

**POTENSI YEAST TERMOTOLERAN DARI KULIT BUAH
PISANG SEBAGAI BIOKONTROL PATOGEN *Colletotrichum
musae* PENYEBAB PENYAKIT ANTRAKNOSA PADA BUAH
PISANG**

**OLEH
DEWI MARATUS SHOLIKHAH**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2016**

**POTENSI YEAST TERMOTOLERAN DARI KULIT BUAH
PISANG SEBAGAI BIOKONTROL PATOGEN *Colletotrichum
musae* PENYEBAB PENYAKIT ANTRAKNOSA PADA BUAH
PISANG**

**OLEH
DEWI MARATUS S.
125040200111039**

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

SKRIPSI

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

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

2016

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana di perguruan tinggi manapun dan sepanjang sepengetahuan 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, Agustus 2016

Dewi Maratus S.

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi : Potensi Yeast Termotoleran Dari Kulit Buah Pisang
Sebagai Biokontrol Patogen *Colletotrichum Musae*
Penyebab Penyakit Antraknosa Pada Buah Pisang

Nama : Dewi Maratus S.

NIM : 125040200111039

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Laboratorium : Mikologi

Menyetujui : 1. Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.

2. Antoh Wahyu Sektiono, SP., MP.

Disetujui
Pembimbing Utama, Pembimbing Pendamping,

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

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 201304 841014 1 001

Diketahui,
Ketua Jurusan

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

Tanggal Persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Dr. Ir. Toto Himawan, SU.
NIP. 19551119 198303 1 002

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 201304841014 1 001

Penguji III

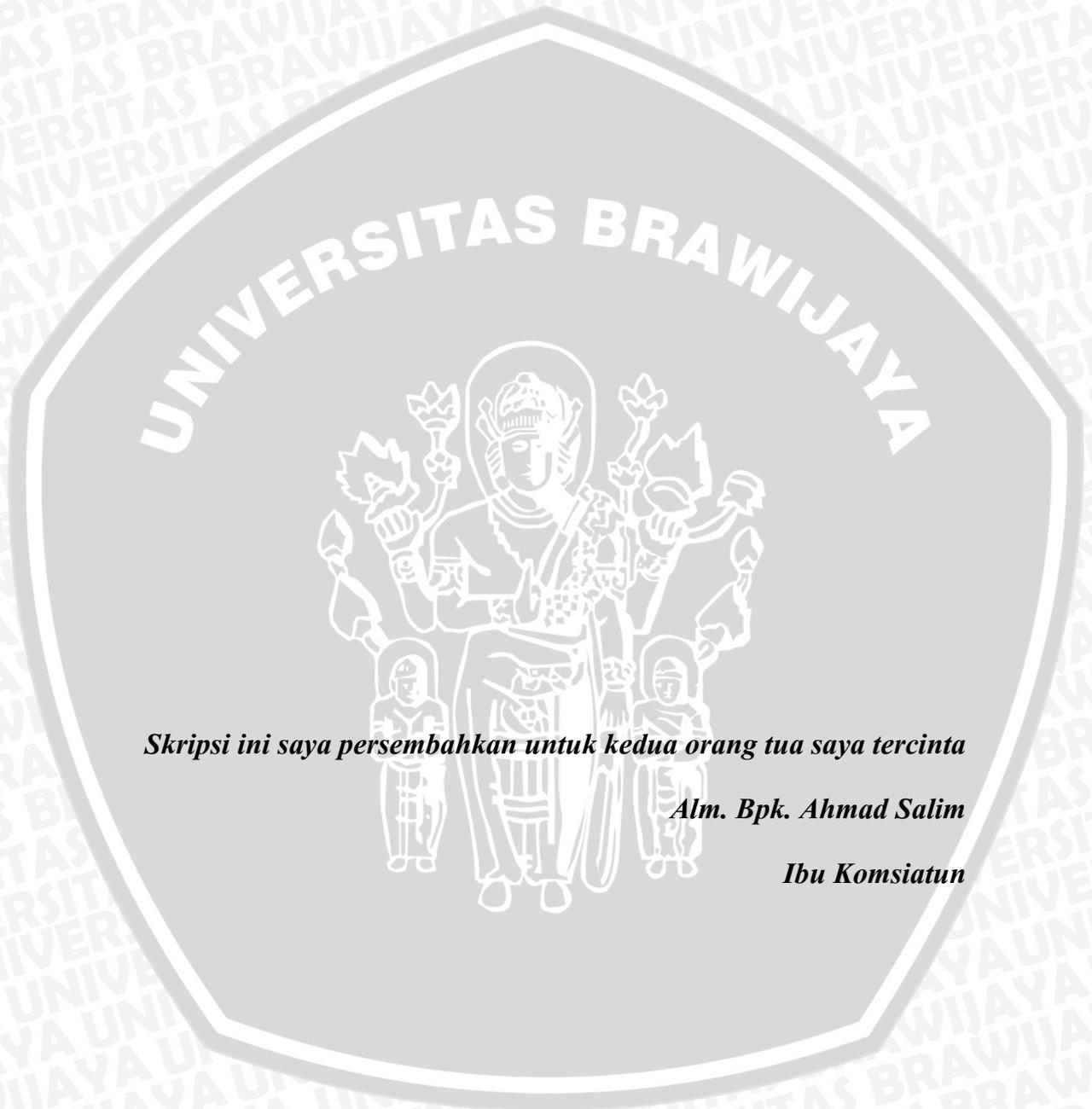
Penguji IV

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

Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS.
NIP. 19550522 198103 1 006

Tanggal Lulus :

“Jadilah manusia yang berguna bagi semua makhluk ciptaan Tuhan”



Skripsi ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya tercinta

Alm. Bpk. Ahmad Salim

Ibu Komsiatun

RINGKASAN

Dewi Maratus Sholikhah. 125040200111039. Potensi Yeast Termofilik dari Kulit Buah Pisang Sebagai Biokontrol Patogen *Colletotrichum musae* Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Pisang. Dibawah bimbingan Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. sebagai Pembimbing Utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. sebagai Pembimbing Pendamping.

Buah pisang merupakan salah satu buah yang banyak diminati masyarakat, namun terdapat hambatan yang dapat menurunkan minat konsumen. Hambatan tersebut adalah penyakit antraknosa yang dapat menurunkan kualitas buah. Sejauh ini belum banyak pengendalian yang digunakan untuk mengendalikan penyakit antraknosa pada buah pisang. Sebagai alternatif pengendalian hayati, digunakan yeast yang diisolasi dari kulit buah pisang memiliki sifat termotoleran. Yeast termotoleran diperoleh dari kulit pisang ambon dan pisang kepok. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keragaman yeast dalam kulit pisang ambon dan pisang kepok pada suhu 40° C dan mengkaji potensi yeast hasil isolasi dari kulit pisang tersebut dalam mengendalikan penyakit antraknosa pada buah pisang secara *in vitro* dan *in vivo*.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya dan dilaksanakan pada bulan Januari-Juni 2016. Metode yang digunakan ialah metode eksplorasi dan eksperimental. Metode eksplorasi dilaksanakan dengan mengisolasi yeast termotoleran dari kulit pisang ambon dan kepok dengan suhu 40° C selama 90 menit. Yeast yang diperoleh selanjutnya diuji antagonis secara *in vitro* dengan perhitungan tingkat hambatan relatif dan metode slide culture. Selanjutnya diuji secara *in vivo* pada pisang ambon dan kepok untuk dihitung persentase kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen.

Yeast yang diperoleh dari hasil isolasi menggunakan perlakuan suhu 40° C sebanyak 3 jenis. Dari pisang kepok diperoleh 2 isolat yaitu; *Pichia* sp. dan *Metschnikowia* sp., sedangkan dari pisang ambon diperoleh 1 isolat yaitu *Candida* sp. Nilai H' menunjukkan nilai keragaman yeast pada buah pisang kepok lebih beragam dibanding buah pisang ambon. Hasil uji antagonis secara *in vitro* menggunakan perhitungan tingkat hambatan relative tidak menunjukkan adanya hambatan dari yeast hasil isolasi. Dari hasil pengujian menggunakan metode slide culture menunjukkan *Pichia* sp. dan *Metschnikowia* sp. menunjukkan adanya sifat antagonis. Hasil uji antagonis secara *in vivo* menunjukkan bahwa: perlakuan yeast, kombinasi yeast dan varietas pisang tidak berpengaruh terhadap masa inkubasi dan tingkat kejadian penyakit. perlakuan varietas berpengaruh terhadap masa inkubasi dan tingkat kejadian penyakit. Pisang kepok memiliki tingkat kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen lebih baik dari pisang ambon.

SUMMARY

Dewi Maratus Sholikhah. 125040200111039. Potency of Termotoleran Yeast from Banana Peel as Biocontrol of *Colletotricum musae* Caused Anthracnosa Disease of Banana. Supervised by Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. and Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.

Banana is one of fruit that popular by common people. Plant disease can reduces consumer interest for banana fruit, the disease is anthracnose causes by *C. musae*. Banana anthracnose causes by *C. musae* considered as one of the most important diseases of banana in the global level and is one of the major constraints to banana productions. It deteriorates the quality and nutritive value of the fruits and renders them unfit for marketing and consumption. As far as now, banana anthracnose have not restrained yet, *C. musae* has need to be prevented. Potency microbial yeast contained in the banana peel is necessary to study its ability in controlling anthracnose. Purpose of the resaerch is to find out yeast diversity from peel of kepok and ambon banana variety on 40° C temperature and to reviewing it yeast potency in controlling anthracnose on banana by in vitro and in vivo assay.

The research was held on January-June 2016 in Pest and Plant Disease Department sub laboratory Mycology, Agriculture Faculty Brawijaya University. The research was held by exploration and experimental methods. Exploration method implemented by isolating yeast from ambon and kepok bananas variety subsequently treated temperature 40° C. Experiments methods were carried out by in vitro assay by counting relative inhibition level dan slide culture method. Then in vivo assay on banana kepok and ambon variety to count percentage disease level and dsease incubation phase.

Termotoleran yeast obteded from kepok banana was *Pichia* sp. and *Metschnikowia* sp. from ambon banana was *Candida* sp. the diversity index value indicated that yeast isolated from kepok variety is more diverse than ambon variety. Antagonist in vitro assay in counting persentage inhibition level method did not show inhibition from isolated yeast. Slide culture method showed that *Pichia* sp. and *Metschnikowia* sp. have potention as biocontrol by antibiosys and competition of nutrient and space. In vivo antagonist assay showed that: yeast treatment, combination of yeast and banana variety did not effect against pahatogen incubation phase and disease incidence level. Kepok variety has disease incubation phase and disease incidence level better than ambon variety.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT atas rahmat, taufiq, hidayah, serta inayahNya penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian dengan judul **“Potensi Yeast Termotoleran Dari Kulit Buah Pisang Sebagai Biokontrol Patogen *Colletotrichum Musae* Penyebab Penyakit Antraknosa Pada Buah Pisang”**.

Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Bapak Dr. Anton Muhibuddin, SP. MP., selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Antok Wahyu Sektiono, SP. MP., sebagai pembimbing pendamping, yang bersedia merelakan waktunya untuk berdiskusi, serta dengan segala kesabaran, nasihat, dan arahnya dalam membimbing penulis. Penghargaan yang tulus kami sampaikan kepada orang tua kami atas doa dan dukungan yang senantiasa mengiringi langkah kami.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian nantinya akan bermanfaat bagi banyak pihak, serta dapat memberikan sumbangan pengetahuan dalam bidang pertanian.

Malang, Agustus 2016

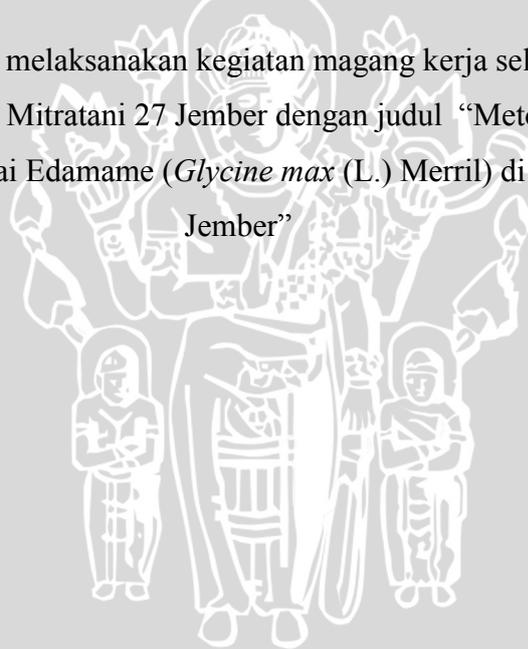
Dewi Maratus S.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Blitar pada 9 Mei 1994 dari pasangan Bapak Ahmad Salim dan Ibu Komsiatun. Penulis merupakan anak terakhir dari 4 bersaudara. Riwayat pendidikan yang pernah ditempuh penulis ialah: SDN Sidorejo 1 tahun 2000-2006, MTs Ma'arif NU Bacem tahun 2006-2009, SMAN 1 Ponggok tahun 2009-2012, dan pada 2012 penulis melanjutkan pendidikan di Universitas Brawijaya Malang program studi Agrokotknologi melalui jalur SNMPTN Bidik Misi.

Selama menempuh pendidikan, penulis mengikuti beberapa unit kegiatan mahasiswa yaitu Pusat Riset dan Karya Ilmiah Mahasiswa (PRISMA) (2013) sebagai divisi sekretaris bidang ketatausahaan dan Korp Suka Rela (KSR) unit Universitas Brawijaya sebagai anggota (2013).

Penulis pernah melaksanakan kegiatan magang kerja selama 3 bulan (Juli-Agustus) 2015 di PT. Mitratani 27 Jember dengan judul “Metode Pengendalian Penyakit pada Kedelai Edamame (*Glycine max* (L.) Merrill) di PT. Mitratani 27 Jember”



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR TABEL.....	iv
DAFTAR GAMBAR	v
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan.....	2
1.3 Hipotesis.....	3
1.4 Manfaat.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Biologi dan Karakteristik Yeast	4
2.2 Pengaruh Pemeraman Buah Pisang Terhadap Suhu Lingkungan	6
2.3 Peran Yeast dalam Pengendalian Penyakit Tanaman.....	6
2.4 Karakter Buah Pisang dan Kriteria Indeks Kematangan Buah Pisang.....	7
2.5 Penyakit Antraknosa pada Buah Pisang.....	10
2.6 Mekanisme Antagonis Mikroba	13
3. METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Metode Penelitian.....	14
3.4 Persiapan Penelitian	14
3.5 Pelaksanaan Penelitian	16
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Isolasi dan Identifikasi Patogen <i>C. musae</i>	22
4.2 Isolasi dan Identifikasi Yeast Termotoleran.....	22
4.3 Hasil Uji Antagonis Yeast dan Patogen <i>C. musae</i>	29
5. PENUTUP	39
5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Kriteria indeks kematangan buah pisang	9
2.	Kriteria indeks keragaman	18
3.	Kenampakan makroskopis dan mikroskopis yeast termotoleran	27
4.	Nilai keragaman yeast termotoleran pada pisang ambon dan kepok	28
5.	Rata-rata persentase hambatan	29
6.	Karakteristik antagonis yang terjadi antara <i>C. musae</i> dan yeast hasil isolasi ...	31
7.	Pengaruh yeast terhadap tingkat kejadian penyakit	33
8.	Pengaruh yeast terhadap masa inkubasi patogen	33
9.	Pengaruh varietas terhadap kejadian penyakit	35
10.	Pengaruh varietas terhadap masa inkubasi patogen <i>C. musae</i>	35
11.	Pengaruh kombinasi yeast dan varietas pisang terhadap tingkat kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen	36

TABEL LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tabel ANOVA tingkat hambatan <i>C. musae</i> pada 2 HSI	46
2.	Tabel ANOVA tingkat hambatan <i>C. musae</i> pada 3 HSI	46
3.	Tabel ANOVA tingkat hambatan <i>C. musae</i> pada 4 HSI	46
4.	Tabel ANOVA tingkat hambatan <i>C. musae</i> pada 5 HSI	46
5.	Tabel ANOVA tingkat hambatan <i>C. musae</i> pada 6 HSI	46
6.	Tabel ANOVA tingkat kejadian penyakit <i>C. musae</i> secara <i>in vivo</i>	46
7.	Tabel ANOVA masa inkubasi penyakit <i>C. musae</i> secara <i>in vivo</i>	47
8a.	Perhitungan keragaman yeast termotoleran pada kulit pisang ambon	47
8b.	Perhitungan keragaman yeast termotoleran pada kulit pisang kepok	47

