

repository.ub.ac.id

**EKSPLORASI KHAMIR DAN UJI ANTAGONISNYA
TERHADAP PATOGEN *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*
PENYEBAB PENYAKIT LAYU FUSARIUM PADA TANAMAN
MELON (*Cucumis melo* L.)**

Oleh

SUSWATUN KHANIFAH



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2019**



**EKSPLORASI KHAMIR DAN UJI ANTAGONISNYA
TERHADAP PATOGEN *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*
PENYEBAB PENYAKIT LAYU FUSARIUM PADA TANAMAN
MELON (*Cucumis melo* L.)**

Oleh:

SUSWATUN KHANIFAH

125040201111234

**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 DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2019**

PERNYATAAN

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

Malang, Agustus 2019

Suswatun Khanifah



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Eksplorasi Khamir Dan Uji Antagonisnya Terhadap Patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* Penyebab Penyakit Layu Fusarium Pada Tanaman Melon (*Cucumis melo* L.)

Nama Mahasiswa : Suswatun Khanifah

NIM : 125040201111234

Jurusan : Hama Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Kedua,

Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph. D.
NIP. 19551212 198003 2 003

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

Diketahui,
Ketua Jurusan

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

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS.
NIP. 19590705 198601 1 003

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

Penguji III

Penguji IV

Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph. D.
NIP. 19551212 198003 2 003

Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus :



*Skripsi ini kusembahkan untuk
kedua orang tuaku tercinta (Salikhan & Sawi Ningrum),
Adikku tersayang Nur Verdatul Khumairo,
serta Suami dunia akhiratku Agung Setiawanto.*

RINGKASAN

SUSWATUN KHANIFAH. 125040201111234. “Eksplorasi Khamir dan Uji Antagonisnya Terhadap Patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* Penyebab Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Melon (*Cucumis melo* L.)”. Di bawah bimbingan Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D selaku Pembimbing Utama dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP. selaku Pembimbing Pendamping.

Tanaman melon (*Cucumis melo* L.) merupakan tanaman semusim yang banyak dibudidayakan di Indonesia dan mempunyai prospek pasar yang menjanjikan. Namun jika dilihat dari produksi buah melon dari tahun ke tahun terus mengalami fluktuasi. Hal ini dikarenakan dalam kegiatan budidaya tanaman melon seringkali mengalami kendala seperti serangan penyakit yang sering kali merugikan petani. Salah satunya adalah penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. Patogen ini menyerang hampir di seluruh fase tanaman melon terutama jaringan bagian vaskuler dan menghambat aliran air pada jaringan xylem sehingga menyebabkan kelayuan pada tanaman inangnya. Sedangkan pengendalian dengan fungisida sintetik tidak memberikan hasil yang memuaskan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengendalian alternatif yang aman dan ramah lingkungan. Seperti dengan memanfaatkan mikroorganisme yang bersifat antagonis terhadap patogen tersebut, salah satunya adalah dengan memanfaatkan khamir.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada Februari sampai dengan Agustus 2016. Eksplorasi khamir diambil dari tanah perakaran tanaman melon di UPT Lebo Sidoarjo, serta uji antagonis khamir yang diperoleh terhadap *F. oxysporum* f.sp. *melonis* pada media PDA.

Khamir yang didapatkan dari tanah perakaran tanaman melon yang berhasil diisolasi berjumlah 6 jenis diantaranya adalah *Candida* sp., *Pichia* sp., *Zygosaccharomyces* sp., *Cryptococcus* sp., *Hansenula* sp., *Metschnikowia* sp. Persentase penghambatan tertinggi ditunjukkan pada perlakuan *Hansenula* sp. sebesar 39,64%, sedangkan persentase penghambatan terendah ditunjukkan pada perlakuan *Zygosaccharomyces* sp. sebesar 11,68%.

SUMMARY

SUSWATUN KHANIFAH. 125040201111234. “Yeast Exploration and Antagonist Test against *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* The Pathogen of Fusarium Wilt on Melon (*Cucumis melo* L.)”. Supervised by Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D. and Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.

Melon (*Cucumis melo* L.) is one of the popular seasonal fruits in Indonesia has a very promising market. Despite its popularity, statistics shown that the production is fluctuated year by year. One of the reason is fusarium wilt disease which often infect melon plants. One of them is fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*, attacks almost all phases of the plant, especially the vascular tissue and inhibits the flow of water in the xylem tissue, causing the host plant to wilt. Meanwhile, disease control with synthetic fungicide does not provide satisfactory results. Therefore, a safe and ecological friendly alternative control need to be done. One of them is by using antagonist micoorganisms, by using yeast against the pathogen.

The research was conducted at the Laboratory of Plant Disease, Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Brawijaya University in February to August 2016. Yeast exploration was taken from the root area of melon plants in UPT Lebo Sidoarjo and from yeast antagonist tests that were obtained against *F. oxysporum* f.sp. *melonis* on PDA media.

There were 6 types of yeast from the soil in the rizhosfer of melon plants that were successfully isolated, including *Candida* sp., *Pichia* sp., *Zygosaccharomyces* sp., *Cryptococcus* sp., *Hansenula* sp., *Metschnikowia* sp. The highest inhibition percentage is shown in *Hansenula* sp. with 39.64% amount, while the lowest inhibition percentage shown in *Zygosaccharomyces* sp. with a number of 11.68%.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu wa Ta'ala yang dengan rahmat dan hidayah-Nya telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Eksplorasi Khamir dan Uji Antagonisnya Terhadap Patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* Penyebab Penyakit Layu Fusarium pada Tanaman Melon (*Cucumis melo* L.)”

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D. dan Antok Wahyu Sektiono, SP., MP., selaku pembimbing atas kesabaran, nasihat, arahan dan bimbingannya kepada penulis. Ucapan terima kasih juga kepada penulis sampaikan kepada Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS. dan Dr. Ir. Mintarto Martosudiro, MS., selaku penguji atas nasihat, arahan dan bimbingan kepada penulis. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ketua Jurusan Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS., beserta seluruh dosen atas arahan dan bimbingannya kepada penulis, kepada seluruh karyawan Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya atas fasilitas dan bantuan yang diberikan.

Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada kedua Orangtua, Adik dan juga Suami atas do'a, cinta, kasih sayang, pengertian dan dukungan yang diberikan kepada penulis. Juga kepada rekan-rekan HPT khususnya atas bantuan, dukungan dan kebersamaan selama ini.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangan dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Agustus 2019

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Lamongan pada tanggal 10 Oktober 1993 sebaga putri kedua dari dua bersaudara dari Bapak Salikhan dan Ibu Sawi Ningrum. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Sidoharjo 1 Lamongan pada tahun 2000 sampai tahun 2006, kemudian melanjutkan ke SMP Negeri 2 Lamongan pada tahun 2006 dan selesai pada tahun 2009. Setelah selesai menempuh pendidikan sekolah menengah pertama, penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 3 Lamongan pada tahun 2009 sampai pada tahun 2012.

Pada tahun 2012 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 (S-1) Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) Undangan. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum Mata Kuliah Mikologi dan Ilmu Penyakit Tumbuhan pada tahun akademik 2015/2016. Penulis pernah aktif dalam kepanitiaan PROTEKSI (Pekan Orientasi Terpadu Keprofesian) pada tahun 2015. Penulis pernah melakukan kegiatan magang kerja selama tiga bulan dari bulan Juli hingga Oktober 2015 di UPT. Pengembangan Agribisnis Tanaman Pangan dan Hortikultura Kebun Lebo, Sidoarjo.

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan.....	2
1.3 Hipotesis.....	2
1.4 Manfaat.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Tanaman Melon	3
2.1.1 Sejarah Tanaman Melon	3
2.1.2 Taksonomi Tanaman Melon	3
2.1.3 Penyakit Penting Pada Tanaman Melon	4
2.2 Patogen <i>Fusarium oxysporum</i>	5
2.2.1 Morfologi <i>Fusarium oxysporum</i>	5
2.2.2 Penyebaran Patogen <i>Fusarium oxysporum</i>	7
2.2.3 Daur Hidup Patogen <i>Fusarium oxysporum</i>	7
2.2.4 Gejala Patogen <i>Fusarium oxysporum</i>	9
2.2.5 Pengendalian Penyakit Layu <i>Fusarium</i> Pada Tanaman	11
2.3 Khamir	12
2.3.1 Definisi Khamir.....	12
2.3.2 Morfologi Khamir	13
2.3.3 Taksonomi, Ekologi, dan Peran Khamir di Alam.....	14
2.3.3 Mekanisme Antagonis Khamir	15
III. BAHAN DAN METODE	17
3.1 Waktu dan Tempat.....	17

3.2 Alat dan Bahan.....	17
3.3 Metode Penelitian	17
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	18
3.4.1 Sterilisasi Alat.....	18
3.4.2 Pembuatan Media Tumbuh Patogen <i>Fusarium oxysporum</i>	18
3.4.3 Isolasi dan Purifikasi Patogen <i>F. oxysporum</i>	18
3.4.4 Identifikasi Patogen <i>F. oxysporum</i>	18
3.4.5 Pembuatan Media Tumbuh Khamir.....	19
3.4.6 Eksplorasi Khamir Dari Tanah Perakaran Tanaman Melon	19
3.4.6.1 Pengambilan Sampel Tanah.....	19
3.4.6.2 Isolasi Khamir	20
3.4.6.3 Purifikasi Khamir.....	21
3.4.6.4 Pembuatan Preparasi	21
3.4.6.5 Pengamatan dan Identifikasi	21
3.4.7 Uji Antagonis Isolat Khamir dengan Patogen <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>melonis</i> Secara In-vitro	22
3.4.8 Analisa Data.....	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Isolasi dan Identifikasi Jamur <i>F. oxysporum</i>	24
4.2 Isolasi dan Identifikasi Khamir	25
4.2.1 <i>Candida</i> sp.....	25
4.2.2 <i>Pichia</i> sp.	25
4.2.3 <i>Zygosaccharomyces</i> sp.	26
4.2.4 <i>Cryptococcus</i> sp.....	27
4.2.5 <i>Hansenula</i> sp.	27
4.2.6 <i>Metschnikowa</i> sp.	28
4.3 Uji Antagonis Isolat Khamir dengan Patogen <i>F. oxysporum</i> secara In- vitro	29
4.4 Analisis Data Khamir	30
V. KESIMPULAN.....	33
5.1 Kesimpulan	33
5.2 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA.....	34
LAMPIRAN.....	37

