

**EKSPLORASI KHAMIR FILOPLAN PADA DAUN TANAMAN
TEBU DAN UJI POTENSI ANTAGONISMENYA TERHADAP
PATOGEN *Fusarium moniliformae* L.**

Oleh

ERVINA PRASENTYA SARI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2019**

**EKSPLORASI KHAMIR FILOPLAN PADA DAUN TANAMAN
TEBU DAN UJI POTENSI ANTAGONISMENYA TERHADAP
PATOGEN *Fusarium moniliformae* L.**

OLEH

ERVINA PRASENTYA SARI

155040201111252

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

SKRIPSI

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

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2019**

PERNYATAAN

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

Malang, Agustus 2019

Ervina Prasentya Sari



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Eksplorasi Khamir Filoplan Pada Daun Tanaman Tebu Dan Uji Potensi Antagonismenya Terhadap Patogen *Fusarium moniliformae* L.

Nama Mahasiswa : Ervina Prasentya Sari

NIM : 155040201111252

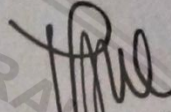
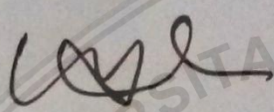
Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping II,



Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS.

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.

NIP. 19550522 198103 1 006

NIP. 19841014 201903 1 004

Diketahui,
Ketua Jurusan



Dr. Ir. Ludi Pantja Astuti, MS.

NIP. 19551018 198601 2 001

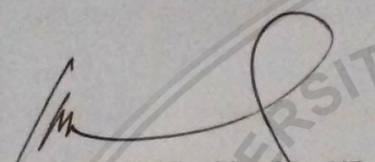
Tanggal Persetujuan : 29 JUL 2019



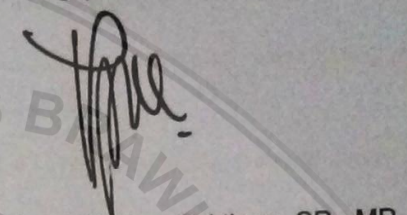
LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan
MAJELIS PENGUJI

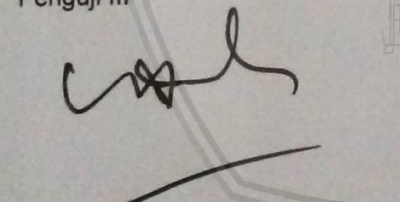
Penguji I


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

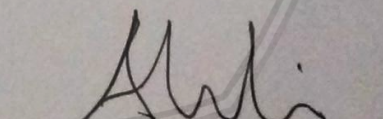
Penguji II,


Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIP. 19841014 201903 1 004

Penguji III


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

Penguji IV


Dr. Akhmad Rizali, SP., M. Si.
NIK. 201405 770415 1 001

Tanggal Lulus : 01 AUG 2019

Skripsi ini kupersembahkan untuk

Abba dan Mamak ku tersayang, dan seluruh keluarga yang telah mendukung demi meraih gelar sarjana.

Beserta seluruh teman-teman ku yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini.



RINGKASAN

ERVINA PRASENTYA SARI. 155040201111252. Eksplorasi Khamir Filoplan Pada Daun Tanaman Tebu Dan Uji Potensi Antagonismenya Terhadap Patogen *Fusarium moniliformae* L.. Dibawah bimbingan Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS. sebagai Pembimbing Utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. sebagai Pembimbing Pendamping.

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan jenis tanaman yang hanya dapat ditanam di daerah yang memiliki iklim tropis seperti di Indonesia. Tebu menjadi tanaman penghasil gula tertinggi di Indonesia. Sebagai salah satu komoditi perkebunan penting, produksi tebu mengalami kendala akibat adanya serangan jamur patogen khususnya *Fusarium moniliformae* L. Salah satu pengendalian yang dapat dilakukan adalah dengan menggunakan mikroorganisme antagonis. Mikroorganisme yang digunakan sebagai pengendali hayati dalam penelitian ini adalah khamir. Khamir termasuk dalam kelompok jamur uniseluler yang bersifat eukariotik dan adaptif sehingga tahan terhadap cekaman lingkungan dan berpotensi sebagai antagonis tanaman. Khamir pada permukaan daun memiliki pengaruh positif terhadap tanaman karena sebagai perlindungan pertama mencegah terjadinya kolonisasi patogen pada tanaman. Khamir pada permukaan daun memiliki kemampuan bertahan yang tinggi dalam lingkungan fluktuatif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh khamir dari tebu yang berpotensi sebagai antagonis, serta mengkaji potensi antagonis khamir dalam mengendalikan *F. moniliformae* L. penyebab penyakit Pokahbung pada tanaman tebu secara *in vitro*.

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Januari sampai Mei 2019 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Sampel patogen dan khamir diperoleh dari lahan tebu milik Pabrik Gula Kebonagung Malang. Kegiatan penelitian ini terdiri dari pengambilan sampel daun tanaman tebu dengan metode *purposive sampling*, isolasi dan identifikasi jamur patogen *F. moniliformae* L, uji Postulat Koch, isolasi khamir dengan metode pencucian dan identifikasi khamir, uji patogenisitas khamir, uji antagonis khamir dengan patogen *F. moniliformae*. pada media PDA dan analisis data. Penelitian ini dilakukan pada kondisi *in vitro*.

Hasil penelitian ditemukan 7 jenis khamir dengan 4 genus yang teridentifikasi yaitu *Kluyveromyces* sp, *Debaromyces* sp., *Pichia* sp., *Candida* sp. pada filoplan daun tebu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa khamir dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen *F.moniliformae* L. pada pengujian secara *in-vitro*. Penghambatan tertinggi pada hari ke- 12 yaitu sebesar 41,84% pada isolat YFDT 02 (*Kluyveromyces* sp.) dengan mekanisme antibiosis dikarenakan terlihat adanya zona bening dan terendah pada isolat YFDT 07 (*Candida* sp.) yaitu sebesar 30,21 % pada hari ke 12.

SUMMARY

ERVINA PRASENTYA SARI. 155040201111252. Exploration of the Yeast Phylloplane on the Leaves of the Sugarcane and Antagonism Potential for Pathogens *Fusarium moniliformae* L. Supervised by Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS. and Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.

Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) is a type of plant that can only be grown in tropical regions which have potential as in Indonesia. Sugarcane producing sugar became the highest in Indonesia. As one of important commodities, Sugarcane production has to be accounted for as a special patron of the pathogenic fungi *F. moniliformae* L. one control that can be done is by using microorganisms antagonistic. Microorganisms are used as controller of biodiversity in this research is the yeast. Yeast is included in the group of unicellular eukaryotic fungi that are functional and adaptive to environmental stresses and potentially as plant antagonists. Yeast on the leaf surface has a positive influence on action on plants because the first protection prevents changes in pathogenic colonization in plants. Yeast on the surface of the leaves have a high survival in fluctuating environments. The purpose of this research was to obtain the yeast from Sugarcane leaves that are requested as antagonists, as well as assess the potential antagonistic yeasts in controlling *Fusarium moniliformae* L. Pokahbung disease in plants using sugarcane in in vitro.

The research was carried out from January to may 2019 in the laboratory of plant disease plant disease Pests, a Department of the Faculty of agriculture, University of Brawijaya. Samples of pathogens and yeasts are obtained from the Sugarcane land belonging Kebonagung sugar factory. Research activities the research sample consisted of the Sugarcane leaves by the method of purposive sampling, isolation and identification of pathogenic fungi *F. moniliformae* L., Koch's Postulates test, the isolation of yeasts with the method of leaching, patogenisitas yeasts test, antagonistic yeasts test with pathogen *F. moniliformae* L. on media PDA and data analysis. This research was conducted in vitro conditions.

The results found 7 types of yeast with 4 identified genera, namely *Kluyveromyces* sp, *Debaromyces* sp., *Pichia* sp., *Candida* sp. in cane leaf filoplan. The results showed that yeast can inhibit the growth of the pathogenic fungus *F.moniliformae* when tested in vitro. The highest inhibition on the 12th day was 41.84% in isolate YFDT 02 (*Kluyveromyces* sp.) with the antibiotic mechanism, the clear zone was seen and the lowest was on the YFDT 07 isolate (*Candida* sp.) it was 30.21% on the 12th day.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulisan skripsi yang berjudul “Eksplorasi Khamir Filoplan Pada Daun Tanaman Tebu Dan Uji Potensi Antagonismenya Terhadap Patogen *Fusarium moniliformae* L.” dapat terselesaikan dengan baik.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Dr. Ir. Syamsuddin Djauhari, MS selaku dosen pembimbing utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah membimbing dan memberi arahan selama kegiatan penelitian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dr.Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Kepada seluruh staff di jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Dan teman-teman yang telah banyak membantu dalam kegiatan penelitian.

Penulis menyadari banyaknya kesalahan mendasar dalam penulisan ini, maka dari itu penulis berharap kritik dan saran yang konstruktif dari pembaca untuk memperbaiki tulisan ini. Akhir kata semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak.

Malang, Agustus 2019

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Pasuruan pada tanggal 03 Juli 1997 sebagai putri tunggal dari Bapak H. Sari Abbas dan Ibu Mulyani. Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Negeri Kebonsari Pasuruan pada tahun 2003 sampai 2009, kemudian penulis melanjutkan ke SMP Negeri 8 Pasuruan pada tahun 2009 - 2012. Pada tahun 2012 - 2015 penulis melanjutkan ke sekolah menengah atas di SMA Negeri 2 Pasuruan. Pada tahun 2015 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi dengan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa di Fakultas Pertanian, penulis pernah menjadi asisten mata kuliah Dasar Perlindungan Tanaman pada tahun 2018. Penulis juga telah melakukan kegiatan magang kerja pada bulan Juli hingga September 2018 di Balai Besar Peramalan OPT Jatisari, Karawang, Jawa Barat.

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	2
1.3 Manfaat	2
1.4 Hipotesis	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Tanaman Tebu	3
2.1.1 Morfologi tanaman tebu	3
2.1.2 Fase pertumbuhan tanaman tebu	4
2.2 Penyakit Pokahbung	4
2.3 Khamir	7
2.3.1 Siklus hidup khamir	8
2.3.2 Reproduksi khamir	9
2.3.3 Khamir pada daun	9
2.3.4 Pemanfaatan Khamir Filoplan	10
2.3.5 Pemanfaatan khamir sebagai pengendali penyakit	11
2.3.6 Mekanisme antagonisme khamir	13
2.3.7 Potensi khamir	13
III. METODOLOGI	15
3.1 Kerangka Konseptual	15
3.2 Kerangka Operasional	16
3.3 Waktu dan Tempat	17



3.4	Alat dan Bahan	17
3.5	Metode Penelitian.....	17
3.6	Metode Pelaksanaan	17
3.7	Analisis Data	21
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1	Patogen <i>Fusarium moniliformae</i> L.....	21
4.1.1	Identifikasi Jamur Patogen <i>Fusarium moniliformae</i> L.....	21
4.1.2	Hasil Uji <i>Postulat Koch</i> Patogen <i>Fusarium moniliformae</i> L.....	23
4.2	Ekplorasi Khamir Filoplan pada Daun Tanaman Tebu.....	24
4.2.1	Identifikasi Khamir pada Filoplan Daun Tanaman Tebu	24
4.2.2	Hasil Uji Patogenisitas Khamir Filoplan Daun Tanaman Tebu	32
4.3	Hasil Uji Antagonis Khamir Filoplan terhadap <i>Fusarium moniliformae</i> ...	33
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	38
5.1	Kesimpulan.....	38
5.2	Saran.....	38
	DAFTAR PUSTAKA	39
	LAMPIRAN.....	45



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Karakterisasi makroskopis morfologi koloni isolat khamir filoplan.....	24
2.	Rerata Persentase hambatan 7 khamir terhadap <i>Fusarium moniliforme</i> selama 10 hari pengamatan	33

Lampiran

1.	Analisis ragam persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan patogen <i>F. moniliformae</i> pada 3 HSI.....	46
2.	Analisis ragam persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan patogen <i>F. moniliformae</i> pada 6 HSI.....	46
3.	Analisis ragam persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan patogen <i>F. moniliformae</i> pada 9 HSI.....	46
4.	Analisis ragam persentase penghambatan khamir terhadap pertumbuhan patogen <i>F. moniliformae</i> pada 12 HSI.....	46



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Batang Tanaman Tebu	3
2.	Struktur Daun Tanaman Tebu	4
3.	Perbedaan Tingkat Serangan dari Pokahbung	5
4.	Variabilitas morfologi isolat <i>F. moniliformae</i>	6
5.	Morfologi Jamur <i>Fusarium moniliformae</i>	6
6.	Penyebaran spora oleh percikan air hujan berdasarkan mekanisme “puff” dan “tap”	7
7.	Mekanisme pelepasan spora dari rantai oleh higroskopik, oleh kabut dan oleh angin	7
8.	Bentuk-bentuk Sel Khamir	8
9.	Pembentukan Pseudohyphae pada ragi.	8
10.	Reproduksi Khamir	9
11.	Kerangka konseptual	15
12.	Kerangka operasional.....	16
13.	Skema uji antagonis khamir terhadap jamur <i>Fusarium moniliformae</i>	21
14.	Jamur <i>Fusarium moniliformae</i>	22
15.	Hasil Uji <i>Postulat Koch</i>	23
16.	Khamir <i>Debaryomyces</i> sp.	25
17.	Khamir <i>Kluyveromyces</i> sp	26
18.	Khamir <i>Debaromyces</i> sp.	27
19.	Khamir <i>Pichia</i> sp.	28
20.	Khamir <i>Pichia</i> sp.....	29
21.	Khamir <i>Pichia</i> sp.....	30
22.	Khamir <i>Candida</i> sp.	31
23.	Uji Patogentisitas.	32
24.	Uji Antagonis oleh Khamir d	35
25.	Rerata Penghambatan Khamir terhadap Patogen <i>F. moniliformae</i>	36

Lampiran

1.	Dokumentasi Penelitian	47
----	------------------------------	----



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan jenis tanaman yang berkembang dengan baik di daerah tropis seperti Indonesia. Kebutuhan gula nasional pada tahun 2018 mencapai 3,6 juta ton, kebutuhan gula tersebut lebih besar dari produksi gula nasional pada tahun 2018 sebesar 2,1 juta ton dan menurun dari tahun sebelumnya yang produksinya sebesar 2,4 juta ton (Adhiem, 2018). Sebagai salah satu komoditi perkebunan penting, produksi tebu mengalami kendala karena adanya serangan penyakit Pokahbung yang disebabkan oleh jamur patogen *Fusarium moniliformae* L. Jamur *Fusarium moniliformae* var. *subglutinans* dapat mengurangi kualitas panen hingga 40,8 - 64,5% (Duttamajumder, 2004 dalam Vishwakarma *et al.*, 2013).

Pengendalian patogen *F. moniliformae* umumnya menggunakan pestisida sintetis. Bahan kimia yang digunakan pestisida non selektif akan menjadi toksik bagi berbagai organisme seperti manusia dan organisme yang menguntungkan bagi lingkungan. Maka diperlukan upaya pengendalian yang lebih ramah lingkungan karena aman, tidak berpengaruh terhadap jasad bukan sasaran. Salah satu upaya pengendalian patogen *F. moniliformae* yang ramah lingkungan yaitu dengan menggunakan agens antagonis yang terdapat pada filoplan, endofit maupun rhizosfer. Keberadaan mikroorganisme pada permukaan daun (filoplan) memiliki pengaruh positif terhadap tanaman, misalnya mencegah kolonisasi patogen pada daun atau berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman (Dees *et al.* 2015).

Khamir merupakan salah satu agens hayati yang dapat dimanfaatkan sebagai pengendalian patogen tanaman. Khamir termasuk dalam kelompok jamur uniseluler yang bersifat eukariotik dan adaptif sehingga tahan terhadap cekaman lingkungan dan berpotensi sebagai antagonis tanaman. Khamir pada permukaan daun memiliki pengaruh positif terhadap tanaman karena sebagai perlindungan pertama mencegah terjadinya kolonisasi patogen pada tanaman. Selain itu, khamir mampu tumbuh dengan cepat dan mudah menghasilkan sel dalam jumlah besar (Druvefors, 2004). Penggunaan khamir sebagai alternatif pengendalian patogen seperti khamir *Cryptococcus terreus* terhadap patogen *Curvularia pallescens*,

khamir *Pichia anomala* terhadap *Botryodiplodia theobromae* yaitu penyakit busuk buah jambu (Hashem, 2009) dan *Rhodotorula minuta* mampu menekan pertumbuhan patogen *Colletotrichum acutatum* pada cabai (Hartati *et al.*, 2014).

Pengendalian patogen *F. moniliformae* dengan agens hayati khamir masih belum banyak dilakukan, sedangkan penyakit ini merupakan patogen utama yang sering menyerang tanaman tebu. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi khamir sebagai agen antagonis terhadap penyakit Pokahbung pada tanaman tebu.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh khamir filoplan daun tebu, serta mengkaji potensi antagonis khamir dalam mengendalikan *F. moniliformae* secara *in vitro*.

