

**PEMBIAKAN KHAMIR *Saccharomyces cerevisiae* DAN UJI
ANTAGONIS TERHADAP *Gloeosporium* sp. PENYEBAB
PENYAKIT BUSUK BUAH PADA APEL**

**Oleh
Nikmatus Sa'adah**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2018



**PEMBIAKAN KHAMIR *Saccharomyces cerevisiae* DAN UJI
ANTAGONIS TERHADAP *Gloeosporium* sp. PENYEBAB
PENYAKIT BUSUK BUAH PADA APEL**

Oleh
NIKMATUS SA'ADAH
135040207111034

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Gelar Sarjana
Pertanian Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2018

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan didalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar di perguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Juni 2018

Nikmatus Sa'adah





*Skripsi ini kupersembahkan untuk
orang-orang tercinta dan paling berpengaruh yaitu kedua
orang tua dan kakakku, serta segenap keluarga besar*

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Pemiakan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan Uji Antagonis terhadap *Gloeosporium* sp. Penyebab Penyakit Busuk Buah pada Apel

Nama Mahasiswa : Nikmatus Sa'adah

NIM : 135040207111034

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIP. 2013 04841014 1 001

Diketahui,
Ketua Jurusan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

**MENGESAHKAN
MAJELIS PENGUJI**

Penguji I

Penguji II

Dr. Akhmad Rizali, SP., MP., M.Si.
NIP. 2014 057704151 1 001

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIP. 2013 04841014 1 001

Penguji III

Penguji IV

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Luqman Qurata Aini, SP., MP., Ph.D.
NIP. 19720919 19980 1 001

Tanggal Lulus :

RINGKASAN

Nikmatus Sa'adah. 135040207111034. Pemiakan Khamir *Saccharomyces Cerevisiae* dan Uji Antagonis terhadap *Gloeosporium sp.* Penyebab Penyakit Busuk Buah pada Apel. Dibawah Bimbingan Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. Sebagai Pembimbing Utama, dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. Sebagai Pembimbing Pendamping.

Saccharomyces cerevisiae adalah mikroba yang potensial sebagai antagonisme. *S. cerevisiae* berpotensi sebagai pengendali penyakit pada tanaman dan buah-buahan, termasuk tanaman apel. Penyakit pada buah apel yang menyebabkan kerugian yaitu penyakit busuk buah yang disebabkan oleh patogen *Gloeosporium sp.* Produksi perbanyakan *S. cerevisiae*, dapat dilakukan dengan media perbanyakan sederhana, yaitu media air kelapa. Komposisi kandungan zat kimia yang terdapat pada air kelapa antara lain asam askorbat atau vitamin C, protein, lemak, hidrat arang, kalsium atau protassium. Mineral yang terkandung pada air kelapa ialah zat besi, fosfor, dan gula yang terdiri dari glukosa, fruktosa, sukrosa. Kadar air yang terdapat pada buah kelapa sejumlah 95,5 gram dari setiap 100 gram. Penelitian dilakukan untuk mengetahui media yang efektif sebagai pertumbuhan *S. cerevisiae* dengan interval waktu yang berbeda sehingga didapatkan waktu yang optimal untuk perkembangbiakan khamir *S. cerevisiae* dan efektivitas antagonis *S. cerevisiae* terhadap patogen *Gloeosporium sp.*

Penelitian dilakukan dengan mengisolasi *Gloeosporium sp.* dan mengisolasi *S. cerevisiae*. *S. cerevisiae* diperbanyak selama 96 jam pada *orbital shaker* dan dilakukan dengan 5 perlakuan, yaitu P1 (air kelapa hijau muda), P2 (air kelapa hijau tua), P3 (air kelapa gading muda), P4 (air kelapa gading tua), P5 (media YMB). Hasil perbanyakan di uji antagonis dengan *Gloeosporium sp.* disusun secara RAL dengan tiga kali pengulangan.

Hasil yang didapat adalah perkembangbiakan khamir *S. cerevisiae* tumbuh terbaik pada media P1. Waktu optimal untuk perkembangbiakan khamir *S. cerevisiae* pada beberapa macam media yaitu pada lama inkubasi 48 jam. Semakin lama waktu yang digunakan untuk perbanyakan maka perkembangbiakan khamir semakin menurun. Karena khamir sudah mencapai fase kematian. Inokulasi khamir *S. cerevisiae* mampu menekan pertumbuhan penyakit *Gloeosporium sp.* yang dapat dilihat dari besarnya penghambatan pada uji antagonis sebesar 22,62%.

SUMMARY

Nikmatus Sa'adah. 135040207111034. Propagation of *Saccharomyces cerevisiae* and Antagonism of against *Gloeosporium* sp. cause Fruit Rot Disease on Apples. Supervised by Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. and Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.

Saccharomyces cerevisiae is a potential microbe as an antagonism. *S.cerevisiae* has the potential to control disease in plants and fruits, including apples. Diseases of the apples that cause loss of fruit rot disease caused by pathogen *Gloeosporium* sp. Production of *S. cerevisiae* propagation, can be done with simple propagation media, namely coconut water media. The composition of chemical substances contained in coconut water include ascorbic acid or vitamin C, protein, fat, hydrate, calcium or protassium. Minerals contained in coconut water are iron, phosphorus, and sugar consisting of glucose, fructose, sucrose. Water content found in coconut fruit of 95.5 grams of every 100 grams. The research was conducted to know the effective media as growth of *S. cerevisiae* with different time interval so that the optimal time for the proliferation of *S. cerevisiae* and the effectiveness antagonism of *S. cerevisiae* on against *Gloeosporium* sp.

The research taken are isolating the *Gloeosporium* sp. of apples infested and isolated *S. cerevisiae*. *S. cerevisiae* was replicated for 96 hours in the shaker orbitals and performed with 5 treatments, namely P1 (light green coconut water), P2 (dark green coconut water), P3 (young ivory coconut water), P4 (old ivory coconut water), P5 (YMB media). Then multiplication results in antagonistic test with *Gloeosporium* sp. arranged in RAL with three repetitions.

The results obtained is the proliferation of yeast *S. cerevisiae* grow best on medium P1 (young green coconut water). The optimal time for the proliferation of yeast *S.cerevisiae* in coconut water media and YMB is on 48 hours incubation period. The longer time spent on fermentation the less yeasting will decrease. Because yeast has reached the phase of death. Inoculation of *S. cerevisiae* yeast is able to suppress the growth of *Gloeosporium* sp. which can be seen from the magnitude of inhibition on the antagonistic test of 22.62%.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Pemiakan Khamir *Saccharomyces Cerevisiae* dan Uji Antagonis terhadap *Gloesporumm sp.* Penyebab Penyakit Busuk Buah pada Apel”.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan kritik dan saran kepada penulis.
2. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. Selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya atas arahan dan fasilitas yang telah diberikan kepada penulis.
3. Kedua orang tua, kakak, dan keluarga besar atas do’a, bantuan, kasih sayang, pengetahuan, motivasi, dan dukungan yang diberikan kepada penulis.
4. Teman-teman rumah binaan “Khadijah”, Tim dakwah fakultas pertanian, dan teman-teman HPT angkatan 2013 atas do’a, bantuan, semangat, dan dukungan yang diberikan kepada penulis.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Malang, Juni 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tulungagung, 16 Juli 1995 sebagai putri kedua dari Bapak Musliman dan Ibu Mu'awanah. Penulis merupakan dua bersaudara dengan kakak bernama Muhammad Najib. Saat ini penulis menetap di kabupaten Tulungagung.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 1 Pandansari dan lulus pada tahun 2007. Penulis melanjutkan pendidikan di SMP N 2 Ngunut pada tahun 2007 dan lulus pada tahun 2010. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMK N 1 Tulungagung pada tahun 2010 dan lulus pada tahun 2013. Tahun 2013 penulis melanjutkan pendidikan sebagai mahasiswa Strata-1 program studi Agroekoteknologi minat Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur melalui jalur SPMK.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah mengikuti organisasi kampus yaitu anggota Departemen Kemuslimahan UAKI 2013, Staff Magang Litbang PRISMA 2013, Ketua Kemuslimahan Takmir Masjid Nurul Fallah FP UB 2015-2016. Penulis juga mengikuti beberapa kepanitiaan ditingkat Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Penulis pernah menjadi Divisi LO (*Liasion Organizer*) di kepanitiaan PRISMA 5 tingkat Nasional yang diselenggarakan oleh PRISMA, Kepanitiaan Gema Ramadhan yang diselenggarakan oleh Takmir Masjid Nurul Fallah.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Hipotesis	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Potensi Khamir sebagai Pengendali	4
2.2 Mekanisme Antagonis Khamir	10
2.3 Macam Media Perbanyakan Khamir	12
2.4 Tanaman Apel	15
2.5 Patogen <i>Gloeosporium</i> sp. pada Apel	16
2.6 Buah Kelapa (<i>Cocos nucifera</i>)	18
III. METODOLOGI	25
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	25
3.3 Rancangan Penelitian	25
3.4 Pelaksanaan Penelitian	25
3.5 Parameter Pengamatan	28
3.6 Analisis Data	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hasil Identifikasi Patogen <i>Gloeosporium</i> sp. dan Agen Antagonis <i>Saccharomyces Cerevisiae</i>	30
4.2 Hasil Pengujian beberapa Media sebagai Perkembangbiakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32

4.3 Hasil Kemampuan Antagonis *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Patogen
Gloeosporium sp.36

V. KESIMPULAN DAN SARAN40

5.1 Kesimpulan40

5.2 Saran40

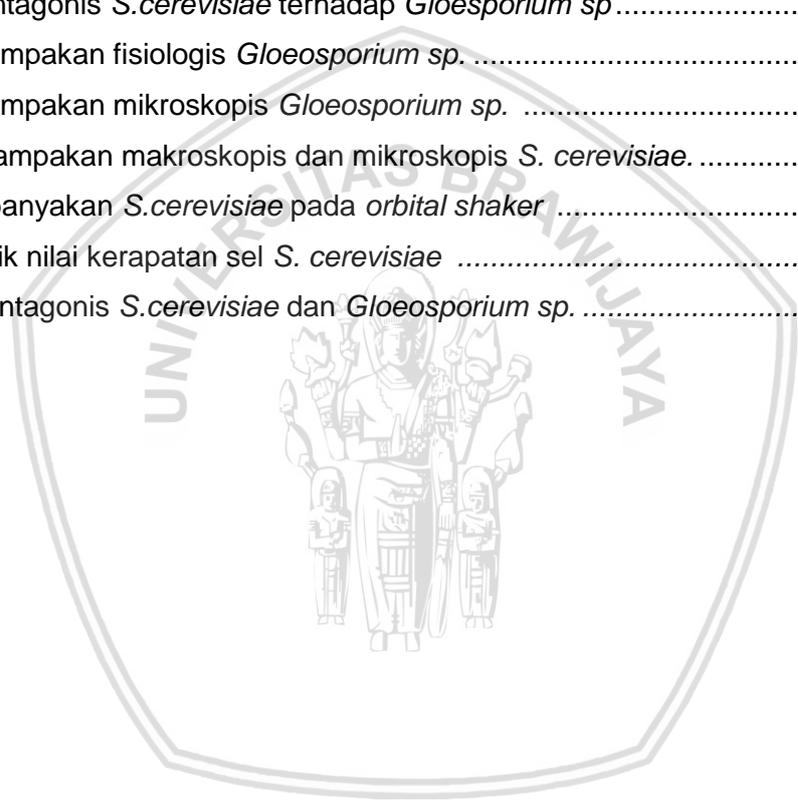
DAFTAR PUSTAKA41

LAMPIRAN45



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Sel <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5
2.	<i>Saccharomyces boulardii</i>	9
3.	<i>Candida intemedia</i>	10
4.	Gejala Penyakit <i>Gloeosporium</i> sp.	18
5.	Kelapa gading (<i>Cocos nucifera</i> var. <i>eburnea</i>)	22
6.	Kelapa hijau (<i>Cocos nucifera</i> var. <i>viridis</i>)	23
7.	Uji antagonis <i>S.cerevisiae</i> terhadap <i>Gloeosporium</i> sp.....	28
8.	Penampakan fisiologis <i>Gloeosporium</i> sp.	30
9.	Penampakan mikroskopis <i>Gloeosporium</i> sp.	31
10.	Penampakan makroskopis dan mikroskopis <i>S. cerevisiae</i>	32
11.	Perbanyakan <i>S.cerevisiae</i> pada <i>orbital shaker</i>	33
12.	Grafik nilai kerapatan sel <i>S. cerevisiae</i>	35
13.	Uji antagonis <i>S.cerevisiae</i> dan <i>Gloeosporium</i> sp.	37



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Komposisi kimia daging buah kelapa segar pada 3 tingkatan umur	20
2.	Kandungan air kelapa gading	23
3.	Kandungan air kelapa hijau.....	24
4.	pH beberapa media selama 96 jam dalam perbanyakan <i>S.cerevisiae</i>	34
5.	Suhu beerapa media selama 96 jam dalam perbanyakan <i>S.cerevisiae</i>	34
6.	Nilai kerapatan sel <i>S.cerevisiae</i> pada beberapa media selama 96 jam	35
7.	Rerata hambatan khamir <i>S.cerevisiae</i> terhadap pertumbuhan <i>Gloeosporium sp.</i>	38
8.	Jari-jari pertumbuhan gamur <i>Gloeosporium sp.</i> pada media PDA.....	46
9.	Persentase hambatan khamir terhadap jamur <i>Gloeosporium sp</i>	47



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Skema penelitian	45
2.	Jari-jari pertumbuhan gamur <i>Gloeosporium</i> sp. pada media PDA.....	46
3.	Persentase hambatan khamir terhadap jamur <i>Gloeosporium</i> sp.....	47
4.	Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur <i>Gloeosporium</i> sp hari ke 4.....	48
5.	Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur <i>Gloeosporium</i> sp. hari ke 5.....	48
6.	Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur <i>Gloeosporium</i> sp hari ke 6.....	48
7.	Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur <i>Gloeosporium</i> sp hari ke 7.....	48
8.	Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur <i>Gloeosporium</i> sp hari ke 8.....	48
9.	Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur <i>Gloeosporium</i> sp hari ke 9.....	49
10.	Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur <i>Gloeosporium</i> sp hari ke 10.....	49
11.	Dokumentasi penelitian	50

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Agensia pengendali hayati dapat dikelompokkan ke dalam jamur, bakteri dan khamir antagonis. Khamir adalah kelompok mikroorganisme uniseluler yang memiliki kelebihan yaitu bioekologinya lebih adaptif pada permukaan tanaman yang kering, tahan terhadap terpaan sinar matahari yang kuat, fluktuasi cuaca yang tajam dan miskin nutrisi (El-Tarabily & Sivasithamparam, 2006). Selain itu, khamir mudah diperbanyak dalam waktu singkat, tidak menghasilkan toksin, mampu mengkolonisasi dan bertahan pada permukaan buah dalam waktu yang cukup lama pada berbagai kondisi. Khamir sangat berpotensi sebagai khamir antagonis patogen tanaman (Fonseca & Inacio, 2006). *Saccharomyces cerevisiae* adalah mikroba yang potensial sebagai antagonisme. Beberapa tahun terakhir ini, khamir telah digunakan sebagai agens pengendali hayati untuk mengendalikan cendawan. Hasil dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, *S. cerevisiae* termasuk dalam khamir antagonis yang terbukti dapat mengendalikan patogen *Penicillium requeforti*, *Fusarium oxiporum*, *Colletotrichum gloesporiedes*, *Phytium aphanidermatum* yaitu penyebab penyakit rebah kecambah yang termasuk dalam mekanisme mikroparasitisme.

Salah satu usaha untuk mengurangi biaya produksi perbanyak *S. cerevisiae*, dapat dilakukan dengan media perbanyak sederhana. *S. cerevisiae* dapat tumbuh dalam gula sederhana seperti glukosa dan sukrosa. Selain itu untuk menunjang kebutuhan hidup diperlukan oksigen, karbohidrat, dan nitrogen. *S. cerevisiae* mampu memanfaatkan senyawa gula yang dihasilkan oleh mikroorganisme selulolitik untuk pertumbuhannya. *S. cerevisiae* biasa diperbanyak oleh petani pada media nira, molase, limbah cair tahu, air kelapa. Menurut Kusnadi (2003) Khamir dapat tumbuh pada habitat yang mengandung gula seperti pada buah-buahan, bunga, dan pada bagian gabus dari pohon. Khamir memerlukan substrat atau medium yang mengandung gula sebagai tempat tumbuhnya. Walaupun air kelapa mengandung zat-zat gizi tetapi pemanfaatannya belum banyak diketahui oleh masyarakat. Salah satu penelitian yang sudah dilakukan yaitu penggunaan air kelapa sebagai media pertumbuhan kultur jaringan *Daucus carota*. Pertumbuhan jaringan menunjukkan hasil baik dengan penambahan air kelapa 15% pada kultur *Daucus carota* dalam medium kultur jaringan. Selain pada kultur *Daucus carota* penambahan air kelapa 10 sampai 20% menunjukkan pertumbuhan lebih baik pada kultur bibit krisan, dan penambahan air kelapa 20 %

pada kultur pisang tanduk. Hal ini menunjukkan bahwa pada air kelapa mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh sel untuk mempercepat pertumbuhannya. Selain pada medium kultur jaringan, air kelapa juga digunakan dalam proses perkecambahan pada kacang tanah dan perkecambahan biji jagung. Dalam proses perkecambahan, sitokinin dalam air kelapa ini terbukti dapat merangsang pembelahan sel, jaringan akar, mempercepat pertumbuhan tunas dan dapat mematahkan dormansi biji (Rauf, 2003). Widyastuti (1997) mengungkapkan bahwa Air kelapa mengandung asam amino, asam organik, vitamin dan gula. Lebih dari setengah bagiannya adalah sukrosa dan sisanya adalah glukosa dan fruktosa. Gula alkohol yang terkandung di dalamnya adalah monitol, sorbitol, m-inositol. Dalam media pertumbuhan khamir, gula perlu ditambahkan karena jamur ini akan tumbuh subur pada habitat yang mengandung gula. Melihat zat-zat yang terkandung di dalam air kelapa maka air kelapa sangat cocok digunakan sebagai medium untuk pertumbuhan khamir. Pertumbuhan sel khamir dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan seperti temperatur/suhu, nutrisi, oksigen, air, dan faktor pH.