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1	Morfologi Jamur <i>F. oxysporum</i> . A: Hifa, Makrokonidia, Mikrokonidias, Klamidospora. B: Makrokonidia. C: Makrokonidia, Dan Kalmidiospora. D: Makrokonidia. E: Makrokonidia Dan Klamidiospora.....	6
2	Daur Hidup Patoge <i>Fusarium oxyporum</i> Penyebab Penyakit Layu Pada Tanaman	9
3	Kerusakan Internal Pada Jaringan Vaskuler Membentuk Cincin.....	10
4	Morfologi Sel Khamir	14
5	Skema Pengambilan Sampel Metode Sistematis.....	20
6	Metode Isolasi Khamir Dari Rizosfer Tanaman Melon Dengan Pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} Dan Proses Inkubasi Selama 3 Hari	21
7	Uji Antagonis <i>In-Vitro</i> Khamir Terhadap <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>Melonis</i>	22
8	Patogen <i>F. oxysporum</i> . A. Biakan Murni Umur 7 Hari Pada Media PDA, B. (1) Hifa, C. (2) Klamidospora, (3) Makrokonidia	24
9	Khamir <i>Candida</i> sp. Dari Tanah Di Perakaran Tanaman Melon. (A) Biakan Murni Umur 3 Hari Pada Media YMA, (B) Sel Khamir.....	25
10	Khamir <i>Phicia</i> sp. Dari Tanah Di Perakaran Tanaman Melon. (A) Biakan Murni Umur 3 Hari Pada Media YMA, (B) Sel Khamir.....	26
11	Khamir <i>Zygosaccharomyces</i> sp. Dari Tanah Di Perakaran Tanaman Melon. (A) Biakan Murni Umur 3 Hari Pada Media YMA, (B) Sel Khamir.....	26
12	Khamir <i>Cryptococcus</i> sp. Dari Tanah Di Perakaran Tanaman Melon. (A) Biakan Murni Umur 3 Hari Pada Media YMA, (B) Sel Khamir	27
13	Khamir <i>Hansenula</i> sp. Dari Tanah Di Perakaran Tanaman Melon. (A) Biakan Murni Umur 3 Hari Pada Media YMA, (B) Sel Khamir	28
14	Khamir <i>Metschnikowia</i> sp. Dari Tanah Di Perakaran Tanaman Melon. (A) Biakan Murni Umur 3 Hari Pada Media YMA, (B) Sel Khamir	28
15	Histogram Rerata Presentase Hambatan Khamir Terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> Selama 7 Hari Pada Meda PDA.....	29
16	Hasil Uji Antagonis Khamir <i>F. oxysporum</i> Pada 7 HSI Secara In-Vitro. A: Kontrol Patogen <i>F. oxysporum</i> , B: Perlakuan <i>Candida</i> sp., C: Perlakuan <i>Phicia</i> sp., D: Perlakuan <i>Zygosaccharomyces</i> Sp., E: Perlakuan <i>Cryptococcus</i> sp., F: Perlakuan <i>Hansenula</i> sp. G: Perlakuan <i>Metschnikowia</i> sp.	31
17	Hasil Uji Antagonis Khamir Terhadap <i>F. oxysporum</i> Pada 7 HSI A: Khamir Pengenceran Seri 10^{-3} (Tampak Depan), B: Khamir Pengenceran Seri 10^{-3} (Tampak Belakang), C: Khamir Pengenceran Seri 10^{-4} (Tampak Depan), D: Khamir Pengenceran Seri 10^{-4} (Tampak Belakang), E: Khamir Pengenceran Seri 10^{-5} (Tampak Depan), F: Khamir Pengenceran Seri 10^{-5} (Tampak Belakang)	37



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1	Presentase Rerata Hambatan Khamir Selama 7 Hari Pengamatan.....	30



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1	Hasil Uji Antagonis Khamir Terhadap <i>F. oxysporum</i> pada 7 HSI. A: Khamir Pengenceran Seri 10^{-3} (tampak depan), B: Khamir Pengenceran Seri 10^{-3} (tampak belakang), C: Khamir Pengenceran Seri 10^{-4} (tampak depan), D: Khamir Pengenceran Seri 10^{-4} (tampak belakang), E: Khamir Pengenceran Seri 10^{-5} (tampak depan), F: Khamir Pengenceran Seri 10^{-5} (tampak belakang).....	37
2a	Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 1 hsi	38
2b	Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 2 hsi.....	38
2c	Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 3 hsi	38
2d	Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 4 hsi	38
2e	Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 5 hsi	39
2f	Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 6 hsi	39
2g	Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 7 hsi	39
3a	Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 2 hsi	39
3b	Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 3 hsi	40
3c	Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 4 hsi	40
3d	Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 5 hsi	40
3e	Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 6 hsi	41
3f	Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen <i>F. oxysporum</i> pada 7 hsi	41



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman melon (*Cucumis melo* L.) merupakan tanaman semusim yang banyak dibudidayakan di Indonesia dan mempunyai prospek pasar yang cukup menjanjikan. Namun jika dilihat dari produksi buah melon dari tahun ke tahun terus mengalami fluktuasi. Berdasarkan data Badan Pusat Statistika Jawa Timur (2015), pada tahun 2012 produksi buah melon mencapai 55.669 ton kemudian pada tahun 2013 produksi buah melon menurun menjadi 48.100 ton, sedangkan pada tahun 2014 mengalami peningkatan mencapai 57.681 ton.

Hal ini disebabkan oleh beberapa kendala seperti serangan penyakit yang sering kali merugikan petani. Salah satunya adalah penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. Patogen ini menyerang hampir di seluruh fase tanaman melon. *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* menyerang jaringan bagian vaskuler dan mengakibatkan kelayuan pada tanaman inangnya dengan cara menghambat aliran air pada jaringan xilem (De Cal *et al.*, 2000). Pengendalian patogen ini masih terbatas pada penggunaan fungisida sintetik dengan hasil yang tidak memuaskan (Semangun, 2001). Oleh karena itu, perlu dilakukan pengendalian alternatif yang aman dan ramah lingkungan seperti dengan memanfaatkan mikroorganisme yang bersifat antagonis terhadap patogen tersebut. Salah satunya adalah dengan memanfaatkan khamir yang berada pada tanah di perakaran, pangkal batang, buah maupun bagian tanaman yang lain.

Khamir merupakan mikroorganisme antagonis golongan fungi, uniseluler eukariotik yang bersifat saprofit atau parasit serta memiliki antimikroba dan lebih bisa tahan terhadap stress lingkungan (Widiastutik *et al.*, 2014). Beberapa studi mengindikasikan bahwa beberapa spesies khamir, misalnya *Pichia anomala* merupakan agens pengendali hayati yang efektif untuk mengendalikan berbagai macam cendawan patogen dengan berbagai mekanisme. Beberapa patogen yang dilaporkan dapat dikendalikan oleh *Pichia anomala* antara lain *Botrytis cinerea*, *Aspergillus candidus*, *Penicillium roqueforti* dan patogen lain serta cendawan penyebab pembusukan kayu (Druvefors *et al.* 2005), patogen penyebab penyakit pascapanen pada buah, sayuran dan biji-biji sereal (Petersson and Schnürer 1995).

Menurut (Kurtzman and Fell 2006) baru sekitar 1% khamir dilakukan isolasi dan identifikasi dari total perkiraan keanekaragaman khamir di dunia. Diantara 89 genera khamir yang pernah terdaftar dalam monograf khamir sebanyak 37 genera atau 42% ditemukan di Indonesia.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan memperoleh khamir yang terdapat pada tanah di perakaran tanaman melon serta mengetahui daya antagonismenya terhadap patogen *F. oxysporum* f.sp. *melonis* penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman melon.

1.3 Hipotesis

Terdapat beberapa jenis khamir pada tanah di perakaran tanaman melon yang berpotensi mengendalikan patogen *F. oxysporum* f.sp. *melonis* penyebab layu fusarium pada tanaman melon.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai jenis khamir (*yeast*) pada tanah di perakaran tanaman melon serta potensi antagonisnya terhadap patogen *F. oxysporum* f.sp. *melonis* penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman melon secara *in vitro*, sehingga nantinya dapat digunakan sebagai pengendalian alternatif yang aman dan ramah lingkungan untuk mengendalikan penyakit layu fusarium yang sering menimbulkan kerugian akibat dari serangan patogen tersebut.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Melon

2.1.1 Sejarah Tanaman Melon

Melon (*Cucumis melo L.*) merupakan tanaman buah yang termasuk famili Cucurbitaceae. Tanaman melon berasal dari daerah Mediterania yang merupakan perbatasan antara Asia Barat dengan Eropa dan Afrika. Pada abad ke-14 melon dibawa ke Amerika oleh Colombus dan akhirnya ditanam luas di Colorado, California, dan Texas. Tanaman Melon masuk ke Indonesia dan mulai dibudidayakan pada tahun 1970. Pada saat itu, melon menjadi buah yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Pada saat ini tanaman melon sudah dibudidayakan secara luas di Indonesia. Kalianda (Lampung), Cisarua (Bogor), Ngawi dan Madiun (Jawa Timur), serta Boyolali dan Klaten (Jawa Tengah) merupakan daerah yang membudidayakan tanaman melon dan menjadi sentra produksi melon di Indonesia (Astuti, 2007).

2.1.2 Taksonomi Tanaman Melon

Melon termasuk keluarga tanaman labu-labuan (Cucurbitaceae). Kedudukan tanaman melon dalam sistematika tumbuhan, diklasifikasikan sebagai berikut (Soedarya, 2010):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta/Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida/Dicotyledoneae
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Violales
Familia	: Cucurbitaceae
Genus	: Cucumis
Spesies	: <i>Cucumis melo L.</i>

2.1.3 Penyakit Penting Pada Tanaman Melon

Penyakit Tepung (*Powdery Mildew*). Penyakit ini merupakan penyakit yang disebabkan oleh patogen *Oidium* sp. yang berkembang melalui perantara tanaman inang antara lain tanaman jenis *cucurbitaceae*, kacang panjang tomat, papaya, tembakau bahkan pada gulma. Bila musim penghujan tiba maka patogen ini akan membentuk suatu askukarp atau pelindung pada lokasi di sekitarnya. Patogen ini biasanya menyerang pada musim kemarau dengan tingkat kelembaban udara yang rendah atau di bawah 20%. Sedangkan gejala serangan biasanya tampak pada daun dan batang muda yang dilapisi semacam tepung (*powder*). Jika seluruh daun terkena serangan, tanaman akan lemah dan mati, buah yang dihasilkan tidak normal, pada semangka dan melon rasa buah menjadi tidak manis (Rukmana, 2004).