1.3 Manfaat

Memberikan informasi dan pengetahuan tentang khamir filoplan daun tanaman tebu yang dapat berpotensi menekan jamur penyebab penyakit Pokahbung (*F. moniliformae*), sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif pengembangan metode pengendalian penyakit Pokahbung yang ramah lingkungan.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini bahwa dapat ditemukan khamir yang berpotensi sebagai agens antagonis pada daun tanaman tebu dan mampu menekan pertumbuhan jamur *F. moniliformae* secara *in vitro*.

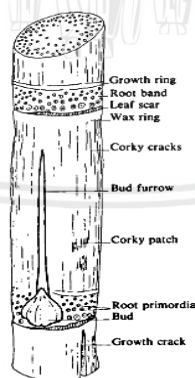
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Tebu

Tebu merupakan tanaman perdu yang memiliki nama latin *Saccharum officinarum*. Tebu adalah tanaman semusim yang berdiri tegak dan memiliki batang beruas yang tidak bercabang. Tanaman tebu memiliki klasifikasi: divisi Spermatophyta, subdivisi Angiospermae, kelas Monocotyledone, ordo Graminales, famili Graminae, genus Saccharum, species *Saccharum officinarum* (Indrawanto *et al.*, 2010). Ada berbagai macam spesies tebu di dunia yaitu *S. officinarum*, *S. barberi*, *S. sinense*, *S. robustum*, dan *S. spontaneum*. Jenis tebu yang sering dibudidayakan untuk diolah menjadi gula di Indonesia adalah *S. officinarum*.

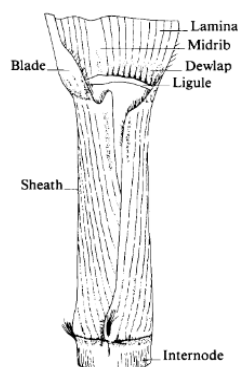
2.1.1 Morfologi tanaman tebu

Tebu terdiri atas bagian organ yaitu akar, batang, daun dan bunga yang mana bagian utamanya adalah batang, akar dan daun (Indrawanto *et al.*, 2010). Batang tebu memiliki ciri tumbuh dengan tegak, memiliki ruas dan lapisan lilin, setiap ruas batang terdapat mata tunas. Ukuran diameter batang berkisar antara 3 cm hingga 5 cm dengan tinggi batang 2 – 5 meter (Gambar 1) (James, 2004).



Gambar 1. Batang Tanaman Tebu (James, 2004)

Daun tebu terbagi dalam dua bagian yaitu pelepah dan helaian daun. Permukaan daun tebu memiliki bulu yang kaku dengan tepian rata dan bergelombang (Gambar 2) (James, 2004). Tebu tidak memiliki tangkai daun. Pelepah daun menempel pada batang tebu. Ujung daun tebu berbentuk meruncing.



Gambar 2. Struktur Daun Tanaman Tebu (James, 2004)

2.1.2 Fase pertumbuhan tanaman tebu

Fase pertumbuhan tebu dibagi menjadi fase perkecambahan (munculnya tunas), fase pertunasan, pemanjangan batang dan pemasakan (Ramesh, 2000). Fase perkecambahan terjadi selama 4 – 6 minggu, kemudian muncul anakan baru yang keluar dari pangkal tebu muda (tunas primer) dan fase pertunasan pada umur 3 – 4 bulan. Pertumbuhan tunas akan melambat dan batang akan memanjang hingga tumbuh maksimum yang terjadi pada saat tanaman berumur 9 bulan. Fase terakhir saat berumur 12 bulan yaitu dimana tebu menunjukkan gejala kematian dan mengering.

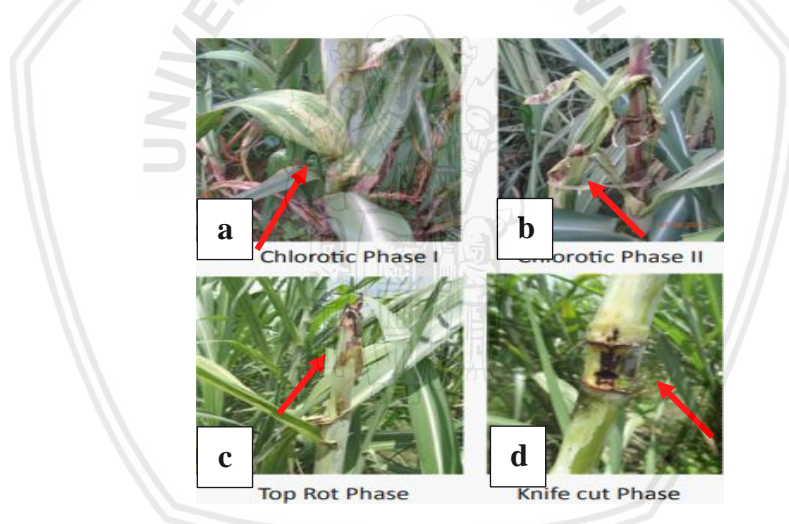
2.2 Penyakit Pokahbung

Fusarium termasuk dalam genus jamur Deuteromycetes yang memiliki berbagai macam spesies patogen penyebab penyakit penting tanaman. *Fusarium* merupakan salah satu genus jamur yang menimbulkan penyakit pada banyak tanaman (Leslie *et al.*, 2003) Penyakit Pokahbung dapat menyebabkan menurunnya kadar gula 40,8 - 64,5 % pada tanaman tebu (Dohare *et al.*, 2003). Penyakit Pokahbung disebabkan oleh jamur *Fusarium moniliformae* L. Pokahbung merupakan penyakit yang sering menyerang tanaman tebu, terutama pada daerah yang beriklim basah.

Penyakit Pokahbung memiliki tiga stadia dalam perkembangannya. Tahap awal infeksi ditandai oleh klorosis yang muncul di daun muda (Gambar 3a). Lalu muncul garis berwarna merah yang tidak teratur berkembang di dalam bagian-bagian klorotik (Gambar 3b). Jika Infeksi terbatas pada daun, tanaman biasanya pulih, jika tidak maka berkembang di hingga batang. Selama cuaca basah, busuk

lunak berkembang di daerah yang terkena dampak. Gejala yang paling serius adalah ketika jamur menembus titik tumbuh yang menyebabkan seluruh bagian atas tanaman mati dan ini disebut sebagai busuk atas (Gambar 3c) . Malformasi dan kematian bagian atas tanaman dapat terjadi pada varietas yang rentan.

Stadia awal ditandai dengan munculnya gejala klorotik pada bagian helaian daun yang baru terbuka dan muncul garis – garis berwarna merah. Pada stadia kedua ditandai dengan adanya garis berwarna merah kecoklatan menyebar luas pada bagian rongga – rongga dalam. Terakhir pada stadia tiga gejala menjadi spesifik berupa adanya bengkaknya batang tebu akibat gejala lanjutan. Jamur *F. moniliformae* menyerang titik tumbuh dan akhirnya menyebabkan pembusukan yang disertai bau tidak sedap. Untuk serangan lanjut, tanaman tebu akan mengalami kematian (Pratiwi, *et al.*, 2013).



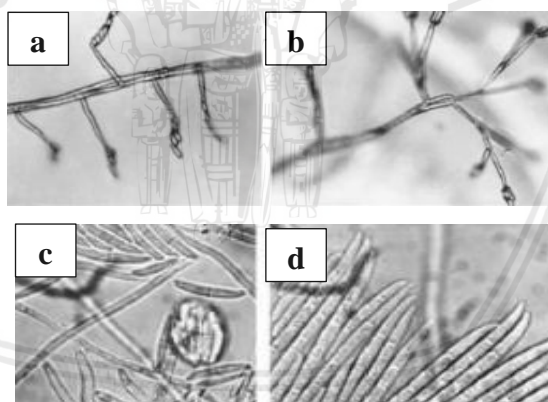
Gambar 3. Perbedaan Tingkat Serangan dari Pokahbung a. Stadia 1, b. Stadia 2, c. Fase pembusukan, d. Stadia 3 (Vishwakarma, 2013).

Secara makroskopis koloni *F. moniliformae* akan menunjukkan warna yang berbeda pada miseliumnya. Hal ini karena adanya pengaruh konsentrasi glukosa pada media buatan sehingga miselium memiliki warna beragam seperti putih, merah muda bahkan ungu. Miselium pada umumnya padat halus seperti tepung karena penumpukan konidia makro. Menurut Sutejo (2008) morfologi koloni pada PDA memiliki warna aerial miselium putih serta memiliki pertumbuhan yang cepat dan sering berubah menjadi warna merah sampai ungu, tampak bertepung karena terbentuknya mikrokonidium (Gambar 4).



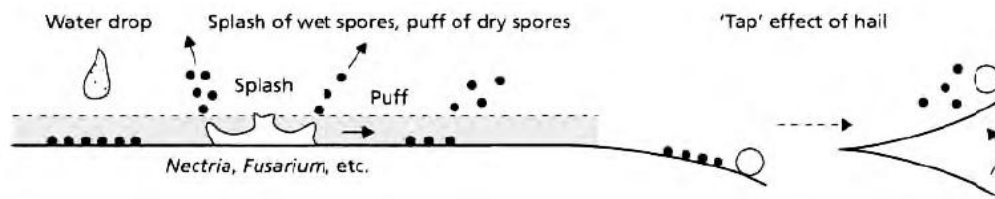
Gambar 4. Variabilitas morfologi di antara isolat *F. moniliformae* diisolasi dari sampel penyakit Pokahbung. (Vishwakarma, 2013)

Secara mikroskopis konidiospora sederhana atau memiliki cabang, bantalan konidia dalam rantai dan spora massa terdapat di ujung cabang. Konidia hialin, memiliki dua jenis yakni makrokonidia, berbentuk perahu, dengan sedikit melengkung pada sel apikal, dan memiliki 2 pusat sel silinder, bersel 4-5, dan mikrokonidia hialin, ellipsoidal spora atau bulat telur, apikulat dan pada salah satu ujungnya serta tidak terbentuk klamidiospora (Gambar 5) (Watanabe, 2002).



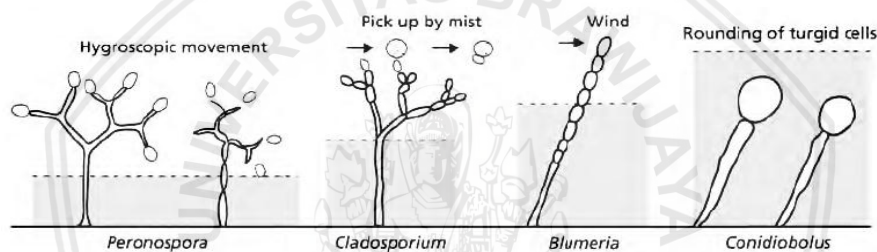
Gambar 5. Morfologi Jamur *Fusarium moniliformae*. a-b: Konidiofor dan Mikrokonidia. c. Konidiofor dan Makrokonidia. d. Makrokonidia (Watanabe, 2002)

Patogen penyakit Pokahbung ditularkan melalui perpindahan spora dari satu tempat ke tempat lain oleh udara, dan akan masuk melalui daun, bunga dan batang tanaman. Untuk spora yang lepas, itu bergantung pada situasi lingkungan (berangin, hujan atau kering) yang membutuhkan metode berbeda dalam penyebaran (Deacon, 2006). Jamur yang disebar oleh percikan air hujan didasarkan pada mekanisme "puff" dan "tap" (Gambar 6).



Gambar 6. Penyebaran spora oleh percikan air hujan berdasarkan mekanisme “puff” dan “tap” (Deacon, 2006)

Jamur yang tumbuh pada permukaan daun dan menghasilkan rantai spora dapat hilang akibat angin atau gerakan-gerakan higroskopik (pengeringan) yang menyebabkan spora terlepas (Gambar 7) (Deacon, 2006).



Gambar 7. Mekanisme pelepasan spora dari rantai oleh higroskopik, oleh kabut dan oleh angin (Deacon, 2006)

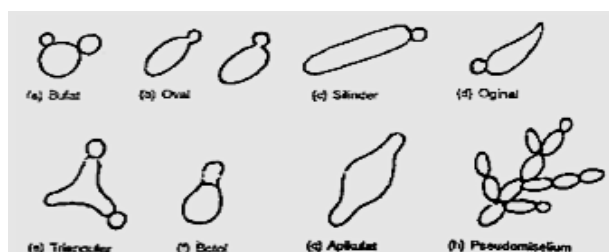
Jamur yang diisolasi dari tanaman bisa menjadi patogen yang menyebabkan penyakit atau saprofit yang dapat tumbuh di jaringan disfungsi tanaman dengan penyakit dan tidak patogen terhadap tanaman sehat. Beberapa patogen menyebabkan penyakit berat pada tanaman yang mengalami stres (tanah yang tidak memadai kelembaban, suhu ekstrim atau herbisida).

2.3 Khamir

Khamir merupakan jamur bersel tunggal yang memiliki cakupan yang besar. Khamir dapat ditemukan pada udara, tanah, beberapa pada kulit pohon dan permukaan daun. Khamir termasuk jamur uniseluler, eukariotik uninukleat yang berkembang biak dengan membentuk sel-sel baru secara serial (Karanjgaokar *et al.*, 2017).

Bentuk sel khamir bermacam-macam antara lain bulat, silinder, oval, ogival (bulat panjang seperti bulan sabit dengan salah satu ujung runcing),

triangular (segitiga melengkung), berbentuk botol, bentuk apikulat atau seperti lemon, membentuk pseudomiselium, dan sebagainya (Gambar 8) (Fardiaz, 1992).



Gambar 8. Bentuk-bentuk Sel Khamir (Fardiaz, 1992)

Sel khamir memiliki ukuran sangat beragam, lebarnya berkisar antara 1-5 μm dan panjang berkisar dari 5 - 30 μm atau lebih. Setiap spesies memiliki bentuk yang khas. Khamir yang tidak dilengkapi flagellum atau organ-organ penggerak lainnya (Dwijoseputro, 2005).

2.3.1 Siklus hidup khamir

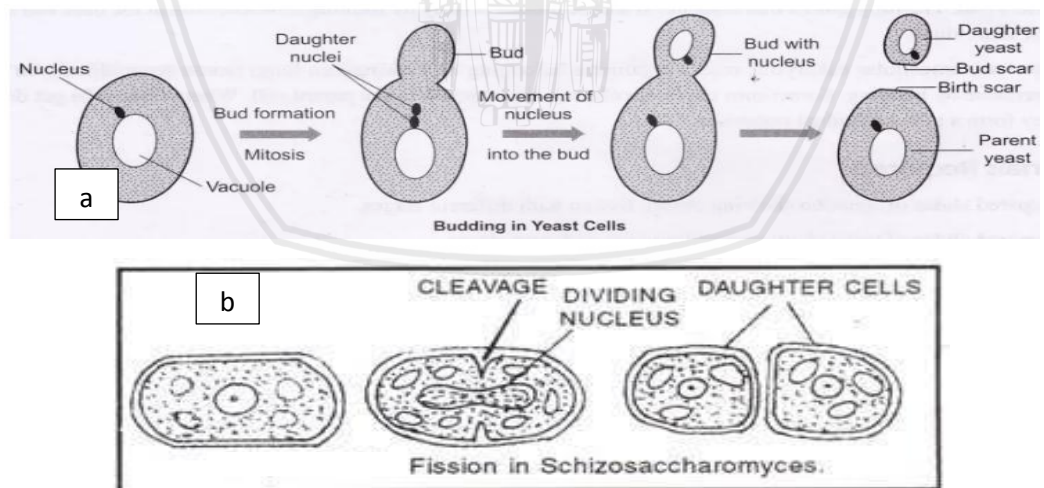
Khamir adalah jamur uniseluler yang dapat bersifat dimorfistik yaitu memiliki dua fase dalam siklus hidupnya, bergantung pada keadaan lingkungan yaitu fase hifa dan fase khamir. Pada fase hifa yaitu saat pembentukan miselium, sedangkan fase khamir yaitu membentuk sel tunggal. Khamir dapat membentuk hifa palsu (pseudohifa) (Gambar 9) yang dapat tumbuh menjadi miselium palsu (pseudomiselium). Pseudomiselium merupakan sel-sel tunas khamir yang memanjang dan tidak melepaskan diri dari sel induknya sehingga saling berhubungan membentuk rantai, misalnya khamir *Candida* spp., *Kluyveromyces* spp. dan *Pichia* spp. Namun terdapat pula khamir yang dapat membentuk miselium sejati, misalnya khamir *Trichosporon* spp. (Gandjar *et al.*, 2006).



Gambar 9. Pembentukan Pseudohifa pada ragi (Gandjar *et al.*, 2006).