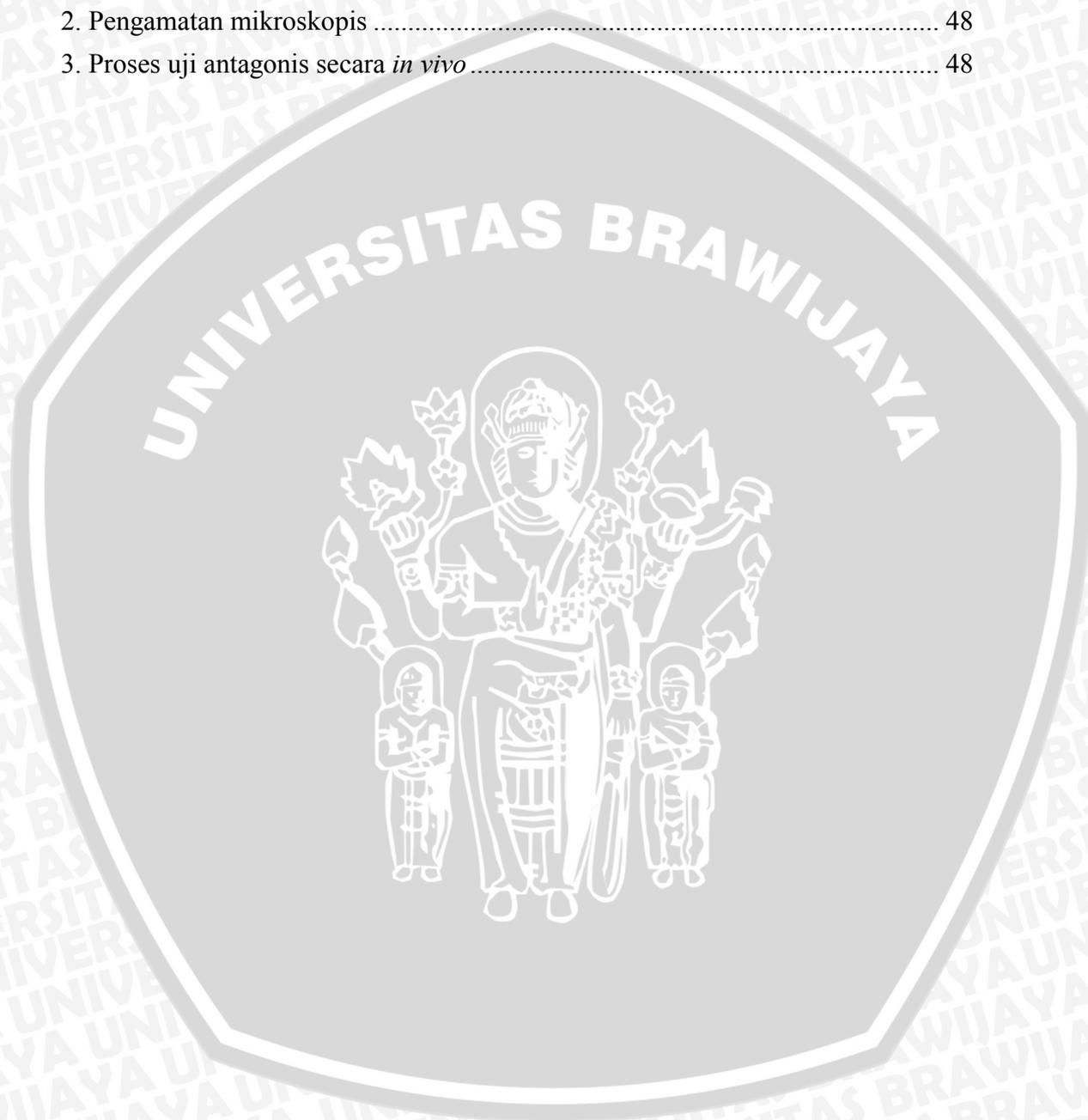


DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Kenampakan yeast pada mikroskop elektron.....	4
2.	A: Pseudohifa, B: Hifa.....	5
3.	Pola perkembangbiakan aseksual.....	5
4.	Bentuk sel yeast.....	5
5.	Pisang Ambon.....	8
6.	Buah Pisang Kepok.....	8
7.	Gejala Antraknosa pada buah pisang pasca panen.....	11
8.	Kenampakan <i>C. musae</i> pada media PDA.....	12
9.	Kenampakan mikroskopis <i>C. musae</i>	12
10.	Kerangka operasional penelitian.....	15
11.	Buah pisang dengan indeks kematangan 6.....	16
13.	Gejala serangan antraknosa pada buah pisang.....	22
14.	Kenampakan makroskopis <i>C. musae</i> pada media PDA.....	22
15.	Kenampakan mikroskopis <i>C. musae</i>	23
16.	Kenampakan makroskopis <i>Candida</i> sp.....	24
17.	Kenampakan mikroskopis <i>Candida</i> sp.....	25
18.	Kenampakan makroskopis <i>Pichia</i> sp.....	25
19.	Kenampakan mikroskopis <i>Pichia</i> sp.....	26
20.	Kenampakan makroskopis <i>Metschnikowia</i> sp.....	26
21.	Kenampakan mikroskopis <i>Metschnikowia</i> sp.....	27
22.	Hasil uji antagonis <i>in vitro</i>	30
23.	Hasil uji antagonis menggunakan <i>slide culture</i>	32
24.	Tingkat kejadian penyakit pada pisang kepok.....	37
25.	Tingkat kejadian penyakit <i>C. musae</i> pada pisang ambon.....	37

GAMBAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Proses isolasi yeast dari kulit pisang.....	47
2.	Pengamatan mikroskopis	48
3.	Proses uji antagonis secara <i>in vivo</i>	48



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Yeast merupakan golongan jamur uniseluler yang banyak ditemukan di lingkungan sekitar. Yeast dapat ditemukan di dalam makanan, tubuh manusia, hingga tanaman. Dalam kehidupan sehari-hari, yeast memiliki peran merugikan dan menguntungkan. Peran yeast yang merugikan dalam kehidupan manusia seperti dapat menimbulkan penyakit pada manusia (Cooper, 2011). Dalam produksi makanan, yeast digunakan sebagai fermentator untuk menghasilkan berbagai olahan makanan. Olahan makanan yang dibantu oleh proses fermentasi yeast seperti bir, roti, dan lain-lain. Dalam bidang pertanian telah banyak dikembangkan yeast yang digunakan sebagai agen biokontrol. Yeast sebagai biokontrol salah satunya dapat ditemukan di buah (Schisler, 2011).

Buah pisang merupakan salah satu buah yang banyak diminati masyarakat. Kulit berwarna kuning merata ketika sudah matang dengan rasa yang manis menjadi salah satu daya tarik konsumen. Pisang dapat dikonsumsi langsung maupun diolah terlebih dahulu. Buah pisang diolah secara sederhana hingga pengolahan tingkat industri. Buah pisang dan segala produk olahannya dapat dikonsumsi oleh masyarakat dari berbagai kalangan usia. Hal ini karena nilai gizi buah pisang yang bermanfaat bagi kesehatan (Prabawati *et al.*, 2008). Namun, terdapat hambatan berupa penyakit tanaman yang dapat menurunkan minat konsumen terhadap buah pisang. Salah satu penyakit yang menimbulkan gejala ketika buah sudah matang yaitu penyakit *antraknosa* yang disebabkan oleh patogen *Colletotrichum musae*.

Antraknosa pada buah pisang merupakan salah satu penyakit penting yang dapat menurunkan kualitas buah (Thangmani *et al.*, 2011). Antraknosa memiliki tingkat seragan pada buah pisang mulai dari 15-100% (Murtiningsih *et al.*, 1991 dalam Prabawati *et al.*, 2008). Patogen *C. musae* menimbulkan gejala berupa bercak cekung berwarna coklat kehitaman pada kulit, pada serangan yang parah akan timbul serbuk jingga pada permukaan bercak, dan daging buah akan semakin lunak. Hasil penelitian menunjukkan, terdapat perbedaan ketahanan dari pisang varietas Ambon Kuning, Abu-abu, Raja Nangka, Nona, dan Pisang Empat Puluh

Hari terhadap infeksi *C. musae*. Rata-rata waktu yang diperlukan patogen dalam menginfeksi buah pisang ialah selama 3,5 hari. Intensitas kerusakan yang dihasilkan berbeda pada setiap varietas yang diduga dipengaruhi oleh ketebalan kulit buah (Rumahleweng, 2012). Selain varietas, diduga terdapat kandungan mikroba yang mempengaruhi tingkat ketahanan buah pisang.

Sejauh ini belum banyak dilaksanakan pengendalian penyakit antraknosa pada buah pisang sehingga perlu dilaksanakan pencegahan untuk mengurangi laju infeksi patogen *C. musae*. Hal ini karena antraknosa pada buah pisang mulai memperlihatkan gejala ketika sudah matang. Dalam kondisi mentah infeksi patogen belum terlihat akibat nutrisi patogen belum terpenuhi. Salah satu alternatif yang dapat digunakan ialah pengendalian secara biologi dengan menggunakan yeast. Yeast hasil isolasi dari buah avokad efektif mengendalikan penyakit antraknosa pada buah avokad (Fitriati *et al.*, 2013). Yeast dari spesies *Rhodotolura* sp., dapat mengendalikan penyakit antraknosa pada buah stroberi dan cabai. Selanjutnya yeast dari spesies *Metschnikowia* sp., mampu mengendalikan penyakit antraknosa pada buah stroberi, cabai, dan buncis (Puspitasari *et al.*, 2014).

Potensi mikroba yeast yang terkandung dalam kulit buah pisang perlu dikaji kemampuannya dalam mengendalikan penyakit antraknosa. Yeast diisolasi dari kulit buah pisang matang yang diduga rentan dan tahan terhadap *C. musae*. Untuk memperoleh buah pisang yang matang, salah satu cara yang digunakan untuk mempercepat pemasakan buah ialah dengan cara diperam. Pemeraman dengan media kedap udara dengan penambahan karbit akan meningkatkan suhu hingga 33° C (Sadat *et al.*, 2015). Pada suhu 20-40° C tidak semua mikroba yeast dapat bertahan hidup. Sehingga, perlu diketahui keragaman yeast termotoleran dalam kulit pisang serta potensinya sebagai agens atagonis pada patogen *C. musae* yang menyerang buah pisang.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui keragaman yeast dalam kulit pisang ambon kuning dan pisang kepek pada suhu 40° C dan mengkaji

potensi yeast hasil isolasi dari kulit pisang tersebut dalam mengendalikan penyakit antraknosa pada buah pisang secara *in vitro* dan *in vivo*.

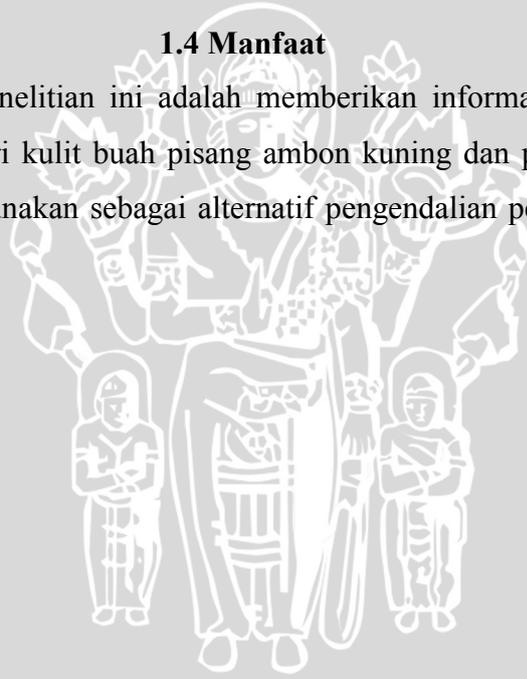
1.3 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Yeast termotoleran hasil isolasi dari pisang kepok lebih beragam dibanding pisang ambon kuning.
2. Terdapat yeast pada kulit buah pisang ambon kuning dan kulit buah pisang kepok yang dapat bertahan hidup pada suhu 40° C.
3. Yeast hasil isolasi dari kulit pisang tersebut berpotensi dalam mengendalikan penyakit antraknosa pada buah pisang secara *in vitro* dan *in vivo*.

1.4 Manfaat

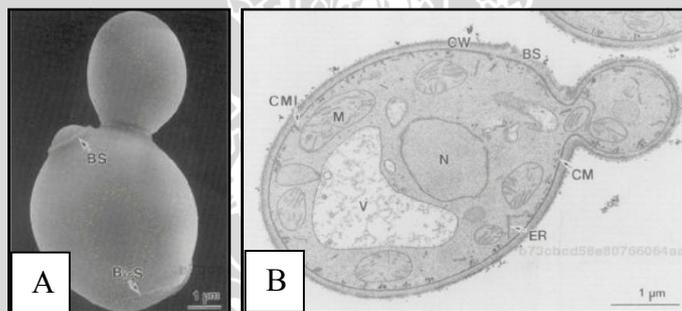
Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai jenis yeast termotoleran dari kulit buah pisang ambon kuning dan pisang kepok yang selanjutnya dapat digunakan sebagai alternatif pengendalian penyakit antraknosa pada buah pisang.



2. TINJAUAN PUSTAKA

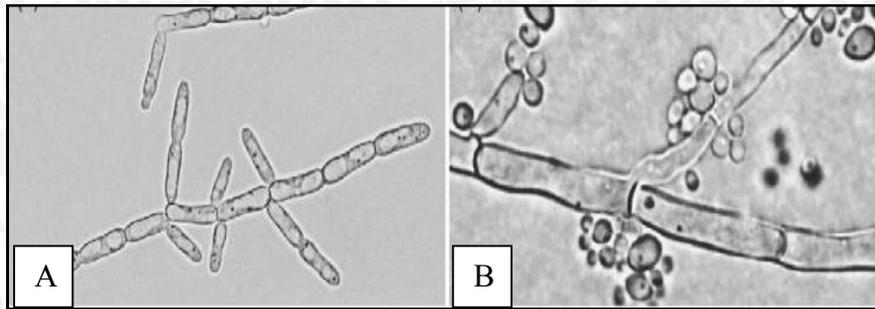
2.1 Biologi dan Karakteristik Yeast

Yeast termasuk golongan mikroorganisme uniseluler. Setiap sel yeast memiliki ukuran yang beragam, dengan luas mulai dari 2-3 μm hingga 20-5- μm panjang dan lebar mulai dari 1-10 μm . Sel yeast memiliki komponen berupa: dinding sel (CW), membrane sel (CM), lipatan membrane sel (CMI), tunas (BS), mitokondria (M), nucleus (N), vakuola (V), dan reticulum endoplasma (ER) (Gambar 1) (Walker, 2011). Yeast sebagian besar berasal dari kelas Ascomikota, Basidiomikota, dan Deuteromykota. Jamur dari kelas Ascomikota dan Basidiomikota telah diketahui cara reproduksi seksual dan aseksual. Sedangkan jamur dari deuteromikota belum diketahui cara reproduksi seksualnya sehingga disebut jamur *imperfecti* atau jamur tidak sempurna (Walker, 2011).

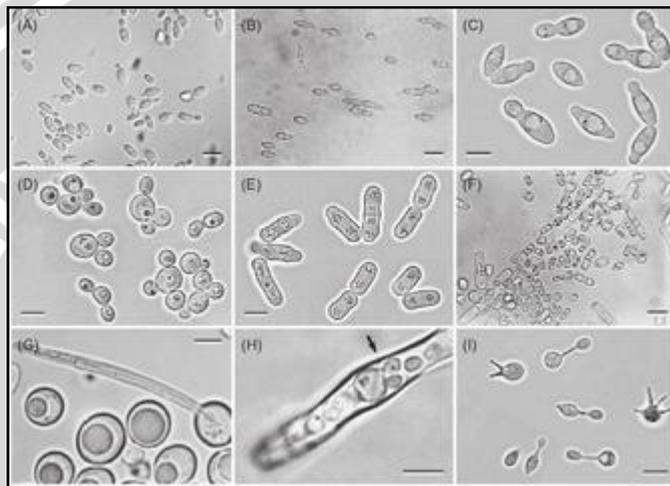


Gambar 1. Kenampakan yeast pada mikroskop elektron (Sumber: Walker, 2011)

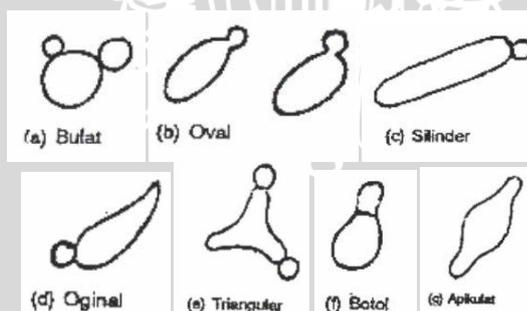
Yeast dapat berkembang biak secara seksual dan aseksual. Yeast yang berkembangbiak secara aseksual dan belum diketahui cara reproduksi seksualnya berasal dari genus *Brettanomyces*, *Sporobolomyces*, *Bullera*, *Rhodotula*, *Kloeckera*, *Trigonopsis*, dan *Schizoblastosporium*. Sel baru dari yeast berasal dari perpanjangan *hifa* dan *pseudohifa*. Hifa ialah perpanjangan sel atau rangkaian sel, filamen dari miselium, terdapat sekat yang membentuk lingkaran. Pseudohifa ialah sel yang umumnya mengalami pemanjangan, dihasilkan dari setiap tunas, sel pseudohifa berikatan dengan sel induk, sehingga membentuk rantai dan membentuk cabang (Barnett, 2011). Reproduksi yeast secara seksual dilakukan dengan penggabungan askospora dengan nukleus atau dengan askospora lain. Selanjutnya memperbanyak melalui pembelahan sel vegetatif (Schneiter, 2004).



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



Gambar 3. Pola perkembangbiakan aseksual, A: Tunas polar, B: Tunas monopolar, C: Tunas bipolar, D: Tunas multilateral, E: Membelah diri, F: Artokonidia yang terbentuk dari membelah diri, G: Clamidospora, H: Endokonidia, I: Blastokonidia (Sumber: Kurtzman *et al.*, 2011)



Gambar 4. Bentuk sel yeast (Sumber: Kusdarwati, 2012)

Yeast pada media buatan mengalami fase log. Fase log merupakan fase mikroorganisme mengalami pertumbuhan stabil ketika mampu beradaptasi dengan lingkungan. Pada fase ini yeast mengalami perkembangan sel sekitar selama 90 menit (Bergman, 2001). Beberapa jenis yeast tidak dapat beradaptasi terhadap kondisi lingkungan yang kurang sesuai. Salah satu kondisi lingkungan

yang menghambat pertumbuhan yeast berasal dari suhu. Beberapa jenis yeast dapat tumbuh dan berkembang pada suhu 20-40° C dan disebut sebagai yeast termotoleran. Dari hasil penelitian yeast fermentator dapat bertahan pada suhu 37-40°C. Yeast yang bertahan pada suhu berperan dalam fermentasi glukosa menjadi etanol (Babiker *et al.*, 2010). *Candida albicans* merupakan salah satu jenis yeast termotoleran yang bersifat parasit pada manusia. *C. albicans* mampu bertahan pada suhu lebih dari 37° C (El-Kersh *et al.*, 2014).