Penyakit Embun Palsu (*Downy Mildew*). Merupakan penyakit yang disebabkan oleh serangan patogen jenis *Pseudoperonospora cubensis*. Penyakit yang berkembang pada saat cuaca panas dan lingkungan yang lembab ini menyerang daun-daun tanaman sehingga permukaan daun akan berbentuk kuning kecokelatan, sementara bagian bawah daun akan muncul spora berwarna hitam. Proses pembusukan daun akan terus berlangsung hingga daun menjadi kering dan tanaman mati (Sastrahidayat, 2010).

Antraknosa. Merupakan penyakit yang disebabkan oleh patogen *Collectotrichum* sp. penyakit antraknosa sering diistilahkan dengan nama patek. Penyakit ini menyerang semua bagian tanaman yang ditandai dengan adanya bercak agak bulat berwarna coklat muda, lalu berubah menjadi coklat tua sampai kehitaman. Semakin lama bercak melebar dan menyatu akhirnya daun mengering (Rukmana, 2004).

Layu Fusarium. Penyakit ini disebabkan oleh patogen *Fusarium oxysporum* yang merupakan patogen tular tanah. Gejala permulaan dari serangan penyakit ini ialah terjadinya pemucatan daun dan tulang daun, diikuti dengan merunduknya tangkai daun. Kelayuan terjadi mulai dari daun terbawah dan terus ke daun bagian atas. Pada tanaman yang masih muda, serangan penyakit tersebut menyebabkan tanaman segera layu dan mati. Sedangkan serangan pada tanaman

yang sudah dewasa, tanaman masih dapat bertahan sampai pembentukan buah tetapi buah yang dihasilkan kecil-kecil dan produksinya berkurang (Sastrahidayat, 2010).

2.2 Patogen *Fusarium oxysporum*

Klasifikasi jamur *Fusarium oxysporum* yang menyebabkan penyakit layu pada tanaman (Sastrahidayat, 2009) sebagai berikut:

Kingdom	: Mycota
Phylum	: Deuteromycota
Kelas	: Deuteromycetes
Ordo	: Moniliales
Famili	: Tuberculariaceae
Genus	: <i>Fusarium</i> sp.
Spesies	: <i>Fusarium oxysporum</i>

Genus *Fusarium* sp. adalah patogen tular tanah yang termasuk Hyphomycetes. Jamur ini menghasilkan makrokonidia, mikrokonidia, dan klamidiospora. Sebagian besar dari genus ini merupakan jamur saprofit yang umumnya terdapat di dalam tanah, tetapi ada juga yang bersifat parasit. Patogen *Fusarium* sp yang menyebabkan penyakit pembuluh dikelompokkan ke dalam spesies *Fusarium oxysporum*. Jenis ini dibagi lagi menjadi forma-forma spesialis (f.sp) yang menyesuaikan diri pada tumbuhan inang tertentu yang diinfeksi sehingga jamur *Fusarium oxysporum* yang menyerang tanaman melon disebut *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (Semangun, 2001).

2.2.1 Morfologi *Fusarium oxysporum*

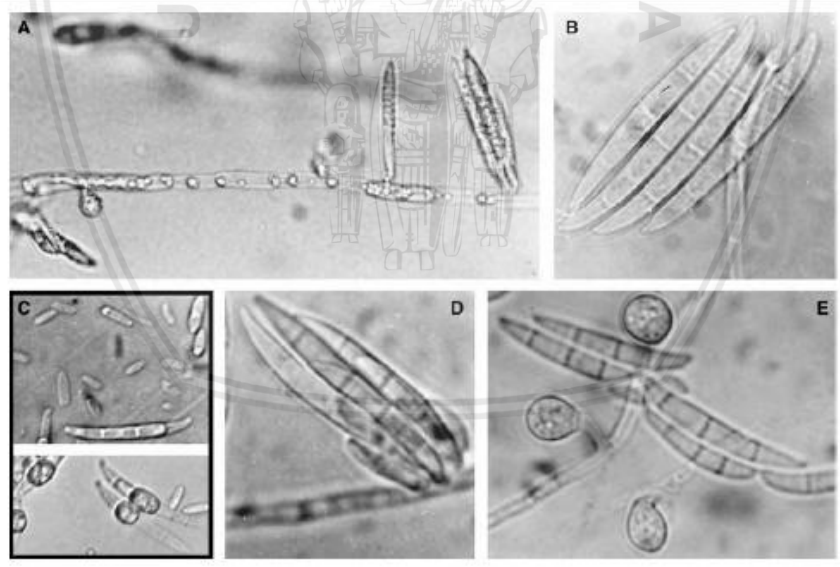
Fusarium oxysporum membentuk konidium pada suatu badan yang disebut sporodokium yang dibentuk pada permukaan tangkai atau daun sakit pada tangkai yang telah tua. Konidiofor bercabang dan rata-rata mempunyai panjang 70 μm , cabang-cabang samping biasanya bersel satu, panjang sampai 14 μm , konidium terbentuk pada ujung cabang utama dan pada cabang samping.

Pada miselium yang lebih tua terbentuk klamidiospora. Jamur ini membentuk banyak mikrokonidium bersel 1 atau 2, tidak berwarna (hialin), lonjong

atau bulat telur, 6-15×2,5-4 μm. Makrokonidium lebih jarang terdapat, berbentuk sabit, bertangkai kecil, tidak berwarna, kebanyakan bersekat dua atau tiga, berukuran 25-33×3,5-5,5 μm (Semangun, 2004).

Klamidospora bersel satu, jorong atau bulat, berukuran 7-13×7-8μm, terbentuk di tengah hifa atau pada makrokonidium dan seringkali berpasangan (Semangun, 2000). Mikrokonidium banyak dijumpai di dalam jaringan tanaman yang terinfeksi, sedangkan makrokonidium umumnya banyak dijumpai di permukaan tanaman yang mati karena infeksi *Fusarium oxysporum* (Agrios, 2000).

Klamidospora dihasilkan apabila keadaan lingkungan tidak sesuai bagi patogen dan berfungsi untuk mempertahankan kelangsungan hidup pathogen. Konidiana biasanya mempunyai 3-5 septa dan sel apical yang tipis serta sel dasarnya yang berbentuk kaki (Sastrahidayat, 2009). Klamidosporanya dapat berbentuk tunggal atau berpasangan (Ploetz, 1994). Morfologi jamur *Fusarium oxysporum* dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Morfologi Jamur *Fusarium oxysporum*. A: Hifa, Makrokonidia, Mikrokonidia, Klamidospora. B: Makrokonidia. C: Makrokonidia, dan Kalmidiospora. D: Makrokonidia. E: Makrokonidia dan Klamidiospora (Watanabe, 2002)

Koloni fungi yang ditumbuhkan pada media ADK (Agar Dekstrose kentang) berwarna abu-abu, coklat, violet atau putih. Sedangkan pada media ADK yang ditambahkan ekstrak sayur-sayuran, koloni mula-mula tidak berwarna,

semakin tua menjadi krem, akhirnya koloni tampak mempunyai benang berwarna merah muda agak ungu (Semangun, 1996).

2.2.2 Penyebaran Patogen *F. oxysporum*

Penyebaran jamur *Fusarium* sp. dipengaruhi oleh keadaan pH yaitu dari kisaran keasaman tanah yang memungkinkan jamur *Fusarium* sp. tumbuh dan melakukan kegiatannya. Sementara itu, suhu didalam tanah erat kaitannya dengan suhu udara di atas permukaan tanah. Suhu udara yang rendah akan menyebabkan suhu tanah yang rendah, begitu juga sebaliknya. Suhu selain berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman, juga terhadap perkembangan penyakitnya. Jamur *Fusarium* sp mampu hidup pada suhu tanah antara 10-24⁰C, meskipun hal ini tergantung pula pada isolat jamurnya (Soesanto, 2000). Patogen ini sangat cocok pada tanah-tanah asam yang mempunyai kisaran pH 4,5-6,0. Serangan patogen ini lebih ditentukan oleh suhu yang kurang menguntungkan tanaman inang (Semangun, 1996). Patogen *Fusarium* sp. tumbuh baik pada biakan murni dengan kisaran pH 3,6-8,4. Seangkan untuk sporulasi pH optimal sekitar 5,0. Sporulasi yang terjadi pada tanah yang mempunyai pH di bawah 7,0 adalah lima sampai dua puluh kali lebih besar dibandingkan dengan tanah yang mempunyai pH di atas 7,0. Pada pH di bawah 7,0 sporulasi terjadi secara melimpah pada semua jenis tanah, tetapi tidak akan terjadi pada pH di bawah 3,6 atau di atas 8,8 (Sastrahidayat, 2010).