S. cerevisiae berpotensi sebagai pengendali penyakit pada tanaman dan buah-buahan, termasuk tanaman apel. Salah satu penyakit pada buah apel yang menyebabkan kerugian yaitu penyakit busuk buah yang disebabkan oleh patogen *Gloeosporium* sp. Penyakit busuk buah seringkali menyerang buah yang telah berumur diatas 3 bulan atau hampir rompes. Pertahanan tanaman secara aktif ditunjukkan dengan adanya warna merah disekitar gejala yang melokalisasi serangan oleh jamur. Pada kondisi yang tidak terlalu lembab dan buah mendapat matahari langsung akan menghambat terjadinya penyakit, karena spora yang ada tidak dapat tumbuh pada kondisi tersebut

Berdasarkan penjelasan diatas maka dilakukan penelitian tentang pengujian media yang efektif sebagai pertumbuhan *S. cerevisiae* dengan interval waktu yang berbeda sehingga didapatkan waktu yang optimal untuk perkembangbiakan khamir *S. cerevisiae* dan efektivitas antagonis *S. cerevisiae* terhadap patogen *Gloeosporium* sp.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk:

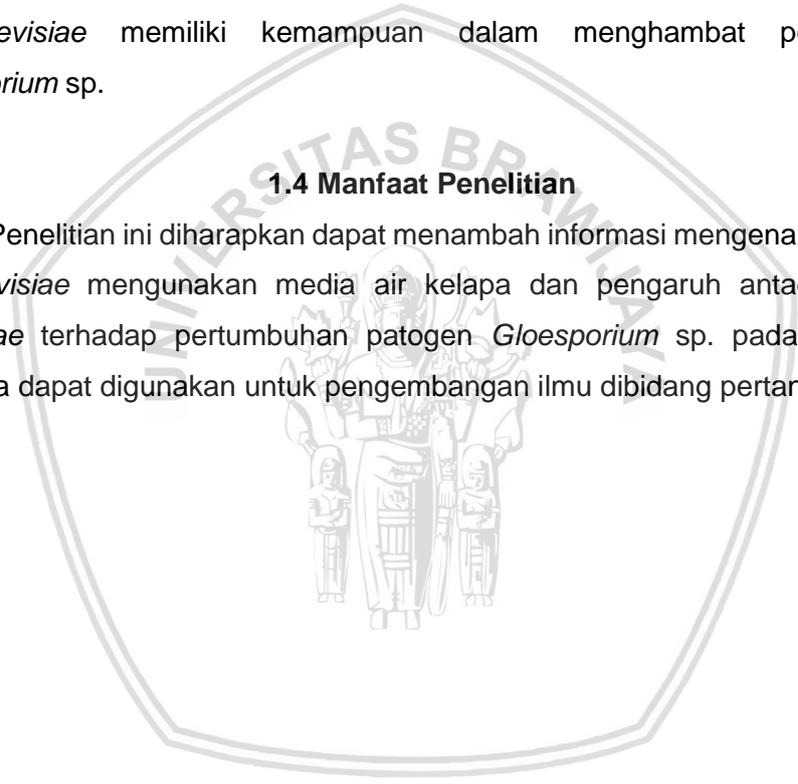
1. Mengidentifikasi agen antagonis *S. cerevisiae* dan patogen *Gloeosporium* sp.
2. Mengetahui potensi media air kelapa sebagai media perkembangbiakan *S. cerevisiae*.
3. Mengetahui kemampuan *S. cerevisiae* dalam menghambat pertumbuhan *Gloeosporium* sp. dan mekanisme antagonismenya.

1.3 Hipotesis

Air kelapa merupakan media yang efektif untuk pertumbuhan *S. cerevisiae*. dan *S. cerevisiae* memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Gloeosporium* sp.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi mengenai pembiakan *S. cerevisiae* menggunakan media air kelapa dan pengaruh antagonisme *S. cerevisiae* terhadap pertumbuhan patogen *Gloeosporium* sp. pada buah apel sehingga dapat digunakan untuk pengembangan ilmu dibidang pertanian.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Potensi Khamir sebagai Pengendali

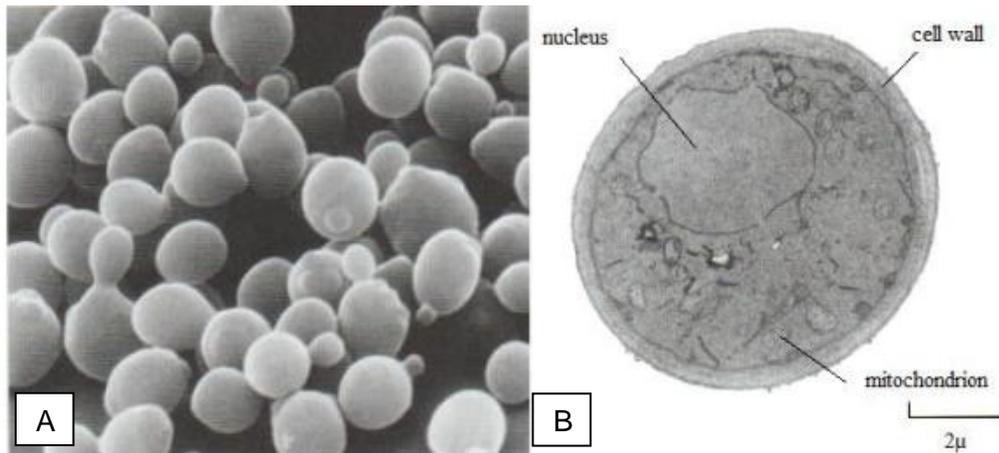
Khamir merupakan mikroorganisme yang potensial digunakan sebagai agens pengendali hayati karena mudah diperbanyak dan memiliki beberapa karakter yang dapat dimanipulasi untuk meningkatkan efisiensi penggunaannya (Robiglio *et al.* 2011). Khamir memiliki banyak sifat yang bermanfaat untuk pengendalian, antara lain tidak menghasilkan spora alergik atau mikotoksin, tidak menghasilkan antibiotik yang mungkin dihasilkan oleh bakteri antagonis (Droby & Chalutz, 1994). Kelebihan lain khamir sebagai agens pengendali hayati yaitu khamir mudah diperbanyak dalam waktu singkat, tidak menghasilkan toksin, mampu mengkolonisasi dan bertahan pada permukaan buah dalam waktu yang cukup lama pada berbagai kondisi (Hashem dan Alamri, 2009). Reproduksi vegetatif khamir terutama dengan cara pertunasan. Khamir mempunyai ukuran sel yang lebih besar, dan dinding sel yang lebih kuat daripada bakteri, serta tidak melakukan fotosintesis dan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan ganggang atau alga.

2.1.1 *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae termasuk khamir kelas *Ascomycetes* yang banyak mengandung protein, karbohidrat, dan lemak, sehingga dapat dikonsumsi oleh manusia dan hewan guna melengkapi kebutuhan nutriennya sehari-hari. *S.cerevisiae* juga mengandung vitamin, khususnya vitamin B kompleks. *S.cerevisiae* mudah dicerna, enak, dan tidak menularkan atau menimbulkan penyakit (Tjokroadikoesoemo, 1986). *S. cerevisiae* sangat mudah ditumbuhkan pada berbagai media asalkan terdapat sumber karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, kalsium, vitamin, mineral serta air (Wibowo, 1990; Amaria dkk., 2001).

2.1.1.1 Klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae adalah nama spesies yang termasuk dalam khamir berbentuk oval. Adapun klasifikasi dari *S. cerevisiae* yaitu *Filum Ascomycota*, *Subfilum Saccharomycotina*, *Kelas Saccharomycetes*, *Ordo Saccharomycetales*, *Famili Saccharomycetaceae*, *Genus Saccharomyces*, *Spesies Saccharomyces cerevisiae* (Yarow, 1984).



Gambar 1. (A) Koloni sel *Saccharomyces cerevisiae* dibawah mikroskop, (B) Perbesaran sel tunggal *Saccharomyces cerevisiae* (Alberts *et al.*, 2008).

2.1.1.2 Morfologi *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces berasal dari bahasa Latin Yunani yang berarti “gula jamur” sedangkan *cerevisiae* berasal dari bahasa Latin yang berarti bir (Sukoco, 2010). *S. cerevisiae* termasuk dalam golongan *Ascomycomycetes* karena dapat membentuk askospora dalam askus. Spesies ini dapat bereproduksi secara seksual dengan membentuk spora seksual berupa konidium atau juga bereproduksi secara aseksual dengan membentuk spora aseksual berupa askospora sebanyak 4-8 buah dalam askus serta melakukan pertunasan. Pertunasan pada spesies ini dapat berupa pertunasan multilateral, yaitu tunas dapat tumbuh disekitar ujung sel (Fardiaz, 1992).

S. cerevisiae merupakan jenis khamir yang mempunyai sel tunggal. Sel khamir terdiri dari kapsul, dinding sel, membrane sitoplasma, nucleus, vakuola, globula lipid dan mitokondria. Bentuk dari khamir ini oval (bulat telur) dengan ukuran sekitar 1-5µm atau 20-25µm dengan lebar sekitar 1-10µm (Gambar 1). Koloninya berbentuk rata, lembab, mengkilap dan halus (Fardiaz, 1992).

Menurut Fardiaz (1992), sel *S. cerevisiae* dapat tumbuh pada medium yang mengandung air gula dengan konsentrasi tinggi. *S. cerevisiae* merupakan golongan khamir yang mampu memanfaatkan senyawa gula yang dihasilkan oleh mikroorganisme selulolitik untuk pertumbuhannya. Spesies ini dapat memfermentasikan berbagai karbohidrat dan menghasilkan enzim invertase yang bisa memecah sukrosa menjadi glukosa dan frukosa serta dapat mengubah glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida sehingga banyak digunakan dalam industri pembuatan roti ataupun anggur. Hal ini serupa

dengan pendapat Dwidjoseputro dalam Surnanti E (2004), bahwa *S. cerevisiae* dapat berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa, maupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Khamir ini merupakan mikroba yang umum digunakan dalam fermentasi yang banyak terdapat dalam ragi pasar.

Elliot (1994) dalam Ahmad (2008) menjelaskan bentuk mikroskopik *S. cerevisiae* berupa blastospora yang berbentuk bulat lonjong, silindris, oval, atau bulat telur pendek dan panjangnya dipengaruhi oleh strain (Gambar 1). Barnett *et al.* (2000) menjelaskan bentuk makroskopik *S. cerevisiae* mempunyai koloni berbentuk bulat, warna putih, krim abu-abu hingga kecokelatan, permukaan koloni berkilau sampai kusam, licin, dengan tekstur lunak.

2.1.1.3 Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah :

a. Suhu

S. cerevisiae mempunyai suhu optimal untuk pertumbuhan mikroba. Suhu dibawah minimal dan diatas maksimal dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga tidak dapat tumbuh. Sebagian besar *Saccharomyces cerevisiae* umumnya tumbuh baik pada kisaran suhu 25-46°C (Fosith dan Quesnel, 1963).

b. pH

Selama proses fermentasi pH pertumbuhan ini berpengaruh pada laju pertumbuhan mikroorganisme. Perubahan pH media akan mempengaruhi permeabilitas sel dan sintesis enzim, oleh sebab itu perlu dilakukan upaya untuk mempertahankan pH dan buffer. Nilai pH optimal untuk pertumbuhan *S.cerevisiae* adalah antara 2,5-4,5 (Fosith dan Quesnel, 1963).

Adapun tahap-tahap pertumbuhan *S. cerevisiae* adalah sebagai berikut :

a. Fase adaptasi (*Lag phase*)

Pada fase ini sebagian besar *S. cerevisiae* terlebih dahulu menyesuaikan diri (adaptasi) dengan lingkungan barunya dan belum mengadakan perbanyakan sel. Pada fase ini mikroba merombak substrat menjadi nutrisi untuk pertumbuhannya. Jika ditemukan senyawa kompleks yang tidak dikenalnya, mikroba akan memproduksi enzim untuk merombak senyawa tersebut (Casselman, 2005). *S. cerevisiae* termasuk ragi yang mudah

beradaptasi, ditunjukkan dengan singkatnya waktu yang dibutuhkan untuk beradaptasi, yaitu selama 1 jam 40 menit.

b. Fase percepatan (*Acceleration phase*)

Pada fase ini mulai terjadi peningkatan jumlah sel dalam waktu singkat (*rapid growth*). Waktu percepatan yang dibutuhkan yaitu selama 20 menit.

c. Fase Eksponensial/pertumbuhan (*Log phase*)

Pada fase ini *S. cerevisiae* telah dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Pembelahan sel telah dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Pembelahan sel terjadi sangat cepat secara eksponensial. Dalam kondisi kultur yang optimum, sel mengalami reaksi metabolisme yang maksimum. Fase eksponensial ini berlangsung selama 2 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kultur telah berada dalam kondisi aktif dan proses aktivasi yang dilakukan sebelumnya berjalan dengan baik.

d. Fase penurunan (*Deceleration phase*)

Pada fase ini laju pertumbuhan mengalami perlambatan. Fase ini berlangsung selama 20 menit. Fase penetapan/konstan (*Stasioner phase*) Selama fase ini kecepatan pertumbuhan adalah nol. Meskipun demikian, tidak berarti terjadi pertumbuhan sel. Konsentrasi biomassa pada fase ini berada dalam keadaan maksimum, yaitu berlangsung selama 20 menit. Hasil metabolisme pada fase ini adalah metabolisme sekunder, yaitu merupakan inhibitor dan bersifat racun. Pada fase ini nutrient mulai habis sehingga asupan nutrisi bagi *S. cerevisiae* berkurang. Berkurangnya nutrient ini menyebabkan adanya persaingan antar mikroba yang mengakibatkan semakin cepatnya kematian.

e. Fase Kematian (*Decline phase*)

Pada fase ini semua aktifitas kehidupan *S. cerevisiae* terhenti karena sudah tidak ada lagi energi untuk melakukan metabolisme. Fase ini berlangsung mulai dari menit ke-500.

Ahmad (2008) menjelaskan *S. cerevisiae* berkembang biak secara aseksual dan seksual dengan cepat. Khamir ini akan membelah diri dan menghasilkan tunas yang berkecambah multipolar pada saat perkembangbiakannya. Tunas dapat terbentuk pada seluruh permukaan dinding sel. Diameter spora berukuran 5-10 μ . Reproduksi secara seksual membentuk askospora di dalam askus. Umumnya di dalam satu askus terdapat 4 buah askospora dengan berbagai bentuk.

2.1.2 *Saccharomyces boulardii*

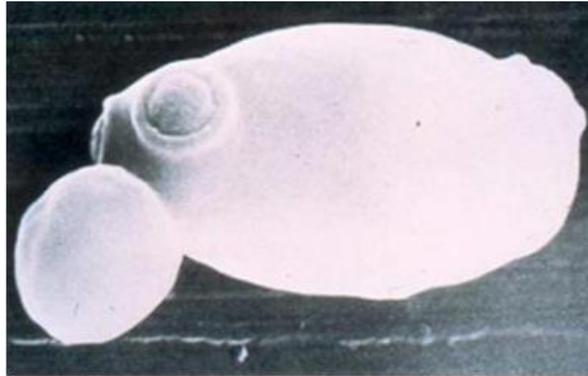
2.1.2.1 Klasifikasi *Saccharomyces boulardii*

Klasifikasi dari *S. boulardii* yaitu *Filum Ascomycota*, *Subfilum Saccharomycotina*, *Kelas Saccharomycetes*, *Ordo Saccharomycetales*, *Famili Saccharomycetaceae*, *Genus Saccharomyces*, *Spesies Saccharomyces boulardii* (Yarow, 1984).

2.1.2.2 Morfologi *Saccharomyces boulardii*

S. boulardii adalah salah satu probiotik yang paling efektif untuk membantu mencegah atau mengobati penyakit. Sifat *S. boulardii* adalah non-patogen yang bermanfaat banyak dalam saluran usus. *S. boulardii* terisolasi dari kulit leci dan buah manggis yang tumbuh di kawasan Indochina. *S. boulardii* tersebut memiliki taksonomi, fisiologi, metabolik dan karakter genetik yang khas. Dimana *S. boulardii* tumbuh pada daerah dengan suhu 37°C. Khamir jenis ini telah banyak digunakan di seluruh dunia sebagai suplemen probiotik untuk mendukung kesehatan gastrointestinal dengan meningkatkan populasi bifidobacteria usus sehat sekaligus mengurangi jumlah organisme yang dapat menyebabkan penyakit. *S. boulardii* bekerja dalam berbagai cara di dalam usus, tergantung pada jenis agen infeksi atau proses inflamasi yang menstimulasi sel usus. Dalam beberapa kasus infeksi diare, khamir ini akan berkompetisi dengan organisme yang menginfeksi dan khamir ini menang. Studi eksperimen memperlihatkan hasil bahwa *S. boulardii* mempunyai sifat anti mikroba, sama baiknya dengan anti inflamasi dan anti racun. Mekanisme yang paling berpengaruh dari *S. boulardii* adalah dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang mengandung racun, anti-inflamatory dan banyaknya efek stimulatory pada mukosa usus. *S. boulardii* menginaktifasi racun bakteri, menghambat racun yang mengikat pada reseptor usus dan mengurangi toksin yang disebabkan peradangan.

S. boulardii tidak melakukan reproduksi spora atau yang disebut askospora dan tidak menggunakan gula galaktosa. Hal ini yang menyebabkan menjadi sangat tahan terhadap panas dan asam. *S. Boulardii* adalah uniseluler (bersel satu) dan berbentuk globuler, bereproduksi dengan tunas yang akan meninggalkan luka pada permukaannya ketika tunas tersebut keluar (Gambar 2).