2.2 Pengaruh Pemeraman Buah Pisang Terhadap Suhu Lingkungan

Buah pisang termasuk dalam buah klimaterik. Buah klimaterik merupakan jenis buah yang mengalami peningkatan etilen dan laju respirasi yang terjadi setelah panen. Pemasakan pada buah pisang dipengaruhi oleh suhu lingkungan dan mikroba jamur yang dapat meningkatkan laju produksi etilen. Suhu dapat meningkat dari suhu kamar antara 23-24° C menjadi 27° C. Pada kondisi normal, buah pisang setelah dipanen akan mengalami kematangan optimum selama 14 hari. Setelah mengalami kematangan produksi etilen laju respirasi akan menurun (Nurjanah, 2002). Untuk mempercepat kematangan buah pisang dilakukan proses pemeraman.

Pemeraman merupakan proses yang digunakan untuk mempercepat kematangan buah pisang. Pemeraman buah pisang biasanya dilakukan dengan membiarkan buah pisang pada udara terbuka dengan suhu ruang ataupun dibungkus dengan plastik. Pada pemeraman buah pisang dengan media kedap udara banyak ditambahkan karbit (CaC_2). Fungsi dari karbit agar terjadi peningkatan produksi etilen dan laju respirasi pada buah pisang. Pada perlakuan pisang dengan media kedap udara dan penambahan karbit akan meningkatkan suhu hingga 33,4°C. Semakin tinggi masa karbit yang digunakan akan berpengaruh terhadap peningkatan suhu udara pada media pemeraman dan tingkat kelembaban udara semakin tinggi (Sadat *et al.*, 2015). Sehingga terjadi pemasakan buah secara maksimum.

2.3 Peran Yeast dalam Pengendalian Penyakit Tanaman

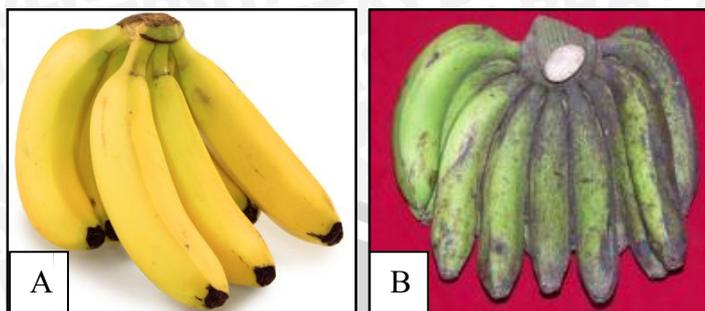
Mikroba telah banyak dikembangkan dalam pengendalian penyakit tanaman sebagai agens hayati. Mikroba yang digunakan dalam pengendalian penyakit

salah satunya berasal dari jenis yeast. Yeast dapat digunakan dalam mengendalikan penyakit antraknosa pada buah stroberi, buncis, dan cabai. Dari hasil isolasi dari buah cabai diperoleh yeast jenis *Metschnikowia* sp., *Candida* sp., dan *Rhodotorula* sp., dari buah buncis *Candida* sp., dan *Rhodotorula* sp., dari buah stroberi *Pichia* sp., *Cryptococcus* sp, dan *Zygosaccharomyces* sp. Selanjutnya Yeast diperoleh dari isolasi diuji secara *in vitro* terhadap patogen *Colletotrichum* sp.. Hasil uji antagonis menunjukkan, yeast hasil isolasi dari setiap buah dapat menghambat pertumbuhan penyakit hingga 55% (Puspitasari, 2014). Hasil isolasi yeast pada buah avokad dapat mengurangi tingkat serangan *C. gloeosporioides* penyebab penyakit antraknosa pada buah avokad. Mekanisme penghambatan patogen oleh yeast dapat dilakukan dengan mekanisme enzimatik. Enzim yang dihasilkan oleh yeast berupa enzim kitinase yang berfungsi dalam mendegradasi kitin patogen. Mekanisme penghambatan yang lain ialah dengan menghasilkan sekresi yang dapat menghambat patogen, sekresi dapat berupa zat antibiosis. Selain itu, mekanisme antagonis juga dapat berasal dari kompetisi ruang dan nutrisi (Fitriati *et al.*, 2013).

2.4 Karakter Buah Pisang dan Kriteria Indeks Kematangan Buah Pisang

a. Karakter Buah Pisang Ambon

Pisang ambon merupakan salah satu jenis varietas pisang yang banyak dikenal masyarakat. Umumnya pisang ambon disajikan sebagai makanan penutup. Terdapat 2 jenis pisang ambon yaitu pisang ambon kuning dan pisang ambon lumut. Pisang ambon kuning memiliki berat tandan antara 15-25 kg dan tersusun dari 10-14 sisir, dan setiap sisir terdiri dari 14-24 buah. Ukuran panjang buah sekitat 15-20 cm dengan diameter 3,35 cm (Gambar 5A). Pisang ambon lumut memiliki warna kulit hijau kekuningan dengan bintik coklat kehitaman. Daging buah berwarna putih kemerahan dan lunak. Berat pisang ambon lumut per tandan mencapai kisaran 15-18 kg dengan jumlah sisir 8-18, setiap sisir terdapat kurang lebih 20 buah. Ukuran buah antara 15-20 cm dengan diameter 3-3,5 cm (Gambar 5B) (Prabawati *et al.*, 2008).



Gambar 5. Pisang Ambon, A: Pisang Ambon Kuning, B. Pisang Ambon Lumut (Sumber: Prabawati *et al.*, 2008)

b. Karakter Buah Pisang Kepok

Pisang kepok merupakan salah satu jenis pisang yang dimakan setelah diolah terlebih dahulu. Terdapat bermacam-macam jenis olahan pisang kepok, mulai dari olahan sederhana hingga pengolahan tingkat industri. Pengolahan sederhana seperti digoreng dan dikukus, sementara pengolahan tingkat industri pisang kepok diolah menjadi selai, kripik pisang, dan tepung pisang. Bentuk buah pisang yang pipih sehingga sering disebut sebagai pisang gepeng yang memiliki kulit buah tebal. Berat per tandan dapat mencapai 22 kg dan memiliki 10-16 sisir. Setiap sisir terdiri dari 12-20 buah. Terdapat dua jenis pisang kepok yaitu pisang kepok kuning dan putih, yang membedakan hanya daging buah ketika sudah matang (Prabawati *et al.*, 2008).

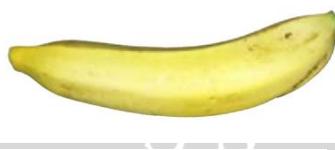


Gambar 6. Buah Pisang Kepok (Sumber: Prabawati *et al.*, 2008)

c. Karakteristik Indeks Kematangan Buah Pisang

Buah pisang yang telah matang dapat dikenali melalui perubahan warna kulit. Setiap fase perubahan warna kulit memiliki karakteristik tersendiri. Karakteristik tersebut dibagi menjadi 8 kelompok indeks, dari setiap indeks memiliki ciri-ciri yang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kriteria indeks kematangan buah pisang

Indeks Warna	Keadaan Buah	Deskripsi
1		Seluruh permukaan buah berwarna hijau dan buah masih keras.
2		Permukaan buah berwarna hijau dengan sedikit semburat warna kuning.
3		Kulit buah berwarna hijau kekuningan yang lebih merata.
4		Permukaan buah berwarna kuning khijauan dan warna tersebar merata diseluruh permukaan buah.
5		Seluruh permukaan buah berwarna kuning dengan ujung berwarna hijau.
6		Seluruh bagian buah berwarna kuning, daging mulai lunak.
7		Seluruh bagian buah pipsang berwarna kuning dengan sedikit bintik coklat.
8		Seluruh bagian buah berwarna kuning dengan bercak coklat lebih banyak, kondisi buah semakin lunak.

Sumber: Prabawati *et al.*, 2008

2.5 Penyakit Antraknosa pada Buah Pisang

Penyakit antaknosa merupakan penyakit yang memiliki kisaran inang yang luas. Penyakit ini dapat menyerang tanaman semusim maupun tanaman tahunan dan dapat menyerang seluruh bagian tanaman (Photita *et al.*, 2005). Bagian tanaman yang diserang terutama bagian batang, daun, dan buah. Tanaman kedelai dapat diserang oleh penyakit antraknosa pada bagian batang, daun, dan polong yang disebabkan oleh *C. truncatum*. Penyakit antraknosa menyerang pada pertanaman kedelai pada setiap musim. Pada musim hujan dapat terjadi peningkatan tingkat serangan hingga 100% (Jagtap, 2009). Pada buah avokad *C. gloeosporides* merupakan penyakit utama pada buah pasca panen karena memiliki sifat laten. Gejala yang ditimbulkan berupa bercak berwarna coklat akan muncul pada saat buah menjadi lunak sehingga buah tidak dapat dipasarkan (Fitriati, 2013). Pada buah cabai, penyakit antraknosa dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 50% (Than *et al.*, 2008 dalam Hartati *et al.*, 2014). Antraknosa akan berkembang secara optimum pada kondisi lingkungan yang menguntungkan.

Pada daerah tropis penyakit antraknosa akan berkembang dengan cepat pada kondisi lingkungan yang sesuai. Pada suhu 25-34° C dengan kelembaban relatif 85-100% patogen *Colletotrichum* spp. dapat berkembang secara optimum (Zakaria, 2000; Boyette *et al.*, 2012). Pada musim kemarau laju serangan patogen lebih rendah dibanding dengan pada musim hujan. Hal ini dapat terjadi karena kelembaban pada musim kemarau sangat rendah, sehingga menghambat pertumbuhan patogen.

Penyakit antaknosa pada buah pisang disebabkan oleh patogen *C. musae* yang menginfeksi mulai dari lapang. Spora disebarkan oleh bantuan angin dan percikan air yang berasal dari bagian tanaman pisang yang terinfeksi antraknosa. Infeksi terjadi selama proses pembungaan dan proses perubahan dari bunga menjadi buah (Silva, 2013). Pada buah pisang mentah, patogen tidak dapat berkembang cepat akibat ketersediaan nutrisi yang kurang. Selanjutnya infeksi akan meningkat seiring terjadinya pemasakan buah (Rumahlewang, 2012). Gejala pada buah pisang yang sudah matang berupa noda berwarna coklat melekuk dan tertutup oleh masa konidia berwarna oranye atau merah jambu. Gejala dapat

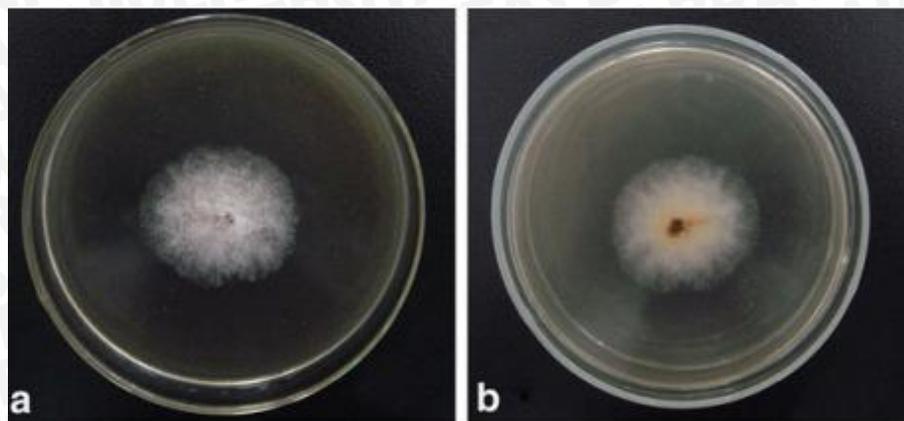
meluas seiring dengan proses pemasakan buah dan dapat bersatu. Ujung yang busuk dapat berkembang ke seluruh bagian buah (Martoredjo, 2013; Abd-Elsalam *et al.*, 2010).

Penyakit antraknosa pada buah pisang dapat menyerang pada semua jenis kultivar dengan gejala yang serupa. Dari hasil penelitian mengenai intensitas kerusakan yang disebabkan *C. musae* terhadap 6 varietas pisang yaitu; Pisang Dewaka, Ambon Kuning, Kepok, Raja, Empat Puluh Hari, dan Nona menunjukkan rata-rata kecepatan infeksi mulai terlihat setelah 3,5 hari. Infeksi pada buah pisang menunjukkan intensitas kerusakan yang berbeda dari setiap varietas pisang. Perbedaan intensitas kerusakan diduga dipengaruhi oleh tingkat ketebalan kulit pisang yang berbeda (Rumahlewang, 2012).



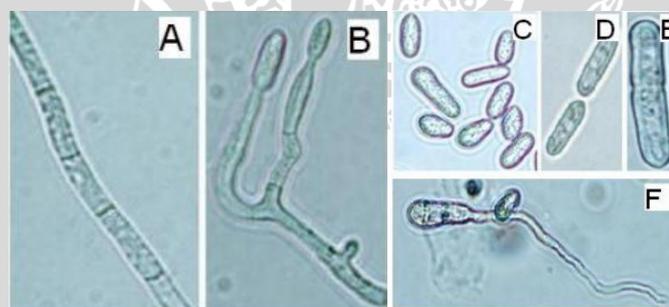
Gambar 7. Gejala Antraknosa pada buah pisang pasca panen (Sumber: Nelson, 2008)

Infeksi patogen *C. musae* berasal dari tanaman sakit dan disebarkan melalui berbagai cara dan selanjutnya berkembang pada buah. Cara patogen dalam menyerang inang meliputi a) kesalahan saat pemanenan, sehingga membuka jalan bagi patogen masuk melalui luka b) infeksi melalui lubang alami yang dimiliki inang c) infeksi melalui luka yang dihasilkan serangga hama, dan d) bakal buah yang terinfeksi (Droby, 2011). Konidia dapat berkecambah selama 4 jam dan membentuk apresorium dalam waktu 20 jam. Infeksi secara langsung membutuhkan waktu 24-48 jam dan menyebabkan sel di dekatnya menjadi hipersensitif hingga menghasilkan noda kecil berwarna coklat kemerahan pada kulit buah yang tetap dalam keadaan laten sampai buah dalam keadaan matang. Keadaan laten, disebabkan akibat adanya unsur pada inang yang menyebabkan oprosorium dorman (Martoredjo, 2013; Droby, 2011; Ara *et al.*, 2012; Silva, 2013).



Gambar 8. Kenampakan *C. musae* pada media PDA (Sumber: Su *et al.*, 2011)

Cendawan *C. musae* dapat diamati dari kenampakan makroskopis dan mikroskopis. Pada media PDA menunjukkan adanya koloni berwarna putih keabuan, merah muda dan oranye. Bagian tepi koloni halus, tidak beraturan dan permukaan koloni halus. Secara mikroskopis, konidia bersifat hialin, tidak bersekat, oval, dan berukuran $10,4-14,3 \times 3,2-5,2 \mu\text{m}$. Konidia dibentuk di ujung konidiofor tunggal, bersekat dan berukuran $30 \times 3,5 \mu\text{m}$. Aservulus berdiameter $400 \mu\text{m}$ dan mempunyai seta (Martoredjo, 2013; Thangamani *et al.*, 2011).



Gambar 9. Kenampakan mikroskopis *C. musae*, A: miselium yang bersekat, B: konidiofor, C-E: konidia, F: spora berkecambah (Sumber: Abd-Elsalam *et al.*, 2010)

Buah pisang memiliki sistem pertahanan diri dan perlawanan terhadap serangan patogen *C. musae*. Hal ini diperoleh dari komponen antifungi yang dimiliki inang. Dari hasil penelitian, kulit buah pisang mentah memiliki komponen antifungi. Sehingga dapat mencegah dan mempertahankan diri dari infeksi patogen *C. musae*. Selanjutnya proses perlawanan dilaksanakan inang ketika inang telah terserang patogen (Droby, 2011).

2.6 Mekanisme Antagonis Mikroba

Mikroba antagonis memiliki berbagai mekanisme dalam menekan pertumbuhan patogen tanaman. mekanisme tersebut seperti; 1) kompetisi ruang dan nutrisi, 2) parasitisme, 3) antibiosis, 4) menginduksi ketahanan inang, 5) perbaikan kemampuan inang (Kora *et al.*, 2008). *Kompetisi ruang dan nutrisi* merupakan kondisi dimana koloni yeast mendominasi suatu populasi. Dominasi ini akan mengakibatkan sebagian besar nutrisi dan ruang yang tersedia akan digunakan oleh yeast. Sehingga ketersediaannya berkurang untuk patogen. *Parasitisme* merupakan mekanisme penghancuran kondisi fisik patogen. hal ini dapat terjadi melalui interaksi sederhana antara hifa jamur antagonis yang melilit, mengacaukan pertumbuhan, membatasi, dan menghalangi pertumbuhan hifa patogen. Selanjutnya akan terjadi penetrasi melalui cara mekanis ataupun kimiawi menggunakan enzim seperti kitinase, protease, dan glukanase. *Antibiosis* merupakan mekanisme antagonis yang melibatkan senyawa yang dihasilkan oleh mikroba. Senyawa yang dihasilkan bersifat antibiotik atau bersifat racun bagi patogen atau yang bersifat fungistatis, memberikan efek lisis dan nekrotik bagi sel patogen. *Induksi ketahanan inang* merupakan salah satu bentuk kemampuan antagonis. Yeast antagonis memiliki kemampuan untuk berinteraksi jaringan inang, terutama pada luka dapat mempercepat proses penyembuhan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa sel yeast akan menginduksi proses pertahanan pada kulit buah melalui sekresi dan atau komponen yang terkandung dalam dinding sel aplikasi dari yeast antagonis dari genus *Rhodosporidium paludigenum* menginduksi peningkatan ketahanan jeruk mandarin dari patogen pasca panen melalui aktivasi enzim, seperti β -1,3-glukanase, phenilalanin ammonia-lyase, POD, dan polyphenoloksidase (Spadaro, 2015).