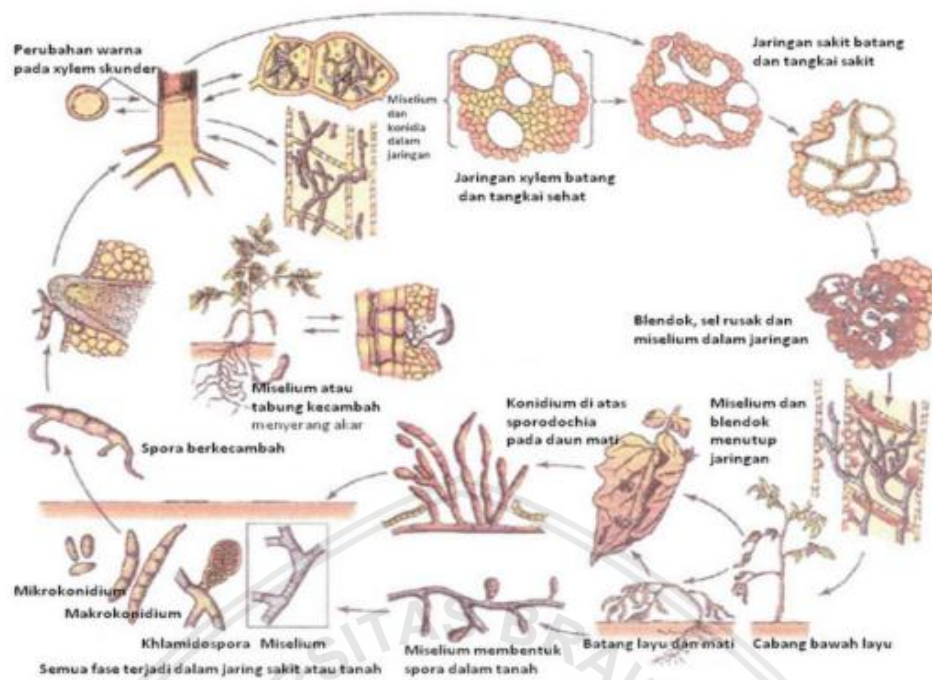
2.2.3 Daur Hidup Patogen *F. oxysporum*

Patogen *Fusarium* sp. mengalami 2 fase dalam siklus hidupnya yakni patogenesa dan saprogenesa. Patogen ini hidup sebagai parasit pada tanaman inang yang masuk melalui luka pada akar dan berkembang dalam jaringan tanaman yang disebut sebagai fase patogenesa sedangkan pada fase saprogenesa merupakan fase bertahan yang diakibatkan tidak adanya inang, hidup sebagai saprofit dalam tanah dan sisa-sisa tanaman dan menjadi sumber inokulum untuk menimbulkan penyakit pada tanaman yang lain. Patogen ini dapat menimbulkan gejala penyakit karena mampu menghasilkan enzim, toksin, polisakarida dan antibiotik dalam jaringan tanaman. Patogen mengadakan infeksi pada akar terutama melalui luka-luka. Bila

luka telah menutup, patogen berkembang sebentar dalam jaringan parenkim, lalu menetap dan berkembang dalam berkas pembuluh (Agrios, 2000).

Sastrahidayat (2010) menyatakan, bahwa di dalam tanah yang terinfeksi, jamur bertahan dalam bentuk miselium atau dalam semua bentuk konidiumnya. Penyebaran jarak pendek melalui air atau alat-alat pertanian yang terkontaminasi, sedangkan penyebaran jarak jauh melalui pemindahan tanah yang telah terinfeksi ke tempat lain. Bila tanaman yang sehat ditanam di tanah yang terinfeksi, maka gern tube (tabung kecambah) dari spora atau miselium mengadakan penetrasi langsung ke akar yang sehat atau melalui luka pada akar. Infeksi yang terjadi pada akar yang sehat prosesnya lebih lambat dibandingkan dengan infeksi melalui luka pada akar. Luka dapat terjadi karena kerusakan pada waktu pemindahan bibit dari persemaian, pada waktu serangan organisme lain seperti nematoda. Setelah tabung kecambah masuk, miselium bergerak ke atas hingga mencapai xylem. Penyebaran spora di dalam tanaman yang peka dan yang tahan adalah sama, hanya spora didalam tanaman yang tahan perkecambahan spora dan pertumbuhan miselium dihambat.

Di dalam pembuluh xylem miselium menghasilkan mikrokonidium dalam jumlah yang banyak, di sini miselium bercabang-cabang dan masuk ke ruang-ruang intraseluler. Di dalam pembuluh xylem miselium menghasilkan tiga macam toksin yaitu: *asam fusaric*, *asam dehydrofusaric* dan *lycomarasin*. Toksin-toksin tersebut akan mengubah permeabilitas membrane plasma dari sel tanaman inang sehingga mengakibatkan tanaman yang terinfeksi lebih cepat kehilangan air dari pada tanaman yang sehat. Di samping itu di dalam pembuluh xylem tersebut jamur juga membebaskan polyphenol. Polyphenol ini dioksidasi oleh enzim polyphenoloxydase menjadi *quinon* yang segera mengadakan polimerisasi menjadi melanin yang berwarna sawo matang. Dan inilah yang menyebabkan perubahan warna di dalam pembuluh xylem dari tanaman yang terinfeksi. Kegiatan aktivitas polyphenoloxydase tergantung pada jumlah miselium di dalam pembuluh xylem dari batang yang terinfeksi. Bila tanaman mati, maka jamur akan mengadakan sporulasi secara luas pada jaringan yang mati tersebut dan ini akan menjadi sumber inoculum kedua (Sastrahidayat, 2010). Daur hidup *Fusarium oxysporum* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Daur hidup patogen *Fusarium oxysporum* penyebab penyakit layu pada tanaman (Sastrahidayat, 2010)

2.2.4 Gejala Patogen *F. oxysporum*

F. oxysporum menyebabkan layu pembuluh pada banyak tanaman sayuran, bunga, buah, dan serat. Kebanyakan jenis-jenisnya yang penting termasuk kompleks *F. oxysporum*. Ada banyak sekali forma khusus (*formae speciales*, f.sp.), yang masing-masing mempunyai kisaran inang yang terbatas dan seringkali memiliki sejumlah ras patogen (Shivas and Beasley, 2005).

Layu fusarium umumnya terjadi pada pertengahan musim panas ketika temperatur udara dan tanah tinggi. Awal terbentuknya penyakit tanaman ini adalah perubahan warna daun yang paling tua menjadi kekuningan (daun yang dekat dengan tanah). Seringkali perubahan warna menjadi kekuningan terjadi pada satu sisi tanaman atau pada daun yang sejajar dengan petiole tanaman. Daun yang terinfeksi akan layu dan mengering, tetapi tetap menempel pada tanaman. Kelayuan akan berlanjut ke bagian daun yang lebih muda dan tanaman akan segera mati. Batang tanaman akan tetap keras dan hijau pada bagian luar, tetapi pada jaringan vaskular tanaman, terjadi diskolorisasi, berupa luka sempit berwarna coklat. Diskolorisasi dapat dilihat dengan mudah dengan cara memotong batang tanaman didekat tanah dan akan terlihat luka sempit berbentuk cincin berwarna coklat,

diantara daerah sumbu tanaman dan bagian terluar batang (Cahyono, 2008). Seperti gambar berikut:



Gambar 3. Kerusakan internal batang tanaman melon pada jaringan vaskular membentuk cincin (Roberts, 2001)

Semangun (2001) menyatakan bahwa infeksi *F. oxysporum* terjadi pada bagian jaringan pembuluh xylem. Akibat gangguan pada jaringan xylem, tanaman menunjukkan gejala layu, daun mengering, dan akhirnya mati. Gejala layu sering disertai gejala klorosis dan nekrosis pada daun. Gejala yang terjadi pada tanaman yang terserang penyakit layu fusarium adalah menguningnya daun dari tepi daun selanjutnya menjadi coklat dan mati secara perlahan hingga tulang daun. Hal tersebut disebabkan patogen menginfeksi tanaman melalui luka pada akar dan masuk ke dalam xylem melalui aktivitas air sehingga merusak dan menghambat proses menyebarnya air serta unsur hara ke seluruh bagian tanaman terutama pada bagian daun yang tua.

Gejala lain pada organ daun yaitu perubahan bentuk dan ukuran ruas daun yang baru muncul lebih pendek. Gejala yang paling khas adalah gejala pada bagian dalam. Jika pangkal batang terlihat garis-garis coklat kehitaman menuju ke semua arah, dari batang ke atas melalui jaringan pembuluh ke pangkal daun dan tangkai. Berkas pembuluh akar biasanya tidak berubah warnanya, namun seringkali akar tanaman sakit berwarna hitam dan membusu. Pada tanaman yang masih sangat muda, penyakit layu fusarium dapat menyebabkan matinya tanaman secara mendadak, karena pada pangkal batang terjadi kerusakan (Semangun, 2001).

2.2.5 Pengendalian Penyakit Layu Fusarium Pada Tanaman

Berbagai cara pengendalian telah dilakukan untuk menekan serangan *Fusarium oxysporum*. Penggunaan fungisida diketahui selain memberikan dampak positif juga dapat memberikan ancaman terhadap kualitas lingkungan, keseimbangan ekosistem maupun kesehatan manusia. Pemberian fungisida ke dalam tanah kadang-kadang tidak efektif, karena pengaruh senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroflora tanah dapat mendegradasi fungisida yang diaplikasikan serta pemakaiannya yang harus diulang sehingga memakan biaya yang cukup besar. Disamping itu, perlakuan fungisida dapat merangsang timbulnya strain/ras patogen baru yang lebih resisten terhadap fungisida dan matinya mikroorganisme yang berguna dalam tanah serta yang lebih berbahaya adalah residu fungisida yang terdapat pada pisang yang akan dikonsumsi manusia dan akhirnya dapat menyebabkan keracunan bagi manusia maupun hewan (Semangun, 2004). Selain pengendalian secara kimiawi, pengendalian alternatif pada penyakit *Fusarium oxysporum* dapat dilakukan dengan beberapa cara sebagai berikut:

Kultur teknis. Penggunaan galur /varietas yang tahan (belum diketahui ada varietas yang tahan terhadap strain *F. oxysporum* di Indonesia). Penggunaan benih sehat (dari kultur jaringan atau anakan tanaman sehat). Penggunaan pupuk kompos yang matang yang disertai perlakuan agens antagonis pada saat menjelang tanam. Pemeliharaan yang baik yang mencegah pelukaan terhadap akar tanaman. Penggiliran tanaman yang tidak satu famili atau menjadi inang patogen. Sanitasi gulma dan perbaikan drainase kebun.

Mekanis. Pembongkaran atau eradikasi tanaman sakit (dapat dibantu dengan injeksi herbisida setelah daun-daun tanaman dipotong).

Karantina. Larangan membawa media atau bahan tanaman sakit dari daerah serangan ke daerah lain yang masih bebas penyakit serta pengawasan benih antar daerah atau wilayah.