Gambar 2. *Saccharomyces boulardii* (Czerucka et al., 2002)

2.1.3 *Candida intermedia*

2.1.3.1 Klasifikasi *Candida intermedia*

Klasifikasi dari *Candida intermedia* yaitu Divisi Ascomycota, Subdivisi Saccharomycotina, Kelas Saccharomycetes, Subkelas Saccharomycetidae, Ordo Saccharomycetales, Genus *Candida*, Spesies *Candida intermedia* (Departement resources, 2017).

2.1.3.2 Morfologi *Candida intermedia*

Candida intermedia dapat ditemukan di tanah, bir, anggur. Juga dapat ditemukan di kulit, di dalam tenggorokan atau kotoran hewan (Departement resources, 2017)

Candida intermedia memiliki morfologi sel berbentuk bulat lonjong dengan ukuran $(2,4-6,4) \times (3,2-7,2) \mu\text{m}$. biasanya berbentuk rantai sederhana yang berkaitan dengan pseudohifa yang umumnya tersusun dengan cabang-cabang pendek seperti blastospora. Pseudohifa dan hifa merupakan satu kesatuan yang berbentuk filamen dari suatu cendawan (Gambar 3). *C. intermedia* memiliki koloni timbul, halus, cembung, berwarna ungu gelap, mirip dengan *C. intermedia*, berwarna ungu gleas mirip dengan *C. lusitanae* (Departement resources, 2017). Berkembangbiak dengan spora yang tumbuh dari tunas, disebut blastospora (Siregar, 2002).

Candida intermedia diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Colletotrichum graminicola* dan *Colletotrichum sublineolum* penyebab penyakit antraknosa pada sorghum dan jagung. Hasil uji antagonis *C. intermedia* yang diisolasi dari rizosfer tanaman tebu terhadap *C. graminicola* menunjukkan bahwa *C. intermedia* mampu menekan pertumbuhan cendawan patogen dengan memberikan reaksi antagonisme sebesar 45.9% sampai 48.9% sedangkan hasil

uji antagonis *C. intermedia* terhadap *C. sublineolum* menunjukkan bahwa *C. intermedia* mampu menekan pertumbuhan cendawan patogen dengan memberikan reaksi antagonisme sebesar 47.7% sampai 48.9%. Namun, sampai saat ini belum ada informasi mekanisme kerja *C. intermedia* dalam menekan pertumbuhan cendawan patogen (Rosa-Magri et al. 2011). Menurut Fitriati (2012), *Candida intermedia* yang mampu memberikan tingkat hambatan relatif terhadap perkembangan penyakit antraknosa pada buah avokad dalam uji in vivo sebesar 66.67–100% pada konsentrasi 10⁶–10⁷ sel/ml.



Gambar 3. (A) Pebesarannya sel tunggal *Candida intermedia*, (B) Koloni sel *Candida intermedia* (Departement resources, 2017)

2.2 Mekanisme Antagonis Khamir

Khamir merupakan mikroba potensial untuk digunakan sebagai agens hayati karena mudah diperbanyak dan memiliki beberapa sifat yang dapat dimanipulasi untuk meningkatkan efisiensi penggunaannya. Beberapa tahun terakhir, khamir telah digunakan sebagai agens hayati untuk mengendalikan penyakit pascapanen. Kriteria antagonisme oleh Johson et al. (1959) bahwa sifat antagonisme ditandai dengan terbentuknya zona hambat antara dua mikroorganisme yang saling berinteraksi. Khamir memiliki mekanisme antagonisme berupa kompetisi nutrisi dan ruang, parasitisme dan produksi enzim litik serta induksi ketahanan, sehingga mampu mengendalikan beberapa patogen pascapanen (Nunes, 2012).

2.2.1 Mekanisme Kompetisi ruang dan Nutrien

Mekanisme kompetisi ruang dan nutrient terjadi ketika khamir berusaha memperoleh ruang dan nutrient yang terbatas saat ditumbuhkan bersama kapang (Janisiewicz & Korsten, 2002). Kompetisi yang sukses ditunjukkan melalui pertumbuhan sel serta kolonisasi khamir antagonis yang lebih cepat atau sejumlah

molekul organik hasil metabolisme khamir yang lebih banyak dibandingkan kapang (Morrica, 2008).

Miselium patogen pada perlakuan jika tampak lebih tipis daripada kontrol merupakan salah satu indikasi adanya kompetisi yang terjadi antara kapang patogen dan antagonis. Kompetisi terjadi ketika dua mikroorganisme membutuhkan nutrisi dan ruang yang jumlahnya terbatas. Pada mekanisme ini, kapang antagonis akan mendapatkan nutrisi lebih banyak dibandingkan dengan kapang patogen. Dengan demikian pertumbuhan patogen akan terhambat. Salah satu faktor yang mempengaruhi terjadinya kompetisi yaitu karena adanya kebutuhan hidup yang sama atau dalam keadaan nutrisi terbatas. Bakteri pada saluran pencernaan saling berkompetisi baik dalam menghasilkan senyawa antimikroba maupun kompetisi dalam mendapatkan nutrisi (Dinoto, 2005). Sunarwati dan Yoza (2010) menjelaskan bahwa perbedaan luas koloni cendawan pada media, mengindikasikan adanya mekanisme kompetisi terhadap ruang dan makanan. Besar kecilnya luas koloni agen hayati menunjukkan kemampuannya untuk berkompetisi dengan patogen, semakin luas pertambahan koloni agen hayati berarti semakin besar kemampuannya untuk berkompetisi dengan patogen

2.2.2 Antibiosis

Antibiosis adalah suatu interaksi antara makhluk hidup, dimana organisme yang satu dengan yang lain menghambat kehidupan dan pertumbuhan organisme yang lain. Kemampuan khamir dalam menekan perkembangan penyakit diduga karena khamir mampu menghasilkan enzim yang berpotensi menghambat, menekan dan mampu merangsang beberapa jenis respon pertahanan inang. Enzim tersebut mampu mendegradasi dinding sel

Mekanisme antibiosis melibatkan penggunaan senyawa metabolit sekunder seperti enzim pelisis, senyawa *volatile*, *siderophores* atau senyawa toksik lainnya (Haggag dan Mohammed, 2007). Terbentuknya senyawa metabolit sekunder tersebut dapat menyebabkan fungistatik, lisis dinding sel, atau nekrotik, sehingga pertumbuhan kapang menjadi terhambat. Antibiotik secara umum didefinisikan sebagai senyawa organik dengan berat molekul rendah, yang dihasilkan sebagai metabolit sekunder dan menghambat pertumbuhan atau aktivitas metabolisme mikroba lain pada konsentrasi rendah

2.2.3 Parasitisme

Mekanisme parasitisme terjadi melalui kontak langsung antara sel khamir dengan kapang. Sela khamir memanfaatkan kapang sebagai inang yang

merupakan habitat dan sumber nutrisi untuk melakukan pertumbuhan (Sharma, 2009). Filinow (2001), melaporkan khamir *Cryptococcus laurentii* (Kufferarth) C.E Skinner memiliki kemampuan antagonisme terhadap kapang patogen *B. cinerea* melalui mekanisme parasitisme. Interaksi antagonisme diawali dengan kontak langsung sel khamir pada hifa kapang, kemudian khamir menyerap makanan dari hifa kapang. Hasil interaksi antagonisme yang terjadi ditunjukkan dari reduksi jumlah konidia yang bergerminasi.

2.2.4 Predasi

Mekanisme predasi terjadi melalui kontak langsung atau melalui struktur khusus dari khamir, misalnya appresoria, yang mampu menembus dinding sel hifa atau spora sehingga menunggu viabilitas kapang (Morricca & Ragazzi, 2008)

2.3 Macam Media Perbanyakan Khamir

2.3.1 Media YEPD (*Yeast Extract Peptone Dextrose*)

Algiansyah (2009), menggunakan YEPD sebagai media perbanyakan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Medium YEPD dibuat dari campuran ekstrak khamir, pepton, dekstrosa, dan akuades. Semua bahan dimasukkan dalam *beaker glass* dan diaduk hingga homogen. Campuran tersebut kemudian dimasukkan dalam botol selai sampai volume 150 mL. Botol selai ditutup dengan busa dan aluminium foil, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya medium didinginkan dan setelah dingin siap diinokulasi.

2.3.2 Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Potato Dextrose Agar (PDA) merupakan salah satu media yang baik digunakan untuk membiakkan suatu mikroorganisme, baik itu berupa cendawan/fungi, bakteri, maupun sel makhluk hidup. Media PDA merupakan jenis media biakan dan memiliki bentuk/ konsistensi padat (solid). Potato dextrose agar merupakan paduan yang sesuai untuk menumbuhkan biakan (Winda, 2009). Media potato dextrose agar (PDA) berfungsi sebagai media kapang (jamur) dan khamir. Selain itu PDA digunakan untuk enumerasi yeast dan kapang dalam suatu sampel atau produk makanan. PDA mengandung sumber karbohidrat dalam jumlah cukup yaitu terdiri dari 20% ekstrak kentang dan 2% glukosa sehingga baik untuk pertumbuhan kapang dan khamir tetapi kurang baik untuk pertumbuhan bakteri. Komposisinya PDA berupa kentang (4 g/L (berasal dari 200 gr kentang)), dekstrose (15 g/L) dan aquades 1L.

Media PDA menunjukkan hasil terbaik daripada media alternatif karena PDA merupakan salah satu media kultur yang paling umum digunakan karena formulasinya yang sederhana dan merupakan media terbaik karena kemampuannya dalam mendukung pertumbuhan pada berbagai jamur (Saha et al, 2008) sedangkan pada media alternatif memiliki nutrisi yang lebih kompleks sehingga pertumbuhan jamur belum seoptimal media PDA. Hal tersebut dipertegas oleh Ganjar (2006) menyatakan bahwa kandungan kompleks dalam media menyebabkan jamur uji membutuhkan waktu lebih lama untuk menguraikan menjadi komponen-komponen sederhana yang dapat diserap sel yang digunakan untuk sintesis sel dan energi.

2.3.3 Media YMB (*Yeast Malt Broth*)

Yeast Malt Broth (YMB) merupakan media general yang digunakan untuk mengkultur yeast dalam media cair. Penggunaan media ini pada awal preparasi sampel bertujuan untuk memperkaya mikroorganisme terutama dari kelompok yeast. *Yeast Malt Broth* (YMB) mengandung glukosa, ekstrak khamir, ekstrak gandum, dan pepton. Menurut Yarrow (1998), YMB merupakan medium yang sesuai untuk pertumbuhan khamir karena menyediakan sumber nutrient yang sesuai untuk pertumbuhan khamir karena menyediakan sumber nutrient seperti karbon, nitrogen, hydrogen, oksigen, fosfor, sulfur, dan vitamin. Khamir akan menggunakan sumbernutrien tersebut terlebih dahulu untukkeperluan sel, seperti pembentukan enzim atau biomolekul untuk komponen sel. Bila terdapat sumber karbon berlebih setelah keperluan sel terpenuhi, maka sumber karbon tersebut akan digunakan untuk pembentukan cadangan lipid dalam bentuk tetes-tetes lemak dalam sel.

Pembuatan medium YMB berdasarkan Yarrow (1998), sebanyak 3 g ekstrak khamir, 3 g ekstrak malt, 5 g pepton, 10 g glukosa dan chloramphenicol sebanyak 100 mgL^{-1} dilarutkan ke dalam akuades hingga volumeakhir mencapai 1.000 ml. Campuran tersebut dipanaskan sambil diaduk hingga homogeny dan mendidih. Medium YMB yang telah homogeny dan mendidih dimasukkan ke dalam masing-masing abung reaksi sebanyak 5 ml. tabung raksi yang berisi medium disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit.

2.3.4 Buah Trembesi

Buah pohon trembesi berbentuk polong. Polong yang sudah masak berwarna coklat – hitam, memanjang dengan panjang 5-25 cm. Bila polong dikupas terdapat bagian seperti daging buah (pulp) berwarna coklat, lengket, kental, berasa manis dan dapat dimakan. Biji berbentuk agak pipih, elipsoid dengan panjang 10-12 mm dan lebar 4-7 mm. Permukaan biji halus dan mengkilap, berwarna coklat dengan bagian samping berwarna kekuningan. Dalam satu polong terdapat 5 – 17 biji. Di Indonesia khususnya Jawa Timur biji buah trembesi dimakan seperti kwaci dengan cara disangrai dulu. Menurut Staples dan Elevitch (2008) 1 kg rata-rata berisi 4000 – 6000 biji. Di Amerika Latin daging buah yang manis dan lengket digunakan untuk membuat sejenis minuman yang mirip dengan tamarind (terbuat dari bubur asam). Menurut Ukoha et al. (2011) kandungan karbohidrat (dalam bentuk gula) polong buah trembesi sangat tinggi. Kandungan gula yang tinggi tersebut dapat digunakan sebagai sumber energi. Prospek penggunaan polong *Samanea saman* lebih lanjut adalah sebagai minuman bernutrisi dan obat-obatan.

Secara alami daging buah trembesi yang manis banyak dihuni mikroorganisme terutama dari golongan khamir termasuk khamir fermentatif; diantaranya adalah *S. cerevisiae*, *Kluyveromyces kefir*, dan *Zygosaccharomyces* spp. Pemanfaatan buah trembesi sebagai media tumbuh khamir merupakan hal yang baru. Penelitian perbanyak khamir menggunakan buah trembesi ini, dilakukan oleh Dian (2012), dimana untuk memperbanyak khamir *Rhodotorula* sp. menggunakan buah trembesi. Formulasi media yang digunakan yaitu ekstrak buah trembesi dan ekstrak kentang, ekstrak buah trembesi dan ekstrak cabai, media corn meal dan ekstrak cabai, media ekstrak kentang gula, media ekstrak cabai gula, media potato dextrose broth, media padat jagung, media ekstrak cabai 100%, media corn meal gula, dan media ekstrak buah trembesi 100%.

Hasil yang tampak lebih besar, yaitu pada perlakuan media ekstrak buah trembesi + ekstrak kentang dan media ekstrak cabai 100% yaitu berat sprora khamir *Rhodotorula* sp. yang lebih besar daripada media yang lain. Meskipun demikian khamir *Rhodotorula* sp. tetap mampu berkembang biak pada media uji yang lain. Diduga dalam media ekstrak cabai 100% dan media ekstrak buah trembesi yang diperkaya dengan ekstrak kentang nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan khamir *Rhodotorula* sp. lebih tersedia dan lengkap dibandingkan medium uji yang lain. Khamir *Rhodotorula* sp. diisolasi dari

buah cabai sehingga sudah beradaptasi terhadap nutrisi yang berasal dari cabai. Hal ini sudah terbukti dengan dihasilkannya berat spora khamir *Rhodotorula* sp. yang lebih tinggi bila ditumbuhkan pada media ekstrak cabai. Sel sel khamir *Rhodotorula* sp. yang ditumbuhkan pada media ekstrak cabai 100% dan ekstrak cabai gula tampak tetap menghasilkan pigmen karotenoid sehingga berwarna kuning kemerahan (pink).

2.3.5 Limbah Tahu

Industri tahu menghasilkan limbah cair dan padat (ampas tahu). Ampas tahu masih mengandung cukup kalori dan zat-zat pembangun tubuh seperti protein, karbohidrat, lemak dan mineral. Limbah cair tahu dan ampas tahu merupakan sumber bahan organik terutama karbon dalam bentuk karbohidrat. Limbah cair tahu dan ampas tahu juga mengandung protein, lemak, vitamin, dan mineral (Ca, Mg, Fe) sehingga berpotensi sebagai medium pertumbuhan mikroorganisme (Kasmidjo, 1991; Jenie dan Rahayu, 1993; Kuswardani dan Wijajaseputra, 1998). Triyanto (2008) mengemukakan bahwa penyimpanan limbah cair tahu mempunyai peranan yang baik terhadap komposisi unsur hara karena pada proses penyimpanan ini terjadi proses dekomposisi yang menyebabkan mikroorganisme yang hidup dalam limbah cair tahu dapat berkembang. Dekomposisi zat organik dalam lingkungan anaerobik hanya dapat dilakukan oleh mikroorganisme yang dapat menggunakan molekul selain oksigen sebagai akseptor hidrogen.

Hasil penelitian Purwitasari (2004), perbanyakkan *S. cerevisiae* pada limbah tahu yang di formulasikan dengan air kelapa (1:2) ditambah ampas tahu, yaitu memiliki kadar protein sel *S.cerevisiae* lebih tinggi daripada komposisi yang lain.

2.4 Tanaman Apel

2.4.1 Sejarah Penyebaran Apel

Kata apel berasal dari Inggris yaitu *aeppl*, dalam ilmu botani disebut *Malus sylvestris* Mill. Apel adalah buah yang banyak dikonsumsi orang di seluruh dunia, bukan hanya untuk pencuci mulut tapi juga untuk menambah gizi pada tubuh. Apel merupakan tanaman buah tahunan yang berasal dari pegunungan caucacus di Asia dengan iklim sub tropis, kemudian menyebar ke seluruh pelosok Asia. Varietas apel yang dikembangkan di Indonesia umumnya datang dari Eropa dan Australia. Buah ini masuk ke Indonesia pada tahun 1934 dan memiliki beberapa

varietas apel unggulan antara lain: *Rome Beauty*, Manalagi, Anna, *Princess Noble* dan Wangli atau Lali jiwo (Shatikah 2010).

Apel hanya dapat hidup subur di daerah yang mempunyai temperatur udara dingin. Apel dibudidayakan terutama di daerah subtropis bagian Utara di Eropa sedangkan apel lokal di Indonesia terkenal berasal dari daerah Malang, Jawa Timur dan berasal dari daerah Gunung Pangrango, Jawa Barat (Shatikah 2010).

2.4.2 Klasifikasi Tanaman Apel

Klasifikasi tanaman apel Menurut Sistematika (2000), yaitu Divisi *Spermatophyta*, Subdivisi *Angiospermae*, Klas *Dicotyledonae*, Ordo *Rosales*, Famili *Rosaceae*, Genus *Malus*, Spesies *Malus sylvestris* Mill.

