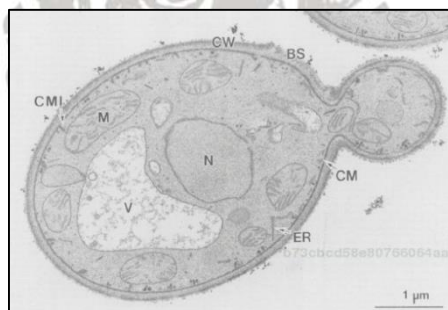


## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Khamir

#### 2.1.1 Deskripsi Khamir

Khamir merupakan mikroorganisme golongan fungi yang uniselular, bersifat eukariotik dan hidup sebagai saprofit ataupun parasit. Khamir memiliki sifat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan kapang. Khamir juga memiliki sifat tahan terhadap stres lingkungan (gula, garam dan asam berlebih) sehingga khamir dapat bertahan atau bersaing dengan mikroorganisme lain (Widiastutik dan Alami, 2014). Beberapa jenis khamir dapat bertahan hidup pada suhu 20-40°C, digolongkan sebagai khamir termotoleran (Babiker *et al.*, 2010). Khamir tidak mempunyai flagela atau organ lain untuk bergerak. Tubuh sel khamir terdiri atas dinding sel, membran sel, lipatan membran sel, tunas, mitokondria, nucleus, vakuola, dan reticulum endoplasma (Walker, 2011).



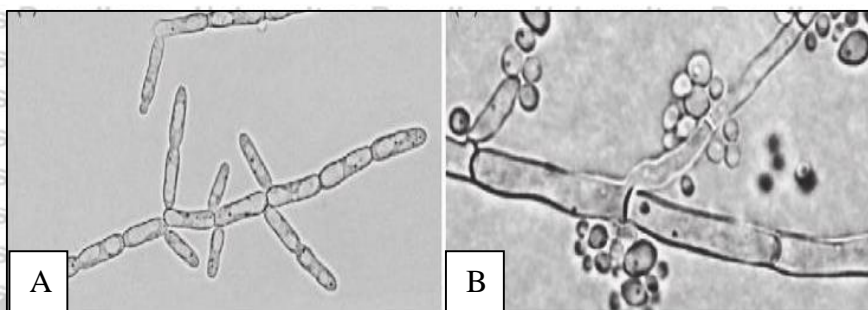
Gambar 1. Kenampakan Khamir Pada Mikroskop Elektron secara Membujur (Walker, 2011)

Perkembang biakan khamir ada dua, yaitu secara seksual dan aseksual. Khamir yang belum diketahui cara reproduksi seksualnya, digolongkan sebagai khamir yang berkembang biak secara aseksual, di antaranya berasal dari genus *Brettanomyces*, *Sporobolomyces*, *Bullera*, *Rhodotula*, *Kloeckera*, *Trigonopsis*, dan *Schizoblastosporium*. Sel baru dari khamir yang berkembang biak secara aseksual berasal dari perpanjangan hifa dan pseudohifa. Hifa merupakan perpanjangan sel atau rangkaian sel, filamen dari miselium, dan biasanya terdapat sekat yang membentuk lingkaran. Pseudohifa berbeda dengan hifa, bagian ini merupakan sel yang umumnya



mengalami pemanjangan, dihasilkan dari setiap tunas. Sel pseudohifa berikatan dengan sel induk, sehingga membentuk rantai dan membentuk cabang (Barnett, 2011).

Reproduksi khamir secara seksual terjadi karena adanya penggabungan askospora dengan nukleus atau dengan askospora lain, kemudian akan memperbanyak melalui pembelahan sel vegetatif (Schneiter, 2004).



Gambar 2. (A) Pseudohifa dan (B) Hifa (Kurtzman *et al.*, 2011)

### 2.1.2 Morfologi Khamir

Fardiaz (1992) dalam Kanti (2006) menjelaskan bahwa sel khamir mempunyai ukuran yang bervariasi, yaitu dengan panjang 1-5 mikrometer sampai 20 mikrometer, dan lebar 1-10 mikrometer. Tidak hanya ukurannya, bentuk sel khamir juga bermacam-macam yaitu bulat, oval, silinder atau batang, ogival yaitu bulat panjang dengan salah satu ujung runcing, segitiga melengkung (triangular), bentuk botol, bentuk apikulat atau lemon, membentuk pseudomiselium dan sebagainya.