Pengendalian hayati. Merupakan metode pengendalian yang relatif ramah terhadap lingkungan, dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri antagonis (Agrios, 2005) atau mekanisme antibiosis (Kopperl *et al.*, 2002). Misalnya dengan menggunakan bakteri genus *Streptomyces* mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen dengan cara memproduksi zat anti jamur (antibiotika) dan enzim

hidrolitik ekstraseluler seperti kitinase dan selulase yang mampu mendegradasi dinding sel *Fusarium oxysporum* (Prepagdee *et al.*, 2008). Tak sedikit juga pengendalian hayati dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme yang bersifat antagonis terhadap patogen *Fusarium oxysporum*. Di antaranya dengan memanfaatkan khamir. Agens pengendali hayati jenis ini sudah banyak diteliti sebagai agen antagonis terhadap beberapa patogen penyebab penyakit tanaman tersebut. Sebagai contoh, pada beberapa penelitian mengindikasikan bahwa khamir yang diperoleh dari tanah perakaran tanaman maupun bagian tanaman yang lain mampu memberikan penghambatan pada pertumbuhan patogen *Fusarium oxysporum*. Salah satunya adalah khamir *Hansenula* sp. yang memiliki kemampuan antagonisme terhadap jamur patogen. Aplikasi senyawa antibiosis yang dihasilkan oleh *Hansenula* sp. mampu mengurangi intensitas serangan dan jumlah spora patogen *Fusarium oxysporum* (Hajlaoui *et al.*, 1994).

2.3 Khamir

2.3.1 Defisini khamir

Khamir adalah kelompok mikroorganisme uniseluler yang termasuk dalam filum Ascomycota dan Basidiomycota. Sebagai sel tunggal khamir tumbuh dan berkembang biak lebih cepat dibanding kapang yang tumbuh dengan pembentukan filamen. Khamir juga lebih efektif dalam memecah komponen kimia dibanding kapang, karena mempunyai perbandingan luas permukaan dengan volume yang lebih besar. Dinding selnya sangat tipis untuk sel-sel yang masih muda, dan semakin lama semakin tebal jika sel semakin tua. Komponen dinding selnya berupa glukukan (selulosa khamir), mannan, protein, kitin dan lipid (Waluyo, 2005).

Khamir dapat bereproduksi secara aseksual dan seksual. Secara aseksual dengan cara pembelahan sel sederhana atau dengan cara pelepasan “sel tunas” dari sel induk. Sedangkan secara seksual, dengan cara membentuk aski atau basidia. Beberapa jamur, terutama khamir, tidak membentuk miselium tetapi tumbuh sebagai sel individu yang berkembang dengan tunas atau pada spesies tertentu dengan pembelahan (Rogers, 2011). Khamir dapat membentuk hifa palsu yang tumbuh dan membentuk miselium palsu (*pseudomycelium*) yaitu sel-sel tunas khamir yang memanjang dan tidak melepaskan diri dari induknya sehingga

membentuk seperti rantai. Selain itu, khamir juga dapat membentuk miselium sejati (*true mycelium*) (Gandjar, et al., 2006).

2.3.2 Morfologi Khamir

Khamir adalah fungi uniseluler yang bersifat mikroskopik. Sel khamir mempunyai ukuran yang bervariasi, yaitu dengan panjang 1-5 mikrometer sampai 20 mikrometer, dan lebar 1-10 mikrometer. Bentuk sel khamir bermacam-macam yaitu bulat, oval, silinder atau batang, ogival yaitu bulat panjang dengan salah satu ujung runcing, segitiga melengkung (*trianguler*), bentuk botol, bentuk apikulat atau lemon, membentuk pseudomiselium dan sebagainya (Kanti, 2006).

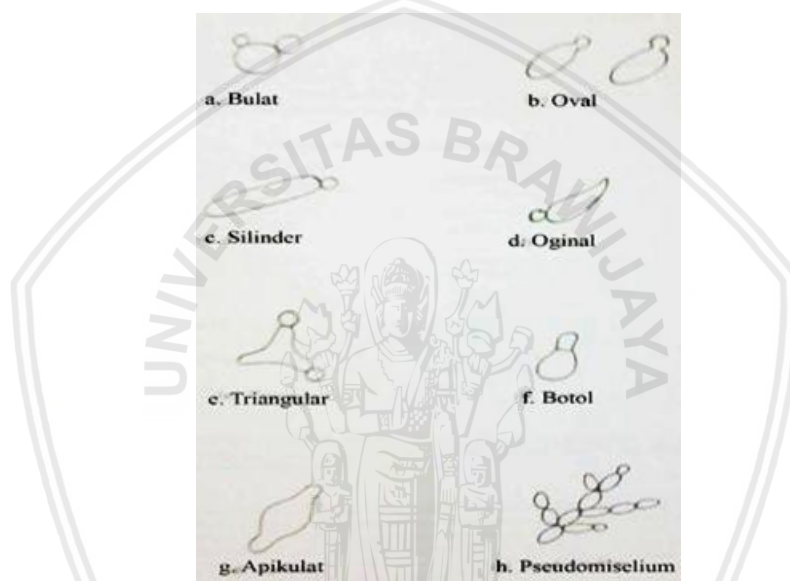
Sel vegetatif yang berbentuk apikulat atau lemon merupakan karakteristik grup khamir yang ditemukan pada tahap awal fermentasi alami buah-buahan dan bahan lain yang mengandung gula, misalnya *Hanseniaspora* dan *Kloeckera*. Bentuk ogival adalah bentuk memanjang di mana salah satu ujung bulat dan ujung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

Khamir tidak mempunyai flagela atau organ lain untuk bergerak. Dalam kultur yang sama, ukuran dan bentuk sel khamir mungkin berbeda karena pengaruh umur sel dan kondisi lingkungan selama pertumbuhan. Sel yang muda mungkin berbeda bentuknya dari yang tua karena adanya proses ontogeni, yaitu perkembangan individu sel. Sebagai contoh, khamir yang berbentuk apikulat (lemon) pada umumnya berasal dari tunas berbentuk bulat sampai oval yang terlepas dari induknya, kemudian tumbuh dan membentuk tunas sendiri. Karena proses pertunasannya bersifat bipolar, sel muda yang berbentuk oval membentuk tunas pada kedua ujungnya sehingga mempunyai bentuk seperti lemon.

Sel-sel yang sudah tua dan telah mengalami pertunasan beberapa kali, mungkin mempunyai bentuk yang berbeda-beda. Morfologi sel khamir dapat diamati menggunakan beberapa cara yaitu: pengamatan langsung dengan mikroskop biasa, pengamatan dengan mikroskop biasa setelah diwarnai dengan pewarna tertentu, terutama untuk melihat kondisi lokasi komponen tertentu di dalam sel. Pengamatan dengan mikroskop elektron terhadap dinding sel yang telah

dipisahkan dari selnya dan pengamatan dengan mikroskop elektron terhadap irisan tipis sel khamir (Hadioetomo, 1985).

Untuk mewarnai sel khamir dapat digunakan pewarna seperti yang digunakan untuk bakteri, tetapi karena beberapa pewarna mungkin menutupi struktur sel, untuk melihat lokasi masing-masing struktur di dalam sel dapat digunakan pewarna spesifik (Cappucino and Sherman, 1996). Mikrostruktur sel khamir terdiri dari kapsul, dinding sel, membran sitoplasma, nukleus, satu atau lebih vakuola, mitokondria, globula lipid, volutin atau polifosfat, dan sitoplasma. Morfologi khamir ditunjukkan pada gambar 4:



Gambar 4. Morfologi Sel Khamir (Ohya *et al.*, 2005)

2.3.3 Taksonomi, Ekologi, dan Peran Khamir di Alam

Khamir memiliki keanekaragaman yakni 34 genera yang diperoleh dari lingkungan, yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan bahan makanan yakni 19 genera. Ke 34 genera khamir tersebut antara lain *Aureobasidium*, *Bensingtonia*, *Bullera*, *Candida*, *Clavispora*, *Cryptococcus*, *Cystofilobasidium*, *Debaromyces*, *Dipodascus*, *Erythrobasidium*, *Exophiala*, *Filobasidium*, *Galactomyces*, *Geotrichum*, *Hyalodendron*, *Issatchenkia*, *Kodamaca*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia*, *Myxozyma*, *Pichia*, *Pseudozyma*, *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Saccharomycete*, *Spathaspora*, *Sporisorium*, *Sporidiobolus*, *Sporobolomyces*, *Tetrapisispora*, *Tilletiopsis*, *Trichosporon*, *Ustilago*, dan *Williopsis*.

Khamir ditemukan di seluruh dunia yaitu di dalam tanah dan di permukaan tanaman dan sangat melimpah pada media yang mengandung gula seperti nektar bunga dan buah–buahan (Rogers, 2011). Khamir memiliki habitat yang luas, mencakup daratan, perairan dan udara. Di alam, khamir dapat hidup sebagai saprofit yang berperan penting dalam siklus biogeokimia pada ekosistem. Selain sebagai saprofit, khamir dapat hidup sebagai epifit, endofit maupun parasit. Sifat mikroorganisme antagonis yaitu memiliki pertumbuhan yang lebih cepat dibanding dengan pertumbuhan patogen, dan mikroorganisme antagonis dapat menghasilkan senyawa antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan patogen (Avis and Belanger, 2002). Selain itu, khamir dapat hidup dan bertahan terhadap kekeringan dan cahaya matahari (Fonseca and Inacio, 2006).

2.3.4 Mekanisme Antagonis Khamir

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

Mekanisme antibiosis oleh khamir melibatkan penggunaan senyawa metabolit sekunder atau senyawa toksik seperti enzim pelisis, senyawa *volatile*, *siderophores* atau senyawa toksik lainnya (Haggag and Mohamed, 2007). Terbentuknya senyawa metabolit sekunder tersebut dapat menyebabkan fungistatik, lisis dinding sel, atau nekrotik, sehingga pertumbuhan jamur patogen menjadi terhambat. Kemampuan khamir dalam menekan kejadian penyakit diduga karena khamir mampu menghasilkan enzim yang berpotensi menghambat, menekan dan mampu merangsang beberapa jenis respon pertahanan inang. Enzim tersebut mampu mendegradasi dinding sel patogen.

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

habitat dan sumber nutrisi untuk melakukan pertumbuhan (Sharma *et al.*, 2009). Sedangkan mekanisme predasi terjadi melalui kontak langsung atau melalui struktur hifa atau spora sehingga mengganggu viabilitas jamur patogen (Morrica and Ragazzi, 2008).



III. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat

Pengambilan sampel dilaksanakan di lahan tanaman melon milik UPT. Pengembangan Agribisnis Tanaman Pangan dan Hortikultura Kebun Lebo, Sidoarjo. Sedangkan kegiatan penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Waktu pelaksanaan pada bulan Februari sampai dengan Agustus 2016.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat untuk pengambilan sampel bagian tanaman melon, serta alat yang digunakan di laboratorium. Alat yang digunakan untuk pengambilan sampel yaitu gunting, plastik dan label. Sedangkan alat yang digunakan di laboratorium yaitu LAFC (*Laminar Air Flow Cabinet*), cawan Petri, *cork borer*, gelas ukur, gelas baker, bunsen, kaca preparat, kaca penutup, timbangan analitis, mikro pipet, kamera, mikroskop, jarum ose, alat semprot, tabung erlenmeyer 250 ml, *rotary shaker*, stik L, aluminium foil, tissue, dan plastik *wrapping*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, media PDA (*Potato Dextrose Agar*), YMA (*Yeast Malt Agar*), media YMB (*Yeast Malt Broth*), tanah dari perakaran tanaman melon untuk isolasi khamir, bagian tanaman yang bergejala layu fusarium untuk isolasi patogen yaitu bagian pangkal batang, aquades steril, alkohol 70%, NaOCl 2%, dan spirtus.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yakni metode eksplorasi dan eksperimen. Eksplorasi khamir diisolasi dari tanah di perakaran tanaman melon yang di ambil dari lahan tanaman melon milik UPT. PATPH Kebun Lebo, Kecamatan Sidoarjo. Sedangkan patogen fusarium didapatkan dari akar tanaman melon yang bergejala seperti penyakit layu fusarium di tempat yang sama dengan pengambilan sampel tanah.

3. 4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Sterilisasi Alat

Peralatan yang disterilisasi adalah gelas ukur, cawan petri, tabung *erlenmeyer*, dan alat-alat tahan panas lainnya menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 atm selama 120 menit. Peralatan yang tidak tahan panas disterilkan dengan menggunakan alkohol 70%.

3.4.2 Pembuatan Media Tumbuh Patogen *F. oxysporum*

Media perbanyak patogen *F. oxysporum* yaitu dengan menggunakan media PDA dengan komposisi kentang 200 gr, agar 20 gr, dekstrose 20 gr, dan 1 liter aquades steril. Kentang yang telah dicuci dan dikupas, dipotong kotak dengan ukuran 1 cm, kemudian direbus di dalam 1 liter aquades steril. Setelah mendidih, air rebusan disaring dan ditambahkan aquades steril hingga mencapai volume 1 liter. Agar dan dekstrose ditambahkan setelah sari kentang mendidih. Media yang sudah homogen dimasukkan ke dalam botol media, ditutup dengan kapas dan aluminium foil, kemudian disterilisasi dengan autoklaf.

3.4.3 Isolasi dan Purifikasi Patogen *F. oxysporum*

Patogen *F. oxysporum* f.sp. *melonis* diisolasi dari bagian tanaman melon yang memiliki gejala yang sama seperti gejala yang ditimbulkan oleh patogen penyebab penyakit layu fusarium. Kegiatan isolasi dilakukan dengan cara mengambil bagian pangkal batang tanaman melon kemudian memotong bagian tersebut dengan ukuran ± 1 cm. Kemudian rendam dalam larutan NaOCL 2% selama 1 menit dalam cawan petri, lalu pindahkan pada cawan petri berisi alkohol 70% selama 1 menit, dan yang terakhir dibilas dalam larutan aquades sebanyak 2 kali masing-masing selama 1 menit. Setelah itu bagian tanaman tersebut ditiriskan pada tissue steril. Potongan pangkal batang yang sudah kering kemudian ditanam pada media PDA dan diinkubasi selama 7 hari. Kemudian dilakukan purifikasi dari isolat yang tumbuh pada media PDA yang baru untuk mendapatkan biakan murni.

3.4.4 Identifikasi Patogen *F. oxysporum*

Kegiatan identifikasi dilakukan dengan dua cara yaitu secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis meliputi pengamatan koloni

jamur pada cawan petri, warna koloni jamur, pola penyebaran koloni dan tidaknya lingkaran konsentris.

Sedangkan identifikasi secara mikroskopis yaitu dengan pembuatan preparat yang dilakukan dengan cara mengambil hifa dan diletakkan di kaca atas permukaan kaca preparat. Kemudian ditutup menggunakan kaca penutup dan diinkubasi pada wadah steril yang lembab selama 3 hari untuk selanjutnya diamati secara mikroskopis yang didasarkan pada morfologi hifa, konidia, ukuran konidia, serta ciri-ciri spesifik lain. Identifikasi dilakukan merujuk pada pustaka yang menunjukkan ciri-ciri *Fusarium oxysporum* (Semangun, 1996).

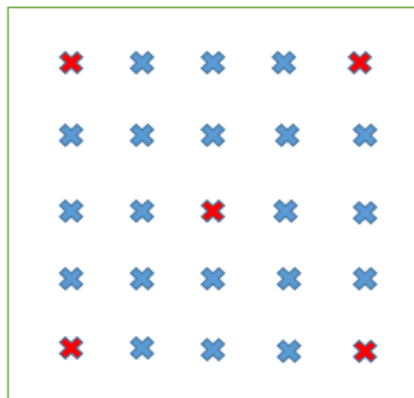
3.4.5 Pembuatan Media Tumbuh Khamir

Media YMA digunakan untuk perbanyak khamir. Bahan yang digunakan untuk membuat YMA yaitu *yeast extract* 3 g, *malt extract* 3 g, pepton 5 g, glukosa 10 g, agar 20 g, aquades 1000 ml dan *chloramphenicol* 1 kapsul 0,25 g. Bahan dimasukkan setelah aquades mendidih, kemudian diaduk hingga homogen. Anti bakteri *chloramphenicol* ditambahkan sebagai media membeku untuk mencegah media terkontaminasi dari bakteri. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam botol ditutup kapas dan aluminium foil sebelum disterilisasi dengan autoklaf. Media yang sudah jadi dimasukkan ke dalam cawan Petri. Khamir siap untuk diinokulasikan pada media yang sudah dingin.

3.4.6 Eksplorasi Khamir Dari Tanah Perakaran Tanaman Melon

3.4.6.1 Pengambilan Sampel Tanah

Sampel khamir didapat dari tanah sekitar perakaran tanaman melon dengan menggunakan metode sistematis (*systematic sampling*). Pengambilan sampel tanah yang terletak pada posisi garis diagonal, sehingga didapatkan 5 sampel tanah dalam satu lahan. Pada setiap titik diambil 3 ulangan untuk dikomposit di lahan menggunakan baskom. Kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik ukuran 0,5 kg dan diberi label sesuai titik yang diambil. Setelah itu dimasukkan ke dalam kotak pendingin yang berisi es batu untuk optimalisasi sampling (Sastrahidayat and Djauhari, 2012). Tanah diambil dengan menggunakan cetok dengan kedalaman \pm 15 cm (Rao, 1994). Skema pengambilan sampel tanah seperti pada gambar berikut:



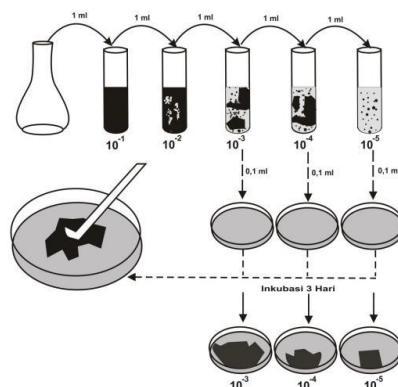
Gambar 5. Skema Pengambilan Sampel Metode Sistematis

3.4.6.2 Isolasi Khamir

Metode isolasi khamir yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan metode pengenceran bertingkat. Kegiatan pengenceran dilakukan dengan cara mengencerkan sampel tanah seberat 10 gram dan aquades 90 ml dalam Erlenmeyer. Keduanya dihomogenkan lalu diendapkan ± 5 menit. Dari hasil endapan yang diperoleh, diambil supernatan sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer berisi 40 ml YMB (*Yeast Malt Broth*). Hal ini dimaksudkan untuk media tumbuh khamir.

Dari hasil di atas, kemudian sampel diinkubasi pada *Rotary Shaker* selama 4 hari. Setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat mulai dari seri 10^{-1} sampai dengan 10^{-5} yang bertujuan untuk mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi di dalam larutan. Caranya adalah dengan mengambil 1 ml suspensi pada seri sebelumnya untuk ditambahkan dengan 9 ml aquades pada gelas ukur yang baru menggunakan mikro pipet.

Selanjutnya, untuk mendapatkan isolat khamir maka diperlukan suspensi pada pengenceran seri 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Masing-masing suspense dari ketiga seri tersebut diambil sebanyak 1 ml dan ditanam Petri yang berisi YMA (*Yeast Malt Agar*) dengan metode sebar (*spread plate*). Setelah itu diinkubasi selama 3 hari dan diamati pertumbuhannya (Ashliha and Alami, 2014). Metode isolasi khamir dari rizosfer tanaman ditunjukkan pada gambar 6.



Gambar 6. Metode isolasi khamir dari rizosfer tanaman dengan pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan proses inkubasi selama 3 hari

3.4.6.3 Purifikasi Khamir

Purifikasi dilakukan untuk mendapatkan isolat murni dengan memilih koloni yang tumbuh dominan dan berbeda karakteristik morfologi koloni khamir. Kemudian dilakukan inokulasi pada media YMA yang baru dengan menggunakan metode *streak plate*. Pengamatan dilakukan pada hari ke-3 sampai menemukan isolate tunggal. Hasil *streak* diamati bentuk sel secara makroskopis dan mikroskopis (Widiastuti and Alami, 2014).

3.4.6.4 Pembuatan Preparasi

Pembuatan preparasi khamir tidak jauh berbeda dengan pembuatan preparasi jamur, yakni dengan cara mengambil sedikit aquades menggunakan pipet dan diletakkan di permukaan kaca preparat, kemudian mengambil khamir dengan menggunakan jarum ose dan diletakkan diatas kaca preparat yang terdapat aquades dan ditutup dengan kaca penutup.

3.4.6.5 Pengamatan dan Identifikasi

Pengamatan morfologi makroskopis merupakan pengamatan morfologi koloni pada saat isolasi dan purifikasi, meliputi: tekstur koloni, warna koloni, bentuk tepi/margin koloni, elevasi, dan permukaan koloni.