Spesies *Malus sylvestris* Mill ini, terdapat bermacam-macam varietas yang memiliki ciri-ciri atau kekhasan tersendiri. Beberapa varietas apel unggulan antara lain: *Rome Beauty*, Manalagi, Anna, *Princess Noble* dan Wangli/Lali jiwo. Seluruh kultivar apel yang ditanam di Indonesia pada kenyataannya adalah introduksi dari luar negeri. Jenis *Rome Beauty* merupakan kultivar yang paling banyak ditanam, hampir sekitar 70 % dari total populasi apel di Malang. Tanaman apel di Indonesia dapat dipanen 2 kali setahun, tetapi produksinya selain dipengaruhi oleh umur tanaman juga dipengaruhi oleh musim. Berdasarkan data yang didapat dari Balai Penelitian Hortikultura Malang, produksi apel jenis *Rome Beauty* pada musim penghujan lebih sedikit yaitu sekitar 2,44 kg/pohon/musim, dibandingkan dengan musim kemarau yang bisa mencapai 12,25 kg/pohon/musim. Rendahnya produksi pada musim hujan disebabkan oleh air hujan yang menimpa bunga yang sedang mekar yang dapat menggagalkan penyerbukan (Suhardjo, 1985).

2.5 Patogen *Gloeosporium sp.* pada Apel

2.5.1 Klasifikasi *Gloeosporium sp.*

Jamur *Gloeosporium sp.* adalah salah satu jamur patogen tanaman yang di klasifikasikan ke dalam kingdom *Mycetae*; divisi *Eumycophyta*; kelas *Deuteromycetes*; ordo *Melanconiales*; Famili *Melanconiaceae*; genus *Gloeosporium*; spesies *Gloeosporium sp.* (Sastrahidayat, 2011).

2.5.2 Morfologi *Gloeosporium* sp.

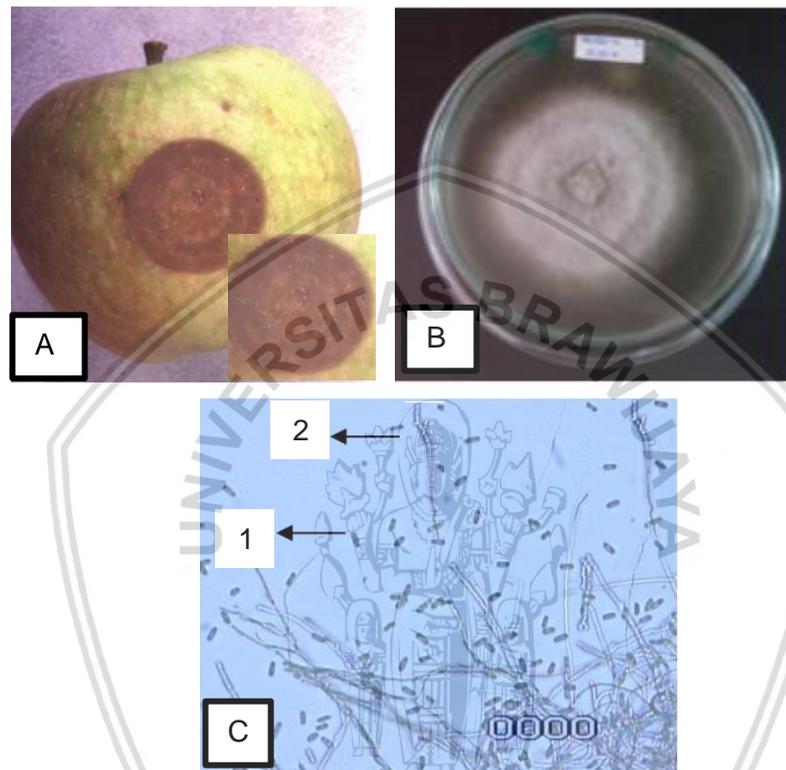
Gejala fisiologis penyakit busuk buah yang disebabkan oleh patogen *Gloeosporium* sp. yaitu pada buah apel terdapat bercak dan sedikit cekung berwarna coklat muda sampai coklat tua. Menurut Susanto (2006), bercak dikelilingi oleh halomerah. Gejala paling khas adalah gejala dibagian dalam, apabila buah apel dibelah membujur, terlihat bercak coklat atau hitam menuju kesemua arah (Gambar 4A).

Gloeosporium sp. termasuk parasite fluktuatif, termasuk kedalam ordo melanconiales. Ciri makroskopis patogen *Gloeosporium* sp. yaitu massa spora berwarna merah jambu dan merah salmon. Koloni jamur pada medium agar dextrose kentang berwarna kelabu sampai merah jingga. Menurut Afriyeni (2013) ciri makroskopis patogen *Gloeosporium* sp. adalah berbentuk seperti lingkaran, berwarna putih dan koloni tepi tidak rata. Apabila dilihat dipermukaan bawahnya terdapat bintik-bintik hitam (Gambar 4B).

Ciri mikroskopis patogen *Gloeosporium* sp. umumnya mempunyai konidium hialin berbentuk silinder dengan ujung-ujung tumpul, kadang-kadang berbentuk jorong dengan ujung membulat dengan pangkal yang sempit terpancung, tidak bersekat, berinti satu, panjang $9 - 24 \times 3 - 6 \mu\text{m}$, terbentuk pada konidiofor seperti fialid berbentuk silinder, hialin berwarna agak kecoklatan (Gambar 4C) (Semangun, 2000). Konidiofor yang pendek dan beregresi (berkumpul) pada permukaan yang tipis dari perenkhimoid dan stroma (satu aservulus). Konidia dibentuk dalam aservulus (Djas, 1980). Konidia berbentuk tunggal pada ujung-ujung konidiofor, konidiofor pendek, tidak berwarna, tidak bercabang, tidak bersekat. Sering ditemukan pada aservuli dari jamur *Gloeosporium* sp., tetapi tidak tetap tergantung kondisi tempat tumbuhnya (Alexopolus dan Mims, 1996). Aservuli tersusun di bawah epidermis tumbuhan inang. Epidermis pecah apabila konidia telah dewasa. Konidia keluar sebagai percikan berwarna putih, kuning, jingga, hitam atau warna lain sesuai pigmen yang dikandung konidia. *Gloeosporium* dan *Colletotrichum* keduanya memiliki konidia hialin yang memanjang dengan penyempitan dibagian tengah (Dwidjoseputro, 2005). Aservuli dapat menyerang kulit dan jaringan tanaman, konidiofornya tegak, pendek dan tidak bersekat.

Terdapat keragaman genetik dalam satu spesies patogen yaitu perbedaan ras-ras patogen yang serangannya terbatas pada varietas tertentu dari suatu spesies inang. Dalam satu spesies patogen, terdapat ras-ras fisiologis yang secara

morfologis tidak dapat dibedakan, tetapi berbeda kemampuannya dalam menginfeksi kelompok-kelompok varietas inang yang berbeda, hal ini membantu menjelaskan mengapa varietas yang tahan pada suatu daerah geografis tertentu menjadi rentan ada daerah geografis lain. Ketahanan berubah dari tahun ke tahun dan varietas tahan dengan tiba-tiba menjadi rentan, hal ini berhubungan dengan ras fisiologis yang berbeda-beda (Agrios, 1996).



Gambar 4. (A). Gejala pengakit *Gloeosporium* sp. Busuk buah *Gloeosporium* sp. (Albert, 2008), (B) Koloni *Gloeosporium* sp pada medium PDA, (C) Bentuk mikroskopis *Gloeosporium* sp. (1) konidia (2) hifa (Afriyeni, 2013)

2.6 Buah Kelapa (*Cocos nucifera*)

2.6.1 Klasifikasi Buah Kelapa

Menurut Harjono (1997), tanaman kelapa diklasifikasikan dalam Kingdom *Plantae*, Divisi *Spermatophyta*, Sub divisi *Angiospermae*, Kelas *Monocotyledonae*, Ordo *Arales*, Famili *Aracac*² (*Palmae*), Sub Famili *Cocoidae* (*Coconieae*), Genus *Cocos*, Spesies *Cocos nucifera*.

2.6.2 Tanaman Kelapa

Tanaman kelapa banyak terdapat di daerah beriklim tropis. Biasanya, pohon kelapa tumbuh di pantai sampai ketinggian 900 meter dari permukaan laut dengan pH tanah 6,2-8,3. Selain itu, tanaman kelapa tumbuh subur pada curah hujan 1.800-2.500 mm dan kisaran suhu 28-32°C (Sutami dan Rozaline, 2005). Kelapa (*Cocos nucifera*) merupakan tanaman perkebunan atau industri berupa pohon batang lurus dari family Palmae. Batang pohon kelapa umumnya berdiri tegak dan tidak bercabang, dan dapat mencapai 10-14 meter lebih. Daunnya berpelepeh, panjangnya dapat mencapai 3-4 meter lebih dengan sirip-sirip lidi yang menopang tiap helaian. Buah kelapa berbentuk bulat lonjong dengan ukuran bervariasi, tergantung pada keadaan tanah, iklim, dan varietasnya. Kelapa yang sudah besar dan subur dapat menghasilkan 2-10 buah kelapa setiap tangkainya (Palungkun, 2004). Warna luar kelapa juga bervariasi, mulai dari kuning sampai hijau muda, dan setelah berubah menjadi coklat. Adapun struktur buah kelapa terdiri dari sabut (eksokarp dan mesokarp) 35%, daging buah (endosperm) 28%, air kelapa 15%, tempurung (endokarp) 12%, serta beberapa bagian lainnya (tangkai buah, kulit luar, lembaga dan testa), Menurut Ketaren (1989), tebal sabut kelapa kurang lebih 5 cm dan daging buah 1 cm atau lebih (Palungkun, 2004). Hampir semua bagian kelapa bisa dimanfaatkan, tetapi daging buah merupakan bagian yang paling banyak dimanfaatkan untuk bahan makanan dan bahan baku industri (Setiaji, 2006).

Buah kelapa yang sudah tua mengandung kalori yang tinggi, sebesar 359 kal per 100 gram; daging kelapa setengah tua mengandung kalori 180 kal per 100 gram dan daging kelapa muda mengandung kalori sebesar 68 kal per 100 gram. Sedang nilai kalori rata-rata yang terdapat pada air kelapa berkisar 17 kalori per 100 gram (Tabel 1). Air kelapa hijau, dibandingkan dengan jenis kelapa lain banyak mengandung tanin atau antiodotum (anti racun) yang paling tinggi. Kandungan zat kimia lain yang menonjol yaitu berupa enzim yang mampu mengurai sifat racun. Komposisi kandungan zat kimia yang terdapat pada air kelapa antara lain asam askorbat atau vitamin C, protein, lemak, hidrat arang, kalsium atau potassium. Mineral yang terkandung pada air kelapa ialah zat besi, fosfor dan gula yang terdiri dari glukosa, fruktosa dan sukrosa. Kadar air yang terdapat pada buah kelapa sejumlah 95,5 gram dari setiap 100 gram (Direktorat Gizi Depkes RI, 1981).

Tabel 1. Komposisi kimia daging buah kelapa segar pada 3 tingkatan umur

No.	Komposisi per 100 g bahan	Satuan	Umur Buah		
			Muda	Setengah Tua	Tua
1.	Kalori	Kal	68,0	180,0	359,0
2.	Protein	G	1,0	4,0	3,4
3.	Lemak	G	0,9	15,0	34,7
4.	Karbohidrat	G	14,0	10,0	14,0
5.	Kalsium	Mg	7,0	8,0	21,0
6.	Fosfor	Mg	30,0	55,0	98,0
7.	Besi	Mg	1,0	1,3	2,0
8.	Nilai Vitamin A	SI	0,0	10,0	0,0
9.	Vitamin B1	Mg	0,06	0,05	0,1
10.	Vitamin C	Mg	4,0	4,0	2,0
11.	Air	G	83,0	70,0	46,9

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI (1981)

Beberapa peneliti membuktikan bahwa protein kelapa mempunyai mutu yang cukup baik, jika dibandingkan dengan mutu protein dari sumber nabati yang lain. Hasil-hasil penelitian membuktikan, bahwa protein kelapa mempunyai susunan asam amino yang relatif baik dan bernilai gizi tinggi (Lanchance dan Molina, 1974). Hal itu ditunjang pula oleh pendapat Banzon dan Velason (1982) yang menyatakan bahwa protein kelapa tidak memiliki senyawa antinutrisi seperti yang terdapat pada protein nabati lainnya terutama pada kacang-kacangan serta mempunyai nilai Indeks Glisemik yang rendah baik digunakan untuk serat diet yang tinggi.

Air kelapa merupakan salah satu produk dari tanaman kelapa yang belum banyak dimanfaatkan, karena pemanfaatannya belum maksimal maka sering kali air kelapa ini dibuang begitu saja. Fardiaz (1996), menyatakan bahwa “Di Indonesia air kelapa tersedia dalam jumlah besar, yaitu 900 juta liter per tahun, merupakan potensi yang belum dimanfaatkan secara maksimal. Air kelapa masih merupakan limbah dan beresiko mencemari lingkungan”. Fermentasi air kelapa akan meningkatkan keasaman sehingga memberikan pengaruh buruk pada tanaman sekitarnya.

2.6.3 Jenis-jenis Buah Kelapa

Pada mulanya, hanya ada dua varietas kelapa yang dikenal, yaitu varietas dalam (*tall variety*) dan varietas genjah (*dwarf variety*). Kelapa varietas dalam diantaranya adalah kelapa dalam Afrika Barat (*west african tall*), kelapa dalam Bali atau kelapa hijau, kelapa dalam Palu, dan kelapa dalam Tengah. Sedangkan varietas genjah diantaranya adalah kelapa genjah Nias Kuning (*nias yellow dwarf*), kelapa

genjah malaya kuning (*malaya ellow dwarf*), dan kelapa genjah malaya merah (*malaya red dwarf*) Palungkun, 2005).

Dengan berkembangnya ilmu pemuliaan tanaman, maka muncul lagi varietas baru, yaitu kelapa hibrida yang merupakan hasil persilangan antara varietas genjah dan varietas dalam (Palungkun, 2005).

a. Varietas Dalam

Menurut Palungkun (2005), Varietas ini terdapat diberbagai Megara produsen kelapa, dengan ciri berbatang tinggi mencapai 30 meter atau lebih. Kelapadalam berbuah agak lambat, yaitu antara 6-8 tahun setelah tanam. Umurnya dapat mencapai 100 tahun lebih.

Keunggulan varietas ini adalah:

- Produksi kopronya tinggi, yaitu sekitar 1 ton kopra/hektar/tahun pada umur 10 tahun
- Daging buah tebal dan keras dengan kandungan minyak yang tinggi
- Lebih tahan hama dan penyakit

Sedangkan kekurangannya adalah:

- Lambat berbuah (6-7 tahun setelah tanam)
- Produksi tandan buah sedikit, yaitu sekitar 11 tandan/pohon/tanam
- Produktivitas sekitar 90 butir/pohon/tahun
- Tanaman lebih tinggi, sekitar 20 meter pada umur 50 tahun

b. Varietas Genjah

Menurut Palungkun (2005), Tanaman kelapa genjah berbatang ramoing, tinggi batang mencapai 5 meter atau lebih masa berbuah 3-4 tahun setelah tanam, dan dapat mencapai umur 50 tahun.

Keunggulan varietas ini adalah:

- Lebih cepat berbuah (3-4 tahun setelah tanam)
- Produksi tandan buah lebih banyak, yaitu sekitar 10 tandan/pohon/tahun
- Produktivitas sekitar 140 butir/pohon/tahun

Sedangkan kekurangannya adalah:

- Produksi kopra rendah, sekitar 0,5 ton kopra/hektar/tahun pada umur sekitar 10 tahun
- Daging buah tebal, rapuh, dan kandungan minyaknya rendah
- Peka terhadap gangguan hama dan penyakit

c. Kelapa Hibrida

Menurut Palungkun (2005), Kelapa hibrida diperoleh dari hasil persilangan antara varietas genjah dan varietas dalam. Salah satu hasil persilangan itu merupakan kombinasi sifat-sifat yang baik dari kedua jenis kelapa asalnya.

Keunggulan varietas ini adalah:

- Lebih cepat berbuah (3-4 tahun setelah tanam)
- Produksi kopra tinggi, yaitu sekitar 6-7 ton kopra/hektar/tahun pada umur sekitar 10 tahun
- Produktivitas lebih besar, sekitar 140 butir/pohon/tahun
- Daging buah tebal dan keras dengan kandungan minyak yang tinggi
- Lebih tahan terhadap hama dan penyakit

2.6.4 Kelapa Gading (*Cocos nucifera* var. *eburnea*)

Kelapa gading (*Cocos nucifera* var. *eburnea*) merupakan jenis kelapa genjah yang memiliki buah berwarna kuning gading. Kelapa gading banyak ditemukan di daerah Bali. Menurut Warisno (1998), kelapa gading atau kelapa kuning memiliki ciri-ciri: warna kulit buahnya kuning, dan biasanya disebut kelapa gading (Gambar 5), jenis kelapa ini banyak ditanam di daerah pesisir pantai, buahnya relative kecil bila dibandingkan dengan kelapa jenis lain serta memiliki produktivitas tinggi dan tidak musiman. Volume air yang terdapat pada kelapa gading \pm 230 ml. Penggunaan air kelapa gading sebagai perbanyakan mikroba masih belum dikembangkan.



Gambar 5. Buah kelapa gading (*Cocos nucifera* var. *eburnea*)

Menurut Widiastoety (1997), jenis air kelapa genjah hijau dan genjah kuning dapat digunakan dalam media kultur anggrek. Namun hasil percobaan air kelapa gading tua menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda dalam merangsang pertumbuhan planlet anggrek, sehingga pemilihan kelapa gading berumur muda atau sedang dapat digunakan sebagai bahan tambahan pada media kultur in vitro.

Hasil pengukuran kandungan air kelapa gading dari Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan FTP UB yaitu kelapa gading muda mengandung protein 0,09%, lemak 0,11%, air 95,1%, abu 0,45%, dan karbohidrat 4,25%. Sedangkan kandungan kelapa gading tua yaitu protein 0,04%, lemak 0,09%, air 95,99%, abu 0,32%, dan karbohidrat 3,58% (Tabel 2).