Karakteristik grup khamir yang ditemukan pada tahap awal fermentasi alami buah-buahan dan bahan lain yang mengandung gula, misalnya *Hanseniaspora* dan *Kloeckera* ditunjukkan dari sel vegetatif yang berbentuk apikulat atau lemon. Karakteristik lain ditunjukkan dengan bentuk ogival, yaitu bentuk memanjang di mana salah satu ujung bulat dan ujung yang lainnya runcing. Bentuk ini merupakan karakteristik dari khamir yang disebut *Brettanomyces*. Khamir yang berbentuk bulat misalnya *Debaryomyces*, berbentuk oval misalnya *Saccharomyces*, dan yang berbentuk triangular misalnya *Trygonopsis*.

Ukuran dan bentuk sel khamir dalam satu kultur yang sama mungkin berbeda karena pengaruh umur sel dan kondisi lingkungan selama pertumbuhan. Sel muda mungkin berbeda bentuk dari yang tua karena adanya proses ontogeni, yaitu



perkembangan individu sel. Sebagai contoh, khamir yang berbentuk apikulat (lemon) pada umumnya berasal dari tunas berbentuk bulat sampai oval yang terlepas dari induknya, kemudian tumbuh dan membentuk tunas sendiri. Karena proses pertunasannya bersifat bipolar, sel muda yang berbentuk oval membentuk tunas pada kedua ujungnya sehingga mempunyai bentuk seperti lemon. Sel-sel yang sudah tua dan telah mengalami pertunasan beberapa kali, mungkin mempunyai bentuk yang berbeda. Mikrostruktur sel khamir terdiri dari kapsul, dinding sel, membran sitoplasma, nukleus, satu atau lebih vakuola, mitokondria, globula lipid, volutin atau polifosfat, dan sitoplasma.

### 2.1.3 Taksonomi dan Ekologi Khamir

Khamir ditemukan di seluruh dunia yaitu di dalam tanah dan di permukaan tanaman dan sangat melimpah pada media yang mengandung gula seperti nektar bunga dan buah-buahan. Terdapat ratusan varietas khamir Ascomycetes (Rogers, 2011). Khamir yang diperoleh dari lingkungan memiliki 34 genera, jauh lebih tinggi dibandingkan dengan bahan makanan yakni 19 genera. Ke 34 genera khamir tersebut antara lain *Aureobasidium*, *Bensingtonia*, *Bullera*, *Candida*, *Clavispora*, *Cryptococcus*, *Cystofilobasidium*, *Debaromyces*, *Dipodascus*, *Erythrobasidium*, *Exophiala*, *Filobasidium*, *Galactomyces*, *Geotrichum*, *Hyalodendron*, *Issatchenkia*, *Kodamaca*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia*, *Myxozyma*, *Pichia*, *Pseudozyma*, *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Saccharomycete*, *Spathaspora*, *Sporisorium*, *Sporidiobolus*, *Sporobolomyces*, *Tetrapisispora*, *Tilletiopsis*, *Trichosporon*, *Ustilago*, dan *Williopsis*.

Khamir dapat hidup sebagai saprofit yang berperan penting dalam siklus biogeokimia pada ekosistem. Selain sebagai saprofit, khamir dapat hidup sebagai epifit, endofit maupun parasit. Avis dan Belanger (2002) menjelaskan bahwa sifat mikroorganisme antagonis yaitu memiliki pertumbuhan yang lebih cepat dibanding dengan pertumbuhan patogen, dan mikroorganisme antagonis dapat menghasilkan senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan pathogen. Menurut Droby & Chalutz (1994), khamir memiliki kelebihan dari mikroba antagonis lainnya yaitu pada umumnya khamir tidak menghasilkan spora alergenik atau mitotoksin. Selain itu, khamir



dapat hidup dan bertahan terhadap kekeringan dan cahaya matahari (Fonseca & Inacio, 2006).

#### 2.1.4 Peran Khamir sebagai Agens Pengendali Hayati

Khamir merupakan mikroorganisme uniselular yang bioekologinya lebih adaptif pada permukaan tanaman yang kering, tahan terhadap kondisi ekstrim seperti terpaan sinar matahari yang kuat, fluktuasi cuaca yang tajam dan miskin nutrisi (El Tarabily dan Sivasithamparam, 2006). Khamir berpotensi sebagai agens antagonis patogen tanaman (Fonseca dan Inacio, 2006). Khamir merupakan mikroorganisme antagonis yang menjanjikan karena beberapa spesies memiliki karakter sebagai agens pengendali hayati yang ideal (Liu *et al.*, 2013). Khamir secara genetik stabil, tidak perlu nutrisi khusus untuk berkembang biak dengan cepat, tahan terhadap kondisi lingkungan yang merugikan, efektif melawan berbagai patogen buah, tidak menghasilkan metabolit berbahaya bagi kesehatan manusia dan tidak terlalu dipengaruhi oleh pestisida (Sharma *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2013).