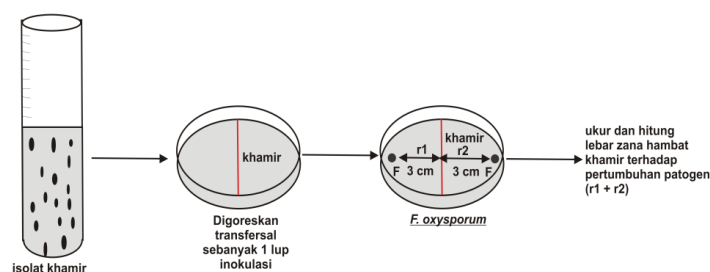
Pengamatan karakter mikroskopis dari isolat khamir pada medium YMA dilakukan dengan pewarnaan *Methylene blue*. Khamir diambil dengan menggunakan jarum ose dan diletakkan di kaca preparat yang telah diberi aquades. Kegiatan perwarnaan ini dilakukan untuk mempermudah proses pengamatan pada sel khamir yang transparan. Sedangkan pengamatan karakter mikroskopis seperti,

bentuk filamen, bentuk sel (bulat, oval, silinder, ovoid, sperikal, spheroid), tipe pertunasan (*budding*), ukuran sel dan memiliki pseudohifa atau hifa sejati (miselium). Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan cara membuat preparat biakan di atas kaca objek kemudian dilihat karakternya pada mikroskop (Widiastutik and Alami, 2014).

Isolat khamir diidentifikasi sampai tingkat genus dengan mengacu pada buku panduan identifikasi “*The Yeast a Taxonomic Study*”.

3.4.7 Uji Antagonis Isolat Khamir dengan Patogen *F. oxysporum* f.sp. *melonis* Secara *In-vitro*

Uji antagonis isolat khamir dengan patogen *F. oxysporum* f.sp. *melonis* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) secara *in-vitro*. Pengujian antagonis isolat khamir yang diperoleh dilakukan dengan cara menggoreskan khamir pada media PDA tepat ditengah cawan Petri yang berdiameter 9 cm dengan posisi tegak lurus sebanyak 1 lup inokulasi. Kemudian biakan *F. oxysporum* f.sp. *melonis* diambil dengan *cork borer* yang berdiameter 0,6 dan diletakkan pada sisi kanan dan kiri goresan khamir dengan jarak ± 3 cm kemudian diinkubasi pada suhu kamar dan diamati selama 7 hari dengan cara mengukur lebar zona hambat khamir terhadap *F. oxysporum* f.sp. *melonis* pada setiap harinya. Kontrol disiapkan sebagai pembanding, *F. oxysporum* f.sp. *melonis* diambil menggunakan bor gabus dan diletakkan pada media PDA tanpa perlakuan khamir. Pengamatan selama 7 hari juga pada jari-jari koloni *F. oxysporum* yang tumbuh ke arah tengah cawan Petri, seperti pada gambar di bawah:



Gambar 7. Uji Antagonis *in vitro* Khamir Terhadap *F. oxysporum* pada media PDA

Untuk menghitung daya hambat khamir terhadap *F. oxysporum* f. sp. *melonis* ditentukan dengan rumus Hadiwiyono (1999):

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

THR = Presentase tingkat hambat relatif terhadap pertumbuhan patogen

dk = \sum Diameter koloni patogen tanpa perlakuan (kontrol)

dp = \sum Diameter koloni patogen yang diberi perlakuan khamir (r1+r2)

3.4.8 Analisa Data

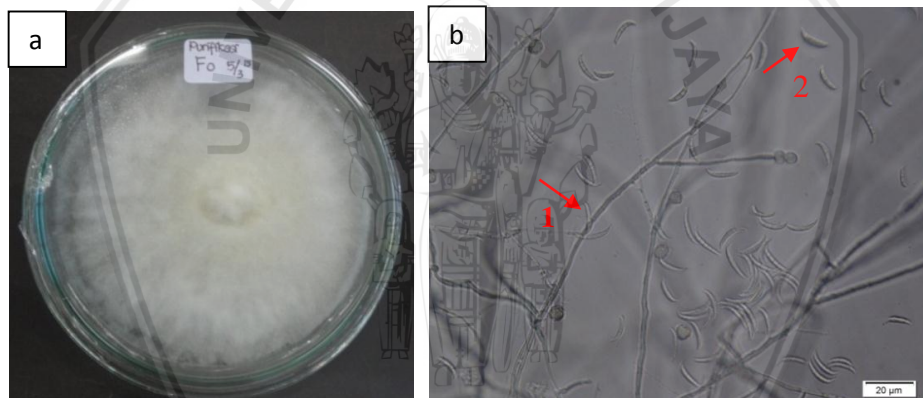
Data yang diperoleh dari uji antagonis khamir dengan *F. oxysporum* f.sp. *melonis* dianalisis menggunakan analisis ragam (Anova) dan dilanjutkan dengan Uji Duncan pada taraf 5% apabila terdapat beda nyata.



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi dan Identifikasi Jamur *F. oxysporum*

Kegiatan isolasi jamur *F. oxysporum* dilakukan pada media PDA (Potato Dextrose Agar) setelah mendapatkan sampel tanaman melon yang menunjukkan gejala penyakit layu fusarium. Identifikasi jamur dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi jamur secara makroskopis dapat dilihat dari warna koloni, pola penyebaran, tekstur koloni. Kenampakan makroskopis jamur yang didapat adalah berwarna putih dengan permukaan halus serta pola penyebaran yang merata. Koloni jamur ini memenuhi cawan dalam waktu 7 hari pada media PDA. Sedangkan identifikasi secara mikroskopis jamur ini memiliki makrokonidia berbentuk melengkung dan ujungnya lancip seperti bulan sabit, hifa transparan (hialin) dan memiliki sekat. Hasil isolasi patogen *F. oxysporum* dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 8. Patogen *F. oxysporum*. a. Biakan murni umur 7 hari pada media PDA, b. (1) Hifa, (2) Makrokonidia

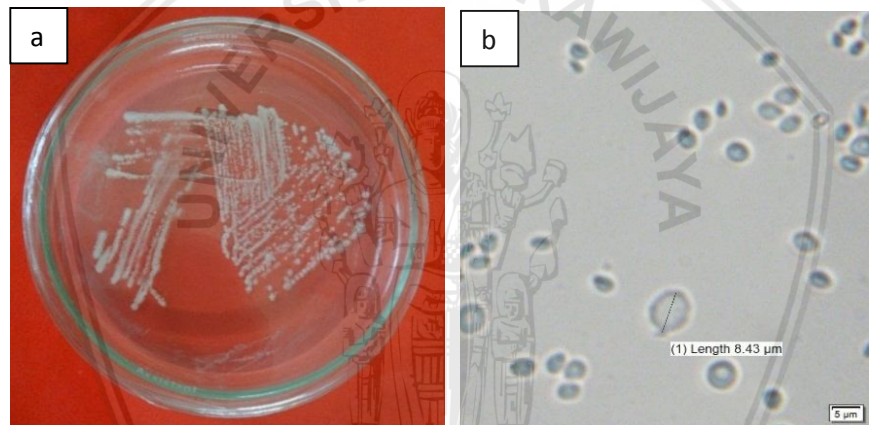
Patogen *F. oxysporum* sp. yang didapatkan mempunyai 2 alat reproduksi yaitu mikrokonidia (terdiri dari 1-2 sel) dan makrokonidia (terdiri dari 3-5 sekat). Makrokonidia mempunyai bentuk yang khas, melengkung seperti bulan sabit, terdiri dari 3-5 sekat, dan biasanya dihasilkan pada permukaan tanaman yang terserang lanjut. Menurut (Semangun, 2001) makrokonidia jamur *F. oxysporum* berbentuk panjang dengan ujung runcing (fusi) agak melengkung menyerupai bulan sabit, ramping, dan terdiri dari 3-5 sekat.

4.2 Isolasi dan Identifikasi Khamir

Isolasi khamir berhasil didapat dari tanah perakaran tanaman melon. Identifikasi khamir dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Berdasarkan hasil isolasi dan identifikasi khamir dari tanah perakaran melon diperoleh total 6 isolat khamir yaitu sebagai berikut:

4.2.1 *Candida* sp.

Berdasarkan pengamatan makroskopis menunjukkan koloni berwarna putih krem, memiliki tekstur butiran, permukaan yang mengkilap, serta tepian koloni yang rata. Sedangkan pada pengamatan secara mikroskopis menunjukkan sel berbentuk bulat dengan ukuran 1-10 μm , sel tunggal, dan membelah secara multilateral. Hasil isolasi khamir *Candida* sp. ditunjukkan pada gambar 9.



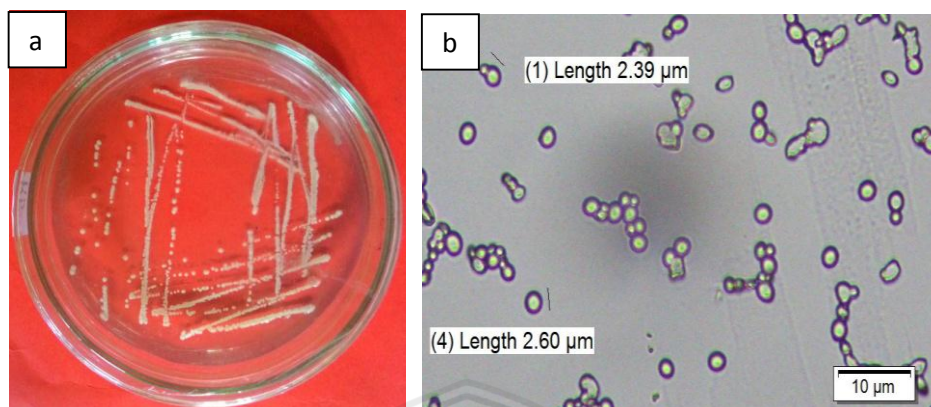
Gambar 9. Khamir *Candida* sp. dari tanah di perakaran tanaman melon. (a) Biakan murni umur 3 hari pada media YMA, (b) Sel khamir

Kurtzman and Fell (1998) mendeskripsikan bahwa khamir genus *Candida* sp. memiliki koloni seperti permukaan yang timbul dan bertekstur halus. Sedangkan ciri-ciri mikroskopis *Candida* sp. sel-selnya tunggal dan berbentuk bulat, lonjong, maupun bulat lonjong. Ukuran sel 1-10 μm dan membelah dengan berkelompok seperti rantai pendek.