2.3.2 Reproduksi khamir

Khamir memiliki tipe reproduksi aseksual dan seksual. Reproduksi aseksual dikenal dengan pertunasan, pembelahan, atau produksi konidia pada tangkai pendek. Pada pembelahan sel merupakan karakteristik dari genus *Schizosaccharomyces* (Gambar 10 b). Sel tunas dapat berasal dari sel-sel khamir atau sel-sel hifa. Pertunasan diawali dengan pembentukan tunas kecil pada beberapa titik (Gambar 10 a). Beberapa posisi tempat terjadinya pertunasan yang terjadi pada satu kutub disebut monopolar contohnya dari genus *Malassezia*. Pertunasan yang terjadi pada dua kutub disebut bipolar, contohnya dari genus *Hanseniaspora* dan *Wickerhamia*. Pertunasan bipolar memiliki karakteristik pada khamir apikulata. Sedangkan pertunasan dari beberapa tempat pada permukaan sel disebut multilateral, contohnya dari genus *Saccharomyces*. Konidia lateral yang dihasilkan pada hifa dari beberapa spesies terjadi pada sel khusus disebut sel *conidiogenous*, contohnya genus *Ambrosiozyma*. Beberapa khamir melakukan reproduksi secara aseksual dengan pembelahan bukan pertunasan. Sehingga sel anakan identik dengan sel induk (Balasubramanian dan Glotzer., 2004).



Gambar 10. Reproduksi Khamir. a) Pertunasan, b) Pembelahan (Balasubramanian *et al.*, 2004).

2.3.3 Khamir pada daun

Mikroorganisme endofit adalah mikroorganisme termasuk bakteri, jamur dan khamir yang dapat berkoloni dengan sehat pada jaringan tanaman selama

siklus hidup tanpa menyebabkan kerusakan pada tanaman inang atau berkembang di luar struktur (Linnakoski *et al.*, 2012). Khamir ascomycetes dan basidiomycetes khamir telah ditemukan menjadi endofit dan epifit, dan dalam satu spesies khamir dapat menjadi mikroorganisme endofit dan epifit (Isaeva *et al.*, 2010 dalam Ferraz *et al.*, 2016).

Khamir endofit yang telah ditemukan di daun tanaman termasuk jamur Basidiomycetes adalah *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus flavescens*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus magnus*, *Rhodotorula graminis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Rhodotorula pinicola* dan *Rhodotorula rubra* (Akhtyamova dan Sattarova, 2013), dan Ascomycetes khamir yaitu. *Candida guilliermondii*, *Candida oleophila*, *Candida railenensis*, *Cyberlindnera saturnus*, *Metschnikowia pulcherrima* dan *Wickerhamomyces anomalus* (Oliveira *et al.*, 2012).

Khamir filoplan yang telah ditemukan terkait dengan daun tanaman termasuk *Cryptococcus aerius*, *Pseudozyma vetiver*, *Pseudozyma graminicola*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula colostri*, *Rhodosporidium fluviale* dan *Sporobolomyces fushanensis*, milik Basidiomycota (Limtong *et al.*, 2014) dan *Candida tropicalis*, *Metschnikowia saccharicola*, *Ogataea phyllophila* dan *Yamadazyma siamensis*, yang termasuk Ascomycota. Khamir endofit, terutama yang terkait dengan daun, lebih sedikit dibandingkan dengan laporan khamir epifit.

Khamir yang ditemukan pada isolasi daun tanaman tebu adalah *Wickerhamiella siamensis* dan yang paling sering didapat adalah *Meyerozyma caribbica* (Khunnamwong *et al.*, 2014). Sedangkan pada daun tanaman buah seperti apel, plum, ceri, apricot dan peach paling banyak ditemukan *Aureobasidium pullulans*, *Cryptococcus laurentii*, dan *Metschnikowia pulcherrima* (Sláviková, 2009).

2.3.4 Pemanfaatan Khamir Filoplan

Permukaan tanaman diakui sebagai habitat penting bagi mikroorganisme. Kolonisasi mikroba tersebut dibedakan menjadi habitat di atas permukaan tanah atau disebut filosfer dan permukaan dibagian bawah tanah disebut rizosfer

(Andrews dan Harris, 2000). Khamir filoplan memiliki mekanisme antagonistik dan menginduksi ketahanan tanaman (Silva dan Costa, 2014). Khamir *Issatchenkia terricola* yang diisolasi dari epidermis buah anggur (*Vitis vinifera* L.) berpotensi sebagai khamir antagonis *Botrytis cinerea* (Vargasi *et al.*, 2012). Khamir *Issatchenkia orientalis*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Kluyveromyces thermotolerans*, *Issatchenkia terricola* dan *Candida incommunis* yang diisolasi dari buah anggur (*Vitis vinifera*) berpotensi sebagai biokontrol dari *Aspergillus carbonarius* dan *A. niger* (Bleve *et al.*, 2005). *Pseudozyma aphidis* yang diisolasi dari daun strawberry dapat mengendalikan cendawan *Botrytis cinerea* melalui mekanisme interaksi antagonistik dan menginduksi ketahanan tanaman (Buxdorf *et al.*, 2013). Bakteri epifit *Burkholderia spinosa* yang diisolasi dari kulit pisang merupakan bakteri antagonis yang dapat menekan pertumbuhan *Aspergillus* spp. dan *Fusarium* spp. (Silva dan Costa 2014).

Khamir filoplan juga berperan dalam pemacu pertumbuhan tanaman. Mikroorganisme memerankan peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui induksi dengan respon fisiologis seperti perkecambahan biji, pembentukan akar, percabangan dan anakan, dan pematangan buah (Tsavkelova *et al.*, 2006). Pemacu pertumbuhan tanaman diklasifikasikan menjadi lima kelompok, yaitu, auksin, giberelin, sitokinin, etilen dan asam askorbat (Tsavkelova *et al.*, 2006). *Indole-3-acetic acid* (IAA) salah satu pemacu pertumbuhan. Beberapa spesies ragi yang dilaporkan menghasilkan IAA termasuk *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum*, *Cyberlindnera (Williopsis) saturni* dan *Scheffersomyces (Pichia) spartinae* (Rao *et al.*, 2010). Aplikasi khamir penghasil IAA seperti *Candida valida*, *Cy. saturnus*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporobolomyces roseus* dan *T. asahii* untuk pemacu pertumbuhan (Xin *et al.*, 2009).

2.3.5 Pemanfaatan khamir sebagai pengendali penyakit

Khamir filoplan diketahui dapat menjadi agens hayati pengendali penyakit. Pada penelitian khamir filoplan yang diisolasi dari daun tomat diketahui berpotensi antagonis terhadap penyakit *grey mould* yang disebabkan oleh *Botrytis cinerea* pada tomat (Kalogiannis *et al.*, 2006). Chanchaichavivat *et al.* (2007)

melaporkan bahwa beberapa spesies khamir yaitu *P. guilliermondii*, *Candida musae*, *Issatchenkia orientalis*, dan *C. quercitrusa* mampu mengurangi kejadian penyakit antraknosa pada buah cabai yang disebabkan oleh *Colletotrichum capsici*.

Saat ini terdapat tiga khamir yang dikomersialkan sebagai produk pengendali hayati dan telah dipasarkan untuk mengendalikan pembusukan pada buah. Aspire® (Ecogen, Inc., Langhorne, Pa) dengan bahan dasar khamir *Candida oleophila* digunakan untuk mengendalikan penyakit pascapanen pada buah delima serta jeruk dengan cara penyemprotan atau pencelupan (Janisiewicz dan Korsten 2002), dan telah digunakan di Amerika Serikat pada tahun 1996. Produk komersial Yield Plus® dengan *Cryptococcus albidus* sebagai bahan aktifnya dipasarkan di Afrika Selatan pada tahun 1997 dan digunakan untuk pengendalian hayati *Botrytis* sp., *Penicillium* sp. dan *Mucor* sp. pada buah apel dan pir dan masih diteliti kemungkinannya untuk digunakan pada komoditas lain. Produk terbaru Shemer® yang diregistrasi di Israel dengan bahan dasar khamir *Metschnikowia fructicola* (Kurtzman dan Droby, 2001) diketahui efektif mengendalikan patogen pada anggur, stroberi dan ubi jalar.

Beberapa studi mengindikasikan bahwa beberapa spesies khamir merupakan agens pengendali hayati yang efektif untuk mengendalikan berbagai macam cendawan patogen dengan berbagai mekanisme. Beberapa patogen yang dilaporkan dapat dikendalikan oleh *P. anomala* antara lain *Botrytis cinerea*, *Aspergillus candidus*, *Penicillium roqueforti* dan cendawan patogen lain serta cendawan penyebab pembusukan kayu (Druvefors *et al.*, 2005).

Beberapa khamir yang berasal dari rhizosfer dilaporkan mengurangi tingkat penyakit tanaman . *Barnettozyma californica* dan *Galactomyces candidum* diisolasi dari rhizosfer *Drosera spatulata* menunjukkan antagonis yang signifikan efek terhadap *Glomerella cingulata* dalam pengendalian (Fu *et al.*, 2016). Juga khamir tanah *Vanrija albida* menunjukkan efek negatif terbaik pada pertumbuhan patogen tanaman *Verticillium dahliae* dan *Pythium aphanidermatum* (Mestre *et al.*, 2016).

2.3.6 Mekanisme antagonisme khamir

Sebagian besar khamir di alam hidup sebagai saprofit dan berperan penting dalam siklus biogeokimia pada ekosistem. Selain sebagai saprofit, khamir dapat hidup sebagai epifit, endofit. Khamir memiliki beberapa enzim penting seperti selulase, fosfatase, lipase, dan proteinase yang menyebabkan khamir memegang peran yang penting dalam dekomposisi senyawa organik dan dapat digunakan untuk keperluan industri (Spencer dan Spencer, 1997 dalam Kanti, 2004). Khamir memiliki mekanisme antagonisme berupa kompetisi nutrisi dan ruang, parasitisme dan produksi enzim litik serta induksi ketahanan sehingga mampu mengendalikan beberapa patogen pascapanen (Nunes, 2012 dalam Hartati *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian Ferraz *et al.* (2016) menunjukkan bahwa khamir *Rhodotorula minuta*, *Candida azyma* dan *Aureobasidium pullulans* memiliki potensi untuk mengendalikan busuk asam pada jeruk sebagai pencegahan dan kuratif. Ukuran lesi yang disebabkan oleh *G. citri-aurantii* pada buah jeruk nipis di Meksiko (*Citrus aurantifolia*) berkurang secara signifikan ketika buah diobati dengan dua isolat khamir epifit *Debaryomyces hansenii* dan *Pichia pastoris*. Beberapa spesies khamir dapat menghasilkan toksik dan antimikroba yang mematikan untuk jamur berfilamen. *Pichia membranifaciens* ditemukan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Botrytis cinerea* melalui toxic dan Coelho, 2005 (dalam Ferraz *et al.*, 2016) menunjukkan bahwa khamir antagonis *Candida guilliermondii* dan *Pichia ohmeri* dapat digunakan untuk pengendali dari jamur *Penicillium expansum* dalam apel. Persaingan di antara mikroorganisme untuk lingkungan yang penting sumber daya seperti nutrisi dan ruang dianggap sebagai mekanisme biokontrol mendasar dalam interaksi khamir patogen (Bleve *et al.*, 2006 dalam Spadaro *et al.*, 2016).

2.3.7 Potensi khamir

Auksin atau *Indole – 3 - acetic acid* (IAA) adalah fitohormon yang paling umum pada tumbuhan. Ini sangat penting untuk pertumbuhan tanaman dan proses pengembangan, paling sering dalam kombinasi dengan yang lain fitohormons seperti sitokinin atau giberelin. Di antara khamir tanah, spesies-spesies berikut

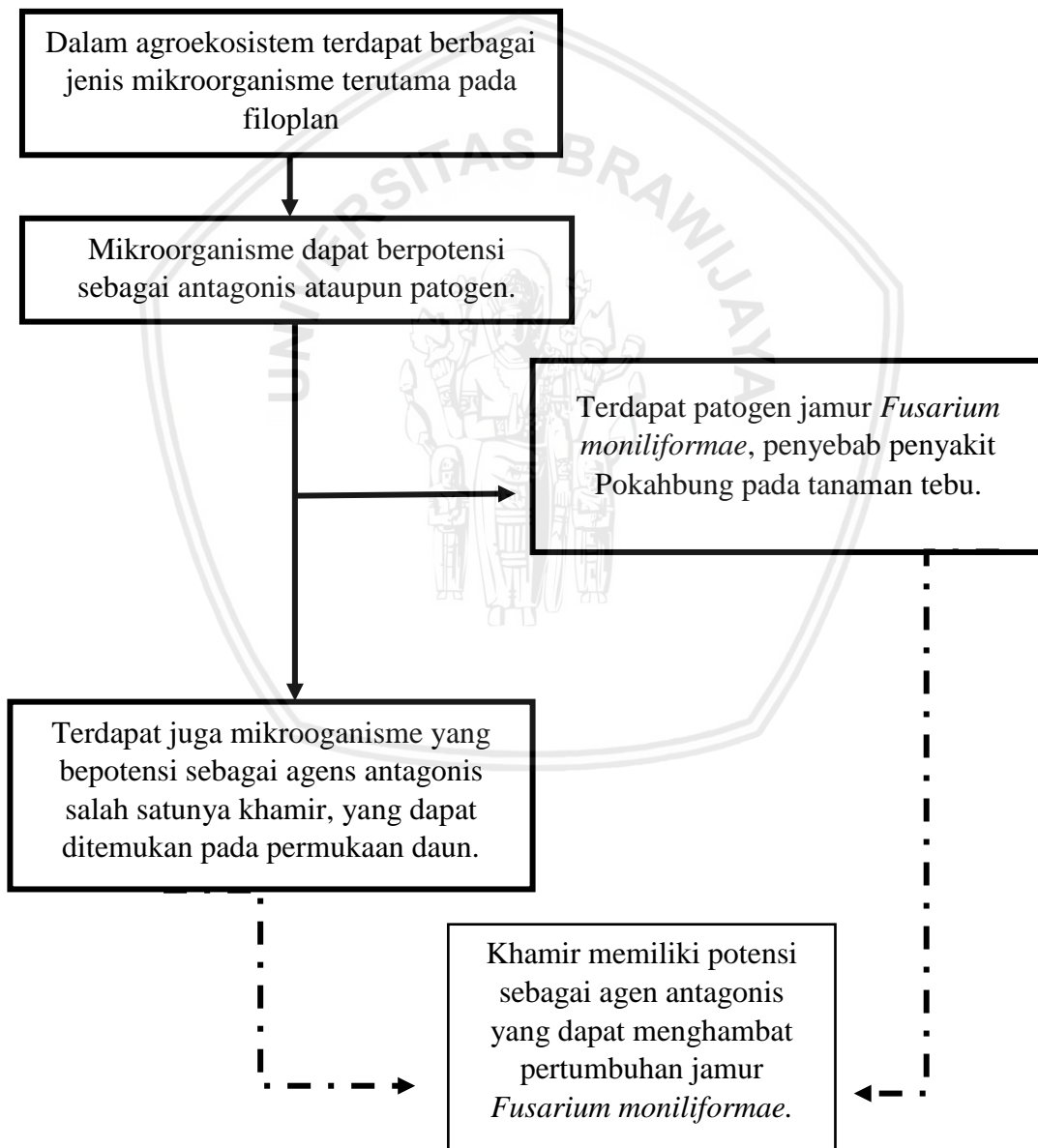
dapat mensintesis IAA: *Goffeauzyma gastrica*, *Holtermanniella takashime*, *Papiliotrema laurentii*, *Piskurozyma cylindrica*, *Saitozyma podzolica*, *Solicoccozyma terrea*, *Solicoccozyma terricola*, *Tausonia pullulans* dan *Vanrija albida* (Streletskii *et al.*, 2016). Tinggi jumlah IAA ($> 1000 \mu\text{g} / \text{g}$) telah terdeteksi di *Saitozyma podzolica* dan *Solicoccozyma terricola*. Berdasarkan penelitian khamir *Cyberlindnera* (sebelumnya *Williopsis*) meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung (Sivasithamparam *et al.*, 2005).

Oleaginous khamir adalah untuk produksi biofuel. Di antara mereka ada beberapa genera khamir yang termasuk *Apiotrichum* (sebelumnya *Trichosporon porosum*), *Cutaneotrichosporon* (sebelumnya *Cryptococcus curvatus*), *Lipomyces*, *Saitozyma* (sebelumnya *Cryptococcus podzolicus*) dan *Solicoccozyma* (sebelumnya *Cryptococcus terricola*) (Tanimura *et al.*, 2014). Yang termasuk pada khamir patogenik *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis*, beberapa spesies *Candida* yang sebelumnya diklasifikasikan dalam genus *Trichosporon* dapat ditemukan di tanah.