Beberapa spesies khamir dilaporkan dapat menjadi agens pengendali patogen tanaman pada berbagai komoditas hortikultura khususnya sayur-sayuran dan buah-buahan (Mari dan Guizzardi, 1998). Lebih dari tiga puluh spesies khamir yang efektif dalam mengurangi penyakit pascapanen telah dilaporkan selama tiga dekade terakhir, termasuk anggota *Kloeckera*, *Cryptococcus*, *Candida* dan *Pichia* (Liu *et al.*, 2014). *Pichia membranaefaciens* merupakan khamir biokontrol yang terkenal. Khamir ini menghambat pertumbuhan jamur hijau dan biru pada buah jeruk dan melindungi buah-buahan lain dari serangan jamur patogen (Chan dan Tian, 2006; Wang *et al.*, 2011; Luo *et al.*, 2012).

Khamir filofiler yang diisolasi dari daun tomat dilaporkan berpotensi sebagai antagonis pada penyakit *grey mould* yang disebabkan oleh patogen *Botrytis cinerea* pada tanaman tomat (Kalogiannis *et al.*, 2006). Hashem dan Alamri (2009) juga melaporkan bahwa khamir *Pichia anomala*, *P. guilliermondii*, *Lipomyces tetrasporus*, dan *Metschnikowia lunata* dapat menekan busuk buah yang disebabkan oleh patogen *Botryodiplodia theobromae* pada buah jambu. Selain itu, beberapa spesies khamir seperti *P. guilliermondii*, *Candida musae*, *Issatchenkia orientalis*, dan *C. quercitrusa*



dapat mengurangi kejadian penyakit antraknosa pada buah cabai yang disebabkan patogen *Colletotrichum capsici*.

Terdapat beberapa mekanisme penghambatan patogen oleh khamir, salah satunya ialah melalui mekanisme enzimatik. Enzim yang dihasilkan khamir ialah enzim kitinase yang dapat mendegradasi kitin jamur. Mekanisme penghambatan lain ialah dengan sekresi zat antibiosis yang dapat menghambat pertumbuhan patogen. Mekanisme antagonis lainnya juga dapat berasal dari kompetisi ruang dan nutrisi (Fitriati *et al.*, 2013).

### 2.1.5 Mekanisme Antagonis Khamir

Mekanisme antagonis yang dilakukan oleh khamir antara lain kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis, parasitisme dan predasi (Haggag dan Mohamed, 2007). Menurut Janisiewicz dan Korsen (2002), mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi terjadi apabila khamir berusaha memperoleh ruang dan nutrisi yang terbatas ketika ditumbuhkan bersama patogen. Keberhasilan kompetisi ditunjukkan melalui pertumbuhan sel serta kolonisasi khamir antagonis yang lebih cepat atau sejumlah molekul organik hasil metabolisme khamir yang lebih banyak dibandingkan dengan jamur patogen (Morrica & Ragazzi, 2008).

Mekanisme antibiosis oleh khamir melibatkan penggunaan senyawa metabolit sekunder atau senyawa toksik seperti enzim pelisis, senyawa *volatile*, *siderophores* atau senyawa toksik lainnya (Haggag & Mohamed, 2007). Terbentuknya senyawa metabolit sekunder tersebut dapat menyebabkan fungistatik, lisis dinding sel, atau nekrotik, sehingga pertumbuhan jamur patogen menjadi terhambat. Kemampuan khamir dalam menekan kejadian 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 patogen.

Mekanisme parasitisme terjadi melalui kontak langsung antara sel khamir dengan kapang. Sel khamir memanfaatkan kapang sebagai inang yang merupakan habitat dan sumber nutrisi untuk melakukan pertumbuhan (Sharma dkk, 2009).

Sedangkan mekanisme predasi terjadi melalui kontak langsung atau melalui struktur



hifa atau spora sehingga mengganggu viabilitas jamur patogen (Morrica dan Ragazzi, 2008).

## 2.2 Deskripsi Jamur *Colletotrichum gloeosporioides*

### 2.2.1 Klasifikasi Jamur *C. gloeosporioides*

Jamur *C. gloeosporioides* penyebab penyakit antraknosa pada buah jeruk diklasifikasikan sebagai berikut, Kerajaan: Fungi; Filum: Deuteromycota; Kelas: Deuteromycetes; Sub Kelas: Coelomycetidae; Ordo: Melanconiales; Famili: Melanconiaceae; Marga: *Colletotrichum*; Jenis: *Colletotrichum gloeosporioides* (Semangun, 2000).

