32	16,23	1,28

Keterangan:

Tanda (-) adalah terjadi penurunan berat medium

Lampiran 10
Pengamatan morfologi khamir secara mikroskopik dalam pengujian antagonisme
pada medium PDB pH 5,0 dengan suhu 28° C pada inkubasi hari ke-3

Nama spesies	Tipe pertunasan	Membentuk <i>pseudohyphae</i>	Bentuk sel	Susunan sel
Kontrol <i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470	Multipolar	Ya	Bulat telur hingga elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Ya	Bulat telur hingga elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Ya	Bulat telur hingga elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Ya	Bulat telur hingga elips	Sendiri, berpasangan, berantai
Kontrol <i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456	Multipolar	Tidak	Bulat hingga semi bulat	Sendiri, berpasangan,
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Tidak	Bulat hingga semi bulat	Sendiri, berpasangan,
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Tidak	Bulat hingga semi bulat	Sendiri, berpasangan,
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Tidak	Bulat hingga semi bulat	Sendiri, berpasangan,
Kontrol <i>P. burtonii</i> UICC Y-468	Multipolar	Ya	Bulat telur hingga elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Ya	Bulat telur hingga elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Ya	Bulat telur hingga elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Ya	Bulat telur hingga elips	Sendiri, berpasangan, berantai
Kontrol <i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462	Multipolar	Ya	Elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Ya	Elips	Sendiri, berpasangan, berantai

Lampiran 10
(Lanjutan) Pengamatan morfologi khamir secara mikroskopik dalam pengujian antagonisme pada medium PDB pH 5,0 dengan suhu 28° C pada hari ke-3 inkubasi

Nama spesies	Tipe pertunasan	Membentuk <i>pseudohyphae/true hyphae</i>	Bentuk sel	Susunan sel
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Ya	Elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Ya	Elips	Sendiri, berpasangan, berantai
Kontrol <i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471	Multipolar	Tidak	Elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Tidak	Elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Tidak	Elips	Sendiri, berpasangan, berantai
<i>Saccharomycetales</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Tidak	Elips	Sendiri, berpasangan, berantai
Kontrol <i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455	Multipolar	Tidak	Elips	Sendiri dan berantai
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. niger</i> UICC	Multipolar	Tidak	Elips	Sendiri dan berantai
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	Multipolar	Tidak	Elips	Sendiri dan berantai
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	Multipolar	Tidak	Elips	Sendiri dan berantai

Lampiran 11
 Hasil enumerasi khamir filum *Ascomycota* pada kontrol dan perlakuan dalam
 pengujian antagonisme dalam medium PCA pada suhu 28° C

Kontrol dan perlakuan	Faktor pengenceran	Pengulangan	Jumlah sel (CFU/ml)		Rata-rata (CFU/ml)		
			Khamir	Kapang	Khamir	Kapang	
Kontrol <i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0	
		2	>300	0			
		3	>300	0			
	10 ⁻⁵	1	98	0	101,67	0	
		2	101	0			
		3	106	0			
	10 ⁻⁶	1	4	0	7	0	
		2	10	0			
	Kisaran jumlah sel					(7,5--8,1) x 10⁷	0
	<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. niger</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
2			>300	0			
3			>300	0			
10 ⁻⁵		1	92	0	81,33	0	
		2	57	0			
		3	95	0			
10 ⁻⁶		1	5	0	10,50	0	
		2	6	0			
Kisaran jumlah sel					(7,5--8,1) x 10⁷	0	
<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC		10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
	2		>300	0			
	3		>300	0			
	10 ⁻⁵	1	73	0	73,67	0	
		2	63	0			
		3	85	0			
	10 ⁻⁶	1	2	0	4,5	0	
		2	7	0			
	Kisaran jumlah sel					(4,5--7,4) x 10⁷	0
	<i>C. quercitrusa</i> UICC Y-470 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
2			>300	0			
3			>300	0			
10 ⁻⁵		1	116	0	113,33	0	
		2	109	0			
		3	115	0			
10 ⁻⁶		1	15	0	14	0	
		2	13	0			
Kisaran jumlah sel					(1,1--1,4) x 10⁸	0	
Kontrol <i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456		10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
	2		>300	0			
	3		>300	0			
	10 ⁻⁵	1	78	0	87	0	
		2	97	0			
		3	86	0			
	10 ⁻⁶	1	6	0	7,5	0	
		2	9	0			
	Kisaran jumlah sel					(7,5--8,7) x 10⁷	0