III. METODOLOGI

3.1 Kerangka Konseptual

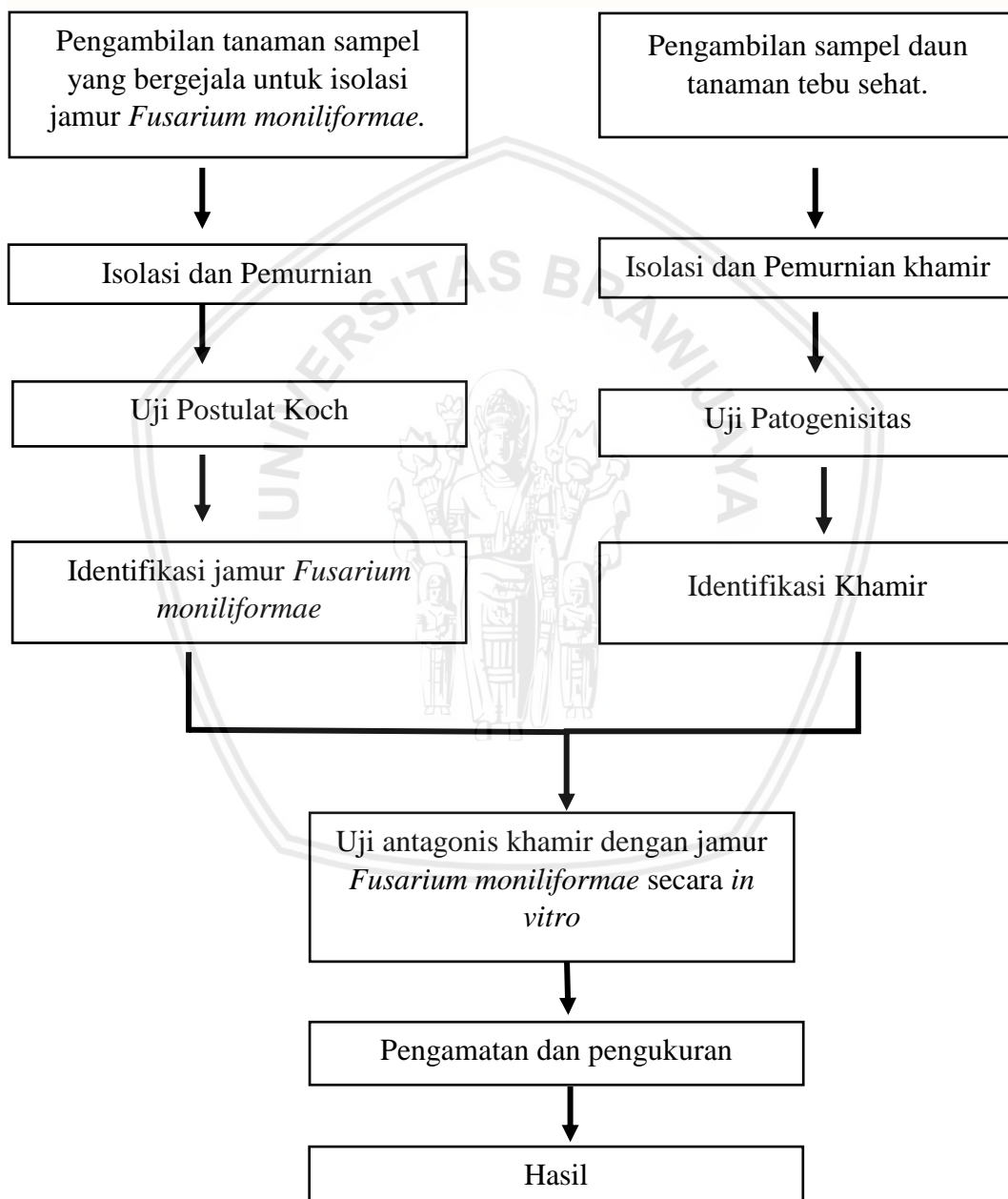
Kerangka konseptual menjadi pedoman peneliti untuk menjelaskan secara sistematis teori yang digunakan dalam penelitian. Keterkaitan antara teori yang mendukung dalam penelitian yang digunakan sebagai pedoman dalam menyusun sistematis penelitian. Kerangka konseptual dari penelitian ini digambarkan pada (Gambar 11).



Gambar 11. Kerangka konseptual

3.2 Kerangka Operasional

Kerangka Operasional merupakan kerangka yang menyatakan tentang urutan langkah dalam melaksanakan penelitian. Kerangka operasional menunjukkan langkah-langkah penelitian secara bertahap dan sistematis (Gambar 12).



Gambar 12. Kerangka operasional

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan mulai bulan Januari sampai Mei 2019 di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Sampel patogen dan khamir diperoleh dari lahan tebu milik Pabrik Gula Kebonagung Malang.

3.4 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, kompor listrik, panci, spatula, pisau, bunsen, korek api, penggaris ($p= 30$ cm), gelas ukur ($v= 1000$ ml), labu Erlenmeyer ($v= 250$ ml), cawan petri ($\varnothing= 9$ cm), *autoclave*, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), jarum Ose, pinset, *hand sprayer*, *object glass*, *cover glass*, *cork borer*, micropipet, pipet tetes, stik L, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *rotary shaker*, mikroskop dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Yeast Malt Agar* (YMA), alkohol 70%, NaOCl 2%, spirtus, aquades steril, chloramphenicol, plastik, aluminium foil, tisu, bibit tebu berumur 3 bulan, jarum suntik, plastik *wrapping*, kertas label, bagian daun tanaman tebu yang sehat untuk isolasi khamir, tanaman tebu yang bergejala *Fusarium moniliformae* untuk isolasi patogen

3.5 Metode Penelitian

Kegiatan penelitian ini terdiri dari pengambilan sampel daun tanaman tebu, isolasi dan identifikasi jamur patogen *Fusarium moniliformae*, uji Postulat Koch, isolasi dan identifikasi khamir, uji patogenisitas, uji antagonis khamir dengan patogen *F. moniliformae* pada media PDA dan analisis data. Penelitian ini dilakukan pada kondisi *in vitro*.

3.6 Metode Pelaksanaan

1. Penentuan sampel

Lokasi pengambilan sampel adalah kebun milik Pabrik Gula Kebonagung Malang. Kondisi pertanaman tebu sampel adalah monokultur dengan tanah kering. Pada pertanaman tebu ditemukan tanaman yang positif terinfeksi Pokahbung dan tanaman yang sehat. Sampel khamir yang digunakan untuk

sumber isolasi adalah daun tebu dari tanaman sehat. Pada setiap tanaman dilakukan pengambilan daun secara acak. Pada setiap tanaman sampel diambil daun atas dan bawah.

Pengambilan sampel daun menggunakan *purposive sampling*, Pengambilan sampel dilakukan dengan memilih secara sengaja tanaman tebu dengan kriteria khusus yaitu tanaman sehat dan tidak menunjukkan gejala serangan hama dan penyakit tanaman. Sampel dipilih sebanyak 5 titik. Sampel tanaman disimpan pada wadah kotak dan diberi label.

2. Isolasi Jamur Patogen *Fusarium moniliformae* L.

Patogen diisolasi dari tanaman tebu yang bergejala penyakit Pokahbung. Isolasi dilakukan dengan memotong bagian tanaman yang terinfeksi dengan proporsi setengah bagian sehat dan setengah bagian sakit. Potongan bagian yang terinfeksi tersebut kemudian disterilisasi dengan merendamnya dalam NaOCl 2%, alkohol 70%, dan aquades sebanyak dua kali, dengan waktu perendaman masing-masing selama 1 menit. Lalu potongan tersebut ditiriskan pada tisu steril sampai kering. Dan dipotong sekitar 1 cm. Potongan bagian tanaman tebu yang bergejala ditanam di media PDA pada cawan petri. Semua tahapan tersebut dilakukan di dalam LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*) untuk menjaga kondisi aseptik sehingga dapat mengurangi terjadinya kontaminasi. Inkubasi dilakukan selama 7 hari, kemudian dilakukan pemurnian isolat atau purifikasi untuk mendapatkan biakan murni.

3. Uji Postulat Koch

Pengujian menggunakan bibit tanaman tebu berupa bibit dalam polybag berumur 3 bulan. Infeksi buatan dilakukan dengan metode yang sederhana yaitu penyuntikan suspensi jamur patogen disuntikkan pada 7 cm di bagian bawah ketiak daun. Penyuntikkan dilakukan pada bagian ini agar tidak mengenai titik tumbuh sehingga kematian tanaman tebu dapat dihindari. Lalu melakukan re – isolasi.

4. Identifikasi Jamur

Miselium yang muncul dari permukaan jaringan tanaman kemudian diamati dengan mikroskop dan diambil dengan jarum ose steril lalu diletakkan pada *object*

glass yang telah ditetesi dengan menggunakan aquades steril dan ditutup dengan *cover glass*. Hal ini dilakukan untuk melihat morfologi jamur. buku identifikasi jamur yang digunakan yakni *Illustrated General of Imperfect Fungi* yang disusun oleh H.L. Barnett dan B.B. Hunter (1972). Identifikasi makroskopis meliputi bentuk, warna, tekstur, dan pertumbuhan koloni. Sedangkan pengamatan secara mikroskopis antara lain: hifa bersekat atau tidak bersekat, bentuk konidia (bulat, lonjong, berantai atau tidak beraturan), warna hifa (gelap atau hialin transparan), dan warna konidia (gelap atau hialin transparan)

5. Isolasi Khamir

Pengambilan daun tebu sehat dilakukan pada pertanaman tebu yang berumur sekitar 5-6 bulan dengan pengambilan acak pada daun muda ataupun tua. Isolasi dilakukan menurut metode De Insuellas *et al.* (1998) yang telah dimodifikasi. Sebanyak 10 gram daun dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 250 ml yang telah berisi 100 ml aquades steril, kemudian digojok menggunakan *rotary shaker* pada 120 rpm selama 60 menit untuk melepaskan sel khamir dari permukaan. Setelah itu, melakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-5} . Sebanyak 0.1 ml suspensi yang diambil dari setiap hasil pengenceran disebar dalam media YMA atau menggunakan metode *spread plate*, kemudian diratakan menggunakan stik L.

6. Pemurnian

Koloni selanjutnya dipurifikasi atau dimurnikan dengan memilih koloni yang tumbuh dominan dan berbeda, serta menunjukkan ciri-ciri morfologi koloni khamir. Hasil isolasi dimurnikan pada media YMA baru menggunakan metode *streak plate* (Widiastutik dan Alami, 2014).

7. Uji Patogenisitas Khamir

Uji patogenisitas *in vivo* dilakukan dengan menggunakan daun pada bibit tebu berumur 3 bulan. Setiap daun yang telah disterilisasi diinokulasi dengan satu koloni khamir yang sebelumnya dibuat menjadi suspensi dengan menambah 10 ml air steril kedalam 1 cawan petri khamir. Suspensi diinfiltrasikan ke dalam helai daun tebu dengan alat injeksi yang jarumnya dilepas sampai nampak bercak

kebasahan (hijau tua). Kontrol menggunakan air steril. Pengamatan terhadap gejala nekrotik yang muncul dilakukan setiap hari.

8. Identifikasi Khamir

Khamir yang tumbuh pada media hasil purifikasi akan dijadikan preparat untuk memudahkan proses identifikasi. Langkah yang pertama yakni aquades steril diambil secukupnya dengan menggunakan pipet, kemudian diletakkan diatas permukaan *object glass*. Isolat khamir diambil menggunakan jarum Ose dan diletakkan diatas *object glass*, kemudian ditutup dengan *cover glass*.

Identifikasi khamir dilakukan hingga tingkat genus dengan mengacu pada buku *The Yeast a Taxonomic Study* (Kurtzman dan Fell, 2011). Identifikasi dilakukan dengan pengamatan morfologi makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan morfologi makroskopis ialah pengamatan koloni pada saat isolasi dan purifikasi meliputi bentuk, tekstur, warna, permukaan, elevasi dan tepi. Pengamatan mikroskopis meliputi pengamatan sel khamir yaitu bentuk sel, ukuran, pertunasan.

9. Uji Antagonis Khamir terhadap Pertumbuhan Jamur *Fusarium moniliformae* L. secara *in vitro*

Pengujian antagonis antara khamir dan jamur *Fusarium moniliformae* L. dilakukan secara *in vitro* merujuk pada (Sugipriatini, 2009 dalam Intan *et al.*, 2014) yaitu biakan murni jamur *F. moniliformae* diambil menggunakan *cork borer* dengan diameter 0,5 cm dan diletakkan pada sisi kiri media PDA dengan jarak \pm 3 cm dari khamir kemudian goreskan khamir pada cawan Petri secara tegak lurus sebanyak 1 lup inokulasi kemudian diinkubasi pada suhu ruang (Gambar 13). Pengamatan lebar zona hambat dan persentase tingkat hambat relatif khamir terhadap jamur *F. moniliformae*. dilakukan setiap hari sampai 12 hari setelah inokulasi (hsi). Rancangan yang digunakan adalah RAL dengan jumlah perlakuan uji antagonis sebanyak jumlah khamir yang ditemukan dan ditambah perlakuan kontrol (jamur patogen tanpa inokulasi khamir). Perlakuan kontrol tanpa inokulasi khamir juga digunakan sebagai pembanding. Setiap perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Persentase penghambatan dihitung berdasarkan teknik yang digunakan dalam Singh dan Vijay (2011)

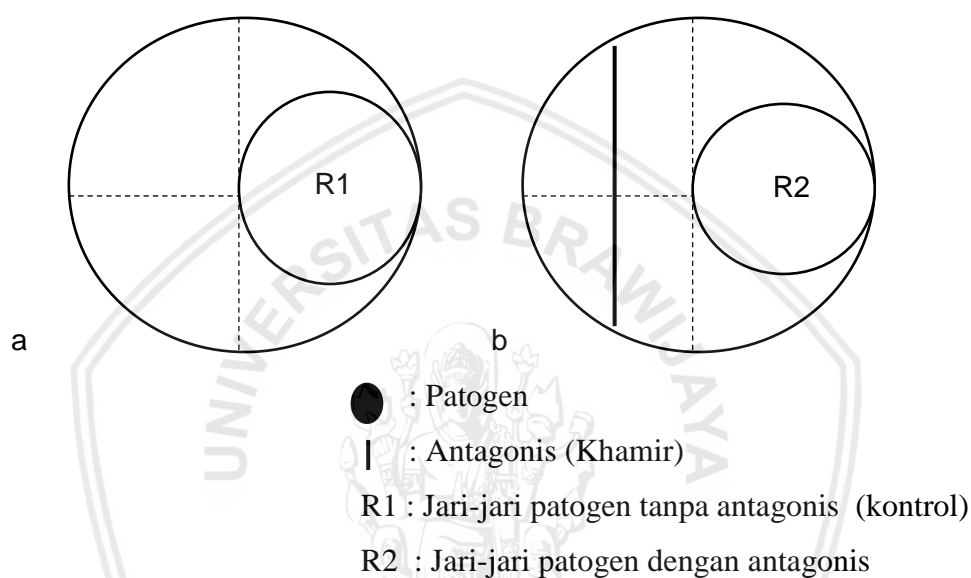
$$Z = \frac{R1 - R2}{R2} \times 100\%$$

Keterangan:

Z : Persentase penghambatan

R1 : Jari-jari patogen tanpa antagonis (kontrol)

R2 : Jari-jari patogen dengan antagonis



Gambar 13. Skema uji antagonis khamir terhadap jamur *Fusarium moniliformae* (a) kontrol, (b) perlakuan.