3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari-Juni 2016 di Laboratorium Mikologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah nampan plastik, kompor listrik (Oxone), panci, pisau, gunting, penggaris, Petridish (Duran), botol media (Duran), gelas ukur (Pyrex), tabung erlenmeyer (Duran), *beaker glass* (Pyrex), *object glass*, *cover glass* ukuran 18 x 18 mm, pipet tetes, mikropipet (Vitlab), tip, jarum ose, stik L, timbangan (Ohaus), tabung reaksi (Iwaki), rak tabung reaksi, pinset, spatula, *bunsen*, korek api, mikroskop (Olympus BX 41), handsprayer, autoklaf (Allmerican), *orbital shaker* (Protech model 722), *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), dan kamera digital (Nikon S2800).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: kulit buah pisang ambon, dan kulit buah pisang kepok, isolat *C. musae*, umbi kentang, dextrose, klorampenikol, agar, *ekstrak yeast*, *ekstrak malt*, *pepton*, aquades, spiritus, kertas label, kantong plastik, kapas, aluminium foil, plastik wrapping, dan tisu.

3.3 Metode Penelitian

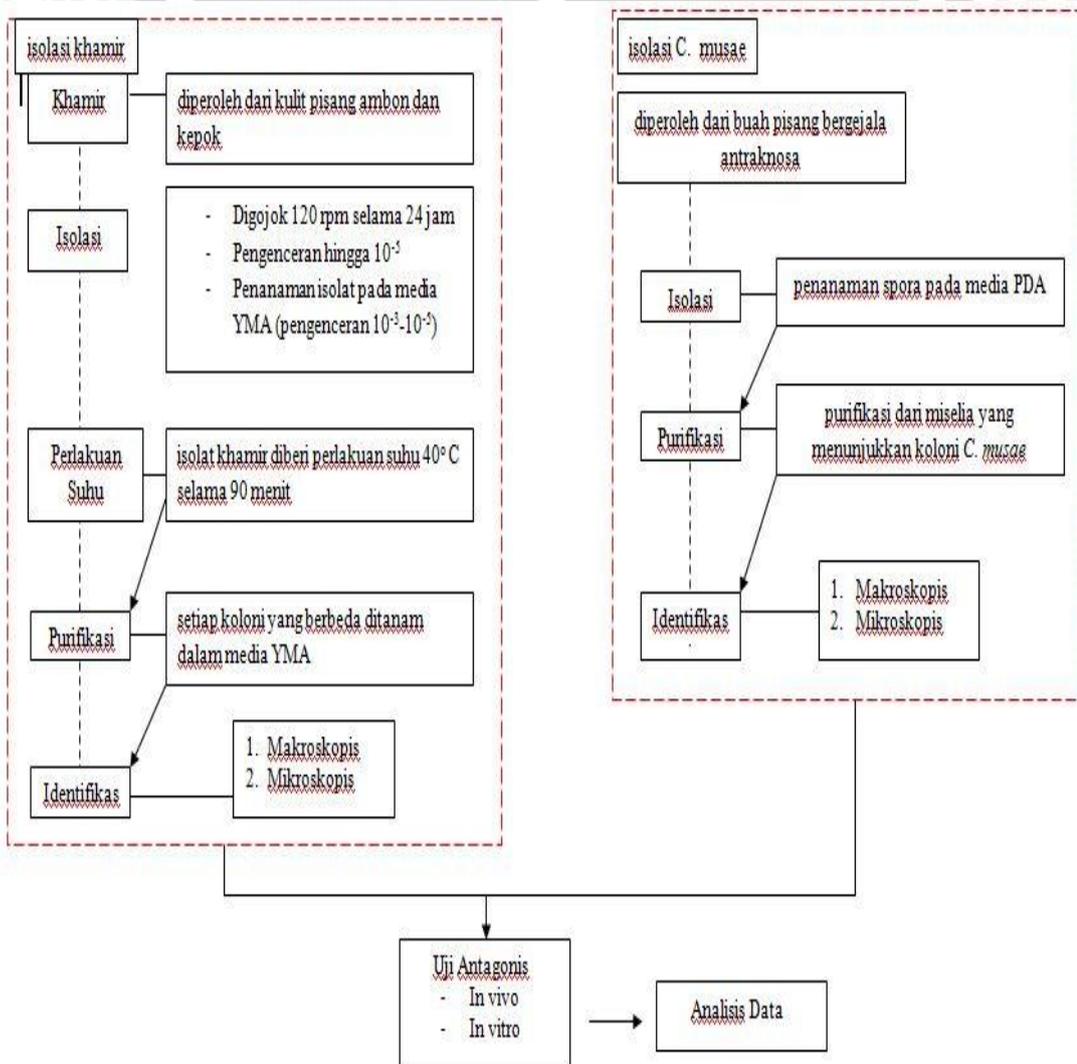
Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan metode eksplorasi dan eksperimental. Metode eksplorasi dilaksanakan dengan mengisolasi yeast dari kulit buah pisang ambon dan pisang kepok selanjutnya diberi perlakuan suhu 40° C dengan cara dioven. Metode eksperimen dilaksanakan dengan menguji daya hambat isolat yeast yang diperoleh terhadap patogen *C. musae* secara *in vitro* dan *in vivo*.

3.4 Persiapan Penelitian

3.4.1 Penyiapan media untuk yeast

Media untuk eksplorasi yeast menggunakan media *Yeast Malt Agar* (YMA). Media YMA termasuk media selektif untuk isolasi mikroorganisme dari jenis yeast. Untuk membuat 1000 mL media YMA diperlukan: ekstrak yeast 3 gram; ekstrak malt 3 g; pepton 5 g; dextrose 10

g; agar 20 g; klorampenikol 1 kapsul, aquades 1 L. Cara pembuatan media dilaksanakan dengan mendidihkan aquades bersamaan dengan semua bahan kecuali agar dan klorampenikol. Agar dimasukkan setelah aquades mendidih dan diaduk hingga merata, kemudian klorampenikol dimasukkan. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam botol media. Media dalam botol disterilkan menggunakan autoclave selama 20 menit dengan suhu 120°C (Sastrahidayat, 2014; Bergman, 2001).



Gambar 10. Kerangka operasional penelitian

3.4.2 Penyiapan media untuk patogen dan uji antagonis

Media isolasi patogen dan uji antagonis menggunakan media *Photatos Dextrose Agar* (PDA). Media PDA ialah media yang secara

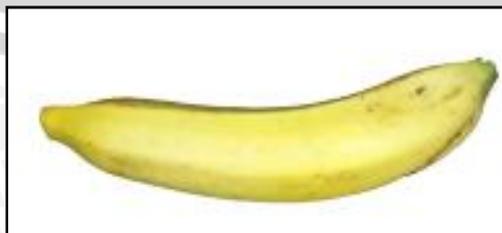
umum sering digunakan untuk isolasi patogen dan. Pembuatan 1000 mL PDA diperlukan: kentang 250 g; dextrose 20 g; agar 20 g; klorampenikol 2 butir (250 mg); aquades 1 L. Untuk membuat media PDA, kentang dikupas dan dipotong dadu dengan volume kurang lebih 1 cm³ kemudian dicuci hingga bersih. Selanjutnya kentang direbus dalam 1 L aquades hingga kentang lunak selama kurang lebih 1 jam. Setelah lunak, kentang ditiriskan dan diambil air hasil rebusan. Dextrose dimasukkan ke dalam sari kentang kemudian di-didihkan. Setelah mendidih agar dimasukkan dalam larutan dan diaduk hingga larut, kemudian klorampenikol dimasukkan. Botol media ditutup menggunakan kapas, dilapisi menggunakan aluminium foil selanjutnya dibalut dengan plastik wrap. Media dalam botol disterilkan menggunakan autoclave selama 20 menit dengan suhu 120° C (Sastrahidayat, 2014).

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Isolasi yeast dari kulit Pisang Ambon Kuning dan Pisang Kepok

1. Isolasi yeast dari kulit buah Pisang Ambon dan Pisang Kepok

Sampel diperoleh dari kulit buah pisang ambon dan kepok matang dari Pasar Merjosari, Kota Malang. Pisang yang sudah matang memiliki ciri-ciri kulit berwarna kuning merata dengan warna daging krem atau putih kekuningan dan tekstur buah agak lunak (Prabawati *et al.*, 2008). Kriteria kematangan buah pisang termasuk dalam indeks kematangan 6 (Wardlaw, 1972 dalam Aini, 1994). Pada pisang matang terjadi perubahan komponen nutrisi yang terkandung di dalam buah maupun pada kulit buah. Perubahan nutrisi yang terkandung di dalamnya memberikan lingkungan yang mendukung untuk pertumbuhan mikroba termasuk yeast.



Gambar 11. Buah pisang dengan indeks kematangan 6 (Sumber: Wardlaw,1972 dalam Aini, 1994; Prabawati *et al.*, 2008)

Isolasi dilaksanakan dengan metode pencucian. Suspensi dibuat dengan mengambil 10 g kulit buah pisang kemudian dilarutkan dalam 90 mL aquades selanjutnya digojok menggunakan *orbital shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Suspensi diencerkan secara berkala hingga konsentrasi 10^{-5} . Pada konsentrasi 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} yeast sebanyak 50 μ L dibiakkan dalam media YMA dengan metode cawan tuang (Fitriati *et al.*, 2013). Kegiatan isolasi dilaksanakan dengan kondisi aseptis untuk menghindari kontaminasi.

2. Perlakuan suhu 40° C pada isolat yeast hasil isolasi

Isolat yeast hasil isolasi diseleksi menggunakan suhu termotoleran mikroba. Isolat yeast hasil isolasi dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40° C selama 90 menit. Suhu oven disesuaikan pada kondisi 40° C. Setelah mencapai suhu yang diinginkan, isolat dimasukkan dan diinkubasi selama 90 menit. Hal ini disesuaikan dengan kondisi suhu minimum mikroba termofilik dan waktu perkembangan yeast pada media buatan (Kardos *et al.*, 2011; Bergman, 2001). Setelah dioven, yeast diinkubasi pada suhu ruangan hingga mengalami pertumbuhan. Inkubasi dilaksanakan kurang lebih selama 3-4 hari.

3. Perhitungan keragaman jenis (H') yeast termotoleran

Perhitungan keragaman jenis berfungsi untuk mengetahui tingkat keragaman yeast pada perlakuan suhu 40° C. Indeks keragaman merujuk pada Bower dan Zar (1977) dan rumus yang digunakan untuk menghitung indeks keragaman berdasarkan Ludwig dan Reynold (1988) dalam Tanzil (2014). Nilai keragaman selanjutnya dijadikan indeks dan disesuaikan dengan kriteria keragaman Shanon (Tabel 1).

$$H' = \sum_{i=1}^s \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$$

Keterangan:

- H' = Indeks keragaman Shanon (Tabel 2.)
- S = Jumlah spesies
- n_i = jumlah jenis ke- i dalam sampel total
- N = jumlah individu seluruh jenis

Tabel 2. Kriteria indeks keragaman

Nilai keanekaragaman (H')	Kriteria
$H' < 1,0$	Keanekaragaman rendah, penyebaran jumlah individu tiap jenis rendah.
$1,0 < H' \leq 3,0$	Keanekaragaman sedang, penyebaran jumlah individu tiap jenis sedang.
$H > 3,0$	Keanekaragaman tinggi, penyebaran jumlah individu tiap jenis tinggi.

(Sumber: Bower, 1977 dalam Tanzil, 2014)

4. Purifikasi yeast dari kulit buah Pisang Ambon Kuning dan Pisang Kepok

Perolehan koloni dilaksanakan dengan metode cawan gores pada media YMA. Metode cawan gores dilaksanakan dengan mengambil koloni yeast sebanyak 1 lup dan digores sebanyak 15 goresan pada media YMA menggunakan jarum ose menjadi 4 kuadran. Selanjutnya diinkubasi hingga muncul koloni tunggal.

5. Identifikasi yeast termotoleran

Identifikasi dilaksanakan dengan mengamati kenampakan yeast secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi makroskopis dilaksanakan dengan mengamati secara langsung kenampakan koloni yeast pada media YMA meliputi bentuk, warna, tekstur, tepian, dan elevasi koloni yeast. Sedangkan pengamatan morfologi sel dilihat di bawah mikroskop berdasarkan: bentuk dan ukuran sel, jenis reproduksi seksual dan aseksual, pola pertunasan, dan keberadaan pseudohifa (Jumiyati *et al.*, 2012; Barnett, 2011). Pengamatan mikroskopis dilaksanakan dengan menanam koloni pada preparat. Koloni tunggal diletakkan pada *object glass* dengan sedikit media. Selanjutnya ditutup menggunakan *cover glass* kemudian ditekan, putar 180° dan diinkubasi selama 24 jam dalam kondisi lembab dan aseptis. Setelah 24 jam koloni pada preparat siap diamati di mikroskop dengan perbesaran 400. Identifikasi mikroskopis dilaksanakan dengan mengamati kenampakan koloni di mikroskop. Sebagai sumber identifikasi yeast digunakan buku *The Yeast 5th Editions* karya Kurtzman tahun 2011.

3.5.2 Isolasi patogen *C. musae* dari buah pisang

Patogen *C. musae* diisolasi dari pisang ambon dengan gejala penyakit antraknosa. Selanjutnya, spora *C. musae* diambil menggunakan jarum steril dan digoreskan pada media PDA. Patogen yang telah tumbuh pada media PDA kemudian dimurnikan dengan cara memindahkan patogen yang memiliki ciri makroskopis menyerupai *C. musae* ke media biakan baru. Hal ini bertujuan untuk memperoleh biakan murni dari *C. musae*.

3.5.3 Penyimpanan isolat yeast dan patogen

Penyimpanan isolat yeast dan patogen *C. musae* dilaksanakan dengan membuat *stock culture*. Koloni yeast dan jamur patogen murni diinokulasikan pada medium PDA miring di dalam tabung reaksi. Yeast ditanam sebanyak 15 gores menggunakan jarum ose dari permukaan bawah hingga permukaan bagian atas media, sedangkan jamur patogen ditanam dengan metode *streak* lurus dari bagian bawah hingga atas medium. Selanjutnya biakan diinkubasi pada suhu 28° C hingga tumbuh. Selanjutnya *stock culture* disimpan dengan suhu 4° C. *Stock culture* yang disimpan dilakukan peremajaan setiap 6 bulan.

3.5.4 Uji antagonis yeast termotoleran dengan patogen *C. musae* secara *in vitro*

Uji antagonis secara *in vitro* antara yeast dengan patogen *C. musae* hasil isolasi merujuk pada Sugipriatini (2009). Metode ini dilaksanakan dengan menggoreskan sebanyak 1 lup isolat yeast secara melintang pada petridish. Biakan murni *C. musae* diambil menggunakan jarum ose, diletakkan pada sisi kanan dan kiri hasil goresan isolat yeast dengan jarak dari tepi 3 cm (Gambar 12). Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruangan. Pengamatan persentase tingkat hambatan relatif yeast terhadap *C. musae* dilaksanakan setiap hari hingga 10 HSI dengan mengukur jari-jari koloni patogen yang tumbuh ke arah goresan yeast. Perlakuan kontrol dilaksanakan dengan melakukan hal yang sama tanpa pemberian goresan isolat yeast. Persentase hambatan relatif yeast terhadap patogen tanaman dihitung menggunakan rumus:

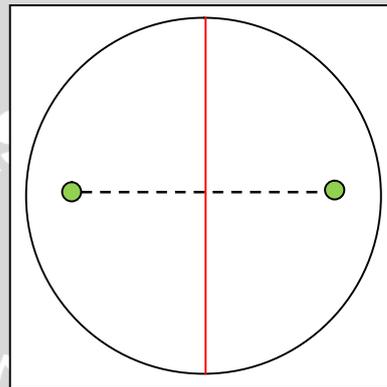
$$\text{THR} = \frac{dk - dp}{dk} \times 100\%$$

Keterangan:

THR = Tingkat hambatan relatif terhadap pertumbuhan patogen

dk = jumlah jari-jari koloni (r_1+r_2) patogen tanpa perlakuan yeast (kontrol)

dp = jumlah jari-jari koloni (r_1+r_2) patogen yang diberi perlakuan



Gambar 12. Bagan uji antagonis secara in vitro pada petridish

Keterangan:

- = Isolat khamir
- - - = Jari-jari koloni (r_1+r_2)
- = Isolat *C. musae*

Selanjutnya interaksi antara yeast dan patogen diamati menggunakan metode slide culture yang telah dimodifikasi. Metode ini dilaksanakan dengan membuat media PDA dengan ketebalan kurang lebih 2 mm. Media PDA dipotong dengan panjang kurang lebih 1 x 1 cm. Selanjutnya isolat yeast dan patogen digoreskan pada media dengan jarak 5 mm dan di tutup dengan cover glass. Preparat disimpan dalam cawan petri berisi tisu yang sudah dilembabkan menggunakan aquades steril. Pengamatan mikroskopis dilaksanakan pada hari ke 4 setelah preparasi.