Tabel 2. Kandungan air kelapa gading

Parameter	Kelapa Gading Muda	Kelapa Gading Tua
Protein (%)	0,09	0,04
Lemak (%)	0,11	0,09
Air (%)	95,10	95,99
Abu (%)	0,45	0,32
Karbohidrat (%)	4,25	3,56

Sumber: Lab. Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan (2017)

2.6.5 Kelapa Hijau (*Cocos nucifera var. viridis*)

Menurut Warisno (1998), kelapa hijau memiliki ciri-ciri: warna kulit buahnya hijau, dan biasa disebut kelapa hijau, jika dibelah sabut didalamnya berwarna merah / merah muda. Buah banyak diambil airnya sebagai penawar racun, untuk mengatasi mual-muntah, kadang-kadang buah dimanfaatkan untuk sesaji, kelapa jenis ini termasuk jenis kelapa dalam (Gambar 6). Volume air yang terdapat pada kelapa \pm 500 ml, nilai kalori rata-rata yang terdapat pada air kelapa berkisar 17 kalori per 100 gram. Air kelapa hijau, dibandingkan dengan jenis kelapa lain banyak mengandung tanin atau antidotum (anti racun) yang paling tinggi. Komposisi kandungan zat kimia yang terdapat pada air kelapa antara lain asam askorbat atau vitamin C, protein, lemak, hidrat arang, kalsium atau potassium. Mineral yang terkandung pada air kelapa ialah zat besi, fosfor dan gula yang terdiri dari glukosa, fruktosa dan sukrosa. Kadar air yang terdapat pada buah kelapa sejumlah 95,5 gram dari setiap 100 gram (Direktorat Gizi Depkes RI, 1981).



Gambar 6. Buah kelapa hijau (*Cocos nucifera var. viridis*)

Kandungan yang terdapat dalam air kelapa tidak hanya unsur makro (Tabel 3), tetapi juga unsur mikro. Unsur makro yang terdapat adalah karbon dan nitrogen. Unsur karbon dalam air kelapa berupa karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, fruktosa, sorbitol, dan inositol. Unsur nitrogen berupa protein yang tersusun dari asam amino, seperti alin, arginin, alanin, sistin, dan serin. Sebagai gambaran, kadar asam amino air kelapa lebih tinggi ketimbang asam amino dalam susu sapi (Andreas, 2009). Selain karbohidrat dan protein, air kelapa juga mengandung unsur mikro berupa mineral yang dibutuhkan tubuh. Mineral tersebut di antaranya kalium (K), natrium (Na), kalsium (Ca), magnesium (Mg), ferum (Fe), cuprum (Cu), fosfor (P), dan sulfur (S). Dalam air kelapa juga ditemukan berbagai vitamin, yaitu vitamin C dan berbagai asam seperti, asam nikotinat, asam pantotenat, dan asam folat. Vitamin B kompleks yang dikandungnya antara lain niacin, riboflavin, dan thiamin (Andreas, 2009).

Tabel 3. Kandungan Air Buah Kelapa Hijau

Sumber air kelapa (dalam 100 g)	Air kelapa muda	Air kelapa tua
Kalori	17,0 kal	-
Protein	0,2 g	0,14 g
Lemak	1,0 g	1,5 g
Karbohidrat	3,8 g	4,6 g
Kalsium	15,0 g	-
Fosfor	8,0 g	0,5 g
Besi	0,2 g	-
Air	95,5 mg	91,5 mg
Bagian yang dapat dimakan	100,0 g	-

Sumber: Palungkun (1992)

III. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga September 2017.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi nampan plastik, kompor Oxone, panci, pisau, cawan Petri, botol media, tabung Erlenmeyer *Duran Schott*, beaker glass *Duran Schott*, object glass dan cover glass *Sail Brand Microscope*, pipet tetes, mikropipet *Vit Lab 100 μ L*, jarum ose, timbangan *Ohaus Gent-0-gram balance 311 g*, tabung reaksi, bunsen, *handsprayer*, *autoklave Hirayama*, *rotary shaker*, *Laminar Air Flow Cabinet (LAFC)*, spektrofotometer *UV-VIS*, pH meter *Trans Instrumen T1 900 Walk Lab a microcomputer technology*, dan kamera *smart phone*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi media PDA (*Potato Dextrose Agar*), YMB (*Yeast Malt Broth*), Air kelapa hijau muda, air kelapa hijau tua, air kelapa gading muda, air kelapa gading tua, alkohol 70%, NaOCl, aquades steril, spiritus, air, kertas label, kantong plastik, kapas, *aluminium foil*, plastik *wrapping*, tisu, patogen *Gloeosporium* sp. dari apel varietas wangling, isolat *S. cerevisiae*.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan *S. cerevisiae* yang didapat dari Lab. Mikrobiologi Pangan FTP Universitas Brawijaya. *S. cerevisiae* diperbanyak dengan metode kultur cair dengan menggunakan beberapa media perbanyakan. Kemudian hasil perbanyakan diuji antagonis dengan patogen *Gloeosporium* sp. Perlakuan uji antagonis disusun secara RAL dengan tiga kali pengulangan.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Isolasi Patogen *Gloeosporium* sp.

Isolasi patogen dilakukan dari buah apel yang diperoleh dari lapangan. *Gloeosporium* sp. diisolasi dari buah yang terserang penyakit dan memiliki gejala yang sama dengan gejala penyakit busuk buah oleh *Gloeosporium* sp. Metode isolasi patogen merujuk pada Pasaribu (2016), Isolasi diawali dengan memotong

buah yang bergejala ± 1 cm, dengan $\frac{1}{2}$ bagian sakit dan $\frac{1}{2}$ bagian sehat. Potongan buah kemudian direndam dengan larutan NaOCI (5%) selama 1 menit, selanjutnya direndam di larutan alkohol 70% selama 1 menit dan diulang 2 kali. Potongan buah kemudian direndam dalam aquades steril dan ditiriskan pada tisu steril. Potongan buah yang sudah kering kemudian ditanam pada media PDA secara aseptik. Inkubasi dilakukan hingga koloni patogen tumbuh pada media.

Isolat patogen yang tumbuh pada media PDA akan dilakukan pemurnian/purifikasi untuk mendapatkan biakan murni patogen *Gloesporium* sp. pemurnian isolat dilakukan dengan mengambil kultur dari isolat hasil isolasi patogen dan biakan murni akan diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis sampai klasifikasi genus. Sebelum dilakukan pengamatan secara mikroskopis, perlu dilakukan pembuatan preparat dahulu. Pembuatan preparat patogen dilakukan dengan cara mengambil sedikit koloni patogen beserta media PDA dan diletakkan diatas permukaan *object glass*. Kemudian ditutup dengan *cover glass* dan diinkubasi pada cawan petri steril yang lembab selama 3 hari untuk selanjutnya diamati secara mikroskopis dengan bantuan mikroskop cahaya.

3.4.2 Pengujian beberapa Media sebagai Perkembangbiakan *Saccharomyces cerevisiae*

a. Perbanyakkan *S. cerevisiae*

Langkah awal sebelum perbanyakkan *S. cerevisiae*, maka dilakukan peremajaan *S. cerevisiae*. Peremajaan dilakukan dengan mengambil isolat menggunakan jarum ose yang telah disterilkan sebanyak 1 ose. Secara aseptik biakan tersebut diinokulasikan pada media PDA. Biakan kemudian diinkubasi selama 3 hari dalam suhu ruang. Tujuan peremajaan biakan adalah untuk mendapatkan umur jamur yang sesuai.

Perbanyakkan *S. cerevisiae* dilakukan menggunakan metode kultur cair. *S. cerevisiae* dibiakkan dalam media *Yeast Malt Broth* (YMB) untuk masa adaptasi. Pembuatan medium YMB berdasarkan Yarrow (1998), sebanyak 3 g *yeast extract*, 3 g *malt extract*, 5 g pepton, 10 g glukosa dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan ditambahi akuades hingga volume 1000 ml. Campuran tersebut kemudian dipanaskan hingga mendidih dan larut sempurna. Medium kemudian dimasukkan ke sejumlah tabung reaksi sebanyak 400 ml. Medium kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

Kemudian biakan diambil satu ose kemudian diperbanyak pada 5 perlakuan media yaitu, P1 (air kelapa hijau muda), P2 (air kelapa hijau tua), P3 (air kelapa gading muda), P4 (air kelapa gading tua), P5 (YMB). *S. cerevisiae* dibiakkan selama 4 hari atau 96 jam.

Air kelapa disterilisasi terlebih dahulu dengan *autoclave*. Air kelapa 100% dimasukkan di botol perbanyak sebanyak 200 ml. Proses inkubasi merujuk pada Suwahyono (2009), yang dilakukan dengan menggunakan *rotary shaker* pada suhu 25-30°C selama 5-7 hari. Selama inkubasi dilakukan pemeriksaan setiap hari kemungkinan terjadi kontaminasi mikroba lain. Kemudian dihitung kerapatannya menggunakan spektrofotometer.

b. Pengukuran pH Media

Pengukuran pH media merupakan salah satu indikator untuk melihat kesesuaian media sebagai perbanyak *S. cerevisiae*. pH medium cair diukur sebelum dan setelah diinkubasi. Sebelum diinkubasi pH medium cair diukur sebelum dan setelah diberi khamir, dengan menggunakan pH meter yaitu: mengaktifkan pH meter, sebelum digunakan dibersihkan elektroda dengan menggunakan aquades, setelah itu dilap dengan tisu. Sebelum digunakan pada medium terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan Bufer pH 4 dan pH 7. Setelah itu elektroda dicelupkan ke medium secara bergantian sesuai dengan perlakuan. Namun setiap kali mengukur pH medium biakkan, terlebih dahulu elektroda dibenamkan dalam aquades, dibersihkan dengan tisu, kemudian dicelupkan lagi ke medium biakkan berikutnya, begitu seterusnya sampai medium biakkan terakhir sesuai jumlah perlakuan. Kemudian medium cair tersebut diinkubasi selama empat hari. Pengukuran pH dilakukan setiap 24 jam sekali. Cara pengukuran pH sama seperti sebelum biakkan diinkubasi.

c. Pengukuran Suhu Media

Pengukuran suhu dilakukan menggunakan thermometer dengan pengamatan setiap 24 jam sekali, sama seperti pengukuran pH. Cara mengukur suhu menggunakan thermometer yaitu sama seperti penggunaan pH meter, karena keduanya satu alat. Pertama mengaktifkan pH meter, sebelum digunakan dibersihkan elektroda dengan menggunakan aquades, setelah itu dilap dengan tisu. Sebelum digunakan pada medium terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan Bufer pH 4 dan pH 7. Setelah itu elektroda dicelupkan ke medium secara bergantian sesuai dengan perlakuan. Namun setiap kali mengukur suhu medium biakkan, terlebih dahulu elektroda dibenamkan dalam

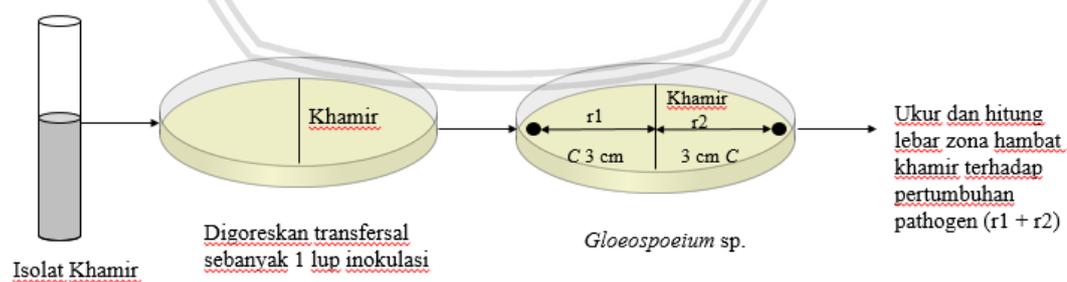
aquades, dibersihkan dengan tissue, kemudian dicelupkan lagi ke medium biakkan berikutnya, begitu seterusnya sampai medium biakkan terakhir sesuai jumlah perlakuan.

d. Perhitungan Kerapatan Sel *Saccharomyces cerevisiae*

Perhitungan kerapatan dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometer. Hal ini dilakukan dengan mengukur nilai OD (Optical Density). Nilai OD dilakukan dengan mengambil contoh substrat setiap 24 jam sekali yang masing-masingnya sebanyak 3 ml. Jumlah sel dihitung dengan metode turbidimetri menggunakan Spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 600 nm (Sholikah *et al.*, 2012).

3.4.3 Uji Antagonis Patogen *Gloeosporium* sp. terhadap Agen Antagonis *S. cerevisiae* secara In-vitro

Metode pengujian antagonis *S. cerevisiae* secara in-vitro merujuk pada Shofiana *et al.* (2015). Pengujian isolat khamir yang diperoleh dilakukan dengan cara khamir digoreskan pada media PDA tepat ditengah cawan petri (d=9 cm) dengan posisi tegak lurus sebanyak 1 lup diinokulasi (Gambar 7). Kemudian biakan *Gloeosporium* sp. diambil menggunakan *cork borer* dan diletakkan pada sisi kanan dan kiri goresan khamir dengan jarak \pm 3 cm kemudian diinkubasi pada suhu ruangan dan diamati selama perlakuan kontrol penuh. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur lebar zona hambat *S.cerevisiae* terhadap *Gloeosporium* sp. pada setiap harinya. Pengamatan dilakukan juga pada jari-jari koloni *Gloeosporium* sp. yang tumbuh ke arah tengah cawan petri.



Gambar 7. Uji antagonis *S.cerevisiae* terhadap *Gloeosporium* sp. pada media PDA

a. Persentase Penghambatan

Menurut Kurniasih (2014), Daya hambat dihitung berdasarkan hasil pengukuran diameter koloni jamur. Istianto dan eliza (2009) menyatakan

penghitungan diameter koloni dilakukan dengan cara membuat garis vertikal dan horizontal berpotongan tepat pada titik tengah koloni jamur di bagian luar alas cawan petri. Persentase penghambatan *S.cerevisiae* terhadap *Gloeosporium* sp. dihitung dengan menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Hadiwiyono (1999):

$$PH = \frac{rp-rk}{rp} \times 100 \%$$

Keterangan PH adalah persentase hambatan khamir terhadap pertumbuhan *S.cerevisiae*. Rp adalah jumlah jari-jari koloni *Gloeosporium* sp. tanpa perlakuan khamir (r_1+r_2), dan Rk adalah jumlah jari-jari koloni *Gloeosporium* sp. yang diberi perlakuan khamir (r_1+r_2)

b. Mekanisme Antagonisme

Mekanisme interaksi yang terjadi antara jamur patogen dan jamur antagonis didasarkan pada kriteria yang dikemukakan oleh Dickinson dalam Amarai et al. (2015), yaitu:

1. Kompetisi, apabila koloni jamur antagonis menutupi koloni patogen dan pertumbuhan jamur antagonis lebih cepat untuk memenuhi cawan petri berdiameter 9 cm.
2. Antibiosis, apabila terbentuk zona bening diantara jamur patogen dengan jamur antagonis, terdapat perubahan bentuk hifa patogen, dan dihasilkan pigmen dipermukaan bawah koloni jamur antagonis.
3. Parasitisme, apabila hifa jamur antagonis tumbuh diatas hifa patogen, serta mengalami lisis.

3.5 Analisa Data

Data pengamatan dari percobaan dianalisis menggunakan uji F pada taraf 5%, kemudian apabila data yang dihasilkan signifikan dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf 5%.

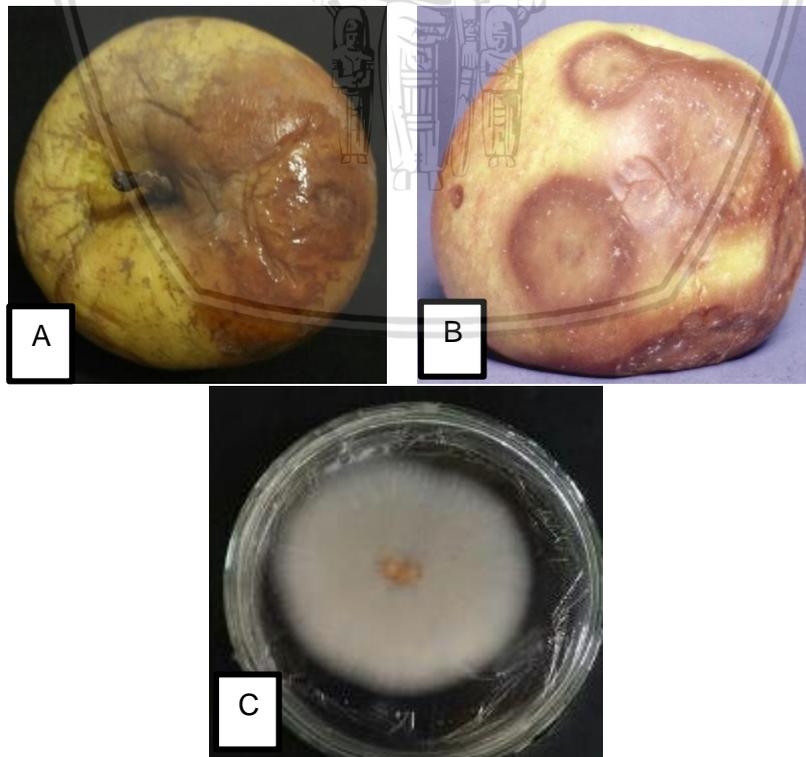
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Identifikasi Patogen *Gloeosporium* sp. dan Agen Antagonis *Saccharomyces cerevisiae*

4.1.1 Hasil Identifikasi Patogen *Gloeosporium* sp

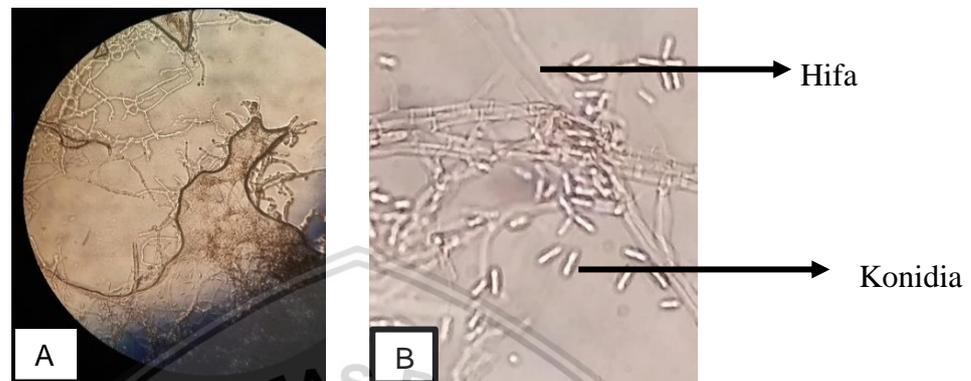
Isolat jamur *Gloeosporium* sp. didapatkan dari isolasi buah apel yang terinfeksi yaitu pada buah apel terdapat bercak kecil dan sedikit cekung berwarna coklat muda sampai coklat tua. Menurut Soesanto (2006), bercak dikelilingi oleh halomerah. Gejala paling khas adalah gejala dibagian dalam, apabila buah apel dibelah membujur, terlihat bercak coklat atau hitam menuju kesemua arah (Gambar 8B). Kemudian isolat dibiakkan pada media PDA. Berdasarkan hasil pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis terhadap biakan murni *Gloeosporium* sp. memiliki ciri-ciri sebagai berikut.