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji antagonis khamir filoplan dengan patogen *F. moniliforme* dianalisis dengan menggunakan analisis ragam. Apabila terdapat perbedaan yang nyata, maka akan dilanjutkan dengan menggunakan uji *Duncan* pada tingkat kepercayaan 95%. Analisis data diolah menggunakan *Microsoft excel* 2010 dan aplikasi *SPSS 22*.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

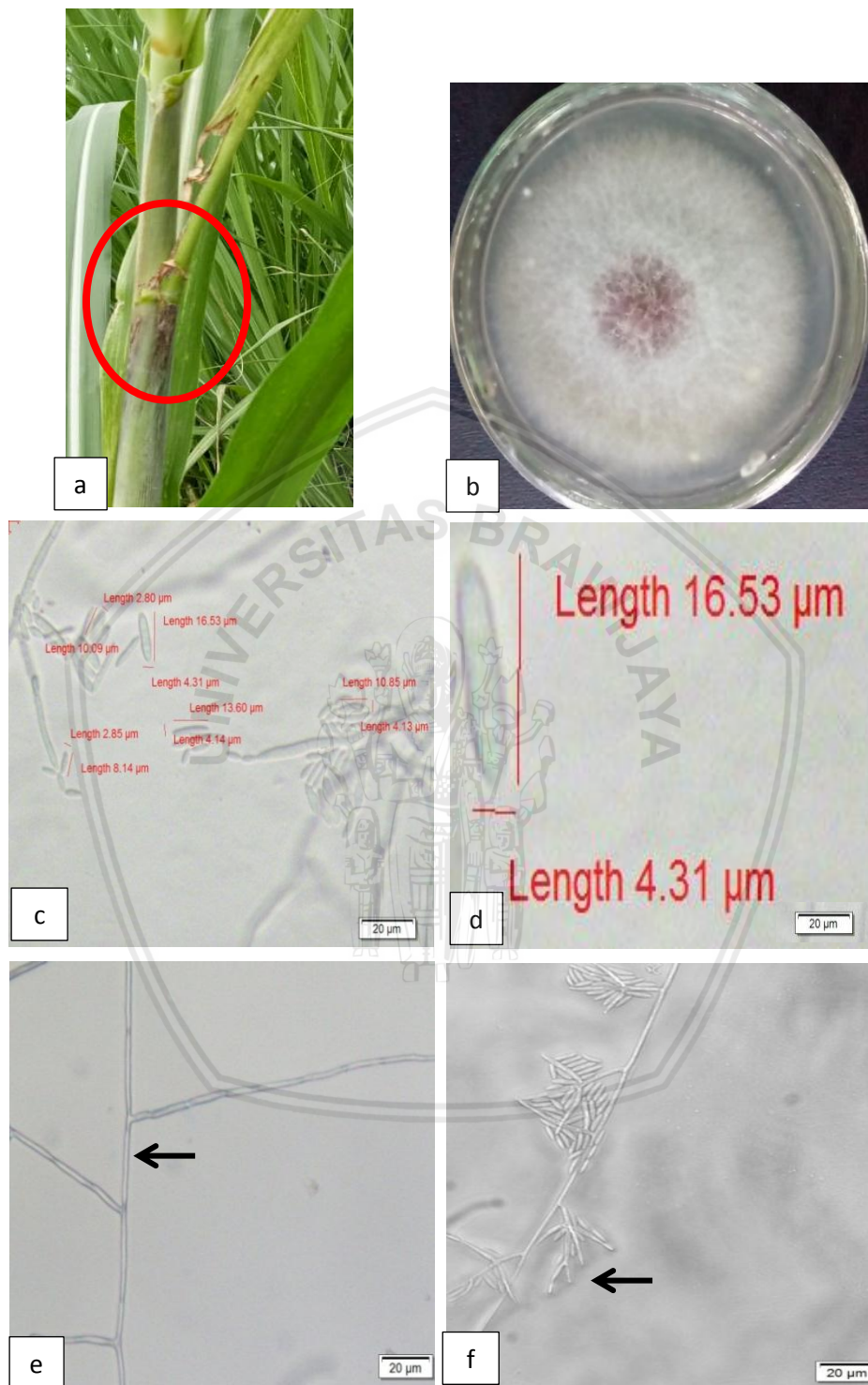
4.1 Patogen *Fusarium moniliformae* L.

4.1.1 Identifikasi Jamur Patogen *Fusarium moniliformae* L.

Isolat patogen *Fusarium moniliformae* diperoleh dari tanaman tebu yang bergejala Pokahbung seperti daun tampak klorotis dan terjadi perubahan bentuk (malformasi) pada batang yang mana semakin keatas semakin mengecil (Gambar 14a).

Morfologi koloni isolat jamur *F. moniliformae* secara makrokopis memiliki ciri berwarna putih keunguan dan memiliki miselium yang tebal seperti tumpukan kapas, koloni membulat dengan pinggiran yang rata. Menurut Chander (2011) pada inkubasi dengan selama 4-5 hari koloni jamur *F. moniliformae* berbentuk kapas padat, pada awalnya berwarna putih tetapi berkembang berubah menjadi pigmen merah keunguan pada bagian tengah dengan miselium berwarna putih (Gambar 14b).

Pengamatan mikroskopis menunjukkan bentuk konidiofor bersekat dan hialin. Makrokonidium jamur *F. moniliformae* berbentuk lonjong, memiliki dan tidak memiliki septa. Mikrokonidiofor hampir selalu tidak memiliki cabang dan terbentuk pada miselia aerial yang membawa fialid 1-3 yang memanjang dan berbentuk sederhana, tidak berseptum atau berseptum 1-2, terdapat dalam jumlah banyak dan berwarna merah muda, serta berukuran panjang 4,3-19 μm dan lebar 1,5-4,5 μm . Menurut Nordahliawate (2008) mikrokonidia berbentuk oval dan ramping 0 - 1 septa ukuran mulai dari 5,4 - 15,0 x 1,9 - 4,1 μm . Hal ini juga sama dengan pernyataan Mohd Zainudin (2017) yang menyatakan bahwa mikrokonidia *F. moniliformae* berbentuk sel apikal melengkung dan dibentuk dengan 3-5 septa. Mikrokonidia dianggap berbentuk oval hingga obovoid berukuran sekitar 3,76-37,59 $\mu\text{m} \times$ 1,12-4,58 μm (Gambar 14d). . Morfologi anamorf *F. sacchari* memiliki makrokonidium dengan 3- 4 sekat dan memiliki makrokonidium yang berbentuk oval yang terikat monofialid dan *false head* pada monofialid dan polifialidnya (Gambar 14f) (Doe *et al.*, 2005 dalam Sutejo, 2008). Makrokonidium juga terbentuk, terkadang jarang ditemukan (Bacon *et al.*, 2004).

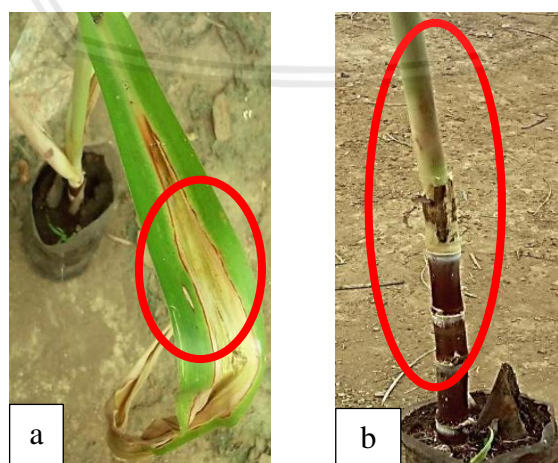


Gambar 14. Jamur *Fusarium moniliforme* ; a. Gejala Pokahbung dilapang, b. Makroskopis (biakan murni umur 7 hsi pada media PDA), c. Mikroskopis (perbesaran 400 x) Morfologi, d. Mikrokonidia tunggal, e. Konidiofor, f. Monophialid bercabang.

4.1.2 Hasil Uji *Postulat Koch* Patogen *Fusarium moniliformae* L.

Isolat murni jamur *Fusarium moniliformae* yang diperoleh diuji kembali dengan melakukan uji *Postulat Koch*, hal ini diperuntukkan untuk mengetahui bahwa isolat tersebut adalah patogen tanaman. Apabila jamur *F. moniliformae* diyakini benar penyebab penyakit Pokahbung maka akan muncul gejala yang sama dengan gejala Pokahbung yang berada dilapang.

Isolat jamur *F. moniliformae* diujikan pada bibit tanaman tebu berumur sekitar 3 bulan. Hasil uji menunjukkan bahwa bibit tanaman tebu mengalami gejala yang mirip dengan penyakit Pokahbung yang berada dilapang setelah dinokulasi dengan isolat jamur *F. moniliformae*. Pada batang terlihat mengalami perubahan bentuk yang mana adanya malformasi batang, adanya klorosis pada bagian daun (Gambar 15). Menurut Nordahliawate (2008) hasil inokulasi yang dilakukan didapati bahwa gejala yang terdapat pada tanaman inang perlakuan mirip dengan gejala yang diamati pada lapang. Tanaman tebu pada tahap pertumbuhan awal lebih rentan terhadap infeksi inokulasi patogen dibandingkan dengan tanaman tua (Martin *et al.*, 1961; Raid dan Lentini, 1991 dalam Nordahliawate 2008). Tanaman tebu rentan yang diinokulasi patogen dengan cara disuntikkan mengalami perubahan, lubang alami seperti stomata dan hidatoda dapat memfasilitasi perkecambahan dan penetrasi spora dalam jaringan (Dickinson, 1982 dalam Agrios, 2005).



Gambar 15. Hasil Uji *Postulat Koch* a) Klorosis pada Daun, b) Malformasi Batang

4.2 Ekplorasi Khamir Filoplan pada Daun Tanaman Tebu

4.2.1 Identifikasi Khamir pada Filoplan Daun Tanaman Tebu

Khamir diisolasi dari filoplan daun tanaman tebu yang sehat. Sampel daun diambil dari lahan perkebunan PG. Kebonagung diwilayah Sempalwadak. Hasil isolasi dari permukaan daun tanaman tebu sehat diperoleh 7 isolat khamir filoplan.

Bagian filoplan tanaman banyak dikolonisasi berbagai macam mikroba. Khamir menyukai kondisi lingkungan yang lembab yang terdapat banyak eksudat tanaman yang terurai seperti asam amino dan gula, sehingga khamir lebih umum ditemukan pada permukaan daun, buah akar dan berbagai jenis makanan (Deacon, 2006). Keragaman mikroba filoplan dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu internal seperti genetik tanaman dan yang kedua yaitu eksternal seperti kelembaban, suhu, sinar UV, dan sebagainya. Bahkan menurut Lindow *et al.* (2003) keragaman mikroba filoplan berbeda disetiap bagian tanaman karena adanya pengaruh topografi permukaan dan adanya bahan kimia yang ada dipermukaan tanaman.

Isolat khamir yang diperoleh dibedakan berdasarkan kenampakan makroskopis seperti warna, bentuk, tepian dan elevasi koloni. Secara mikroskopis dibedakan berdasar bentuk dan ukuran sel. Hasil dari eksplorasi pada bagian filoplan daun tebu ditemukan 7 isolat khamir yang telah diisolasi dan diidentifikasi (Tabel 1). Diketahui bahwa pada filoplan daun tebu terdapat 2 isolat dari genus *Debaryomyces* sp., 1 genus *Kluyveromyces* sp., *Pichia* sp. termasuk genus terbanyak yang ditemukan yaitu 3 isolat dan 1 isolat dari genus *Candida* sp.

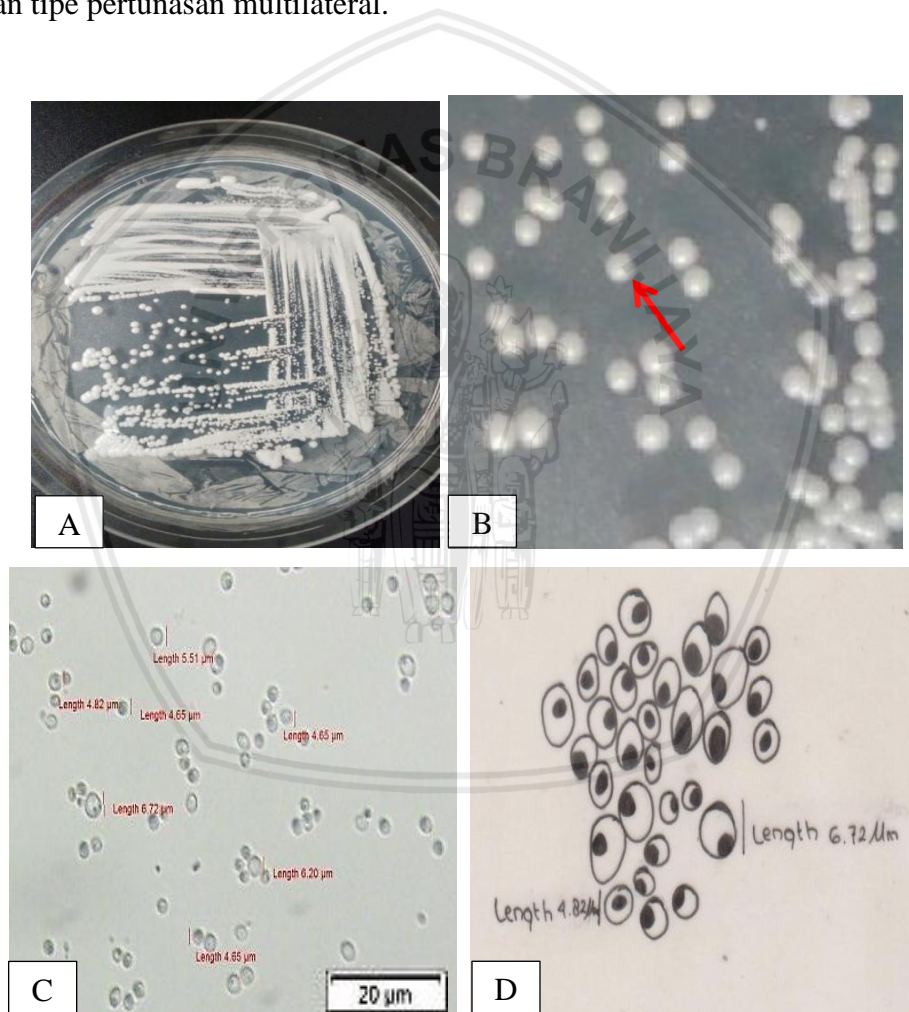
Tabel 1. Karakterisasi makroskopis morfologi koloni isolat khamir filoplan

Isolat*	Warna	Bentuk	Tepian	Elevasi	Identifikasi
YFDT 01	Putih susu	Bundar	Rata	Timbul	<i>Debaryomyces</i> sp.
YFDT 02	Putih susu	Bundar	Rata	Timbul	<i>Kluyveromyces</i> sp.
YFDT 03	Putih keabuan	Bundar	Tidak rata	Timbul	<i>Debaromyces</i> sp.
YFDT 04	Putih tulang	Bundar	Tidak rata	Timbul	<i>Pichia</i> sp.
YFDT 05	Krem	Bundar	Rata	Timbul	<i>Pichia</i> sp.
YFDT 06	Putih kecoklatan	Bundar	Rata	Timbul	<i>Pichia</i> sp.
YFDT 07	Putih	Bundar	Rata	Timbul	<i>Candida</i> sp.

*Keterangan: Y: yeast, F: filoplan, D: daun, T: tebu

1. Khamir *Debaryomyces* sp. (YFDT 01)

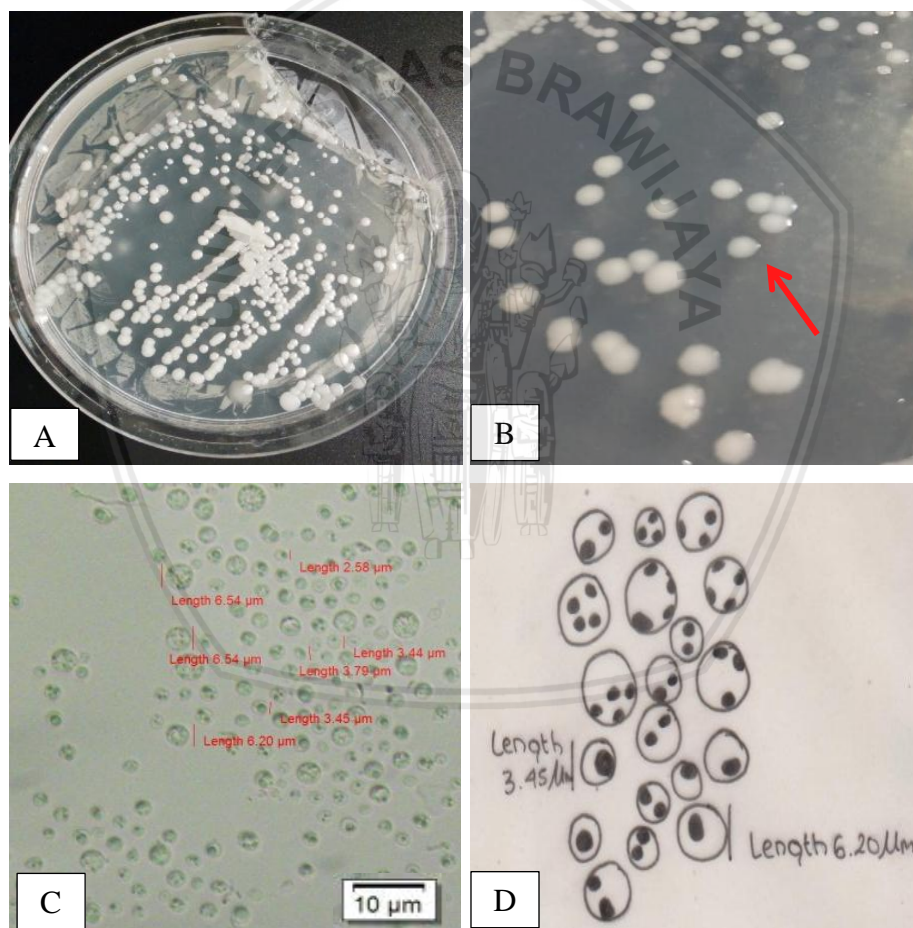
Isolat YFDT 01 memiliki koloni berwarna putih susu (Gambar 16a), tepi koloni rata, elevasi timbul dan permukaan agak mengkilap (Gambar 16b). Sel berbentuk bulat, sel tunggal atau berkelompok, ukuran sel berkisaran sampai 4-6 μm (Gambar 16c). Kutzman dan Fell (1998) menyatakan bahwa koloni *Debaryomyces* sp. berwarna putih hingga putih, tekstur butiran, halus, dan mengkilap. Sel berbentuk bulat telur, sel tunggal atau berpasangan, berukuran 2-7 μm , dan tipe pertunasan multilateral.