### 2.2.2 Kenampakan Mikroskopis Jamur *C. gloeosporioides*

Menurut Semangun (2000), jamur *C. gloeosporioides* secara mikroskopis tampak memiliki hifa yang bersepta, mula-mula hialin kemudian menjadi sedikit gelap. Aservulus banyak terbentuk pada permukaan bagian tanaman yang sakit. Pada daun, aservulus terbentuk pada permukaan atas maupun bawah. Memiliki konidium hialin berbentuk jorong atau bulat telur dengan ujung-ujung membulat, tidak bersepta, kadang-kadang memiliki 1-2 tetes minyak dengan ukuran rata-rata 12-16 x 4-6  $\mu\text{m}$ .



Gambar 3. *Colletotrichum* sp. (A) Konidia dan (B) Askospora (Weir *et al.*, 2012)

### 2.2.3 Gejala Penyakit pada Buah Jeruk yang disebabkan *C. gloeosporioides*

Gejala serangan yang disebabkan oleh *C. gloeosporioides* pada buah jeruk adalah munculnya bercak berwarna coklat kehitaman dengan diameter 1,5 cm atau lebih.

Massa spora pada permukaan bercak akan berwarna merah jambu pada kondisi yang lembab. Bahkan perkembangan gejala akan semakin cepat pada buah yang telah



matang, sehingga menyebabkan terjadinya busuk buah (Agostini, Timmer, dan Mitchell, 1992).



Gambar 4. Gejala Penyakit Antraknosa pada Buah Jeruk (Cooke *et al.*, 2009)

#### 2.2.4 Siklus Penyakit Antraknosa oleh Jamur *C. gloeosporioides*

*C. gloeosporioides* merupakan jamur yang polifag (memiliki lebih dari satu inang). Jamur ini dapat menginfeksi bermacam-macam tumbuhan. Pada bagian yang sakit dalam cuaca lembab dan teduh, jamur akan membentuk spora (konidium) dalam jumlah yang besar dan terikat dalam massa lendir berwarna merah jambu. Spora jamur dapat dipencarkan oleh percikan air dan serangga (Semangun, 2007).

Nelson (2008) memaparkan bahwa gejala dan perkembangan penyakit antraknosa dimulai dari bercak hitam, membentuk cekungan hingga kemudian berkembang dengan cepat pada organ yang terserang. Patogen akan memproduksi massa yang lengket di dalam aservuli pada jaringan bergejala, terutama pada kondisi lembab.

#### 2.2.5 Mekanisme Infeksi *Colletotrichum gloeosporioides*

Serangan jamur *Colletotrichum* spp. diawali dengan adanya inokulasi jamur pada buah, kemudian diikuti dengan proses penetrasi, infeksi, kolonisasi, dan diseminasi. Inokulasi ditunjukkan melalui proses deposisi inokulum (spora) pada permukaan jaringan inang. Dilanjutkan dengan penetrasi, yaitu proses masuknya organisme patogen (jamur) ke dalam tubuh inang (buah). Setelah organisme patogen tersebut masuk ke dalam tubuh inang, maka akan terjadi proses perkecambahan spora (Sinaga, 2006).



Perkecambahan spora pada tubuh inang diawali dengan pembentukan tabung kecambah (*germ tube*) oleh spora patogen. Bagian spora yang memproduksi tabung kecambah akan bertambah panjang dan menembus dinding sel inang. Kemudian tabung kecambah termodifikasi menjadi apesorium yang berfungsi untuk melekat dengan kuat pada permukaan jaringan inang (Yudiarti, 2007). Proses infeksi terjadi setelah proses penetrasi, yaitu patogen sudah berada pada jaringan inang dan memperoleh makanan dari inangnya. Kemudian akan terjadi kolonisasi yang merupakan proses kelanjutan dari infeksi, patogen melanjutkan pertumbuhan dan perluasan aktivitas patogen melalui jaringan inang. Proses kolonisasi akan merusak seluruh jaringan pada tubuh inang.

Sinaga (2006) menjelaskan bahwa masa inkubasi merupakan waktu yang dibutuhkan patogen sejak mulai inokulasi sampai timbul gejala penyakit. Apabila gejala penyakit telah timbul, patogen telah melakukan reproduksi inokulum sekunder yang dihasilkan oleh patogen melalui agen penyebar seperti angin, air dan serangga.