Makroskopis. Pengamatan makroskopis biakan murni *Gloeosporium* sp. berwarna kelabu sampai merah jingga. Jamur *Gloeosporium* sp. mencapai luasan maksimum dalam cawan petri yang berdiameter 9 cm setelah biakan berumur 12 hari sejak inokulasi (Gambar 8C). Menurut Afyeni (2013), ciri makroskopis jamur *Gloeosporium* sp. adalah berbentuk seperti lingkaran, berwarna putih dan tepi koloni tidak rata. Apabila dilihat dari permukaan bawahnya terdapat bitnik-bintik hitam.



Gambar 8. (A) Penampakan fisiologis buah yang terinfeksi *Gloeosporium* sp. (B) Gambar literatur *Gloeosporium* sp. (Defra, 2017) (C) Biakan jamur *Gloeosporium* sp. umur 9 his pada media PDA

Mikroskopis. Menurut Alexopolus dan Mims (1979), ciri mikroskopis dari *Gloeosporium* sp (Gambar 9A). adalah konidia berbentuk basil dan tersebar banyak di sekitar hifa. Konidiana bersekat antara dua sampai tiga sel, hifa hialin dan bersekat, terbentuk tunggal pada ujung-ujung konidiofor, konidiofor pendek, tidak berwarna, tidak bercabang, tidak bersekat (Gambar 9B).



Gambar 9. *Gloeosporium* sp. (A) Mikroskopis *Gloeosporium* sp. (B) Hifa dan Konidia *Gloeosporium* sp.

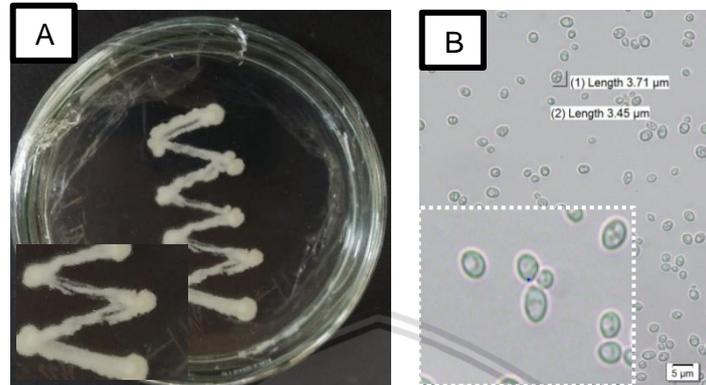
4.1.2 Hasil Identifikasi Agen Antagonis *Saccharomyces cerevisiae*

Makroskopis. Pengamatan karakter makroskopis dilihat berdasarkan kenampakan koloni yang tumbuh pada media padat (*Potato Dextrose Agar*). Pengamatan karakter makroskopis menurut Rahmana (2016), dilihat berdasarkan kenampakan koloni yang tumbuh pada media yang meliputi; warna koloni, bentuk tepi koloni, elevasi, permukaan koloni dan tekstur koloni.

Hasil pengamatan yang didapat yaitu khamir *S.cerevisiae* memiliki koloni berwarna putih kekuningan, permukaan berkilau, tekstur lunak dan memiliki sel bulat (Gambar 10A). Lodder (1970), Barnett et al. (2000) dalam Ahmad (2005) menjelaskan bentuk makroskopis *S. cerevisiae* mempunyai koloni berbentuk bulat, warna putih, krim abu-abu hingga kecokelatan, permukaan koloni berkilau sampai kusam, licin, dengan tekstur lunak. Ciri-ciri *S.cerevisiae* menurut Muhibuddin, A. et al (2016) yaitu memiliki ciri bentuk circular, elevasi convex, koloni berwarna cream dan permukaan *smooth shiny*.

Mikroskopis. Sel khamir yang termasuk jenis *S.cerevisiae* berbentuk bulat, oval atau memanjang dan dapat membentuk pseudomiselium. Sel *S. cerevisiae* berukuran $(3-10) \times (4,5-21) \mu\text{m}$ (Gambar 10B). Reproduksi *S. cerevisiae* dilakukan dengan membentuk tunas dan spora seksual (Fardiaz, 1992; Jutono dkk., 1980). Menurut Martinez (2004), *S.cerevisiae* merupakan organisme uniseluler yang memiliki sifat fisiologis antara lain bersifat fluktuatif anaerob, tidak memiliki miselium

sel, sel berbentuk oval atau bulat, diameter sel berkisar 5-10 μ m, dinding sel tersusun atas β -1,6 glukukan dan mannan dan bereproduksi secara pertunasan (*budding*). Muhibuddin, A. *et al* (2016) mendeskripsikan bahwa sel khamir *S. cerevisiae* memiliki ciri sel berbentuk bulat, oval dan multilateral budding.



Gambar 10. *Saccharomyces cerevisiae*. (A) koloni murni khamir umur 4 hsi pada media PDA, (B) koloni sel khamir di bawah mikroskop,

4.2 Hasil Pengujian beberapa Media sebagai Perkembangbiakan *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae dapat berkembangbiak dalam gula sederhana seperti glukosa, maupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Khamir ini merupakan mikroba yang umum digunakan dalam fermentasi yang banyak terdapat dalam ragi pasar (Dwidjoseputro, 2004). Khamir mempunyai keadaan lingkungan tempat hidup yang spesifik. Kisaran suhu optimal untuk kebanyakan khamir sama dengan kapang, yaitu pada 25-30 °C. Khamir lebih menyukai tumbuh pada keadaan asam, yaitu pada pH 4-5, dan tidak dapat tumbuh dengan baik pada medium alkali, kecuali jika telah beradaptasi. Khamir tumbuh dengan baik pada kondisi aerobik, tetapi yang bersifat fermentatif dapat tumbuh secara anaerobik meskipun lambat. *S. cerevisiae* merupakan organisme yang bersifat fermentatif, yaitu *S. cerevisiae* dapat melakukan proses fermentasi alkohol dengan memecah gula (glukosa) menjadi alkohol dan gas (Ivanesthi, 2016). Selain itu, *S. cerevisiae* merupakan organisme fakultatif anaerob yang dapat menggunakan baik sistem aerob maupun anaerob untuk memperoleh energi dari pemecahan glukosa. *S. cerevisiae* dapat menghasilkan alkohol dalam jumlah yang besar (Elevri & Putra, 2006). Menurut Muhibuddin (2011), beberapa spesies *Saccharomyces* mampu memproduksi etanol hingga 13.01 %.

Perkembangbiakan dilakukan di botol di atas orbital shaker (Gambar 11), Hal ini dilakukan untuk memenuhi kebutuhan oksigen bagi pertumbuhan

S.cerevisiae. Semakin tinggi kecepatan pengadukan, semakin besar kadar oksigen yang terlarut dalam medium dan nutrisi yang terkandung semakin homogeny. Perkembangbiakan *S. cerevisiae* dilakukan dengan 5 perlakuan dan 3 kali ulangan selama 96 jam. Nutrisi yang terkandung dalam air kelapa, mampu memenuhi syarat perkembangbiakan *S.cerevisiae*. Hal ini dapat dilihat hasil data dibawah ini terkait kerapatan jumlah *S.cerevisiae*, pH, dan suhu.



Gambar 11. Perbanyakkan *S. cerevisiae* pada orbital shaker

4.2.1 Hasil Pengukuran pH

Berdasarkan rata-rata pengukuran pH yang telah dilakukan, diketahui bahwa nilai pH memiliki perbedaan dimasing-masing perlakuan. Nilai pH yang tertinggi yaitu pada perlakuan P4 (kelapa gading tua). Hasil pengukuran pH pada semua perlakuan antara 4,03-5,02 atau dapat digolongkan bahwa pH dalam keadaan asam (Tabel 4). Nilai pH tersebut masih berada dalam batas normal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* yaitu 2,5-8,5, sehingga perubahan pH pada semua perlakuan tidak menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*.

Hal ini sejalan dengan pendapat Ristiati (2000), Bila mikroba dikultivasi dalam suatu 18 medium yang mula-mula pH nya 7 maka kemungkinan pH ini akan berubah sebagai akibat adanya senyawa-senyawa asam atau basa yang dihasilkan selama pertumbuhannya. Ini membuktikan bahwa terdapat pertumbuhan *S. cerevisiae* dalam medium air kelapa. Khamir yang menggunakan gula sebagai substrat melalui proses fermentasi menghasilkan asam dalam hal ini adalah etanol, etanol inilah yang menyebabkan perubahan pH medium sehingga pH medium setelah inkubasi turun jauh lebih bersifat asam.

Pada media pertumbuhan, pH mempunyai peranan yang penting karena merupakan syarat tumbuh dari khamir. Pada media P4 merupakan media yang memiliki nilai pH tertinggi, hal ini disebabkan sumber karbon dalam medium mulai tidak mencukupi sehingga terjadi pembongkaran protein dalam medium untuk

aktivitas metabolismenya. Proses metabolisme tersebut akan menghasilkan metabolit-metabolit hasil degradasi protein seperti urea dan ion-ion amonium yang dapat menyebabkan kenaikan pH (Kuswardani dan Wijajaseputra, 1998).

Tabel 4 . pH beberapa media setela diinkubasi dalam perbanyakkan *S.cerevisiae*

Perlakuan	Nilai pH / Jam setelah inkubasi			
	24	48	72	96
P1 (kelapa hijau muda)	4,32	4,32	4,29	4,26
P2 (kelapa hijau tua)	4,54	4,51	4,52	4,51
P3 (kelapa gading muda)	4,52	4,53	4,55	4,58
P4 (kelapa gading tua)	4,74	4,74	4,91	5,02
P5 (YMB)	4,03	4,04	351	3,62

4.2.2 Hasil Pengukuran Suhu

Berdasarkan rata-rata pengukuran suhu (Tabel 5) yang telah dilakukan, diketahui bahwa suhu diawal pertumbuhan suhu naik dan kemudian stagnan. Pada waktu terjadi kenaikan panas, karena terjadi reaksi eksoterm. Menurut Fosith (1963), *S. cerevisiae* mempunyai suhu optimal untuk pertumbuhan mikroba. Suhu dibawah minimal dan diatas maksimal dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga tidak dapat tumbuh. Sebagian besar *S. cerevisiae* umumnya tumbuh baik pada kisaran suhu 25-46°C. Maka rata-rata suhu yang didapat yaitu antara 28-29,6 °C tidak menyebabkan pertumbuhan *S.cerevisiae* terhambat.

Tabel 5 . Suhu beberapa media setelah inkubasi dalam perbanyakkan *S.cerevisiae*

Perlakuan	Nilai Suhu (°C) / Jam			
	24	48	72	96
P1 (kelapa hijau muda)	28,5	29,5	29,5	28,4
P2 (kelapa hijau tua)	28,6	29,4	29,3	28,5
P3 (kelapa gading muda)	28,6	29,6	29,5	28,5
P4 (kelapa gading tua)	28,5	29,4	29,4	28,5
P5 (YMB)	28,3	28	28,4	28,6

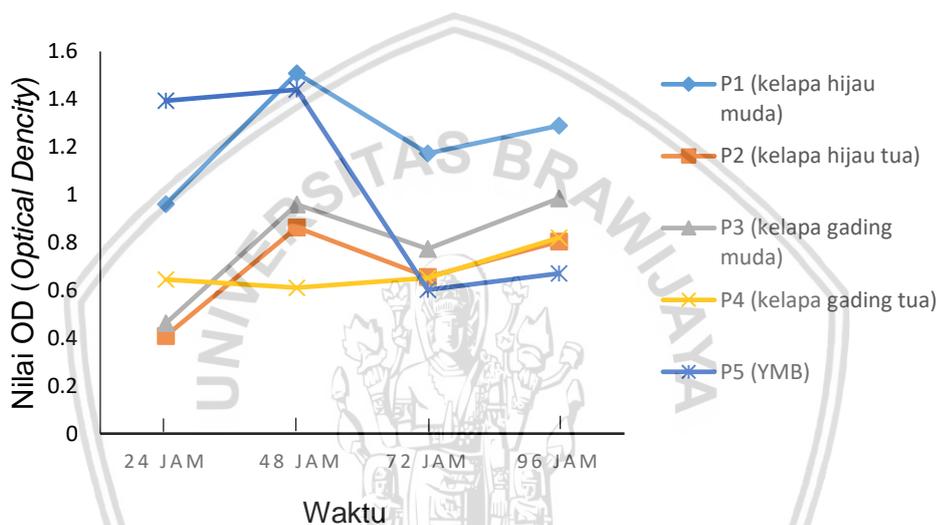
4.2.3 Hasil Kerapatan Sel *Saccharomyces cerevisiae*

Kerapatan sel *S. cerevisiae* dihitung dengan Spektrofotometer setiap 24 jam sekali. Berdasarkan analisis varian (Tabel 6), dapat diketahui bahwa perbedaan jenis air kelapa, yaitu media air kelapa hijau muda, air kelapa hijau tua, air kelapa gading muda, air kelapa gading tua dan media YMB menunjukkan adanya beda nyata terhadap jumlah koloni *S. cereviceae*.

Tabel 6 . Nilai kerapatan sel *S. cerevisiae* pada beberapa media setelah inkubasi dalam perbanyakan *S. cerevisiae*

Perlakuan Jamur	Nilai OD (<i>Optical Density</i>) / Jam			
	24	48	72	96
P1 (kelapa hijau muda)	0,961 ab	1,509 c	1,173 c	1,289 d
P2 (kelapa hijau tua)	0,409 a	0,863 ab	0,656 ab	0,804 b
P3 (kelapa gading muda)	0,462 a	0,959 b	0,773 b	0,985 c
P4 (kelapa gading tua)	0,645 a	0,611 a	0,652 a	0,82 b
P5 (YMB)	1,394 b	1,440 c	0,602 a	0,671 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbedanya nyata pada uji BNT 5%



Gambar 12. Grafik Nilai kerapatan sel *S. cerevisiae* pada beberapa media selama 96 jam

Rerata kerapatan sel tertinggi pada perlakuan media air kelapa muda hijau (P1) yaitu 1,509 pada waktu perbanyakan 48 jam. Sedangkan kerapatan sel terendah yaitu pada perlakuan kelapa hijau tua (P2) pada waktu 24 jam (Gambar 12). Hal ini berkaitan dengan kandungan air kelapa yang terdapat dalam media, Chamisjatin (1996), mengungkapkan air kelapa mengandung gula maksimum 5% (rata-rata 2%), yang terdiri dari sukrosa, glukosa, dan fruktosa. Gula-gula tersebut dibutuhkan sel untuk berkembangbiak. Hal ini sejalan dengan Rahayu (1983), bahwa *S. cereviceae* menggunakan gula-gula sederhana seperti glukosa, maltosa, sukrosa, fruktosa sebagai substrat pembentuk alkohol. Kandungan-kandungan yang terdapat dalam air kelapa terutama gula digunakan untuk pertumbuhan sel melalui proses fermentasi, semakin tinggi konsentrasi air kelapa makin tinggi pula jumlah nutrient yang diperlukan sel. Menurut Warisno (2004), Air kelapa muda memiliki kandungan gula maksimum 3 gram per 100 ml. Jenis gula yang

terkandung adalah sukrosa, glukosa, fruktosa dan sorbitol. Gula-gula inilah yang menyebabkan air kelapa muda lebih manis dari air kelapa yang lebih tua. Air kelapa muda bila diminum segar, rasanya manis karena mengandung total gula 5,6%. Kandungan gizi yang terdapat pada air kelapa muda adalah protein, lemak, karbohidrat, gula, vitamin, elektrolit, dan hormon pertumbuhan. Sehingga perlakuan P1 dengan media air kelapa muda memperlihatkan kerapatan yang paling tinggi.