3.5.5 Uji antagonis yeast termotoleran dengan patogen *C. musae* secara in vivo

Uji antagonis secara in vivo dilaksanakan dengan menanam isolat patogen dan yeast pada buah pisang. Buah pisang dicuci menggunakan air mengalir, selanjutnya ditiriskan hingga kering. Hal ini bertujuan untuk membersihkan permukaan buah dari kotoran. Setelah kering, permukaan

buah dibersihkan menggunakan alkohol 70% dengan cara disemprot dan dibiarkan hingga kering. Penyemprotan alkohol berfungsi untuk sterilisasi mikroba yang ada pada permukaan buah pisang. Kemudian, suspensi yeast dengan kerapatan 10^7 disemprot pada permukaan kulit buah hingga basah dan dibiarkan mengering. Selanjutnya buah pisang ditusuk sedalam kurang lebih 1 mm menggunakan jarum steril pada 3 bagian dan ditetesi suspensi *C. musae* sebanyak 1 tetes dengan kerapatan 10^6 . Pada perlakuan kontrol, setelah disterilkan buah pisang dilukai dan ditetesi suspensi patogen tanpa adanya perlakuan yeast. Selanjutnya masa inkubasi patogen diamati setiap hari hingga muncul gejala pertama kali. Selain masa inkubasi, persentase kejadian penyakit dihitung setelah 6 HSI. Persentase kejadian penyakit berdasarkan Fitriati (2013) dihitung menggunakan rumus:

$$KP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

KP = persentase kejadian penyakit

n = jumlah titik yang menimbulkan gejala

N = jumlah seluruh titik inokulasi

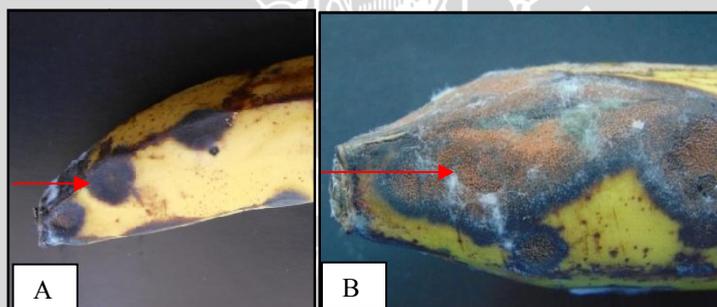
3.5.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian daya hambat yeast terhadap *Colletotrichum musae* dianalisis menggunakan analisis ragam (Anova). Selanjutnya apabila terdapat hasil yang berbeda nyata, akan dilanjutkan menggunakan uji BNT pada taraf 5%.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

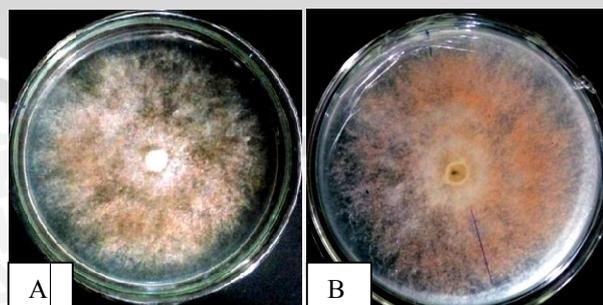
4.1 Isolasi dan Identifikasi Patogen *C. musae*

Isolasi patogen *C. musae* diperoleh dari buah pisang dengan gejala antraktosa. Gejala yang ditemukan berupa bercak coklat kehitaman pada permukaan kulit buah. Bercak tersebut terjadi akibat infeksi yang semakin meningkat. Selanjutnya gejala berkembang dan tumbuh masa serbuk berwarna merah muda hingga oranye setelah 7-8 hari (Gambar 13). Tekstur buah pisang yang terserang penyakit antraktosa menjadi lebih lunak. Gejala pada buah pisang yang sudah matang berupa noda berwarna coklat melekuik dan tertutup oleh masa konidia berwarna oranye atau merah jambu. Gejala dapat meluas seiring dengan proses pemasakan buah dan dapat bersatu. Ujung yang busuk dapat berkembang ke seluruh bagian buah (Abd-Elsalam *et al.*, 2010).



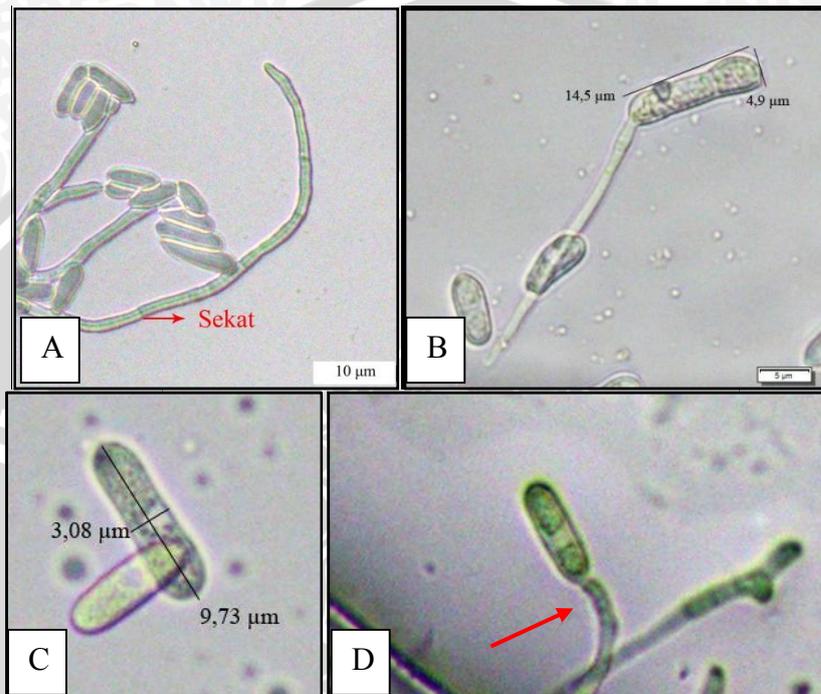
Gambar 13. Gejala serangan antraktosa pada buah pisang, A: Bercak coklat, B: Bercak berkembang menghasilkan serbuk oranye.

Makroskopis. Pada media PDA, isolat 7 HSI menunjukkan warna koloni putih keabuan hingga oranye. Permukaan koloni halus namun tidak rata. Selanjutnya koloni akan berangsur menghasilkan warna oranye pada kenampakan bawah koloni.



Gambar 14. Kenampakan makroskopis *C. musae* pada media PDA, A: Tampak atas, B: Tampak bawah

Mikroskopis. Kenampakan mikroskopis patogen *C. musae* menunjukkan adanya hifa hialin (tidak berwarna) dan bersekat (Gambar 13A). Konidia berbentuk basil (kapsul) dan tidak bersekat dengan panjang sekitar $9,73-14,5 \times 3,08-5 \mu\text{m}$ (Gambar 15C).



Gambar 15. Kenampakan mikroskopis *C. musae*, A: Hifa bersekat, B: Konidia berkecambah, C: Konidia, D: Konidiofor

C. musae pada media PDA menunjukkan adanya koloni berwarna putih keabuan, merah muda dan oranye. Bagian tepi koloni halus, tidak beraturan dan permukaan koloni halus. Secara mikroskopis, konidia bersifat hialin, tidak bersekat, oval, dan berukuran $10,4-14,3 \times 3,2-5,2 \mu\text{m}$. Konidia dibentuk di ujung konidiofor tunggal, konidiofor memiliki sekat dengan ukuran $30 \times 3,5 \mu\text{m}$. Aservulus berdiameter $400 \mu\text{m}$ dan mempunyai seta (Martoredjo, 2013).

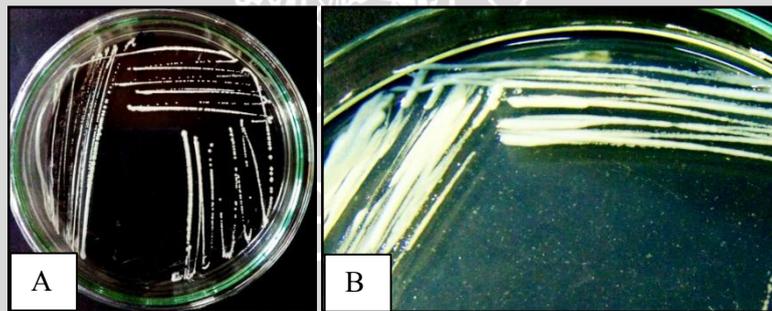
4.2 Isolasi dan Identifikasi Yeast Termotoleran

Hasil isolasi yeast termotoleran dari kulit buah pisang ambon dan kepok diperoleh 3 isolat. Isolat diperoleh dari hasil isolasi yeast dari kulit buah pisang ambon dan kepok dengan di oven pada suhu 40°C selama 90 menit. Dari hasil identifikasi yeast yang diperoleh dari pisang ambon yaitu *Candida* sp., sedangkan dari pisang kepok diperoleh dua isolat yaitu *Pichia* sp. dan *Metschnikowiya* sp.

Identifikasi dilaksanakan dengan mengamati kenampakan makroskopis dan mikroskopis koloni di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 x. Sebagai acuan identifikasi digunakan buku *The Yeast 5th Edition* oleh Kurtzman tahun 2011. Identifikasi dilaksanakan dengan mencari kecocokan karakter yang ada pada yeast yang ditemukan dengan ciri yang ada di buku acuan. Karakter mikroskopis dan makroskopis yeast yang diperoleh dari kulit pisang ambon dan kepek disajikan dalam Tabel 3.

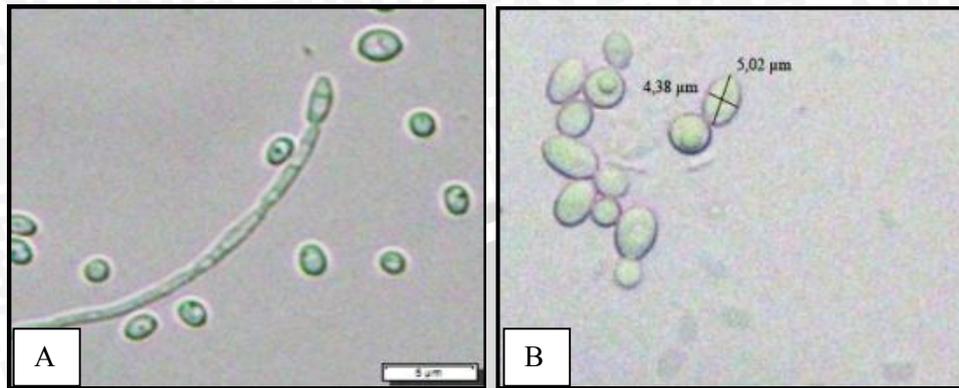
1. *Candida* sp.

Makroskopis. Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan ciri; tekstur kental, dengan warna putih tulang, permukaan lembut (Gambar 14A). Elevasi cembung dibagian tengah, dan memiliki tepian bergerigi (Gambar 14B).



Gambar 16. Kenampakan makroskopis *Candida* sp. pada media YMA, A: Koloni berwarna putih tulang, B: Permukaan cembung, tepian bergerigi

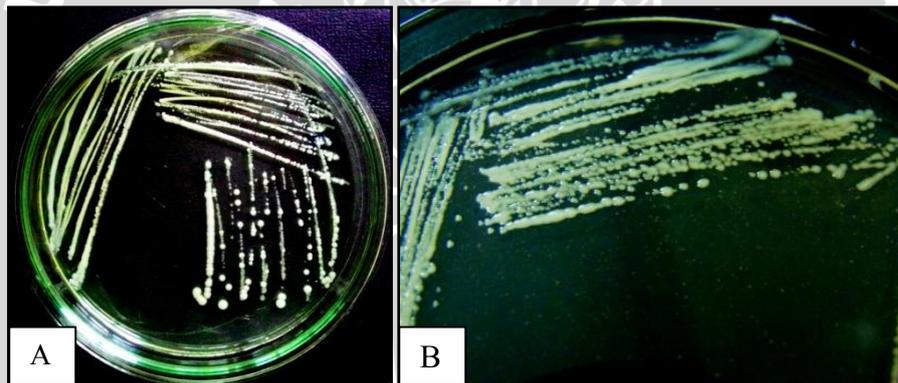
Mikroskopis. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan ciri; sel berbentuk oval (bulat memanjang dengan ujung sama besar), dengan ukuran sel 4,38-5,02 μm , satu sel memiliki 1 nukleus (Gambar 15B) dan tipe pertunasan multilateral (Gambar 15B), serta ditemukan hifa (Gambar 1A). Menurut Lachance (2011) *Candida* sp. yang dibiakkan pada suhu 25° C menunjukkan koloni berwarna putih kekuningan, berbutiran, permukaan cembung, tekstur koloni halus dan lembut. Sedangkan ciri-ciri mikroskopis *Candida* sp, memiliki sel tunggal dan berbentuk bulat, lonjong, atau bulat lonjong. Ukuran sel 1-5 μm dan pembelahan sel membentuk rantai pendek.



Gambar 17. Kenampakan mikroskopis *Candida* sp. dengan perbesaran 400x

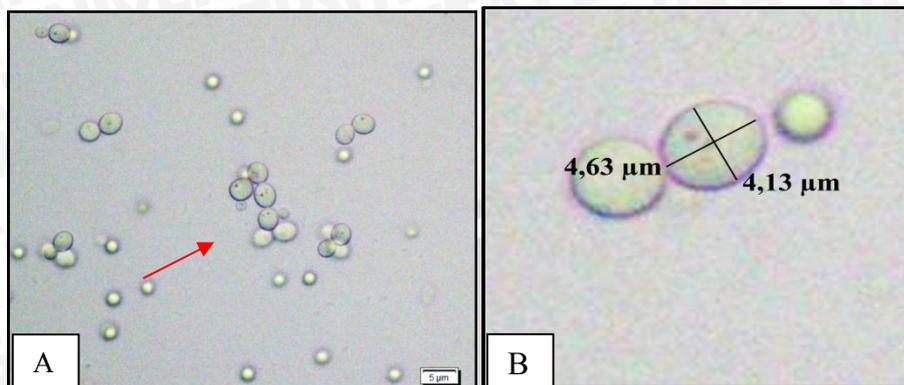
2. *Pichia* sp.

Makroskopis. Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan ciri; tekstur kental, dengan warna putih tulang, permukaan lembut (Gambar 16A). Elevasi cembung dibagian tengah, dan memiliki tepian bergerigi (Gambar 16B).



Gambar 18. Kenampakan makroskopis *Pichia* sp. pada media YMA, A: Koloni berwarna putih tulang, B: Permukaan cembung, tepian bergerigi

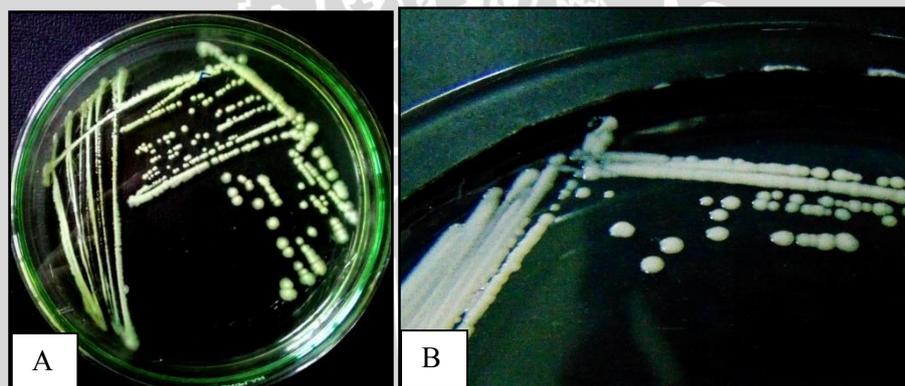
Mikroskopis. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan ciri; sel berbentuk bulat menyerupai telur, dengan ukuran sel 4-9 μm , satu sel memiliki 1 nukleus, terdapat sel melekat seperti rantai (Gambar 17A), dan tipe pertunasan multilateral (Gambar 17B). Kurtzman (2011) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan biakan *Pichia* sp. pada suhu 25° C menunjukkan koloni berwarna putih, berbentuk butiran cembung rendah, dan memiliki tekstur yang halus. Sedangkan ciri-ciri mikroskopis *Pichia* sp., memiliki sel berbentuk bulat telur memanjang dengan ukuran 2,9-10 μm , memiliki sel tunggal dan dapat membentuk rantai pendek dan membentuk pseudohifa.



Gambar 19. Kenampakan mikroskopis *Pichia* sp. dengan perbesaran 400x, ket: tanda panah menunjukkan pola seperti rantai

3. *Metschnikowiya* sp.