Gambar 16. Khamir *Debaryomyces* sp. A. Koloni umur 5 hsi pada media YMA, B. Koloni tunggal umur 5 hsi pada media YMA, C dan D. Morfologi sel pada perbesaran 400x.

2. Khamir *Kluyveromyces* sp. (YFDT 02)

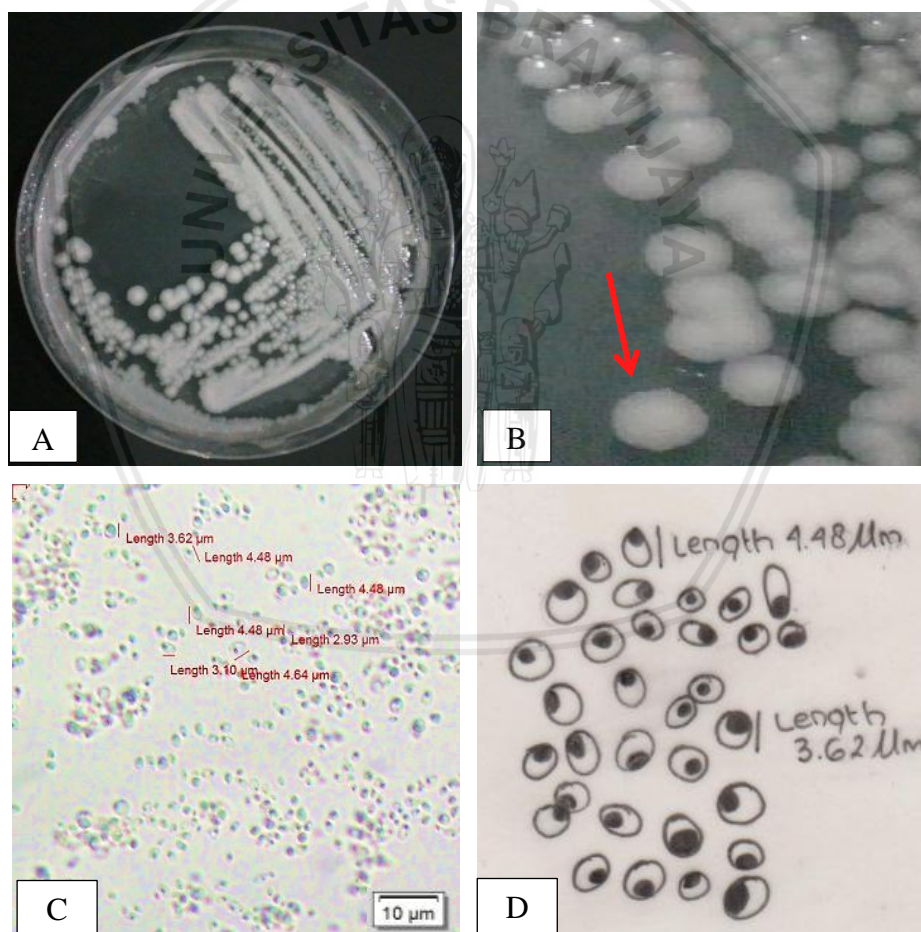
Isolat YFDT 02 termasuk dalam genus *Kluyveromyces* sp. dengan bentuk koloni bundar, tepian rata, elevasi timbul dan permukaan mengkilap (Gambar 17b) dengan warna putih susu (Gambar 17a). Morfologi sel berbentuk bulat dengan ukuran 2-7 μm (Gambar 17c). Khamir *Kluyveromyces* sp. Menurut Lee (2009) memiliki sel ovoidal menjadi *ellipsoidal*, 2,7-5,2 x 3,0-6,3 μm , tunggal maupun berpasangan, multilateral. Pada agar-agar YM, *streak culture* bersifat creamy, *butyrous*, halus dan berkilau.



Gambar 17. Khamir *Kluyveromyces* sp. A. Koloni umur 5 hsi pada media YMA, B. Koloni tunggal umur 5 hsi pada media YMA, C dan D. Morfologi sel pada perbesaran 400x

3. Khamir *Debaromyces* sp. (YFDT 03)

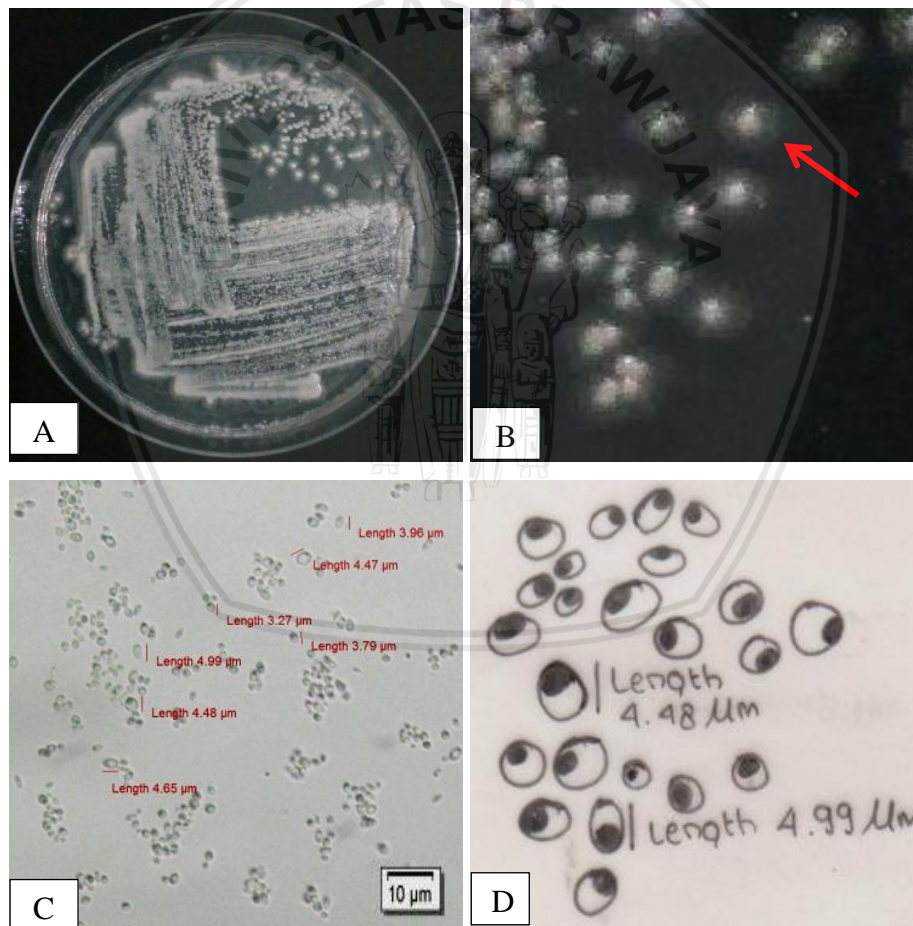
Berdasarkan karakteristik morfologi isolat YFDT 03 termasuk kedalam genus *Debaryomyces* sp. yang memiliki koloni berbentuk bundar, tepian tidak rata dengan elevasi timbul (Gambar 18b) dan memiliki warna koloni putih keabuan (Gambar 18a). Morfologi sel berbentuk bulat dengan ukuran sel 3-5 μm (Gambar 18c). Menurut Kreger (1975) bentuk sel dari *Debaromyces* sp. ialah bulat atau secara tunggal berebentuk *ellipsoidal* pendek, berpasangan atau rantai pendek, koloni berwarna putih keabuan hingga kuning, permukaan mengkilap, tekstur halus dan mungkin berkerut.



Gambar 18. Khamir *Debaromyces* sp. A. Koloni umur 5 hsi pada media YMA, B. Koloni tunggal umur 5 hsi pada media YMA, C dan D. Morfologi sel pada perbesaran 400x

4. Khamir *Pichia* sp. (YFDT 04)

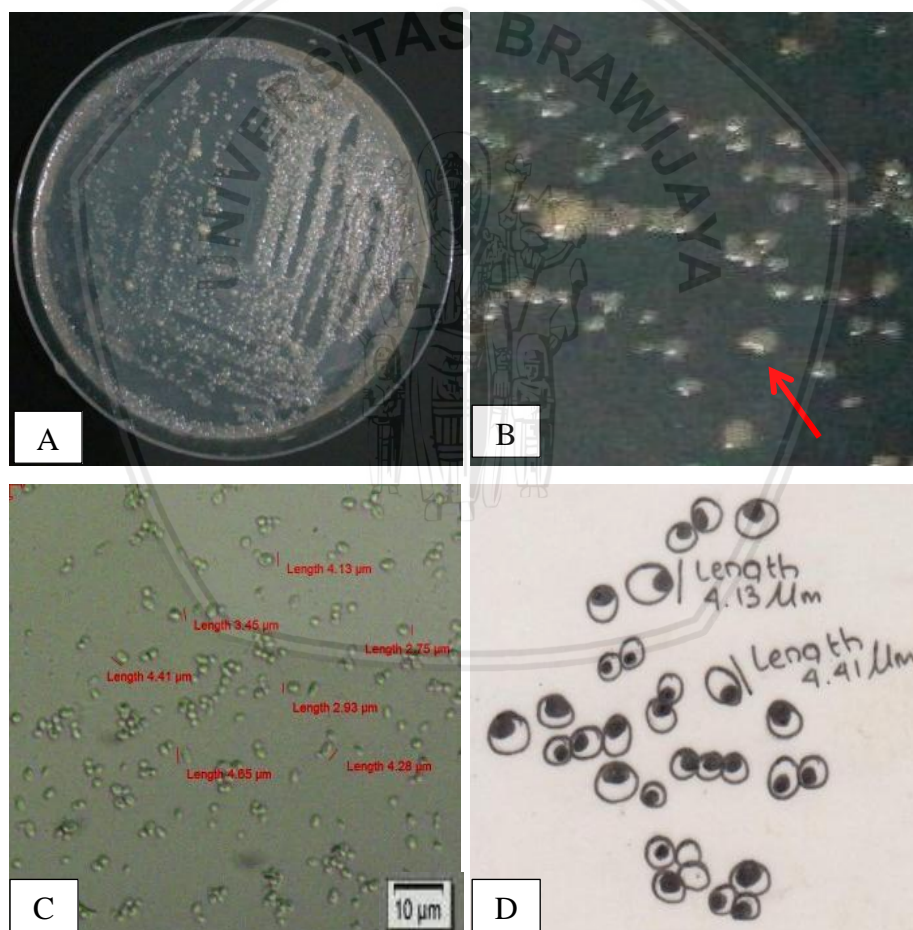
Koloni khamir berwarna putih (Gambar 19a), bertekstur butiran, elevasi cembung, memiliki tepian yang tidak rata dan permukaan yang sedikit mengkilap (Gambar 19b). Secara mikroskopis memiliki bentuk sel yang ovoid atau bulat telur dengan ukuran sel yang berkisar 2-3 μm dan memiliki tipe pertunasan multilateral (Gambar 19c). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa koloni *Pichia* sp. memiliki bentuk sel yang bulat dengan ukuran sel 2-5 μm , dengan tipe pertunasan sel multilateral dan tumbuh secara tunggal ataupun berpasangan, permukaan yang mengkilap dan berwarna krem sampai dengan putih.



Gambar 19. Khamir *Pichia* sp. A. Koloni umur 5 hsi pada media YMA, B. Koloni tunggal umur 5 hsi pada media YMA, C dan D. Morfologi sel pada perbesaran 400x.

5. Khamir *Pichia* sp. (YFDT 05)

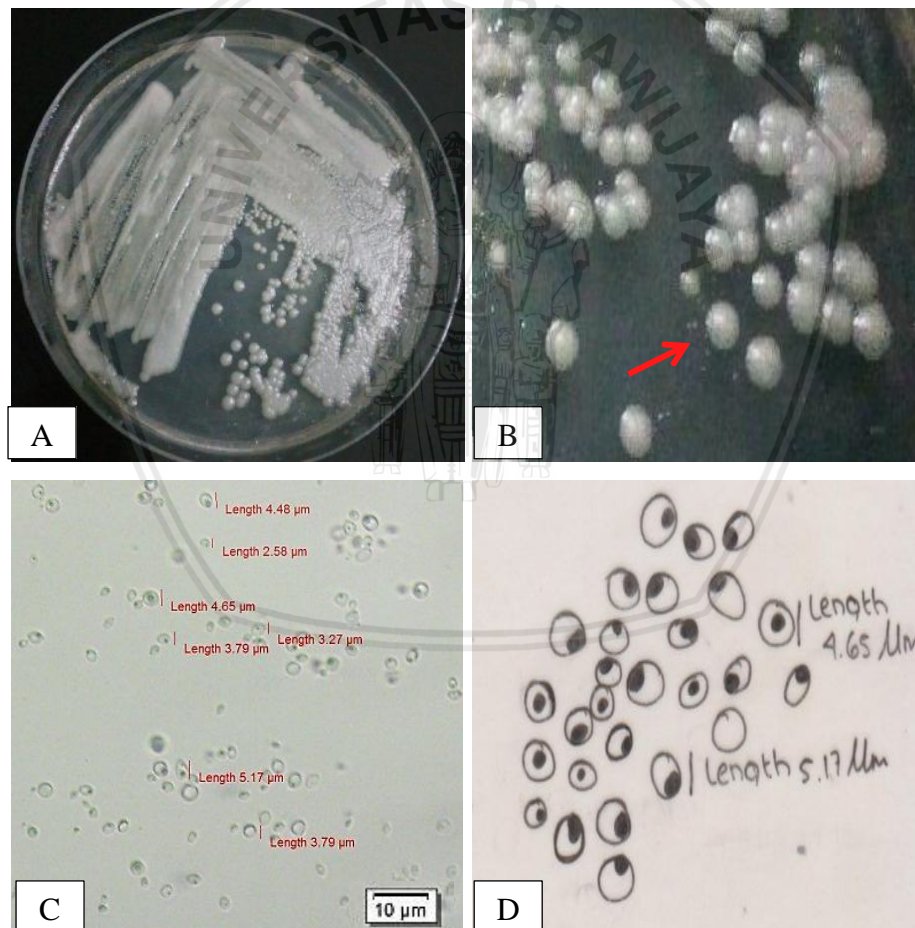
Koloni isolat YFDT 05 diidentifikasi termasuk dalam *Pichia* sp. yang mana memiliki warna krem (Gambar 20a), bentuk bundar dengan tepian rata dan elevasi timbul (Gambar 20b), memiliki tipe pertunasan multilateral, dengan bentuk sel bulat dan berukuran 2-5 μm (Gambar 20c). Kutzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa sel berbentuk bulat untuk memanjang (1.9-4.1) X (2.1-6.1) μm secara tunggal, berpasangan, kelompok kecil; ovoid, ellipsoidal, atau silinder, multilateral. Pada YMA memiliki bentuk *butyrous*, berwarna coklat atau krem, rata, halus.



Gambar 20. Khamir *Pichia* sp . A. Koloni umur 5 hsi pada media YMA, B. Koloni tunggal umur 5 hsi pada media YMA, C dan D. Morfologi sel pada perbesaran 400x

6. Khamir *Pichia* sp. (YFDT 06)

Isolat YFDT 06 termasuk khamir *Pichia* sp. yang memiliki bentuk koloni berwarna putih susu (Gambar 21a), elevasi timbul, tekstur padat dan butiran, permukaan koloni mengkilat, serta tepi koloni rata (Gambar 21b). Secara morfologi sel *Pichia* sp. berbentuk bulat telur dengan ukuran 3,58-3,87 μm , serta terdapat inti sel (Gambar 21c). Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa khamir genus *Pichia* memiliki ciri-ciri koloni berwarna putih krem, berbentuk butiran dan tekstur halus. Sedangkan ciri-ciri morfologi selnya yakni berbentuk bulat telur dengan ukuran 2-10 μm , bersel tunggal.