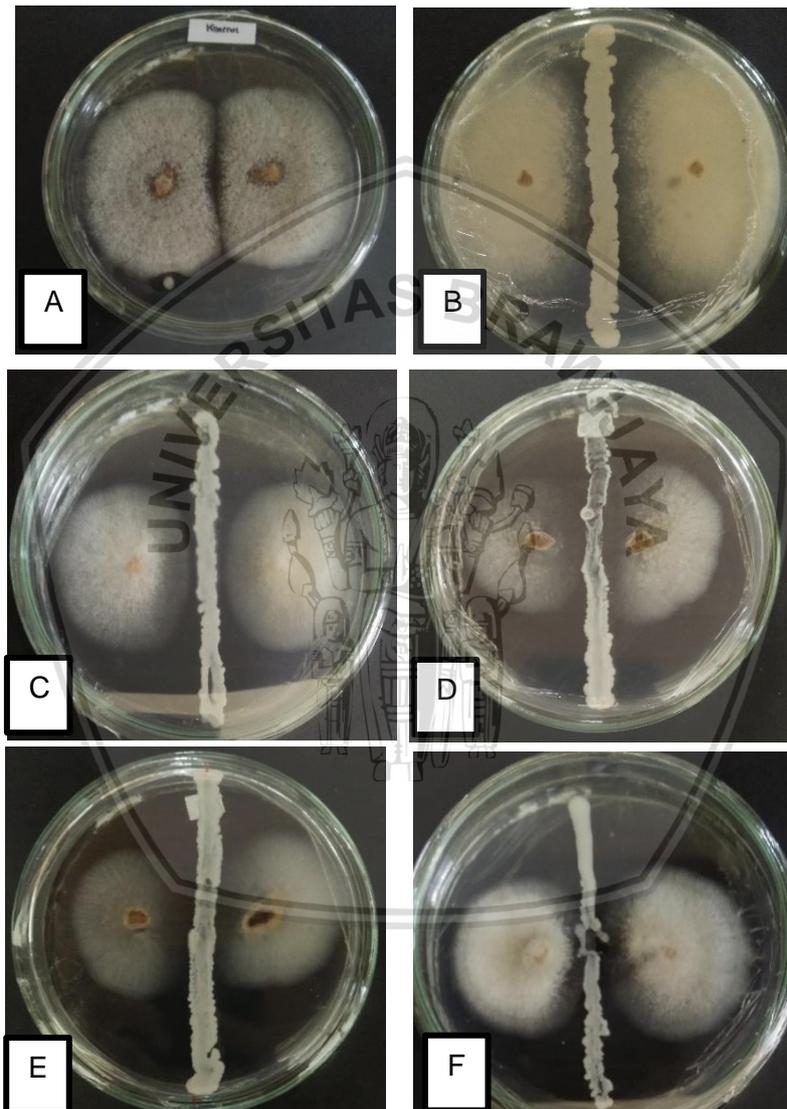
Selama pembiakan 48 jam, *S.cerevisiae* mengalami pertumbuhan yang cepat karena nutrient yang terkandung dalam medium tersedia dalam jumlah yang berlebih untuk dimanfaatkan *S. cerevisiae* bagi pertumbuhannya. *S. cerevisiae* memanfaatkan protein, karbon, dan mineral dalam medium sebagai substrat metabolisme untuk sintesis komponen sel. Protein, karbon, dan mineral tersebut dapat diperoleh dari ekstrak khamir, pepton, dekstrosa, dan air kelapa. Menurut Machfud dkk. (1989), peningkatan jumlah sel dan massa sel menandai adanya pertumbuhan mikroorganisme. Kemudian menurut Fardiaz (1987), semakin tinggi kecepatan pertumbuhan semakin banyak jumlah massa sel.

Tidak adanya fase adaptasi (lag phase) pada hasil pertumbuhan dapat disebabkan karena perhitungan nilai OD pada sampel dilakukan pada tiap 24 jam sekali sehingga fase adaptasi tidak tampak pada kurva pertumbuhan atau terlewat. Menurut Rahmana (2016), tidak adanya fase lag pada pertumbuhan dapat disebabkan karena tidak adanya fase adaptasi yang dilakukan yeast, hal ini dikarenakan komposisi medium yang sama saat subkultur. Kemungkinan lain adalah bahwa isolat yeast telah melewati fase lag dan sedang berada pada fase log saat pengukuran OD sehingga tidak muncul fase lag pada grafik pertumbuhan kedua isolat yeast. Kemudian, pada pengamatan ke 96 jam terlihat bahwa terdapat titik dimana sel *S.cerevisiae* mengalami peningkatan kembali setelah memasuki fase stasioner. Hal ini mungkin diakibatkan karena terdapat unsur pada medium dari air kelapa yang belum dimanfaatkan oleh *S.cerevisiae*. *S.cerevisiae* umumnya cenderung menggunakan gula sederhana terlebih dahulu untuk pertumbuhannya (Lord, 1981).

4.3 Kemampuan Antagonis *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Patogen *Gloeosporium sp.*

Uji antagonis dilakukan untuk mengetahui daya hambat khamir *S.cerevisiae* terhadap patogen *Gloeosporium sp.* Hasil dari uji antagonis (Gambar 13)

menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan patogen oleh khamir. Pengamatan pertumbuhan *Gloeosporium sp.* dilakukan sejak inkubasi hari keempat sampai hari kesepuluh. Pada hari pertama sampai hari ketiga, belum terjadi mekanisme penghambatan antar keduanya dimana masing-masing tumbuh tanpa saling mempengaruhi karena jarak tumbuh kedua biakan tersebut cukup lebar yakni 3cm, selain itu *Gloeosporium sp.* juga termasuk jamur yang pertumbuhannya lambat



Gambar 13. Uji antagonis *S.cerevisiae* dengan patogen *Gloeosporium sp.* (A) perlakuan kontrol, (B) Perlakuan *S. cerevisiae* dari perbanyakan kelapa hijau muda, (C) Perlakuan *S. cerevisiae* dari perbanyakan kelapa hijau tua, (D) Perlakuan *S. cerevisiae* dari perbanyakan kelapa gading muda, (E) Perlakuan *S. cerevisiae* dari perbanyakan kelapa gading tua, (F) Perlakuan *S. cerevisiae* dari perbanyakan YMB.

Tabel 7. Rerata persentase hambatan *S. cerevisiae* terhadap pertumbuhan patogen *Gloeosporium* sp.

Perlakuan Jamur	Nilai rata-rata persentase hambatan (%)						
	4 HSI	5 HSI	6 HSI	7 HSI	8 HSI	9 HSI	10 HSI
Kontrol	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
P1 (kelapa hijau muda)	56,00 b	41,90 b	18,25 b	21,33 b	14,10 b	13,09 b	15,00 b
P2 (kelapa hijau tua)	56,00 b	49,52 b	44,44 c	40,66 c	33,33 c	27,97 c	22,22 b
P3 (kelapa gading muda)	69,33 b	63,81 b	51,58 c	42,00 c	36,54 c	30,35 c	25,55 b
P4 (kelapa gading tua)	49,33 b	48,57 b	42,85 c	40,00 c	32,05 c	30,35 c	28,33 b
P5 (YMB)	73,33 b	69,52 b	41,26 c	41,33 c	35,25 c	28,57 c	25,00 b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbedanya nyata pada uji BNT 5%

Tabel 7. menunjukkan bahwa khamir *S. cerevisiae* mampu menghambat pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. Penghambatan khamir *S. cerevisiae* terhadap pertumbuhan *Gloeosporium* sp. menurun dari hari ke-4 sampai hari ke-10.

Pengamatan dimulai pada hari ke 4, karena koloni jamur mulai tumbuh pada umur 4 HSI. Pada pengamatan hari ke 4, perlakuan P2 sampai P5 berada pada kolom yang sama hal ini menandakan bahwa perlakuan tersebut memiliki daya hambat yang berbeda tidak nyata atau berbeda tidak signifikan. Pada perlakuan P1 berada kolom yang berbeda sehingga memiliki daya hambat yang berbeda nyata atau berbeda signifikan.

Penghambatan pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. ditandai dengan ketidakmampuan koloni jamur untuk tumbuh dengan baik pada seluruh bagian media jika ditumbuhkan bersama dengan *S.cerevisiae*. Pengamatan ditentukan sampai hari kesepuluh dikarenakan pada hari kesepuluh koloni jamur *Gloeosporium* sp. perlakuan kontrol sudah memenuhi cawan petri. Efek *S.cerevisiae* terhadap penghambatan pertumbuhan *Gloeosporium* sp. ditunjukkan dengan berkurangnya luas koloni jamur *Gloeosporium* sp. Hal ini disebabkan oleh terjadinya lisis dari hifa jamur *Gloeosporium* sp. atau adanya rambatan senyawa antibiotik yang dihasilkan *S. cerevisiae* sehingga menyebabkan terjadinya penekanan pada pertumbuhan *Gloeosporium* sp.

S. cerevisiae menghasilkan etanol, enzim β -1,3-glucanase, chitinase, peroxidase, ethyl acetate, senyawa volatile yang bersifat anti jamur, toksin dan antibiotik (El Ghaouth *et al.*, 2003; Rojas *et al.*, 2001; Saksena *et al.*, 1987; 52

Ippolito et al., 2000; Wilson dan Wisniewski, 1994). Enzim β -1,3-glukanase dan kitinase yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae* merupakan enzim yang berfungsi sebagai enzim pendegradasi masing-masing kitin dan glukukan yang terdapat dalam dinding sel jamur patogen sehingga menyebabkan lisisnya dinding sel. Produksi enzim pengurai dinding sel oleh antagonis akan mendorong secara beruntun dalam parasitisme dan antibiosis. Enzim kitinase berperan penting dalam kontrol fungsi patogen tanaman secara mikoparasitisme (Nugroho et al, 2003).

Passoth dan Schnurer (2003) menyatakan bahwa mekanisme penghambatan agen hayati *S. cerevisiae* dalam menekan pertumbuhan patogen adalah melalui mekanisme mikoparasitisme. Mikoparasitisme ditunjukkan dengan melekatnya sel *S. cerevisiae* secara kuat pada miselium jamur (Wisniewski et al, 1991). Pada tahap pelekatan ini, laju penetrasi akan melubangi dinding sel atau dengan memecah dinding sel yang diimbangi oleh kitinase, enzim lisis dan enzim β -1,3-glukanase yang dihasilkan oleh *S. cerevisiae*. Namun, pada hasil percobaan antagonis antara *S. cerevisiae* dengan patogen *Gloeosporium* sp. menghasilkan mekanisme interaksi antibiosis, karena membentuk zona bening dan tidak ada salah satu yang terparasit. Menurut Dickinson dalam Amarai et al. (2015), mekanisme interaksi jamur patogen dan jamur antagonis disebut antibiosis apabila terbentuk zona bening diantara jamur patogen dengan jamur antagonis, terdapat perubahan bentuk hifa patogen, dan dihasilkan pigmen dipermukaan bawah koloni jamur antagonis.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Identifikasi agen antagonis *S. cerevisiae* yang didapatkan dari koleksi Lab. FTP benar dan patogen *Gloeosporium* sp. berhasil diisolasi dari buah apel yang terserang penyakit busuk buah.
2. Perkembangbiakan khamir *S. cerevisiae* tumbuh terbaik pada media P1 (kelapa hijau muda) dan waktu optimal untuk perkembangbiakan *S. cerevisiae* di beberapa media yaitu pada lama inkubasi 48 jam. Semakin lama waktu yang digunakan untuk perkembangbiakan maka perkembangbiakan *S. cerevisiae* akan semakin menurun karena *S. cerevisiae* sudah mencapai pada fase kematian.
3. Inokulasi agen antagonis *S. cerevisiae* mampu menekan pertumbuhan penyakit *Gloeosporium* sp. dengan rata-rata besarnya penghambatan yaitu sebesar 22,62%. Mekanisme penghambatan *S. cerevisiae* terhadap *Gloeosporium* sp. yaitu antibiosis.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efektivitas khamir *Saccharomyces cerevisiae* dalam menekan ancaman penyakit *Gloeosporium* sp. pada skala lapang.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriyeni, Yenita, *et al.* 2013. Jenis-Jenis Jamur pada Pembusukan Buah Kakao (*Theobroma cacao*, L.) di Sumatera Barat. Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIPA Universitas Andalas. Padang. Jurnal Biologi Universitas Andalas (J. Bio. UA.) 2(2) – Juni 2013 : 124-129 (ISSN : 2303-2162)
- Agrios, G.N. 1996. Ilmu Penyakit Tumbuhan (Terjemahan Munzir Busnia). Gadjah Mada University Press.
- Ahmad, R. Zainuddin. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* Untuk Ternak. Balai Penelitian Veteriner. Bogor 16114.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. 2008. Molecular biology of the cell. Fifth ed. New York: Garland Science
- Algiansyah. 2008. Kemampuan Ekstrak Dedaunan Berpotensi Antioksidan untuk Memodulasi Apoptosis pada Sel Khamir. Skripsi. Institut Pertanian Bogor
- Alexopoulos, C.J. Mims, C.W. 1979. Introductory Mycology. Third Edition. John Wiley & Sons, Inc. USA. hal. 561.
- Astawan, Made dan Andreas Leomiro Kasih. 2008. Khasiat Warna-Warni Makanan. Jakarta: Gramedia., 2009).
- Badan Pusat Statistik Kota Batu. 2015. Dokumen Hasil Potensi Desa di Kota Batu Tahun 2015. Batu : Kantor BPS Kota Batu.
- Barnett, H.L. & Hunter, B.B. (2000). Illustrated Genera Of Imperfect Fungi (Third Edition). Minneapolis, Minnesota : Burges Publishing Company.
- Benyagoub, M., Rhlid, R.B. and Belanger, R.R. 1996. Purification And Characterisation Of New Fatty Acids With Antibiotic Activity Produced By *Sporothrix Flocculosa*. J.Cem.Ecol.22:405-413.
- BPS dan Direktorat Jenderal Hortikultura. 2014. *Produksi sayuran di Indonesia*, hlm 3
- Chamisijatin, Lise. 1996. Pengaruh Tambahan Kedelai dan Macam Zat Pengawet terhadap Mutu Kecap Air Kelapa. Malang: Program Pasca Sarjana
- Czerucka, D., Rampal, P. (2002). Experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens. *Microbes and Infection*, 4, 733–739.
- Departement Resources. 2017. Yeast & Mold *Candida intermedia*. University of California, Davis campus
- Dickinson. C. H. 1976. Fungi on the Aerial Surface of Higher Plants. Di dalam : *Micrology of Phyllosphere*. Dickinson CH & Preece TF (eds.). Cambridge University Press. Cambridge. hlm. 77-100.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. (1981). Daftar Komposisi Bahan Makanan: Jakarta

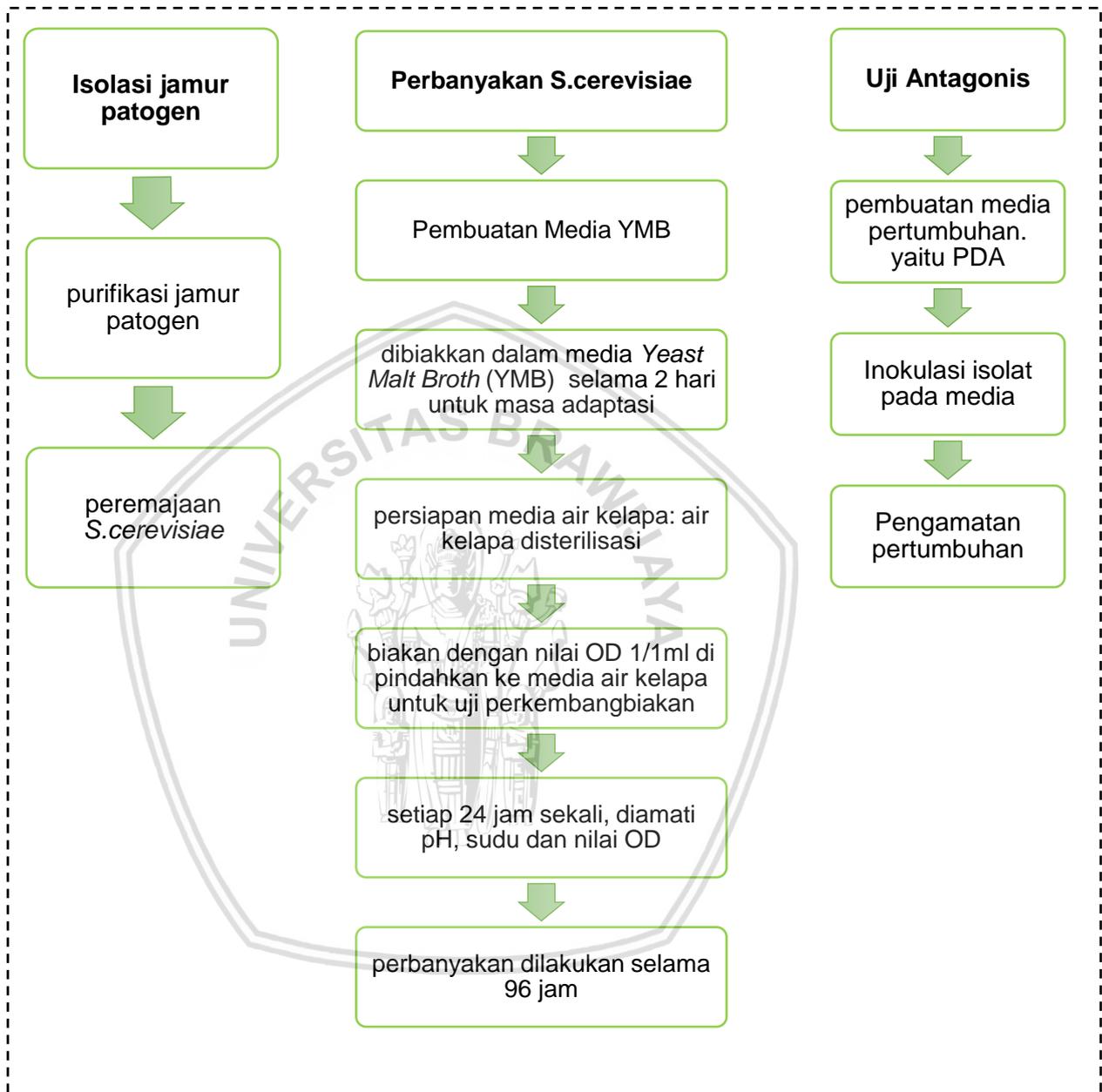
- Djas. F., 1980. Classification of Fungi and Specific Characteristic of Each Class, Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera Utara, Medan hal 29.
- Dwidjoseputro, D.2005. *Pengantar Mikologi*. Penerbit Alumni. Bogor
- Elevri, P.S & Putra, S.R. (2006). Produksi Etanol Menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang Dimobilisasi dengan Agar Batang. *Jurnal Akta Kimindo*, Vol 1(2), Halaman 105-114
- El Ghouth, A., Wilson, C.L & Wisniewski, M. 2003. Control Of Postharvest Decay Of Apple Fruit With *Candida Saitoana* And Induction Of Defense Responses. *Phytopathology* 93, 344-348.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Fitriati, Yuli. 2012. Penggunaan Khamir Antagonis untuk Pengendalian Penyakit Antraknosa pada Buah Avokad selama Penyimpanan. Skripsi. Bogor. Intitut Pertanian Bogor
- Forsith, W.G.C V.C, Quesnel. 1963. *Mechanisme of Cacao Cuning Advence in Enzimologist*. New York: Mc Graw Hill Book Co.
- Gandjar, Indrawati. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Hadiwiyono. 1999. Jamur Akar Gada (*Plasmodiphora brassicae* Wor.) pada Cruciferae: Uji Toleransi Inang dan Pengendaliannya secara Hayati dengan *Trichoderma*. Universitas Jenderal Soedirman: hlm 365-37
- Haggag. W. M., dan Mohammed, H. A. A. 2007. Biotechnological aspects of microorganism used in plant biological control. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture* 1 (1):7:12.
- Hashem, M., S. Alamri. 2009. The biocontrol of postharvest disease (*Botryodiplodia theobromae*) of guava (*Psidium guajava*) by the application of yeast strains. *Postharvest Biol. Technol.* 53: 123-130
- Indratmi, Dian. 2012. Pengembangan Teknologi Produksi Khamir *Rhodotorula* Sp. sebagai Agensia Pengendali Hayati Penyakit Antraknosa pada Cabai. Malang. *Jurnal Gamma*, ISSN: 2086-3071 Volume 7, Nomor 2, Maret 2012 : 14 - 22
- Ivanesthi, Indria Rizqita, Sri Nurhatika, Anton Muhibuddin. 2016. Potensi Fermentasi Etanol Isolat Yeast Tanah yang Diisolasi dari Kabupaten Jember. Surabaya: *Jurnal Sains dan Seni*. Vol. 5, No. 2,(2016)
- Johnson, L.F., E.A. Curl, J.H. Bond And H.A. Fribourg. 1959. *Methods for Studying Soil Microflora-Plant Disease Relationship*. Burgess Publishing Co., Minneapolis.
- Kasmidjo. 1991. *Bahan Ajaran Penanganan Limbah Pertanian, Perkebunan dan Industri Pangan*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM

- Kurniasih, Ria, Syamsuddin Djauhari, Anton Muhibuddin dan Edi Priyo Utomo. 2014. Pengaruh Sitronelal Serai Wangi (*Cymbopogon winterianus* Linn) terhadap Penekanan Serangan *Colletotrichum* sp. pada Tanaman Bawang Daun. Malang: Jurnal HPT Vol. 2 No. 4
- Kusnadi, dkk 2003. Mikrobiologi, Common Textbook (edisi revisi) Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Kuswardani, I dan A. I. Wijajaseputra. 1998. Produksi Protein Sel Tunggal *Phanerochaete chrysosporium* pada media limbah cair tahu yang diperkaya: kajian optimasi waktu panen. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi. 604-613.
- Lord, P.G, And A. E. Wheals. 1981. Variability In Individual Cell Cycles Of *Saccharomyces Cerevisiae*. *J. Cell Sci.* 50, 361-376 (1981) 36.
- Muhibuddin, A., L. Addina., A. L. Abadi., dan A. Ahmad. 2011. Biodiversity of soil fungi on integrated pest management farming system. *Agrivita* Vol. 33, No. 22: 111-118.
- Muhibuddin, A., Sari, D.Y.R., dan Saputro, T.B. 2016. Uji Potensi Fermentasi Etanol Yeast Tanah yang Diisolasi dari Metode Budidaya SDN di Daerah Batu, Jawa Timur. *Jurnal Sains dan Seni ITS* Vol.5, No.2(2016) 2337-3520
- Nunes, CA 2012, 'Biological control of postharvest diseases of fruit', *Eur. J. Plant Pathol.*, vol. 133, pp. 181-96.
- Oey, Kam Bio, 1992. Pengantar Mikrobiologi Umum. Bandung. Penerbit Angkasa
- Palungkun, Rony. 1992. Aneka Produk Tanaman Kelapa. Penebar Swadaya. Jakarta. 118 Hal.
- Purwitasari, Erna, et al. 2004. Pengaruh Media Tumbuh terhadap Kadar Protein *Sacchomyces cerevisiae* dalam pembuatan Protein Sel Tunggal. *Surakarta: Jurnal Bioteknologi* 1 (2):37-42
- Pasaribu, Ernita Lovera Pratiwi, Ika Rochdjatun Sastrahidayat, Anton Muhibuddin. 2016. Eksplorasi Jamur Filopane pada Tanaman Seledri (*Aphium graveolens*) dan Uji Kemampuan Antagonisnya terhadap Penyakit Antraknosa (*Colletotrichum* sp.) Malang: Jurnal HPT Vol. 4 No. 1
- Passoth, V & Schnurer, J.2003. *Function Genetics Of Industrial Yeasts* (Ed, de Winde, H). Springer Verlag Berlin, Heidelberg, pp. 297-330.
- Pawirosoemardjo, S., H. Soepena dan A. Situmorang. 1998. Sebaran penyakit utama tanaman karet di Indonesia. Lok. Nas. Pemuliaan Tanaman Karet. P3 Sungei Putih dan P4 Tanjung Morawa, Medan
- Rahmana, Sabrina FIRRAR, Sri Nurhatika dan Anton Muhibuddin. 2016. Uji Potensi Fermentasi Etanol Beberapa Yeast yang Diisolasi dari Daerah Malang Jawa Timur dengan Metode SDN (Soil Drive Nutrient). *Surabaya: Jurnal Sains dan Seni*. Vol. 5, No. 2, (2016)

- Rauf, Dewi. 2003 Pengaruh Lama Perendaman Dengan Air Kelapa Terhadap Perkecambahan Kacang Tanah. Skripsi.: IKIP Gorontalo
- Ristiati, Ni Putu. (2000). Pengantar mikrobiologi umum: Proyek pengembangan guru sekolah menengah IBRD Loan No. 3979. Direktorat Jenderal Tinggi Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta
- Rosa-Magri MM, Tauk-Tornisielo SM, Ceccato-Antonini SR. 2011. Bioprospection of yeast as biocontrol agent against phytopathogenic molds. *Braz Arch Biol Technol.* 54(1):1-5
- Saha, A., Mandal, P., Dasgupta, S., Saha, D. 2008. Influence of Culture Media and Environmental Factors on Mycelia Growth and Sporulation of *Lasiopodia theobromae* (Pat.) Griffon and Maubl. *Journal of Enviromental Biology*, 29(3):407-410.
- Sa'adah, Lailufary.I.N. 2015. Karakterisasi Minuman Sari Apel Produksi Skala Mikro dan Kecil Di Kota Batu: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No 2 p.374-380
- Semangun H. 1989. *Penyaki-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Yogyakarta: UGM Press.
- Shofiana, R, H., Singh, D., Sulistyowati L. dan Muhibuddin, A. 2015. Eksplorasi Jamur Endofit dan khamir pada tanaman cengkeh (*syzgium aromaticum*) serta uji potensi antagonismenya terhadap jamur akar putih (*Rigidopus microporus*). 3 (1):75-83
- Soesanto, Lukas. 2008. Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman. Jakarta: PT. Rajawali Grafindo Persada.
- Soesanto, L. 2006. Penyakit Pasca penen Sebuah Penantar. Kanisius, Yogyakarta. 268hal.
- Suwahyono, Untung. 2009. Cara Membuat dan Petunjuk Penggunaan Biopestisida. Jakarta. Penerbit Swadaya
- Ukoha P.O, Egbuonu A. C. Cemaluk, Obasi L. Nnamdi and Ejikeme P. Madus. 2011. Tannins and other phytochemical of the *Samanea saman* pods and their antimicrobial activities. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* Vol. 5(8), pp. 237-244.
- Widyastuti, dkk. 1997. Air Kelapa dan Manfaatnya pada Perbanyakan Mikro Bibit Krisan (*Chrysanthemum Morifolium* RAMAT). Majalah BPP Teknologi, Tangerang: Serpong.
- Yarrow, D. 1984. *The Yeast. A Taxonomic Studi*. 3rd ed. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Penelitian



Lampiran 2. Jari-jari pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. pada media
PDA

Tabel 8. Jari-jari pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. pada media PDA

Perlakuan- Ulangan	Jari-jari <i>Gloeosporium</i> sp. (cm) hari ke-													
	4		5		6		7		8		9		10	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
P1U1	0.5	0.5	1	1	1.6	1	2	1.3	2.3	1.5	2.4	2.2	2.5	2.5
P1U2	0.2	0.6	0.4	1.2	2	2	2	2	2.3	2.3	2.4	2.4	2.5	2.5
P1U3	0.5	1	1	1.5	1.7	2	2.5	2	2.6	2.4	2.7	2.5	2.7	2.6
P2U1	0.6	0.5	1	1	1.4	1.2	1.7	1.5	2	1.8	2.3	2	2.5	2.3
P2U2	0.7	0.7	1	1	1.2	1	1.4	1.3	1.7	1.5	2	1.8	2.3	2.2
P2U3	0.7	0.1	1	0.3	1	1.2	1.5	1.5	1.7	1.7	2	2	2.3	2.4
P3U1	0.7	0.1	1	0.3	1.2	0.5	1.5	1.2	1.6	1.5	1.9	1.8	2.2	2.2
P3U2	0.1	0.7	0.2	1	0.5	1.2	1.2	1.5	1.4	1.7	1.6	1.9	1.9	2.1
P3U3	0.2	0.5	0.3	1	1.5	1.2	1.7	1.6	1.9	1.8	2.3	2.2	2.5	2.5
P4U1	0.7	0.2	1	0.4	1.4	1	1.7	1.5	2	1.8	2.3	2	2.5	2.3
P4U2	1	1	1.3	1.3	1.5	1.3	1.7	1.6	2	1.9	1.3	2.1	1.8	2.3
P4U3	0.2	0.7	0.4	1	1	1	1.3	1.2	1.5	1.4	1.8	1.7	2	2
P5U1	0.2	0.1	0.4	0.2	1.4	1.4	1.5	1.5	1.7	1.7	2	2	2.3	2.3
P5U2	0.7	0.7	1	1	1	1.4	1.4	1.6	1.6	1.9	1.9	2.3	2	2.5
P5U3	0.1	0.2	0.2	0.4	1	1.2	1.3	1.5	1.5	1.7	1.8	2	2	2.4

Lampiran 3. Persentase hambatan khamir terhadap jamur *Gloeosporium* sp.Tabel 9. Persentase hambatan khamir terhadap jamur *Gloeosporium* sp.

Perlakuan	Ulangan	Persentase penghambatan (%) hari ke-						
		4	5	6	7	8	9	10
P1U1	1	60	42.86	38.09	34	26.92	17.85	16.66
P1U2	2	68	54.29	4.76	20	11.53	14.28	16.66
P1U3	3	40	28.57	11.90	10	3.84	7.14	11.66
Rata-rata		56	41.90	18.25	21.33	14.09	13.09	14.82
P2U1	1	56	42.86	38.09	36	26.92	23.21	20
P2U2	2	44	42.86	47.61	46	38.46	32.14	25
P2U3	3	68	62.86	47.61	40	37.61	28.57	21.66
Rata-rata		56	49.52	44.43	40.66	34.33	27.97	22.22
P3U1	1	68	62.86	59.52	46	40.38	33.92	26.66
P3U2	2	68	65.71	59.52	46	40.38	37.5	33.33
P3U3	3	72	62.86	35.71	34	28.84	19.64	16.66
Rata-rata		69.33	63.81	51.58	42	36.53	30.35	25.55
P4U1	1	64	60.00	42.85	36	26.92	23.21	20
P4U2	2	20	25.71	33.33	34	25	39.28	31.66
P4U3	3	64	60.00	52.38	50	44.23	37.5	33.33
Rata-rata		49.33	48.57	42.85	40	32.05	33.33	28.33
P5U1	1	88	82.86	33.33	40	34.61	28.57	23.33
P5U2	2	44	42.86	42.45	40	32.69	25	25
P5U3	3	88	82.86	47.61	44	38.46	32.14	26.66
Rata-rata		73.33	69.52	41.13	41.33	35.25	28.57	24.99

Lampiran 4. Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. hari ke 4

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Perlakuan	1222.4	4	305.6	0.927184	0.485934
Residual	3296	10	329.6		
Total	4518.4	14	322.7429		

Lampiran 5. Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. hari ke 5

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Perlakuan	1592.380952	4	398.0952	1.621951	0.24354
Residual	2454.421769	10	245.4422		
Total	4046.802721	14	289.0573		

Lampiran 6. Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. hari ke 6

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Perlakuan	1908.541194	4	477.1353	3.556338	0.047175
Residual	1341.64777	10	134.1648		
Total	3250.188964	14	232.1564		

Lampiran 7. Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. hari ke 7

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Perlakuan	934.9333333	4	233.7333	3.895556	0.036922 *
Residual	600	10	60		
Total	1534.933333	14	109.6381		

Lampiran 8. Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. hari ke 8

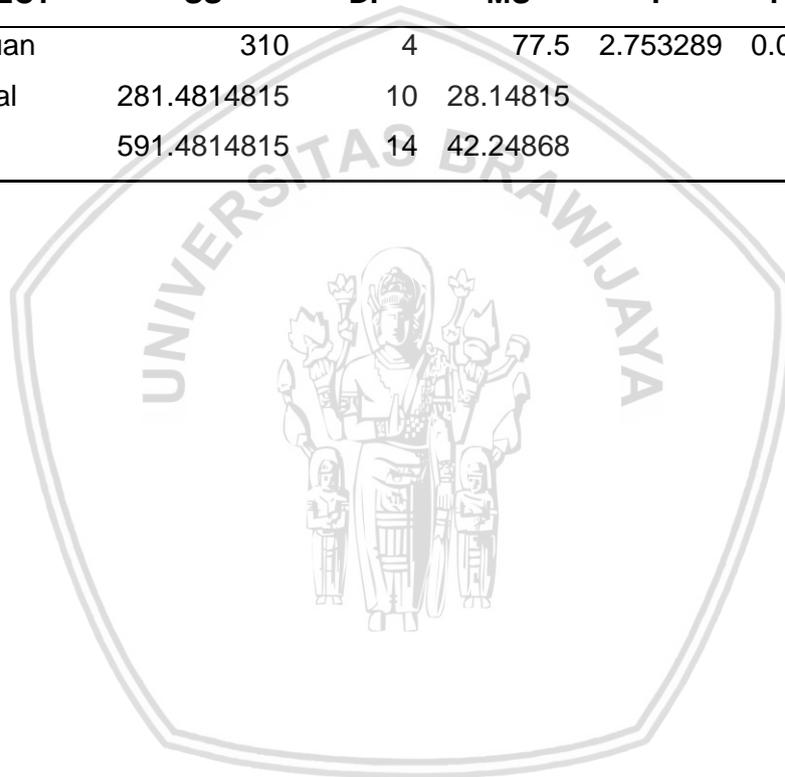
EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Perlakuan	1014.299803	4	253.575	3.75365	0.040853 *
Residual	675.5424063	10	67.55424		
Total	1689.842209	14	120.703		

Lampiran 9. Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. hari ke 9

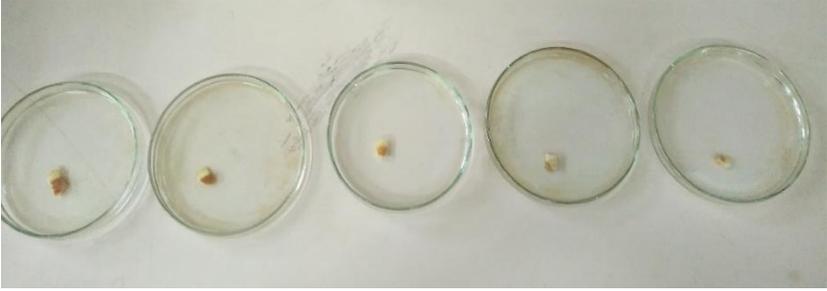
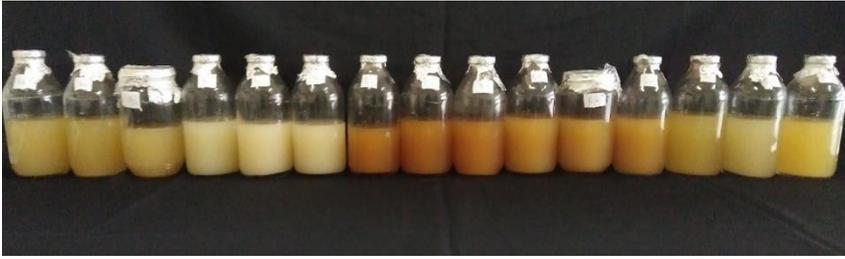
EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Perlakuan	742.7721088	4	185.693	4.043981	0.033281 *
Residual	459.1836735	10	45.91837		
Total	1201.955782	14	85.85398		

Lampiran 10. Hasil analisis ragam (ANOVA) persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan jamur *Gloeosporium* sp. hari ke 10

EFFECT	SS	DF	MS	F	ProbF
Perlakuan	310	4	77.5	2.753289	0.088372
Residual	281.4814815	10	28.14815		
Total	591.4814815	14	42.24868		



Lampiran 11. Dokumentasi penelitian

No.	Gambar	Keterangan
1.		Isolasi pathogen <i>Gloeosporium</i> sp.
2.		Perbanyakan <i>S.cerevisiae</i> pada media YMB
3.		Perbanyakan <i>S. cerevisiae</i> pada perlakuan shaker
4.		Perbanyakan <i>S.cerevisiae</i> pada media air kelapa dan YMB

5.		<p>Preparasi <i>S.cerevisiae</i> untuk dihitung nilai OD</p>
6.		<p>A. Kelapa gading muda B. Kelapa gading tua</p>
7.		<p>Spektrofotometer untuk mengetahui nilai OD</p>
8.		<p>pHmeter untuk menghitung nilai Ph</p>
9.		<p>Perbanyakkan <i>S. cerevisiae</i></p>