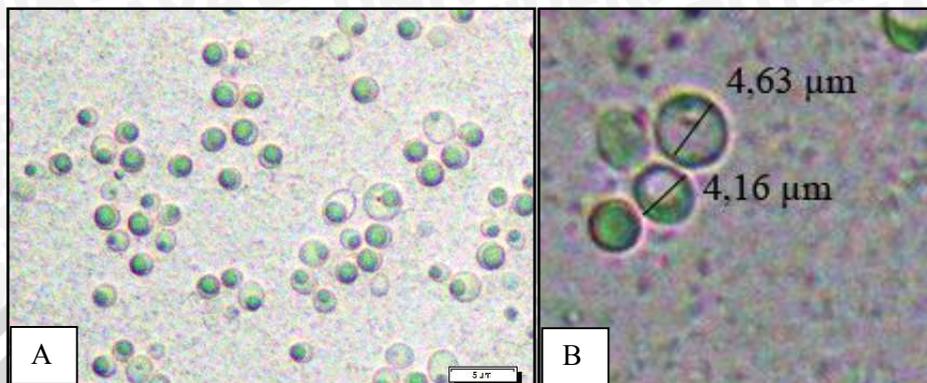
Makroskopis. Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan ciri; tekstur kental, dengan warna putih tulang, permukaan licin (Gambar 18A). Elevasi cembung dibagian tengah, dan memiliki tepian rata (Gambar 18B).



Gambar 20. Kenampakan makroskopis *Metschnikowia* sp. pada media YMA, A: Koloni berwarna putih tulang, B: Permukaan cembung, tepian rata

Mikroskopis. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan ciri; sel berbentuk bulat, dengan ukuran sel 4,13-4,63 μm , satu sel memiliki 1 nukleus (Gambar 19A), dan type pertunasan multilateral (Gambar 19B). Menurut Lachance (2011) *Metschnikowia* sp. yang ditumbuhkan pada suhu 25° C menunjukkan koloni yang mengkilap, berwarna putih, berbentuk butiran dan cembung. Sedangkan ciri-ciri mikroskopis *Metschnikowia* sp., sel-selnya berbentuk bulat hingga bulat telur, sel tunggal dan berpasangan dalam

kelompok kecil. Sel berukuran 3-8 μm dan membelah secara multilateral dengan 1 -3 tunas per sel.



Gambar 21. Kenampakan mikroskopis *Metschnikowia* sp. dengan perbesaran 400x

Tabel 3. Kenampakan makroskopis dan mikroskopis yeast termotoleran yang ditemukan

Nama Spesies	Ciri makroskopis				
	Warna koloni	Tekstur koloni	Permukaan koloni	Elevasi koloni	Tepi koloni
<i>Candida</i> sp.	Putih tulang	Kental	Lembut	Cembung	Bergerigi
<i>Pichia</i> sp.	Putih tulang	Kental	Lembut	Cembung	Bergerigi
<i>Metschnikowia</i> sp.	Putih tulang	Kental	Licin	Cembung	Rata
Nama Spesies	Ciri Mikroskopis				
	Bentuk sel	Ukuran sel (μm)	Reproduksi	Pola tunas	Hifa/pseudohifa
<i>Candida</i> sp.	Oval	4,48-5,02	Tunas	Multilateral	Ada
<i>Pichia</i> sp.	Bulat telur	4-9	Tunas	Multilateral	Tidak ada
<i>Metschnikowia</i> sp.	Bulat	4,13-4,62	Tunas	Multilateral	Tidak ada

4.2.1 Analisis keragaman yeast termotoleran pada kulit buah pisang ambon dan kepok

Yeast yang diperoleh berasal dari hasil isolasi menunjukkan nilai keragaman yang berbeda. Isolat yeast termotoleran dari kulit pisang yang diperoleh dengan perlakuan suhu 40° C selama 90 menit. Kulit pisang yang digunakan ialah pisang ambon yang mewakili varietas rentan dan pisang kepok yang mewakili varietas tahan. Suhu 40° C merupakan batas suhu minimum yang digunakan oleh mikroba termofilik, termasuk yeast. Sedangkan waktu 90 menit merupakan waktu yang diperlukan oleh yeast

untuk berkembang pada fase log. Fase log mikroorganisme merupakan fase pertumbuhan tercepat mikroba pada media buatan setelah adaptasi (Kardos *et al.*, 2011; Bergman, 2001). Selanjutnya dihitung jumlah koloni yang menunjukkan kenampakan berbeda dalam suatu populasi dalam cawan petri setelah mengalami perlakuan suhu.

Hasil pengamatan menunjukkan keragaman yeast termotoleran dari pisang kepok lebih tinggi dari pisang ambon. Hal ini terlihat dari nilai H' pisang kepok sebesar 3,48 dan pada pisang ambon bernilai 2,99. Pada pisang kepok ditemukan 2 jenis yeast sedangkan pada pisang ambon hanya ditemukan 1 jenis yeast, sehingga nilai keragaman pisang kepok lebih tinggi dari pisang ambon. Nilai indeks keragaman yeast termotoleran pada pisang kepok dan ambon dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Nilai keragaman yeast termotoleran pada pisang ambon dan kepok

Jenis Pisang	Hasil Perhitungan H'	Nilai H'	Keterangan
Kepok	3,48	$H' > 3,0$	Tinggi
Ambon	2,99	$3,0 > H' > 1,0$	Sedang

Perbedaan keragaman mikroba pada suatu populasi salah satunya dipengaruhi oleh faktor internal. Faktor internal yang mempengaruhi seperti kandungan senyawa pada kulit pisang. Dalam 100 gram kulit pisang mengandung karbohidrat 18,5% dan protein 0,32 %. Kandungan gizi tersebut menyebabkan keragaman yeast pada pisang kepok lebih beragam dibanding pada pisang ambon. Pisang kepok memiliki kandungan karbohidrat 2,8 gram dan 0,2 protein yang lebih tinggi dibanding pisang ambon (Prabawati *et al.*, 2008). Karbohidrat memiliki senyawa penyusun salah satunya berasal dari karbon. Mikroba yang berasal dari golongan jamur akan tumbuh dengan baik pada lingkungan yang mengandung sumber karbon tinggi sebagai sumber energi yang selanjutnya dapat mendukung metabolisme. Sedangkan protein merupakan sumber nitrogen bagi yeast. Nitrogen diperlukan yeast untuk sintesis protein dan asam nukleat. Sehingga semakin tinggi sumber nutrisi yang tersedia bagi mikroba, maka semakin tinggi jumlah mikroba dalam suatu populasi (Widayati, 2013).

4.3 Hasil Uji Antagonis Yeast dan Patogen *C. musae*

4.3.1 Uji Antagonis dengan perhitungan presentase tingkat hambatan relatif

Hasil uji antagonis secara *in vitro* dengan perhitungan persentase tingkat hambatan relatif tidak menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan patogen oleh yeast. Pengamatan dilaksanakan sejak 2 HSI dan berlangsung hingga 6 HSI pada perlakuan yeast (Tabel 5). Lama pengamatan disesaikan dengan variabel kontrol sebagai acuan perlakuan yang tidak diberi perlakuan yeast.

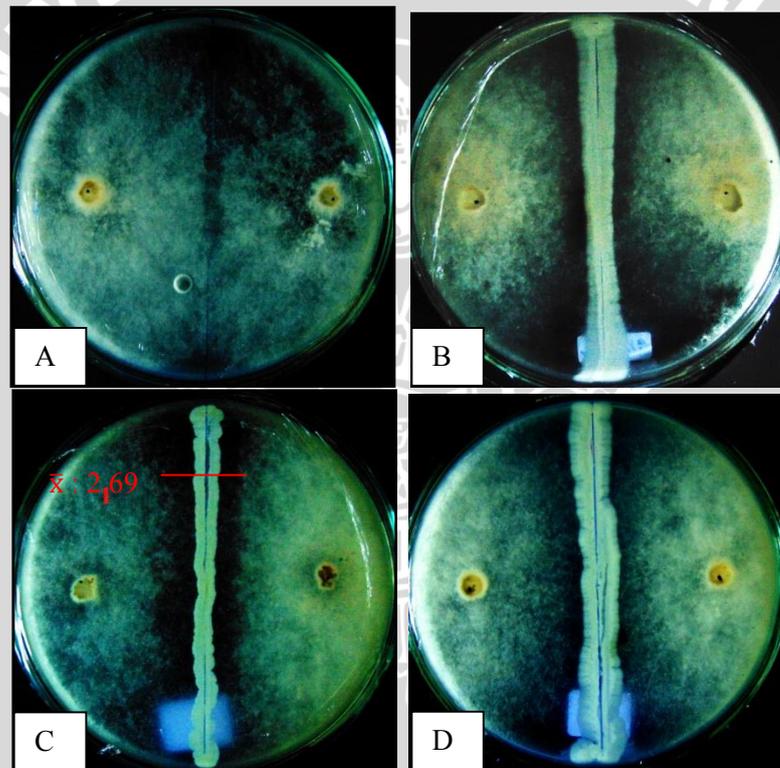
Tabel 5. Rata-rata persentase hambatan

Perlakuan Yeast	Nilai rata-rata persentase hambatan (%)				
	2 HSI	3 HSI	4 HSI	5 HSI	6 HSI
<i>Candida</i> sp.	20,89	6,42	13,85	10,41	0
<i>Pichia</i> sp.	18,48	14,15	30,11	10,83	8,33
<i>Metschnikowia</i> sp.	14,39	9,31	6,73	4,58	0

Keterangan: Untuk analisis data ditransformasi menggunakan $\arcsin \sqrt{x+0,5}$

Hasil uji antagonis yeast dengan *C. musae* secara *in vitro* tidak menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan terhadap rata-rata diameter koloni patogen. Hal ini terlihat dari perhitungan analisis sidik ragam yang menunjukkan nilai F hitung lebih kecil dari F tabel pada taraf kesalahan 5 % (Tabel Lampiran 1-5). Pengamatan dimulai pada 2 HSI, hal ini karena pada 1 HSI patogen belum menunjukkan adanya pertumbuhan. Setelah 2 HSI diameter patogen dihitung hingga 6 HSI. Perlakuan kontrol menunjukkan adanya pertumbuhan koloni patogen yang terjadi pada 2-6 HSI dan pada 6 HSI terlihat koloni patogen tumbuh memenuhi petridish (Gambar 22A). Perlakuan dengan yeast tidak menunjukkan adanya hambatan yang terjadi sejak 2-6 HSI. Pada 6 HSI persentase hambatan perlakuan *Candida* sp., dan *Metschnikowia* sp. menunjukkan nilai 0%. Meskipun pada 6 HSI nilai THR sebesar 0%, hifa patogen yang menuju koloni yeast pada perlakuan *Candida* sp. dan *Metschnikowia* sp. terlihat lebih tipis (Gambar 22B dan 22D). Pada perlakuan *Pichia* sp. masih menunjukkan adanya penghambatan sebesar 8,33 % (Tabel 4). Hal ini terlihat dari terdapat zona yang tidak ditumbuhi patogen (Gambar 22C).

Yeast memiliki kemampuan berkembang lebih cepat dibanding dengan jamur jenis lain. Yeast mengalami perkembangan pada 1 HSI, sedangkan patogen belum mengalami perkembangan. Hal ini karena yeast merupakan mikroorganisme yang adaptif terhadap lingkungan baru. Beberapa yeast dapat tumbuh pada lingkungan mikro dengan kondisi kandungan gula tinggi, tekanan osmotik tinggi, dan pH rendah (Lopez *et al.*, 2009). Koloni patogen belum menunjukkan adanya pertumbuhan pada 1 HSI, hal ini terjadi karena selain *C. musae* tidak terlalu adaptif pada lingkungan, pertumbuhan miselia mulai terlihat pada 2 HSI (Thangmani *et al.*, 2011).



Gambar 22. Hasil uji antagonis *in vitro* pada media PDA setelah 6 HSI, A: Kontrol, B; *Candida* sp., C: *Pichia* sp. (1: terlihat zona bening), D: *Metschnikowia* sp.

Yeast memiliki banyak peran dalam pengendalian penyakit tanaman, terutama penyakit pasca panen. Yeast yang berhasil diidentifikasi dari buah avokad salah satunya *Candida* sp. dan *Pichia* sp. berhasil digunakan sebagai agen biokontrol *Colletotrichum gloeosporioides* (Fitriati *et al.*, 2013). Yeast dari genus *Pichia* sp. dan *Metschnikowia* sp. dilaporkan mampu menekan

pertumbuhan patogen *Colletotrichum* sp. pada buah cabai, buncis, dan stroberi. Senyawa antibiotik dihasilkan oleh yeast dan mengakibatkan pertumbuhan patogen menjadi terhambat (Puspitasari *et al.*, 2014).

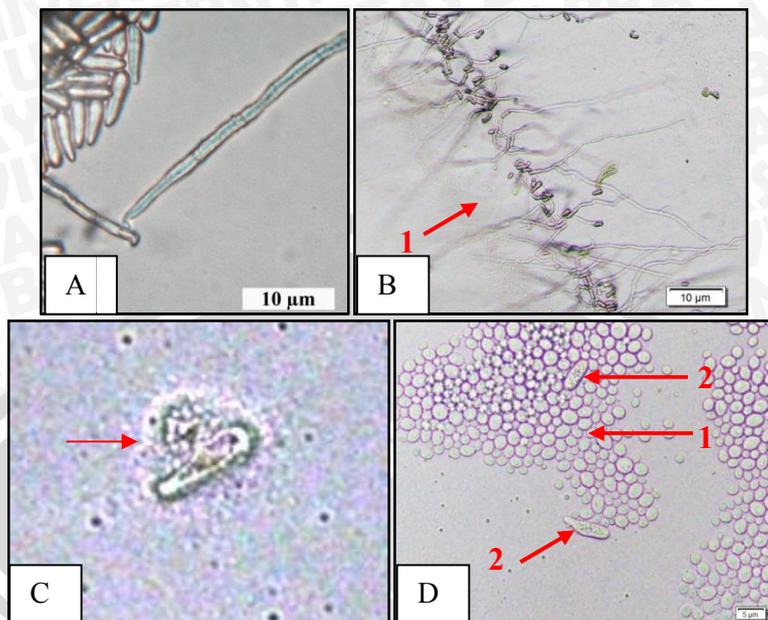
Terdapat beberapa mekanisme antagonis dalam menekan pertumbuhan patogen tanaman. Beberapa mikroba antagonis patogen memiliki mekanisme antibiosis, parasitisme, dan kompetisi. Pada pengujian dengan menghitung tingkat hambatan relatif menunjukkan adanya zona yang tidak ditumbuhi patogen atau terdapat zona hambat (Yulia, 2007). Zona hambat dapat terjadi akibat proses penghambatan pertumbuhan suatu organisme oleh suatu senyawa metabolit yang dihasilkan oleh organisme lain (Kora *et al.*, 2008). Yeast dapat menghasilkan komponene antifungi, seperti senyawa racun, peptida, dan metabolit yang bersifat antibiotik. Beberapa strain yeast menghasilkan protein ekstraseluler yang bersifat racun. Senyawa racun yang dihasilkan yeast dapat bersifat racun bagi sesama yeast maupun patogen (Spadaro, 2015).

4.3.2 Karakteristik antagonis dengan slide culture

Pengujian antagonis dengan menggunakan metode slide culture diperoleh dari metode slide culture yang dimodifikasi. Slide culture merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui kenampakan mikroskopis mikroba jamur. Modifikasi dilakukan untuk mengetahui interaksi antara patogen *C. musae* dengan perlakuan yeast yang diperoleh. Untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara perlakuan yeast dan patogen, disajikan pada Tabel 6. Dalam Tabel 6. Dijelaskan mengenai karakteristik antagonis yang terjadi pada pengujian slide culture.

Tabel 6. Karakteristik antagonis yang terjadi antara *C. musae* dan yeast hasil isolasi

Perlakuan Yeast	Karakteristik Antagonis
<i>Candida</i> sp.	Sel dan hifa patogen tetap utuh (Gambar 23B)
<i>Pichia</i> sp.	Sel patogen terlihat tidak normal (Gambar 23C)
<i>Metschnikowia</i> sp.	Jumlah sel patogen lebih sedikit daripada jumlah sel yeast (Gambar 23D)



Gambar 23. Hasil uji antagonis menggunakan *slide culture*, A: Kontrol, B: *Candida* sp. (tanda panah menunjukkan sel patogen yang rusak) C. *Pichia* sp. (1: Koloni yeast, 2: Sel patogen lisis), D: *Metschnikowia* sp. (1: Koloni yeast, 2: Konidia patogen)

Dari hasil pengujian menggunakan slide culture menunjukkan adanya beberapa sifat antagonis. Karakteristik antagonis yang dilakukan oleh yeast terlihat adanya kerusakan pada sel konidia patogen pada perlakuan *Pichia* sp.. Kerusakan dapat terjadi akibat adanya kontak antara sel patogen dengan enzim yang dihasilkan oleh yeast. Yeast menghasilkan enzim litik dan senyawa yang bersifat racun bagi patogen. Keduanya dapat berinteraksi untuk menghasilkan sifat antagonistik (Moyano *et al.*, 2015). Hal ini terlihat dari kenampakan patogen yang tumbuh dekat dengan yeast akan terlihat rapuh. Kerusakan tersebut disebabkan oleh senyawa racun yang dihasilkan oleh yeast. Senyawa racun akan mengganggu permeabilitas membran sel, sehingga sel patogen mengalami kerusakan (Dhiani, 2012). Selanjutnya kompetisi pada perlakuan yeast *Metschnikowia* sp. Hal ini ditunjukkan oleh yeast yang menempel pada konidia dan miselia patogen. Yeast menempel pada patogen untuk memperoleh nutrisi dari inang dengan merusak struktur miselia patogen melalui mekanisme kimiawi menggunakan enzim glukonase atau kitinase dan penetrasi mekanis (Kora *et al.*, 2008). Selain itu laju pertumbuhan yeast yang relatif lebih cepat dibanding dengan patogen akan

mempengaruhi ketersediaan ruang bagi patogen untuk tumbuh dan berkembang. Peningkatan populasi yeast menyebabkan patogen kekurangan nutrisi, sehingga germinasi patogen menurun. Yeast epifit memiliki kemampuan antagonis karena mudah beradaptasi dan tumbuh dengan cepat, sehingga populasi yeast dapat meningkat pada habitat alami. Hal tersebut mengakibatkan yeast dapat lebih unggul dalam menguasai nutrisi lingkungan hidup dibandingkan dengan patogen (Dhiani, 2012). Selain memiliki kemampuan adaptif yang baik, yeast mengalami pertumbuhan lebih cepat dibanding patogen. Pada media PDA, yeast menunjukkan pertumbuhan pada 1 HSI, sedangkan patogen baru menunjukkan adanya pertumbuhan miselia pada 2 HSI.