Lampiran 11
(Lanjutan) Hasil enumerasi khamir filum *Ascomycota* pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme dalam medium PCA pada suhu 28° C

Kontrol dan perlakuan	Faktor pengenceran	Pengulangan	Jumlah sel (CFU/ml)		Rata-rata (CFU/ml)		
			Khamir	Kapang	Khamir	Kapang	
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. niger</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0	
		2	>300	0			
		3	>300	0			
	10 ⁻⁵	1	58	0	66,67	0	
		2	65	0			
		3	77	0			
	10 ⁻⁶	1	5	0	6,50	0	
		2	8	0			
	Kisaran jumlah sel					(6,5--6,7) x 10⁷	0
	<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
2			>300	0			
3			>300	0			
10 ⁻⁵		1	97	0	92,67	0	
		2	87	0			
		3	94	0			
10 ⁻⁶		1	7	0	8,00	0	
		2	9	0			
Kisaran jumlah sel					(8,0--9,3) x 10⁷	0	
<i>Deb. nepalensis</i> UICC Y-456 terhadap <i>A. terreus</i> UICC		10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
	2		>300	0			
	3		>300	0			
	10 ⁻⁵	1	124	0	153,33	0	
		2	213	0			
		3	122	0			
	10 ⁻⁶	1	13	0	15,00	0	
		2	17	0			
	Kisaran jumlah sel					(1,3--1,5) x 10⁸	0
	Kontrol <i>P. burtonii</i> UICC Y-468	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
2			>300	0			
3			>300	0			
10 ⁻⁵		1	48	0	46,33	0	
		2	48	0			
		3	43	0			
10 ⁻⁶		1	4	0	3,5	0	
		2	3	0			
Kisaran jumlah sel					(3,5--4,6) x 10⁷	0	
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. niger</i> UICC		10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
	2		>300	0			
	3		>300	0			
	10 ⁻⁵	1	45	0	46,67	0	
		2	46	0			
		3	49	0			
	10 ⁻⁶	1	5	0	4,00	0	
		2	3	0			
	Kisaran jumlah sel					(4,0--4,7) x 10⁷	0

Lampiran 11
(Lanjutan) Hasil enumerasi khamir filum *Ascomycota* pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme dalam medium PCA pada suhu 28° C

Kontrol dan perlakuan	Faktor pengenceran	Pengulangan	Jumlah sel (CFU/ml)		Rata-rata (CFU/ml)		
			Khamir	Kapang	Khamir	Kapang	
<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0	
		2	>300	0			
		3	>300	0			
	10 ⁻⁵	1	46	0	48,33	0	
		2	49	0			
		3	48	0			
	10 ⁻⁶	1	5	0	4,00	0	
		2	3	0			
	Kisaran jumlah sel					(4,0--4,8) x 10⁷	0
	<i>P. burtonii</i> UICC Y-468 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
2			>300	0			
3			>300	0			
10 ⁻⁵		1	43	0	42,00	0	
		2	43	0			
		3	40	0			
10 ⁻⁶		1	6	0	4,50	0	
		2	3	0			
Kisaran jumlah sel					(4,2--4,5) x 10⁷	0	
Kontrol <i>Saccharomy cetales</i> sp. UICC Y-462		10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
	2		>300	0			
	3		>300	0			
	10 ⁻⁵	1	88	0	88,33	0	
		2	86	0			
		3	89	0			
	10 ⁻⁶	1	7	0	8,00	0	
		2	9	0			
	Kisaran jumlah sel					(8,0--8,8) x 10⁷	0
	<i>Saccharomy cetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. niger</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
2			>300	0			
3			>300	0			
10 ⁻⁵		1	103	0	102,33	1,67	
		2	104	3			
		3	100	2			
10 ⁻⁶		1	25	0	20,5	0	
		2	16	0			
Kisaran jumlah sel					(1,0--2,0) x 10⁸	1,67 x 10⁶	
<i>Saccharomy cetales</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC		10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
	2		>300	0			
	3		>300	0			
	10 ⁻⁵	1	60	0	62,67	0	
		2	71	0			
		3	57	0			
	10 ⁻⁶	1	3	0	5,5	0	
		2	8	0			
	Kisaran jumlah sel					(5,5--6,3) x 10⁸	0