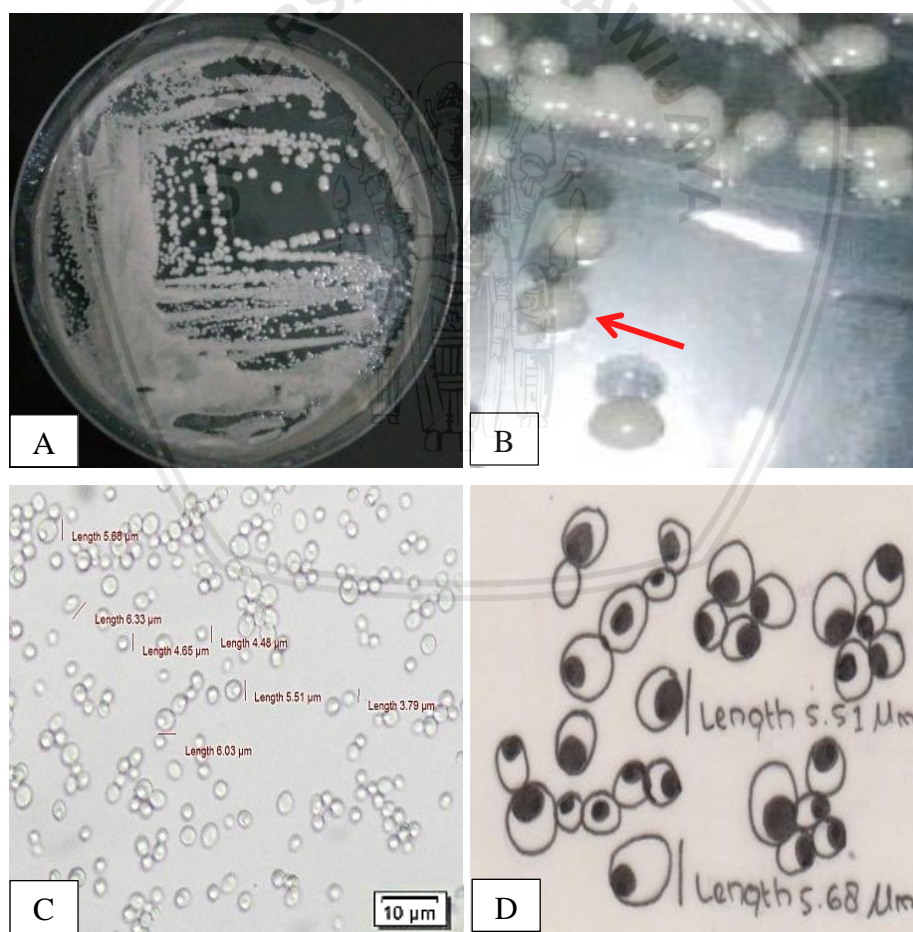


Gambar 21. Khamir *Pichia* sp. A. Koloni umur 5 hsi pada media YMA, B. Koloni tunggal umur 5 hsi pada media YMA, C dan D. Morfologi sel pada perbesaran 400x

7. Khamir *Candida* sp. (YFDT 07)

Koloni khamir *Candida* sp. berwarna putih tulang (Gambar 22a), memiliki elevasi agak cembung, memiliki tekstur padat dan butiran, permukaan agak mengkilat, serta tepi koloni rata (Gambar 22b). Morfologi sel *Candida* sp. berbentuk bulat dengan ukuran 3,31-4,39 μm , terdapat inti sel (Gambar 22c).

Kurtzman dan Fell (1998) mendeskripsikan bahwa khamir genus *Candida* sp. memiliki koloni seperti butiran, berwarna putih, memiliki elevasi agak cembung, bertekstur halus. Sedangkan morfologi *Candida* sp. memiliki bentuk sel bulat, lonjong, maupun bulat lonjong. Ukuran sel berkisar antara 1-5 μm , dan membelah dengan cara berkelompok seperti rantai pendek.



Gambar 22. Khamir *Candida* sp. A. Koloni umur 5 hsi pada media YMA, B. Koloni tunggal umur 5 hsi pada media YMA, C dan D. Morfologi sel pada perbesaran 400x

4.2.2 Hasil Uji Patogenisitas Khamir Filoplan Daun Tanaman Tebu

Sifat patogenik terhadap tanaman sangat penting bagi mikroorganisme yang akan digunakan sebagai agens antagonis. Mikroba yang berpotensi sebagai agens antagonis sebelum digunakan haruslah melalui pengujian agar memiliki kriteria diantaranya yaitu berkelanjutan, ramah lingkungan dan aman bagi kesehatan manusia (Tombe, 2002 dalam Ikbal, 2016).



Gambar 23. Uji Patogenisitas yang tidak menimbulkan gejala klorosis oleh khamir *Debaromyces* sp. (a), *Kluyveromyces* sp. (b), *Debaromyces* sp. (c), *Pichia* sp. (d), *Pichia* sp. (e), *Pichia* sp. (f), *Candida* sp. (g), kontrol positif (h).

Daun bibit tebu yang telah diinokulasi khamir (lingkaran merah) tidak menunjukkan gejala klorosis (Gambar 23). Khamir filoplan mampu bertahan dengan kondisi lingkungan dan nutrisi di luar tanaman sehingga daya adaptasi tinggi dan cenderung tidak bersifat patogenik. Keberhasilan khamir untuk tumbuh

pada bagian tanaman menunjukkan kemampuan khamir untuk memanfaatkan nutrisi dan beradaptasi dengan baik pada lingkungan tanaman tanpa menimbulkan efek negatif pada tanaman.

4.3 Hasil Uji Antagonis Khamir Filoplan terhadap *Fusarium moniliformae* L.

Mekanisme yang berperan penting pada aktivitas biokontrol khamir terhadap cendawan termasuk di antaranya kompetisi nutrisi dan ruang, produksi enzim laminarinase dan kitinase, mampu menekan tingkat perkecambahan spora dan mengurangi ukuran panjang tabung kecambah, dan penghambatan pertumbuhan miselium dengan metabolit difusi dan metabolit volatil (Nally *et al.* 2015). Hasil uji antagonisme khamir menunjukkan kemampuan penghambatan yang cukup beragam terhadap pertumbuhan koloni *F. moniliformae* pada media PDA selama 10 hari pengamatan (Tabel 2).

Tabel 2. Rerata Persentase hambatan 7 khamir terhadap *Fusarium moniliformae* selama 10 hari pengamatan

Perlakuan	% Rerata Daya Hambat pada Pengamatan ke-			
	3 Hsi	6 Hsi	9 Hsi	12 Hsi
YFDT 01	13,17	19,75	23,59 bc	31,34 bc
YFDT 02	14,43	19,18	26,18 c	41,84 c
YFDT 03	11,47	17,76	25,07 bc	34,28 bc
YFDT 04	6,72	17,53	23,40 bc	33,33 bc
YFDT 05	15,29	19,46	25,75 c	39,01 c
YFDT 06	11,58	19,25	29,42 c	36,39 c
YFDT 07	6,51	15,11	18,53 b	30,21 b
Kontrol	0,0	0,0	0,0 a	0,0 a

Keterangan: Bilangan yang disertai huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan taraf kesalahan 5%.

Pada hari terakhir pengamatan atau 12 hsi, perlakuan *Candida* sp. (YFDT 07) mampu menghasilkan penghambatan sebesar 30,21% yang mana adalah nilai penghambatan paling kecil. Perlakuan YFDT 01 (*Debaryomyces* sp.) menghasilkan persentase sebesar 31,34%. Perlakuan YFDT 04 mampu menghambat sebesar 33,33%. Perlakuan YFDT 03 menghasilkan rerata daya hambat sebesar 34,28%. Perlakuan YFDT 06 mampu memberikan penghambatan

sebesar 36,39%. Pada perlakuan YFDT 05 memberikan penghambatan sebesar 39,01% dan penghambatan tertinggi pada perlakuan YFDT 02 (*Kluyveromyces* sp.) yaitu sebesar 41,84%.

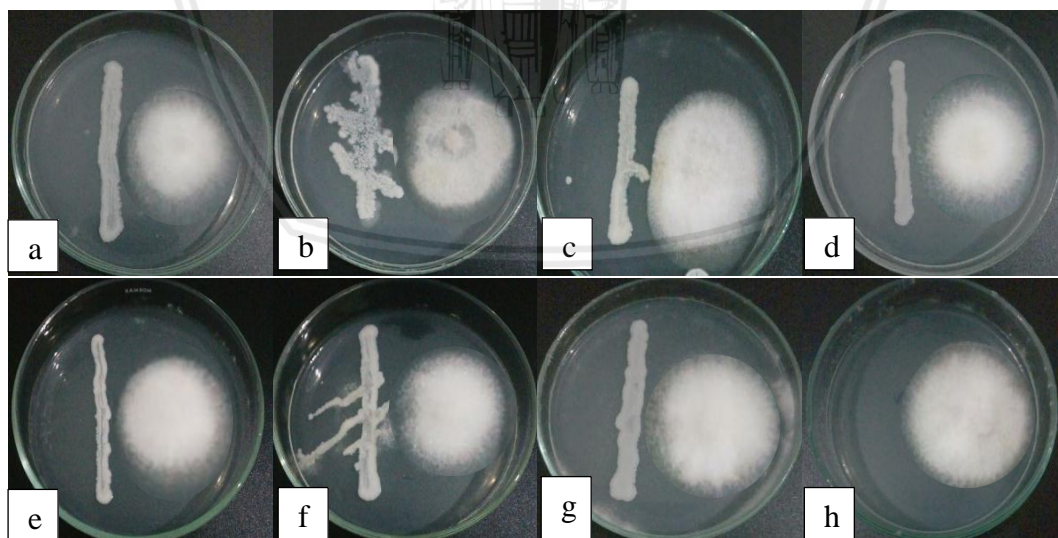
Hasil uji antagonis ke-7 isolat khamir menunjukkan adanya interaksi genus khamir antagonisme terhadap patogen *F. moniliformae* (Tabel 2). Agens antagonis dapat memiliki satu atau lebih mekanisme dalam menghambat patogen. Lo (1998) menyatakan bahwa mekanisme pengendalian hayati meliputi antibiosis, kompetisi, mikoparasitisme, enzim pendegradasi dinding sel, dan ketahanan induksi

Kluyveromyces sp. (YFDT 02) menunjukkan rerata daya hambat tertinggi dibanding isolat khamir yang lain. Mekanisme yang ditunjukkan adalah adanya antibiosis terlihat dari adanya zona bening yang terbentuk. Isolat khamir yang menghasilkan zona bening. Menurut Setia dan Suharjono (2015) pada media koloidal kitin berpotensi menjadi agens antagonis karena mampu mendegradasi kitin yang merupakan penyusun utama dinding sel *P. oryzae*. Aktivitas enzim kitinase dari mikroorganisme berbeda-beda terganggu dari beberapa faktor, di antaranya waktu reaksi enzim, konsentrasi enzim dan substrat, waktu inkubasi, dan pH media.

Khamir *Pichia* sp. (YFDT 05, 06 dan 07) menghambat patogen jamur dengan mekanisme penghambatan antibiosis (Gambar 24 d, e, f). *Pichia* sp. adalah khamir yang termasuk dalam kelompok Ascomycetes yang ditemukan secara alami berada pada makanan, biji-biji sereal dan memiliki kemampuan menghambat beberapa cendawan pada berbagai kondisi lingkungan (Fredlund, 2004). Mekanisme antibiosis oleh khamir melibatkan penggunaan senyawa metabolit sekunder atau senyawa toksik sehingga menghambat pertumbuhan patogen (Hagagg dan Mohamed, 2007). Menurut Friel *et al.* (2007) menyatakan bahwa produksi β -1,3-glukanase oleh *P. anomala* strain K berperan penting dalam menekan *Botrytis cinerea* penyebab *grey mold disease* dan dilaporkan dapat mendegradasi dinding sel cendawan. Hasil penelitian lain yaitu De Ingeniis *et al.* (2008) menyebutkan bahwa *P. anomala* 36 strain DBVPG 3003

menghasilkan sekresi toksin yang disebut sebagai Pikt, yang memiliki aktivitas anticendawan untuk melawan busuk *Brettanomyces* sp. dan *Dekkera* sp.

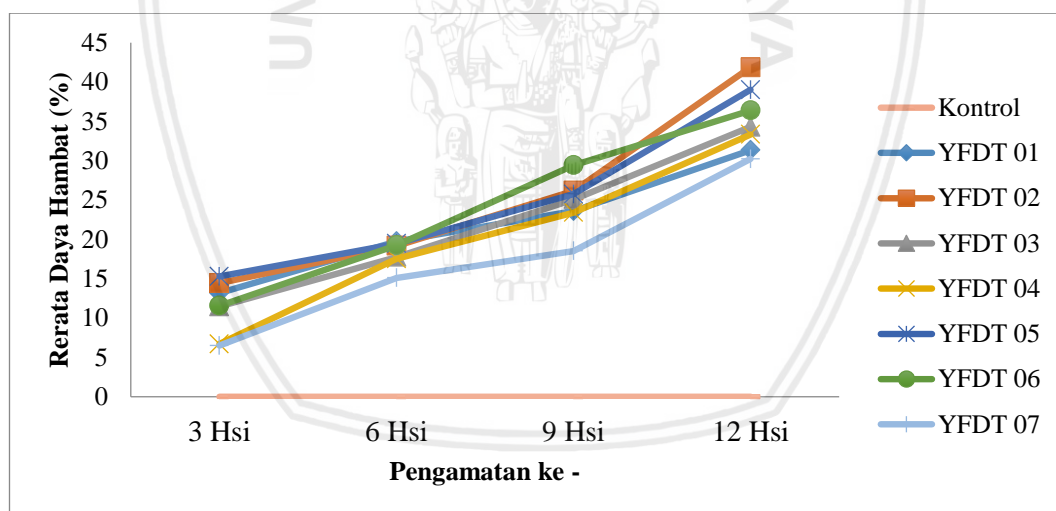
Khamir *Debaryomyces* sp. termasuk kelompok khamir sejati, yaitu termasuk kedalam klas Ascomycetes dengan ciri selalu berspora (Roostita, 2004). Khamir *Debaryomyces* sp. (YFDT 03) menghambat dengan mekanisme kompetisi yang mana khamir menekan pertumbuhan jamur (Gambar 24 c). Penghambatan patogen *C. gloeosporioides* oleh *Debaryomyces* sp. terjadi melalui mekanisme kompetisi dan parasitisme (Indratmi, 2008 dalam Fitriati, 2012). Sedangkan untuk *Debaryomyces* sp. (YFDT 01) menghambat dengan mekanisme antibiosis (Gambar 24 a). *Debaryomyces* sp. menghasilkan senyawa volatil sehingga memperlambat pertumbuhan patogen jamur. Senyawa volatil yang diproduksi oleh khamir (Ascomycota) yang diisolasi dari daerah tropis ditemukan dalam bentuk alkohol (amil alkohol dan alkohol isoamil), aldehid (2-metil-2-heksana dan 2-isopropil-5-metil-2-heksana) dan ester (etil isobutirat, asetat isobutil, asetat isoamil, 2-metilbutil asetat, etil isovalerat, isoamil propionat dan fenilmetil asetat) (Buzzini *et al.*, 2005).



Gambar 24. Uji Antagonis oleh Khamir *Debaryomyces* sp. (a), *Kluyveromyces* sp. (b), *Debaromyces* sp. (c), *Pichia* sp. (d), *Pichia* sp. (e), *Pichia* sp. (f), *Candida* sp. (g), kontrol (h).

Khamir *Candida* sp. (YFDT 07) memiliki mekanisme antibiosis dalam menghambat pertumbuhan jamur *F. moniliformae* (Gambar 25 g). Senyawa yang diduga terdapat pada khamir *Candida* sp. adalah volatil. Senyawa volatil yang diproduksi oleh khamir dari filum Ascomycota yang diisolasi dari daerah tropis ditemukan dalam bentuk alkohol, aldehid dan ester (Buzzini *et al.*, 2005). Senyawa volatil tersebut bersifat sebagai mikofumigan, sehingga khamir yang mampu menghasilkan senyawa-senyawa tersebut dapat menekan pertumbuhan cendawan patogen (Buzzini *et al.*, 2005). *Candida* sp. menghasilkan senyawa volatil organik berupa 2-metil butanol, 3- metil butanol, dimetil trisulfida dan tiometil-1-propanol (Buzzini *et al.*, 2005).

Pengamatan daya hambat khamir dilakukan selama 10 hari setelah inokulasi. Grafik penghambatan khamir terhadap *F. moniliformae* dapat dilihat pada (Gambar 24).



Gambar 25. Rerata Penghambatan Khamir terhadap Patogen *F. moniliformae*.

Berdasarkan grafik menunjukkan bahwa dari 7 isolat khamir yang diuji antagonis memberikan pengaruh penghambatan yang berbeda terhadap patogen *F. moniliformae*. Pada pengamatan 1 perlakuan khamir YFDT 07 menunjukkan penghambatan paling rendah yaitu 6,51 dan penghambatan tertinggi pada isolat YFDT 05. Pada perlakuan kontrol tanpa patogen menunjukkan angka 0% dikarenakan tidak adanya daya hambat. Indratmi (2008) dalam Fitriati (2012)

menyatakan bahwa kejadian antagonis dapat terjadi karena adanya kontak langsung antara agens antagonis dengan patogen, maupun antara senyawa atau zat yang dihasilkan agens antagonis berupa metabolit sekunder yang toksik pada patogen atau enzim yang mampu mendegradasi dinding sel cendawan patogen



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Khamir yang diperoleh dari filoplan daun tanaman tebu sebanyak 7 jenis khamir. Khamir tersebut berasal dari 4 genus yaitu *Kluyveromyces* sp., *Debaromyces* sp., *Pichia* sp., *Candida* sp..
2. Khamir yang diperoleh berpotensi antagonis dengan penghambatan tertinggi pada isolat YFDT 02 (*Kluyveromyces* sp.) yaitu sebesar 41,84% dan rerata penghambatan terendah pada isolat YFDT 07 (*Candida* sp.) yaitu sebesar 30,21% pada hari terakhir pengamatan yaitu 10 hsi.