4.3.3 Uji antagonis secara *in vivo*

1. Pengaruh yeast terhadap persentase kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen

Uji antagonis secara *in vivo* dilaksanakan untuk mengetahui nilai kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen pada 2 varietas pisang. Pengaruh yeast terhadap persentase tingkat kejadian penyakit dan masa inkubasi dapat dilihat pada Tabel 7 dan 8.

Tabel 7. Pengaruh yeast terhadap tingkat kejadian penyakit

Perlakuan Yeast	Tingkat Kejadian Penyakit (%)
<i>Candida</i> sp.	90,47
<i>Pichia</i> sp.	90,47
<i>Metschnikowia</i> sp.	95,23
Tanpa Yeast	95,23

Perlakuan yeast tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap persentase kejadian penyakit. Pada tabel ditunjukkan adanya perbedaan nilai persentase kejadian penyakit. Namun dari hasil analisis ragam menunjukkan tidak adanya pengaruh dari perlakuan yeast terhadap persentase kejadian penyakit. Sehingga dari hasil uji lanjut menggunakan BNT dengan taraf kesalahan 5% menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada semua perlakuan.

Tabel 8. Pengaruh yeast terhadap masa inkubasi patogen

Perlakuan Varietas	Masa Inkubasi (Hari)
Tanpa Yeast	2,35
<i>Candida</i> sp.	2,42
<i>Pichia</i> sp.	2,50
<i>Metschnikowia</i> sp.	2,42

Perlakuan yeast tidak menunjukkan hasil berbeda nyata terhadap lama masa inkubasi patogen. Meskipun menunjukkan lama hari yang berbeda pada setiap perlakuan. Dari hasil analisis ragam menunjukkan tidak adanya pengaruh antara perlakuan yeast dan kontrol.

Yeast yang diaplikasikan lebih dahulu daripada isolat patogen memperoleh keuntungan dalam hal adaptasi. Adaptasi dilakukan untuk penyesuaian pada lingkungan baru pada inang, perolehan ruang untuk hidup, dan nutrisi. Isolat patogen yang diinokulasikan pada inang yang sudah ditumbuhi yeast antagonis, patogen akan mengalami kekurangan ruang dan nutrisi untuk melakukan pertumbuhan. Yeast antagonis yang dibiakan 8 jam lebih awal daripada biakan patogen menunjukkan adanya daya antagonis tinggi. Daya antagonis dilihat dari berkurangnya lebar koloni patogen (Fenina, 2012). Pada penelitian yang serupa menunjukkan bahwa aplikasi *Candida famata* 24 jam lebih awal dari patogen dapat menginduksi resistensi tanaman terhadap serangan patogen. Hal ini dapat terjadi karena yeast menginduksi aktifitas enzim kitinase dan mengakibatkan kerusakan pada komponen patogen (Spadaro, 2015).

2. Pengaruh varietas pisang terhadap persentase kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen

Uji antagonis secara *in vivo* dengan perlakuan varietas pisang. Pisang yang digunakan ialah pisang ambon dan pisang kepok. Pisang ambon mewakili varietas rentan dan pisang kepok mewakili varietas tahan, perbedaan ketahanan ini diakibatkan karena struktur ketebalan kulit yang berbeda serta keberadaan nutrisi pada varietas buah yang berbeda (Rumahlewang, 2012). Pada pisang ambon persentase kejadian penyakit yang terjadi sebesar 100 % pada 6 HSI, sedangkan pada pisang kepok sebesar 85,70 % (Tabel 9).

Tabel 9. Pengaruh varietas terhadap kejadian penyakit

Perlakuan Varietas	Persentase Kejadian Penyakit (%)
Ambon	100 a
Kepok	85,70 b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata (BNT 5%)

Tabel 10. Pengaruh varietas terhadap masa inkubasi patogen *C. musae*

Perlakuan Varietas	Masa Inkubasi (Hari)
Ambon	2,03 a
Kepok	2,82 b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata (BNT 5%)

Perlakuan varietas memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap masa inkubasi patogen (Lampiran 7). Hasil uji lanjut pada perlakuan varietas terhadap masa inkubasi patogen dapat dilihat pada Tabel 8. Rata-rata masa inkubasi pada pisang varietas ambon terjadi selama 2,03 hari, sedangkan pada buah pisang varietas kepok terjadi selama 2,82 hari. Masa inkubasi yang diperlukan *C. musae* untuk menginfeksi beberapa varietas buah pisang dalam keadaan mentah rata-rata terjadi selama 3,5 HSI. Infeksi semakin meningkat seiring dengan peningkatan tingkat kematangan buah. Hal ini disebabkan oleh ketersediaan nutrisi patogen. Sehingga infeksi pada buah matang memiliki laju yang semakin cepat dan berpengaruh terhadap masa inkubasi (Rumahlewang, 2012). Konidia dapat berkecambah selama 4 jam dan membentuk apresorium dalam waktu 20 jam. Infeksi secara langsung membutuhkan waktu 24-48 jam dan menyebabkan sel di dekatnya menjadi hipersensitif hingga menghasilkan noda kecil berwarna coklat kemerahan pada kulit buah yang tetap dalam keadaan laten sampai buah dalam keadaan matang. Keadaan laten, disebabkan akibat adanya unsur pada inang yang menyebabkan oprosorium dorman (Martoredjo, 2013; Droby, 2011; Ara *et al.*, 2012; Silva, 2013).

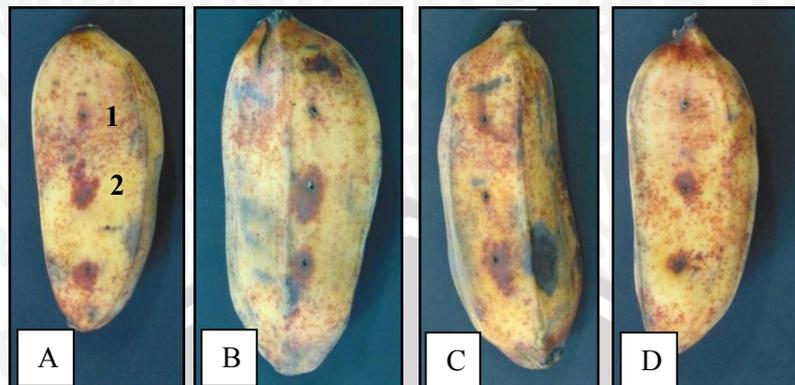
3. Pengaruh interaksi perlakuan yeast dan varietas terhadap persentase kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen

Kombinasi perlakuan yeast dan varietas tidak menunjukkan pengaruh terhadap kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen pada buah pisang (Lampiran 7). Sehingga dapat dipastikan bahwa tidak terdapat interaksi antara perlakuan yeast dan varietas pisang. Hasil kombinasi perlakuan varietas dan yeast terhadap masa inkubasi dan tingkat kejadian penyakit dapat dilihat pada Tabel 11.

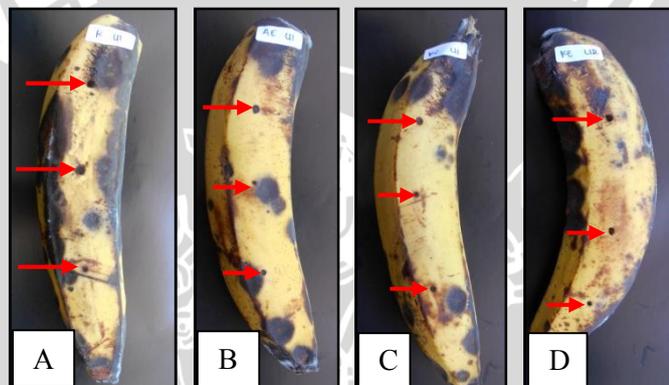
Tabel 11. Pengaruh kombinasi yeast dan varietas pisang terhadap tingkat kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen

Perlakuan Yeast	Perlakuan Varietas	Tingkat Kejadian Penyakit (%)	Masa Inkubasi Patogen (Hari)
<i>Candida</i> sp.	Ambon	100	2
	Kepok	80,94	2,85
<i>Pichia</i> sp.	Ambon	100	2,14
	Kepok	80,94	2,85
<i>Metschnikowia</i> sp.	Ambon	100	2
	Kepok	90,47	2,85
Tanpa Yeast	Ambon	100	2
	Kepok	90,47	2,71

Perlakuan interaksi yeast dan varietas pisang tidak memberikan pengaruh terhadap tingkat kejadian penyakit dan masa inkubasi patogen. Pada 6 HSI terlihat adanya tingkat kejadian penyakit sebesar 80,94 - 100 % pada kombinasi perlakuan yeast dan varietas. Hasil persentase tingkat kejadian penyakit pada kombinasi yeast dan pisang ambon menunjukkan persentase yang lebih besar (Gambar 25) dibanding dengan kombinasi yeast dan pisang kepok (Gambar 24). Selanjutnya perlakuan kombinasi yeast dan varietas menunjukkan hasil masa inkubasi terjadi selama 2 - 2,85 hari. Hasil kombinasi yeast dan pisang kepok menunjukkan rata-rata masa inkubasi yang sedikit lebih lama dibandingkan interaksi antara yeast dan pisang ambon (Tabel 10).



Gambar 24. Tingkat kejadian penyakit pada pisang kepok, A: Kontrol, B: *Candida* sp., C: *Pichia* sp., D: *Metchnokowia* sp., ket: 1) tidak menimbulkan gejala, 2) gejala antraknosa



Gambar 25. Tingkat kejadian penyakit *C. musae* pada pisang ambon, A: Kontrol, B: *Candida* sp., C: *Pichia* sp., D: *Metchnokowia* sp., ket: tanda panah menunjukkan infeksi *C. musae*

Infeksi *C. musae* dipengaruhi oleh tingkat kematangan dan varietas buah pisang. Buah pisang yang digunakan dalam penelitian ini ialah buah yang memiliki indeks kematangan 6. Dalam kondisi ini buah memiliki ciri kulit kuning merata dan lunak. Selama pemasakan, terjadi perubahan biokimia pada setiap komponen buah yang berperan penting bagi patogen. Pada pematangan buah pisang terjadi peningkatan jumlah etilen. Peningkatan etilen mempengaruhi pemecahan komponen gula pada kulit buah. Perubahan tersebut berupa perubahan pati yang tidak larut menjadi glukosa larut. Selanjutnya kandungan glukosa dikaitkan dengan tingkat ketahanan inang terhadap kolonisasi patogen. Selain itu kulit buah pisang mentah memiliki komponen antifungi. Sehingga dapat mencegah dan mempertahankan diri dari infeksi patogen *C. musae* (Droby, 2011).

Sedangkan varietas mempengaruhi kandungan nutrisi komponen buah seperti kulit dan ketebalan kulit buah. Nutrisi yang terkandung dalam varietas pisang ambon cenderung lebih tinggi dibanding pisang kepok ketika sudah matang. Nutrisi yang terkandung dalam buah pisang akan mempengaruhi komponen nutrisi pada kulit pisang. Selanjutnya ketebalan kulit buah pisang kepok lebih tipis dibanding pisang ambon. Perkembangan *C. musae* pada buah akan lambat pada kulit buah varietas pisang kepok yang tebal dan tetap keras setelah masak (Rumahlewang, 2013).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian diperoleh kesimpulan bahwa terdapat yeast termotoleran pada kulit buah pisang ambon dan pisang kepok. Dari pisang ambon diperoleh genus *Candida* sp. sedangkan dari pisang kepok diperoleh genus *Pichia* sp. dan *Metschnikowia* sp. Yeast termotolerant dari kulit pisang kepok lebih beragam dibandingkan dari kulit pisang ambon. Dari hasil uji antagonis secara *in vitro* dan *in vitro*, yeast yang ditemukan dapat menghambat pertumbuhan patogen *C. musae*. Perlakuan varietas memberikan pengaruh terhadap masa inkubasi dan tingkat kejadian penyakit.

5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilaksanakan, perlu diadakan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Identifikasi yeast secara molekuler hingga tingkat spesies untuk menguatkan hasil identifikasi.
2. Pengujian antagonis yeast secara *in-vitro* menggunakan metode slide culture perlu dilanjutkan dengan menggunakan mikroskop lebih canggih untuk memastikan mekanisme antagonis yang terjadi.
3. Pengujian antagonis yeast terhadap patogen *C. musae* secara *in vivo* perlu diperluas menggunakan pisang dengan varietas yang lebih beragam serta pemberian perlakuan suhu sesuai kondisi suhu pemeraman.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd-Elsalam, K. A., S. Roshdy, O. E. Amin, M. Rabani. 2010. First morphogenetic identification of the fungal pathogen *Colletotrichum musae* from imported bananas in Saudi Arabia. Genetic Molecular Research. Saudi Arabia 9 (4): 2335-2342
- Aini, N. 1994. Pengaruh suhu dan penambahan gas etilen pada kelembaban tinggi terhadap kecepatan proses pemeraman dan mutu buah pisang (*Musa paradisiaca*) cv. Ambon Putih. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Ara, I., H. Razwana, M. R. Al-Othman, M. A. Bakir. 2012. Studies of actinomycetes for biological control of *Colletotrichum musae* pathogen during post harvest antracnose of banana. African Journal of Microbiology Research 6 (17): 3879-3886
- Babiker, M. A., Abdel-Benat, H. Hoshida, A. Ano, A. Nonklang, A. Akada. 2010. High-temperature fermentation: how can process for ethanol production at high temperatures become superior to the traditional process using mesophilic yeast. Jurnal Application Microbial Technology 85: 861-867
- Barnett, J., L. Barnett. 2011. Yeast research: a historical approach. ASM Press. Washington
- Bergman, L. W. 2001. Growth and maintenance of yeast. Hal: 9-32. Dalam MacDonald, P. N. (Ed.). Method in molecular biology volume. 177 two hybrid systems: methods and protocols. Humana Press Inc. New Jersey
- Boyette, C. D., R. E. Hoagland, M. A. Weafer, K. Stetina. 2012. Biological control potential of *Colletotrichum gloeosporioides* for coffee senna (*Cassia occidentalis*). American Journal of Plant Sciences 3: 430-436
- Cooper, C. R. 2011. Yeast pathogenic to human. Hal: 9-20. Dalam Kurtzman, C. P., J. W. Fell, T. Boekhout. (Eds.). The yeast, a taxonomic study volume 1 fifth edition. Elsevier. London
- Dhiani, H. P. 2012. Kemampuan antagonisme khamir filum *Ascomycota* dari tanaman saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) asal Trowulan terhadap *Aspergillus* spp. UICC. Skripsi. Universitas Indonesia. Depok
- Droby, S. 2011. Postharvest pathology of tropical fruit and strategies for decay control. Hal: 194-216. Dalam Yahia, E. M. (Ed.). Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits volume 1: fundamental issues. Woodhead Publishing. Cambridge

- Ediningsari, A. R. 2008. Identifikasi khamir dari perairan mangrove dan laut Cagar Alam Pulau Rambut berdasarkan daerah internal transcribed spacer (ITS). Skripsi. Universitas Indonesia. Depok
- El-Kersh, T., R. A. Alakeel, A. H. Alhamidi, Z. Z. Al-Ahmadey. 2014. Effect of incubation temperature and human serum on yeast to hyphal morphogenesis in vaginal *Candida albicans* and its correlation to virulence markers. *Jurnal British Microbiology Research* 4 (7): 798-812
- Fenina, Seyla. 2012. Kemampuan antagonisme khamir filum *Basidiomycota* dari tanaman saeh (*Broussonetia papyfera* Vent.) asal Trowulan terhadap *Aspergillus* spp. UICC. Skripsi. Universitas Indonesia. Depok.
- Fitriati, Y., S. Wiyono, I. O. Sumaraw. 2013. Khamir antagonis untuk pengendalian penyakit antraknosa pada buah avokad selama penyimpanan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 9 (5): 153-159
- Hartati, S. Wiyono, S., S. H. Hidayat, M. S. Sinaga. 2014. Seleksi khamir epifit sebagai agens antagonis penyakit antraknosa pada cabai. *Institut Pertanian Bogor. Bogor* 24 (3): 258-265
- Jagtap, G. P., P. L. Sontakke. 2009. Taxonomy and morphology of *Colletotrichum truncatum* isolates pathogenic to soybean. *African Journal of Agricultural Research* 4 (12): 1483-1487
- Jumiyati., S. H. Bintari, I. Mubarak. 2012. Isolasi dan identifikasi khamir secara morfologi di tanah kebun wisata pendidikan Universitas Negeri Semarang. *Jurnal Biosaintifika* 4 (1): 27-35
- Kardos, L., A. Juhasz, G. Y. Palko, J. Olah, K. Barkacs, G. Y. Zaray. 2011. Comparing of mesophilic and thermophilic anaerobic fermented sewage sludge based on chemical and biochemical test. *Journal of Applied Ecology and Environmental Research* 9 (3): 293-302
- Kora, C., M. R. McDonald, G. J. Boland. 2008. New progress in the integrated management of sclerotinia rot of carrot. Hal: 243-270. Dalam Aiancio, A., K. G. Mukerji. (Eds.). *Integrated management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria*. Springer Science. New York
- Kurtzman, C. P. 2011. *Pichia* E.C. Hansen. Hal: 685-696. Dalam Kurtzman, C. P., J. W. Fell, T. Boekhout. (Eds.). *The yeast taxonomic study volume 1 fifth edition*. Elsevier. London