Lampiran 11
(Lanjutan) Hasil enumerasi khamir filum *Ascomycota* pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme dalam medium PCA pada suhu 28° C

Kontrol dan perlakuan	Faktor pengenceran	Pengulangan	Jumlah sel (CFU/ml)		Rata-rata (CFU/ml)		
			Khamir	Kapang	Khamir	Kapang	
<i>Saccharomyces</i> sp. UICC Y-462 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0	
		2	>300	0			
		3	>300	0			
	10 ⁻⁵	1	100	0	99,67	0	
		2	99	0			
		3	100	0			
	10 ⁻⁶	1	10	0	13,00	0	
		2	16	0			
	Kisaran jumlah sel					(1,0--1,3) x 10⁸	0
	Kontrol <i>Saccharomyces</i> sp. UICC Y-471	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
2			>300	0			
3			>300	0			
10 ⁻⁵		1	40	0	34,33	0	
		2	25	0			
		3	38	0			
10 ⁻⁶		1	4	0	2,00	0	
		2	0	0			
Kisaran jumlah sel					(2,0--3,4) x 10⁷	0	
<i>Saccharomyces</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. niger</i> UICC		10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
	2		>300	0			
	3		>300	0			
	10 ⁻⁵	1	63	0	62,67	0	
		2	58	0			
		3	67	0			
	10 ⁻⁶	1	3	0	3,0	0	
		2	3	0			
	Kisaran jumlah sel					(3,0--6,3) x 10⁷	0
	<i>Saccharomyces</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
2			>300	0			
3			>300	0			
10 ⁻⁵		1	72	0	60,67	0	
		2	48	0			
		3	62	0			
10 ⁻⁶		1	6	0	6,00	0	
		2	6	0			
Kisaran jumlah sel					(6,0--6,1) x 10⁷	0	
<i>Saccharomyces</i> sp. UICC Y-471 terhadap <i>A. terreus</i> UICC		10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
	2		>300	0			
	3		>300	0			
	10 ⁻⁵	1	51	0	53,33	0	
		2	59	0			
		3	50	0			
	10 ⁻⁶	1	4	0	4,00	0	
		2	4	0			
	Kisaran jumlah sel					(4,0--5,4) x 10⁷	0

Lampiran 11
(Lanjutan) Hasil enumerasi khamir filum *Ascomycota* pada kontrol dan perlakuan dalam pengujian antagonisme dalam medium PCA pada suhu 28° C

Kontrol dan perlakuan	Faktor pengenceran	Pengulangan	Jumlah sel (CFU/ml)		Rata-rata (CFU/ml)	
			Khamir	Kapang	Khamir	Kapang
Kontrol <i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
		2	>300	0		
		3	>300	0		
	10 ⁻⁵	1	63	0	0	0
		2	54	0		
		3	70	0		
	10 ⁻⁶	1	3	0	0	0
		2	10	0		
	Kisaran jumlah sel					(6,2--6,5) x 10⁷
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. niger</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
		2	>300	0		
		3	>300	0		
	10 ⁻⁵	1	48	0	0	0
		2	78	0		
		3	53	0		
	10 ⁻⁶	1	6	0	0	0
		2	7	0		
	Kisaran jumlah sel					(6,0--6,5) x 10⁷
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. ochraceus</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
		2	>300	0		
		3	>300	0		
	10 ⁻⁵	1	71	0	0	0
		2	47	0		
		3	66	0		
	10 ⁻⁶	1	12	0	0	0
		2	8	0		
	Kisaran jumlah sel					(6,1--10,0) x 10⁷
<i>Wic. anomalus</i> UICC Y-455 terhadap <i>A. terreus</i> UICC	10 ⁻⁴	1	>300	0	>300	0
		2	>300	0		
		3	>300	0		
	10 ⁻⁵	1	38	0	0	0
		2	24	0		
		3	28	0		
	10 ⁻⁶	1	6	0	0	0
		2	5	0		
	Kisaran jumlah sel					(3,0--5,5) x 10⁷