5.2 Saran

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Pengujian lanjutan seperti uji kompatibilitas, konsorsium, dan uji sensitivitas.
2. Identifikasi hingga tingkat spesies khamir yang ditemukan, untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat
3. Pengujian antagonis khamir terhadap patogen *F. moniliformae* pada skala lapangan (secara *in vivo*).

DAFTAR PUSTAKA

- Adhiem, M.A. 2018. Kebijakan Impor Gula: Potensi Dampak Dan Upaya Pengamanan Stok Nasional. Kajian Singkat terhadap Isu Aktual dan Strategis. 10 (17) : 19-24.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology 5th ed. Elsevier Academic Press. New York. 947 p.
- Akhtyamova, N dan Sattarova, R. K. 2013. Endophytic Yeast *Rhodotorula rubra* Strain TG-1: Antagonistic and Plant Protection Activities. Biochem Physiol 2 (1): 1–5.
- Andrews, J. H., dan Harris, R.F., 2000. The Ecology and Biogeography of Microorganisms on Plant Surfaces. Annu Rev Phytopathol. 38:145–180.
- Bacon, C.W., Glenn, A.E. dan Richardson, E.A.] 2004. Genetic and Morphological Characterization of a *Fusarium verticillioides* Conidiation Mutant. Mycologia. 95(5) : 968- 980.
- Balasubramanian, M.K., dan Glotzer, E.M. 2004. Comparative Analysis of Cytokinesis in Budding Yeast, Fission Yeast and Animal Cells. Current Biology 14 (18): 806-818.
- Bleve, G., Grieco, F., Cozzi, G., Logrieco, A., Visconti, A. 2005. Isolation of Epiphytic Yeasts with Potential for Biocontrol of *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* on Grape. Int J Food Microbiol. 108:204–209.
- Buxdorf, K, Rahat, I., Gafni, A., Levy, M. 2013. The Epiphytic Fungus *Pseudozyma aphidis* Induces Jasmonic Acid and Salicylic Acid/Nonexpressor of PR1- Independent Local and Systemic Resistance. Plant Physiol .161:2014-2022.
- Buzzini, P., Romano, S., Turchetti, B., Vaughan, A., Pagnoni, U.M., Davoli, P., 2005. Production of Volatile Organic Sulfur Compounds by Basidiomycetous Yeast. *FEMS Yeast Res* 5:379-385.
- Chanchaichaovivat, A., Ruenwongsa, P., Panijpan, B., 2007. Screening and Identification of Yeast Strains from Fruits an Vegetables: Potential for Biological Control of Postharvest Chilli Anthracnose (*Colletotrichum capsici*). Biol. Cont., vol. 42, 326-35pp.
- Chander , J., Nidhi, S., Neelam, G., Sunandan, S., 2011. *Fusarium sacchari*: A Cause of Exogenous Fungal Endophthalmitis: First Case Report and Review of Literature. Mycopathologia. 171:431–434pp.
- De Ingeniis, J., Raffaelli, N., Ciani, M., Manazzu, I., 2008. *Pichia anomala* DBVPG 3003 secretes a ubiquitin-like protein that has antimicrobial activity. *Appl Environ Microbiol*. 75(4):1129-1134.
- De Insuellas Azeredo, L.A., Gomes, E. A.T., Mendonça-Hagler, C., Hagler, A. N., 1998. Yeast Communities Associated with Sugarcane in Campos, Rio de Janeiro, Brazil. Internatl Microbiol. 1:205–208

- Deacon, J. W., 2006. Fungal Biology. Sixth edition. Blackwell Publishing Ltd. Victoria. Australia. 21-23pp
- Dees, M.W., Lysoe, E., Nordskog, B., Brurberg, M.B., 2015. Bacterial Communities Associated with Surfaces Of Leafy Greens: Shift in Composition and Decrease in Richness Over Time. *Appl Environ Microbiol* 81(4):1530-1539.
- Dohare, S., Mishra, M.M., Kumar, B., 2003. Effect of Wilt on Juice Quality of Sugarcane. *Annals of Biology*. 19:183- 186.
- Druvefors, U. Ä., 2004. Yeast Biocontrol of Grain Spoilage Moulds: Mode of Action of *Pichia anomala*. Disertasi. Uppsala (IN): Acta Universitatis Agriculturae Sueciae.
- Druvefors, U. Ä., Passoth, V., Schnürer, J., 2005. Nutrient Effects on Biocontrol of *Penicillium roqueforti* by *Pichia anomala* J121 during Airtight Storage of Wheat. *Appl Environ Microbiol*. 71(4):1865-1869.
- Dwidjoseputro. 2005. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan. Jakarta
- Fardiaz, S., 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Ferraz, L. P., Tatiane, da C., Aline, C. da S., Katia, C.K., 2016. Biocontrol Ability And Putative Mode Of Action Of Yeasts Against *Geotrichum citri-aurantii* In Citrus Fruit. *Microbiological Research* 188-189 : 72–79pp.
- Fitriati, Y., 2012. Penggunaan Khamir Antagonis untuk Pengendalian Penyakit Antraknosa pada Buah Avokad Selama Penyimpanan. Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fredlund, E. 2004. Central Carbon Metabolism in the Biocontrol Yeast *Pichia anomala*: Influence of Oxygen Limitation. Doctoral thesis. Uppsala (IN): Swedish University of Agricultural Sciences.
- Friel, D., Pessoa, N. M. G., Vandenbol, M., Jijakli, M.H., 2007. Separate and combined disruptions of two exo- β -1,3-glucanase genes decrease the efficiency of *Pichia anomala* (strain K) biocontrol against *Botrytis cinerea* on apple. *Molecular-Microbe Interaction*. 20:371-379pp.
- Fu, S. F., Sun, P. F., Lu, H. Y., Wei, J. Y., Xiao, H. S., Fang, W. T., Chou, J. Y. (2016). Plant Growth-Promoting Traits of Yeasts Isolated from the Phyllosphere and Rhizosphere of *Drosera spatulata*. *Lab. Fungal Biology*, 120: 433–448pp.
- Gandjar, I., Sjamsuridzal, W., Oetari. A., 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Yayasan Obor Indonesia : Jakarta.
- Hagagg, W. M., Mohamed, H.A.A., 2007. Biotechnological Aspects of Microorganisms Used in Plant Biological Control. *American-Eurasian J Sust Agri* 1(1): 7-12.
- Hartati, S., Wiyono, S., Hidayat, S. H., Sinaga, M.S., 2014. Seleksi Khamir Epifit sebagai Agens Antagonis Penyakit Antraknosa Pada Cabai. *J. Hort*. 24(3) : 258-265.

- Hashem, M., Alamri, S., 2009. The Biocontrol Of Postharvest Disease (*Botryodiplodia theobromae*) of Guava (*Psidium guajava* L.) by the Application of Yeast Strains. *Postharvest Biol Technol* 53: 123-130.
- Ikkal, T., 2016. Eksplorasi Khamir Epifit sebagai Agens Antagonis Patogen Gugur Daun Karet (*Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Indrawanto, C., Purwono, Siswanto, M., Syakir, Widi, R., 2010. Budidaya dan Pasca Panen Tebu. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. ESKA Media. Jakarta
- Intan, R. M. T., Cholil, A., Sulistyowati, L., 2014. Potensi Antagonis Jamur Endofit dan Khamir pada Tanaman Pisang (*Musa accumunata*) terhadap Jamur *Mycosphaerella Musicola* Penyebab Penyakit Bercak Kuning Sigatoka. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan* 2(4): 110-118.
- James, G. 2004. Sugarcane. Second Edition. Blackwell Science Ltd. Oxford, UK.
- Janisiewicz, W. J., Korsten, L., 2002. Biological Control of Postharvest Disease of Fruits. *Annu Rev Phytopathology*. 40:11-441.
- Kalogiannis, S., Tjamos, S.E., Stergiou, A., Antoniou, P.P., Ziogas, B.N., Tjamos, E.C., 2006. Selection and Evaluation of Phyllosphere Yeasts as Biocontrol Agents Against Grey Mould of Tomato. *J. Plant Pathol.*, vol. 116: 69-76pp.
- Kanti, Atit. 2004. Identifikasi Jenis Khamir yang Diisolasi dari Tanah Gambut Taman Nasional Bukit Duabelas, Jambi. Vol 6 (1) : 10-14.
- Karanjgaokar, D. R., Tarfe, K.S., 2017. Isolation of Pigmented Yeasts, Extraction of Pigment and Study of Antimicrobial Property of its Pigment. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* . 6(7): 664-672.
- Khunnamwong, P., Surussawadee, J., Jindamorakot, S., Limtong, S., 2014. *Wickerhamiella siamensis* f.a., sp. nov., an Endophytic and Epiphytic Yeast Species Isolated from Sugarcane. *Int J Syst Evol Microbiol*. 64:3849–3855.
- Kreger-van Rij, N.J.W., Veenhuis, M., 1975. Electron Microscopy of Ascus Formation in the Yeast *Debaryomyces hansenii*. *Journal of General Microbiology* 89: 256-264pp.
- Kurtzman, C. P. dan Fell J. W., 2011. *The Yeast: A Taxonomic Study*, 5th edition. Elsevier Science. Amsterdam.
- Kurtzman, C. P., 1998. *Pichia* E.C. *Hansen emend.* In: Kurtzman CP, Fell JW, eds. *The Yeasts, A Taxonomic Study*. New York
- Kurtzman, C. P., Droby, S., 2001. *Metschnikowia fructicola*, a New Ascosporic Yeast with Potential for Biocontrol of Postharvest Fruit Rots. *Syst Appl Microbiol*. 24:395-399.
- Leslie, J. F., Salleh, B., Summerell, B.A., 2003. A Utilitarian to Fusarium Identification. *Plant Disease*. 87: 117- 128.

- Limtong, S., Kaewwichian, R., Yongmanitchai, W., Kawasaki, H., 2014. Diversity of Culturable Yeasts in Phylloplane of Sugarcane in Thailand and their Capability to Produce Indole-3-acetic Acid. *World J Microbiol Biotechnol* 30, 1785–1796.
- Lindow, S. E., Brandl, M. T., 2003. *Microbiology of The Phyllosphere*. *Appl Environ Microbiol* 69, 1875–1883.
- Linnakoski, R., Puhakka-Tarvainen, H., Pappinen, A., 2012. Endophytic Fungi Isolated from *Khaya anthotheca* in Ghana. *Fungal Ecol* 5: 298–308.
- Lo, C. T., 1998. General mechanisms of action of microbial biocontrol agents. *Plant Pathol. Bull.* 7: 155– 166.
- Mestre, M. C., Fontenla, S., Bruzone, M. C., Fernández, N. V., Dames, J., 2016. Detection of Plant Growth Enhancing Features in Psychrotolerant Yeasts from Patagonia (Argentina). *Journal of Basic Microbiology*, 56, 1098–1106.
- Nally, M. C., Pesce, V. M., Maturano, Y. P., Rodriguez, A. L. A., Toro, M.E., Castellanos de Figueroa, L.I., Vazquez, F., 2015. Antifungal Modes of Action of *Saccharomyces* and other Biocontrol Yeasts Against Fungi Isolated from Sour and Grey Rots. *IJFM* 204: 91-100.
- Nordahliawate S., Izzati N A., Azmi M Z. & Salleh B. 2008. Distribution, morphological characterization and phatogeneticity of *Fusarium sacchari* associated with pokkah boeng disease of sugarcane in Peninsular Malaysia. *J. Trop. Agric. Sci.* 31(2):279-286.
- Oliveira, A. C. D., Watanabe, F. M. F., Vargas, J. V. C., Rodrigues, M. L. F. Mariano, A. B., 2012. Production of Methyl Oleate with a Lipase from an Endophytic Yeast Isolated from Castor Leaves. *Biocatal Agric Biotechnol* 1: 295–300.
- Pratiwi, B. N., Liliek, S., Anton, M., Ari, K., 2013. Uji Pengendalian Penyakit Pokahbung (*Fusarium moniliformae*) pada Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum*) Menggunakan *Trichoderma* sp. Indigenous secara *In vitro* dan *In vivo*. *Jurnal HPT.* 1 (3): 119-129
- Ramesh, P., 2000. Effect Of Different Levels of Drought During The Formative Phase on Growth Parameters and Its Relationship With Dry Matter Accumulation in Sugarcane. *Journal. of Agronomy. & Crop Science.* 185 : 83-89.
- Rao, R. P., Hunter, A., Kashpur, O., Normanly, J. 2010. Aberrant Synthesis of Indole-3-Acetic Acid in *Saccharomyces cerevisiae* Triggers Morphogenic Transition, a Virulence Trait of Pathogenic Fungi. *Genetics.* 185:211–220.
- Roostita, L.B. 2004. Potensi dan Prospek Khamir dalam Meningkatkan Diversifikasi Pangan di Indonesia. Unpadj Bandung.
- Setia, I. N., Suharjono. 2015. Chitinolytic Assay and Idetification of Bacteria Isolated from Shrimp Waste based on 16S rDNA sequences. *Adv Microbiol* 5:541- 548.

- Silva, Y. M. U. K. Y., dan Costa, D. M. D. 2014. Potensial of Pre-Harvest Application of *Burkholderia spinosa* for Epiphytic and Pathogenic Microorganism on the Phyllosphere of Banana (*Musa* spp.). Trop Agr Res. 25(4):543-554.
- Singh, P. K., dan Vijay, K., 2011. Biological control of *Fusarium* wilt of *Chrysanthemum* with *Trichoderma* and botanicals, J. Agric Tech. 7 (6):13.
- Sivasithamparam, K., Nassar, A. H. K., El-Tarabily,. 2005. Promotion of Plant Growth by An Auxin-Producing Isolate of the Yeast *Williopsis saturnus* Endophytic in Maize (*Zea mays* L.) Roots. J. Biology and Fertility of Soils. 42(2): 97-108.
- Sláviková, E., Vadkertiová, R., Vránová, D., 2009. Yeasts colonizing the leaves of Fruit Trees. Annals of Microbiology. 59 : (3) 419-424.
- Spadaro, D., Droby, S., 2016. Development Of Biocontrol Products for Postharvest Diseases of Fruit: The Importance of Elucidating the Mechanisms of Action of Yeast Antagonists. Trends Food Sci. Technol. 47, 39-49.
- Streletskii, R. A., Kachalkin, A. V., Glushakova, A. M., Demin, V. V., Chernov, I. Y., 2016. Quantitative Determination of indole-3-acetic Acid in Yeasts Using High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. Microbiology, 85, 727-736.
- Sutejo, A.M., Achmadi, P., Arif, W., 2008. Identifikasi Morfologi Beberapa Spesies Jamur *Fusarium*. Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia. 14(1):7-13.
- Tanimura, A., Takashima, M., Sugita, T., Endoh, R., Kikukawa, M., Yamaguchi, S Shima, J. 2014. *Cryptococcus terricola* is a Promising Oleaginous Yeast for Biodiesel Production from Starch Through Consolidated Bioprocessing. Scientific Reports, 4, 4776.
- Tsavkelova, E. A., Klimova, S. Y., Cherdyntseva, T. A., Netrusov, A. I. 2006. Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and their Practical Use: a review. Appl Biochem Microbiol 42:117-126.
- Vargasi, M., Garrido, F., Zapata, N., Tapia, M. 2012. Isolation and Selection of Epiphytic Yeast for Biocontrol of *Botrytis cinerea* Pers. on Table Grapes. Chil J Agr Res. 72(3):332-337.
- Vishwakarma, S. K., Kumar, P., Nigam, A., Singh, A., Kumar, A. 2013. Pokkah Boeng: An Emerging Disease of Sugarcane. Journal Plant Pathol Microb. 4(3): 1-5
- Watanabe, T., 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi (Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species). Second Edition. CRC Press. New York
- Widiastutik, N., dan N. H. Alami. 2014. Isolasi dan Identifikasi Yeast dari Rhizosfer *Rhizophora mucronata* Wonorejo. Jurnal Sains dan Seni Pomits 3(1): 11- 16.

- Xin, G., Glawe, D., Doty, S. L. 2009. Characterization of Three Endophytic, Indole-3-Acetic Acid-Producing Yeasts Occurring in Populus Trees. *Mycol Res* 113:973–980.
- Zainuddin , A. N. M., Izzati, N. A., Yong, S.Y.C., Nik Mohd Izham, M. N., 2017. Characterization of *Fusarium proliferatum* and *Fusarium verticillioides* based on Species-Specific Gene and Microsatellites Analysis. *Sains Malaysiana*. 46(12): 2425–2432pp.