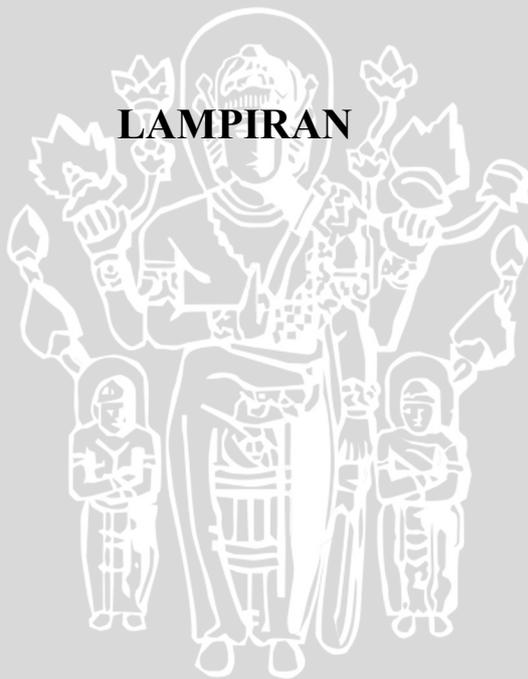
- Kurtzman, C. P., J. W. Fell, T. Boekhout, V. Robert. 2011. Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeast. Hal: 87-110. Dalam Kurtzman, C. P., J. W. Fell, T. Boekhout. (Eds.). The yeast taxonomic study volume 1 fifth edition. Elsevier. London
- Kusdarwati, R. 2012. Mikrobiologi (Fungi). (Online). (http://www.f_13838_dasarfungi.pdf). Diakses pada 21 Maret 2016, 18.57
- Lachance, M. A. 2011. *Metschnikowia kamienski*. Hal: 575-620. Dalam Kurtzman, C. P., J. W. Fell, T. Boekhout. (Eds.). The yeast taxonomic study volume 1 fifth edition. Elsevier. London
- Lachance, M. A., T. Boekhout, G. Scorzetti, J. W. Fell, C. P. Kurtzman. 2011. *Candida berkhout*. Hal: 987-1278. Dalam Kurtzman, C. P., J. W. Fell, T. Boekhout. (Eds.). The yeast taxonomic study volume 1 fifth edition. Elsevier. London
- Lopez, F. N. A., S. Orlic, A. Querol, E. Barrio. 2009. Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S.kudriavzevii* and their interspecific hybrid. International Journal of Food and Microbiology. 131 (2009): 120-127
- Martoredjo, T. 2013. Ilmu penyakit pasca panen. PT Bumi Aksara. Jakarta
- Moyano, S. R., A. Martin, M. C. Villalobos, A. Calle, M. J. Serradilla, M. G. Cordoba, A. Hernandez. 2015. Yeast isolated from figs (*Ficus carica* L.) as biocontrol agents of postharvest fruit diseases. Food Microbiology Journal. 57 (2016): 45-53
- Nelson, S. 2008. Postharvest rots of banana. (Online). (<http://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/pd-54.pdf>). Diakses pada 9 Januari 2016, 13.09
- Nurjanah, S. 2002. Kajian laju respirasi dan produksi etilen sebagai dasar penentuan waktu simpan sayuran dan buah-buahan. Jurnal Bionatura 4 (3): 148-156
- Photita, W., P. W. J. Taylor, R. Ford, K. D. Hyde, S. Lumyong. 2005. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum* species from herbaceous plants in Thailand. Journal of Fungal Diversity 18: 117-133

- Prabawati, S., Suyanti, D. A. Setyabudi. 2008. Teknologi pasca panen dan teknik pengolahan buah pisang. Balai Besar Litbang Pasca Panen Pertanian. Jakarta Selatan
- Puspitasari, A. E., A. L. Abadi, L. Sulistyowati. 2014. Potensi khamir sebagai agens pengendali hayati patogen *Colletotrichum* sp. Pada buah cabai, buncis, dan stroberi. Jurnal HPT 2 (3): 92-101
- Rumahlewang, W., H. R. D. Amanupunyo. 2012. Patogenesitas *Colletotrichum musae* penyebab penyakit antraknosa pada beberapa varietas buah pisang. Jurnal Agrologia 1 (1): 76-81
- Sadat, A. Tamrin. S., Cicih. 2015. Pengaruh pemeraman menggunakan batu karbit (CaC₂) terhadap sifat fisik dan kimia buah pisang ambon kuning (*Musa paradisiaca* var. *sapientum* (L.) Kunt). Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian 3 (4): 417-423
- Sastrahidayat, I. R. 2014. Medium buatan untuk penelitian penyakit tumbuhan di laboratorium. UB Press. Malang
- Schisler, D. A., W. J. Jenisiewicz, T. Boekhout, C. P. Kurtzman. Agriculturally important yeast: biological control of field and postharvest disease using yeast antagonists, and yeast pathogens of plants the yeast. Hal: 45-52. Dalam Kurtzman, C. P., J. W. Fell, T. Boekhout. (Eds.). The yeast a taxonomic study volume 1 fifth edition. Elsevier. London
- Schneiter, R. 2004. Genetics, molecular and cell biology of yeast. (Online). (<https://www.unifr.ch/biochem/assets/files/schneiter/cours/Yeast/YeastGenetics.pdf>). Diakses pada 16 Februari, 2016. 21.30
- Silva, C. F. B., S. J. Michereff. 2013. Biology of *Colletotrichum* spp. and epidemiologi of anthracnose in tropical fruit trees. Journal of Revista Caatinga 26 (4): 130-138
- Spadaro, D., S. Droby. 2015. Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanism of action of yeast antagonist. Journal of Trends in Food Science and Technology. 47 (2016): 39-49
- Su, Y.Y., N. Parinn, F. Liu, K. D. Hyde, M. A. Moslem, A. H. Bahkali, K. A. Abd-Elsalam, L. Cai. 2011. Epitypification of *Colletotrichum musae*, the causative agent of banana anthracnose. Journal of Mycoscience 52: 376-382

- Sugipriatini, D. 2009. Potensi penggunaan khamir dan kitosan untuk pengendalian busuk buah *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. (syn. *Botryodiplodia theobromae* Pat.) pada buah mangga selama penyimpanan Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Tanzil, A. I. 2014. Eksplorasi keanekaragaman jamur tanah pada rizosfer tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) di lahan endemis dan non endemis serta potensi antagonisnya terhadap patogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* penyebab layu fusarium tomat. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Thangamani, P. R., P. Kuppusamy, M. F. Peeran, K. Gandhi, T. Raguchander. 2011. Morphological and psysiological characterization of *Colletotrichum musae* the causal organism of banana anthracnose. *World Journal of Agricultural Sciences* 7 (6): 743-754
- Walker, G. M., N. A. White. 2011. Fungal physiology. Hal: 1-34. Dalam Kavanag, K. (Ed.). *Fungi: biology and aplications* 2nd edition. John Wiley and Sons. New Jersie
- Widayati, Eni. 2013. Dinamika komunitas mikroba rizosfir dan kontribusinya terhadap pertumbuhan tanaman hutan. *Jurnal Tekno Hutan Tanaman*. 6 (2): 55-64
- Yulia, E., F. Widiantini. 2007. Potensi bakteri antagonis filoplen daun manggan dalam menekan penyakit antraknosa buah mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Agrikultura*. 18 (1): 53-59
- Zakaria, M. 2000. Morphology and cultural variation among *Colletotrichum* isolates obtained from tropical forest nurseries. *Journal of Tropical Forest Science* 12 (1): 1-20

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LAMPIRAN



LAMPIRAN

Lampiran 1. Tabel ANOVA tingkat hambatan *C. musae* pada 2 HSI

SK	Db	JK	KT	F Hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
Perlakuan	2	2,854	1,427	0,029 ^m	3,982	7,2057
Galat	6	291,006	48,501			
Total	11	293,861				

Lampiran 2. Tabel ANOVA tingkat hambatan *C. musae* pada 3 HSI

SK	db	JK	KT	F Hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
Perlakuan	2	3,662	1,831	0,029 ^{tn}	3,982	5,2057
Galat	6	374,594	62,432			
Total	11	378,256				

Lampiran 3. Tabel ANOVA tingkat hambatan *C. musae* pada 4 HSI

SK	Db	JK	KT	F Hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
Perlakuan	2	1,305	0,652	0,031 ^{mn}	3,982	5,2057
Galat	6	126,248	21,041			
Total	11	127,553				

Lampiran 4. Tabel ANOVA tingkat hambatan *C. musae* pada 5 HSI

SK	Db	JK	KT	F Hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
Perlakuan	2	1,962	0,259	0,020 ^{tn}	3,982	5,2057
Galat	6	279,899	12,697			
Total	11	281,862				

Lampiran 5. Tabel ANOVA tingkat hambatan *C. musae* pada 6 HSI

SK	db	JK	KT	F Hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
Perlakuan	3	0,094	0,047	0,030 ^{tn}	3,982	5,2057
Galat	9	9,375	1,563			
Total	15	9,469				

Lampiran 6. Tabel ANOVA tingkat kejadian penyakit *C. musae* secara *in vivo*

SK	db	JK	KT	F Hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
P. YEAST	3	317,778	105,926	0,250 ^{mn}	2,798	4,217958
P. PISANG	1	2860,001	2860,001	6,750 ^{**}	4,043	7,194218
Y x P	3	317,778	105,926	0,250 ^{mn}	2,798061	4,217958
GALAT	48	20337,783	423,7038			
TOTAL	55	23833,339	433,333			

Lampiran 7. Tabel ANOVA masa inkubasi penyakit *C. musae* secara *in vivo*

SK	db	JK	KT	F Hitung	F tabel 5%	F tabel 1%
P. YEAST	3	0,143	0,048	0,471 ^{tn}	2,798	4,217958
P. PISANG	1	8,643	8,643	85,412**	4,043	7,194218
Y x P	3	0,071	0,024	0,235 ^{tn}	2,798061	4,217958
GALAT	48	4,857	0,10119			
TOTAL	55	13,71429	0,249			

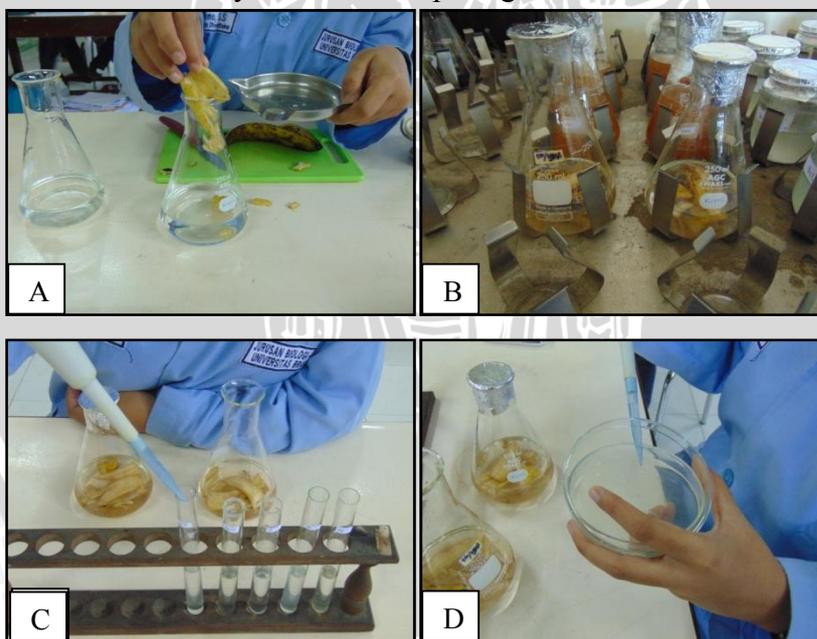
Lampiran 8a. Perhitungan keragaman yeast termotoleran pada kulit pisang ambon

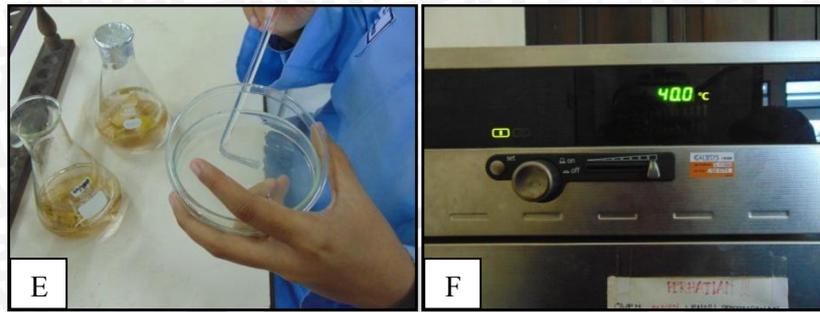
Genus	∑ koloni	ni/N	ln	H'
<i>Candida</i> sp.	20	1	2,99	2,99
Total	20	1	2,99	2,99

Lampiran 8b. Perhitungan keragaman yeast termotoleran pada kulit pisang kepok

Genus	∑ koloni	ni/N	ln	H'
<i>Pichia</i> sp.	30	0,88	3,52	3,10
<i>Metschnikowia</i> sp.	4	0,11	3,52	0,38
Total	34	0,99	7,04	3,48

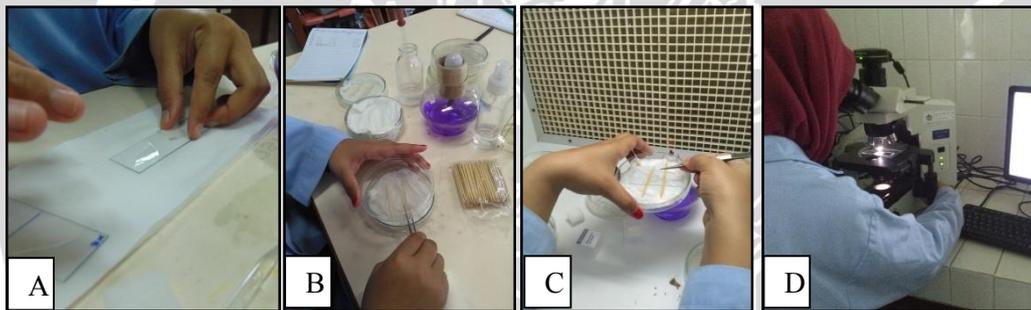
Lampiran 9. Proses isolasi yeast dari kulit pisang





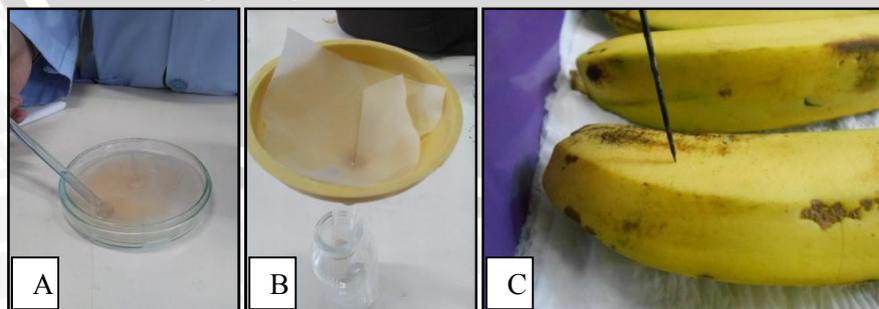
- Keterangan: A. Kulit buah pisang dimasukkan dalam aquades 90 ml
 B. Suspensi digojog selama 24 jam dengan kecepatan 120 rpm
 C. Pengenceran suspensi secara bertingkat 10^{-1} - 10^{-5}
 D. Suspensi 10^{-3} - 10^{-5} sebanyak 5 μ l ditanam pada media YMA
 E. Suspensi diratakan pada media menggunakan stick L
 F. Isolasi yeast termotoleran pada suhu 40° C selama 90 menit

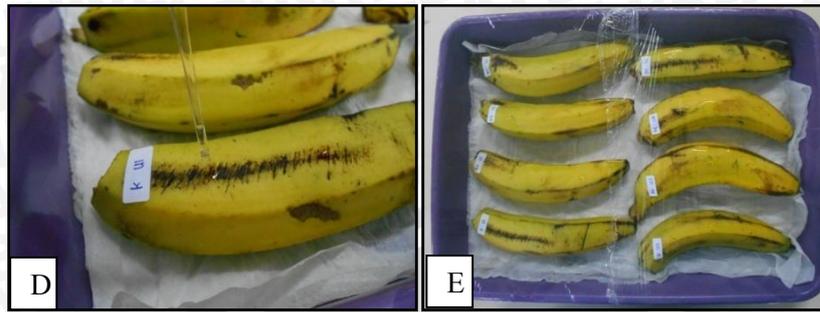
Lampiran 10. Pengamatan mikroskopis



- Keterangan: A. Pembuatan preparat yeast untuk diidentifikasi
 B. Persiapan wadah untuk preparat slide culture
 C. Preparat Slide culture
 D. Pengamatan mikroskopis

Lampiran 11. Proses uji antagonis secara *in vivo*





- Keterangan:
- A. Peluruhan spora patogen menggunakan Tween 80 dan aquades
 - B. Penyaringan suspensi patogen
 - C. Pelukaan pada permukaan kulit buah yang telah diberi perlakuan yeast
 - D. Suspensi patogen diteteskan sebanyak 1 tetes
 - E. Wrapping untuk menjaga kelembaban