4.2.2 *Phicia* sp.

Berdasarkan pengamatan makroskopis menunjukkan koloni berwarna putih, tepian koloni rata, elevasi cembung, permukaan licin. Sedangkan pada pengamatan secara mikroskopis menunjukkan sel berbentuk bulat telur berukuran 1,73-3,36 μm ,

sel tunggal maupun berpasangan dengan membelah secara multilateral, serta tunas berbentuk oval. Hasil isolasi khamir *Pichia* sp. ditunjukkan pada gambar 10.

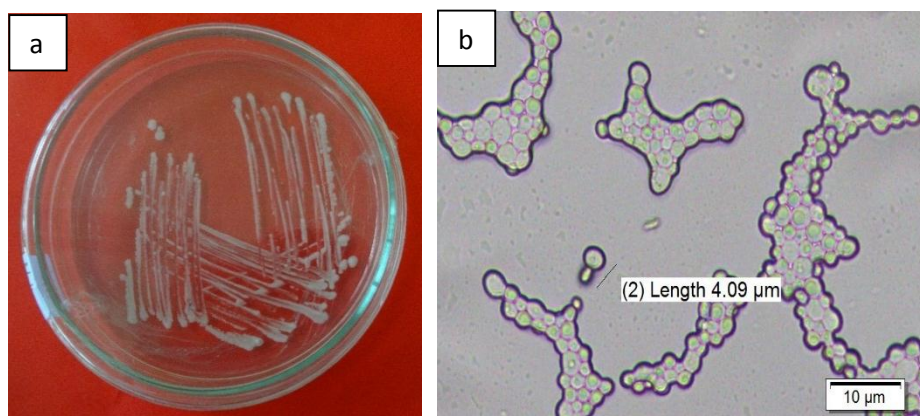


Gambar 10. Khamir *Pichia* sp. dari tanah di perakaran tanaman melon. (a) Biakan murni umur 3 hari pada media YMA, (b) Sel khamir

Kurtzman and Fell (1998) mendeskripsikan bahwa *Pichia* sp. memiliki warna koloni putih, berbentuk butiran, dan memiliki tekstur halus. Sedangkan ciri-ciri mikroskopis *Pichia* sp., sel-selnya berbentuk bulat telur berukuran 2,9-10 μm , sel tunggal, membentuk rantai pendek, dan membentuk pseudomiselium.

4.2.3 *Zygosaccharomyces* sp.

Berdasarkan pengamatan makroskopis menunjukkan koloni berwarna putih, tepian koloni yang tidak rata, elevasi datar, serta permukaan yang licin. Sedangkan pada pengamatan secara mikroskopis menunjukkan sel berbentuk bulat dengan ukuran 3,4-4,62 μm , sel tunggal, dan berpasangan yang membelah secara multilateral, serta tunas berbentuk botol. Hasil isolasi khamir *Zygosaccharomyces* sp. ditunjukkan pada gambar 11.

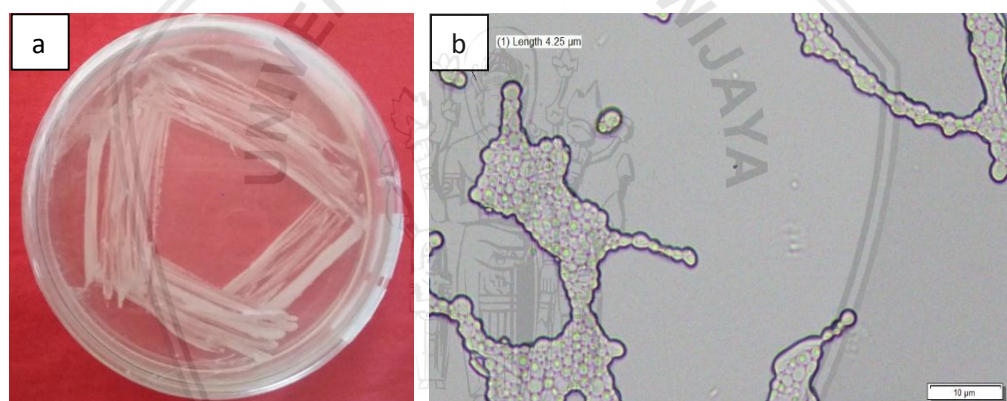


Gambar 11. Khamir *Zygosaccharomyces* sp. dari tanah di perakaran tanaman melon. (a) Biakan murni umur 3 hari pada media YMA, (b) Sel khamir

Kurtzman and Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan biakan *Zygosaccharomyces* sp. menunjukkan koloni berwarna putih kekuningan, berbentuk butiran, dan memiliki tekstur yang halus. Sedangkan ciri-ciri mikroskopis *Zygosaccharomyces* sp., sel-selnya tunggal atau berpasangan, bulat telur memanjang, sel berukuran 3-13 μm . Pembelahan secara multilateral, memproduksi askospora yang halus berbentuk elips.

4.2.4 *Cryptococcus* sp.

Berdasarkan pengamatan makroskopis menunjukkan koloni berwarna putih kusam, permukaan licin, serta tepian koloni yang rata. Sedangkan pada pengamatan secara mikroskopis menunjukkan sel berbentuk bulat dengan ukuran 4,25 μm yang menghasilkan tunas secara multipolar. Hasil isolasi khamir *Cryptococcus* sp. ditunjukkan pada gambar 12.



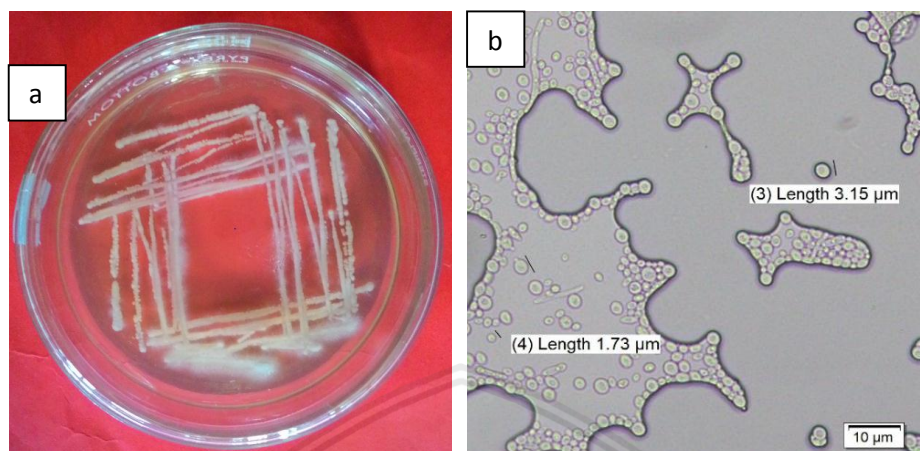
Gambar 12. Khamir *Cryptococcus* sp. dari tanah di perakaran tanaman melon. (a) Biakan murni umur 3 hari pada media YMA, (b) Sel khamir

Kurtzman and Fell (1998) mendeskripsikan bahwa pertumbuhan biakan *Cryptococcus* sp. menunjukkan koloni berwarna putih keruh, berbentuk butiran, dan memiliki tekstur yang halus. *Cryptococcus* sp. memiliki sel tunggal berbentuk bulatan berukuran 3-7 μm yang dapat menghasilkan tunas pada saat melakukan pembelahan.

4.2.5 *Hansenula* sp.

Berdasarkan pengamatan makroskopis menunjukkan koloni berwarna putih krem, memiliki miselium di tepi koloni, memiliki permukaan yang halus, serta tepian koloni yang rata. Sedangkan pada pengamatan secara mikroskopis

menunjukkan sel berbentuk bulat dengan ukuran sel 3-5 μm . Hasil isolasi khamir *Hansenula* sp. ditunjukkan pada gambar 13.

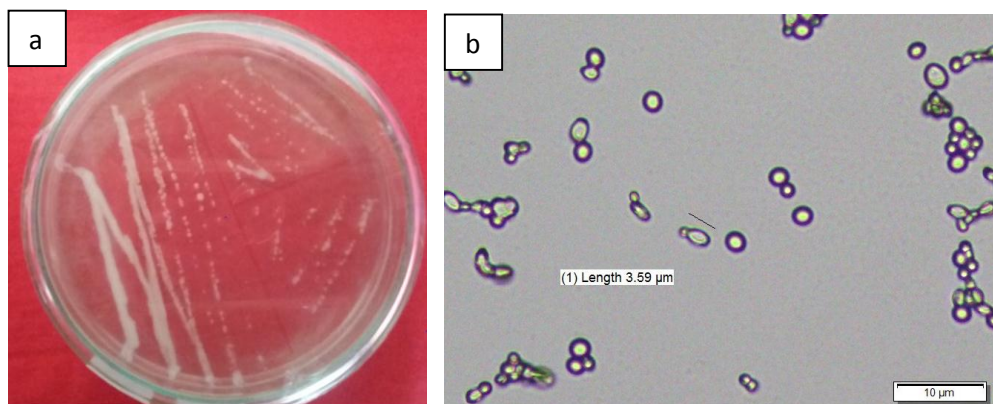


Gambar 13. Khamir *Hansenula* sp. dari tanah di perakaran tanaman melon. (a) Biakan murni umur 3 hari pada media YMA, (b) Sel khamir

Hal ini sesuai dengan (Widiastuti, 2014) yang mengatakan bahwa isolat genus *Hansenula* memiliki bentuk sel bulat, elips, atau memanjang dengan *true hifa* atau *pseudohifa* mungkin terbentuk. Reproduksi aseksual dengan pertunasan *multilateral* dan secara aseksual dengan askospora.

4.2.6 *Metschnikowia* sp.

Berdasarkan pengamatan makroskopis menunjukkan koloni berwarna krem, memiliki tekstur butiran, permukaan yang mengkilap atau licin, serta tepian koloni yang rata. Sedangkan pada pengamatan secara mikroskopis menunjukkan sel berbentuk bulat dengan ukuran 3,10-7 μm , sel tunggal, dan membelah secara *multilateral*. Hasil isolasi khamir *Metschnikowia* sp. ditunjukkan pada gambar 14.



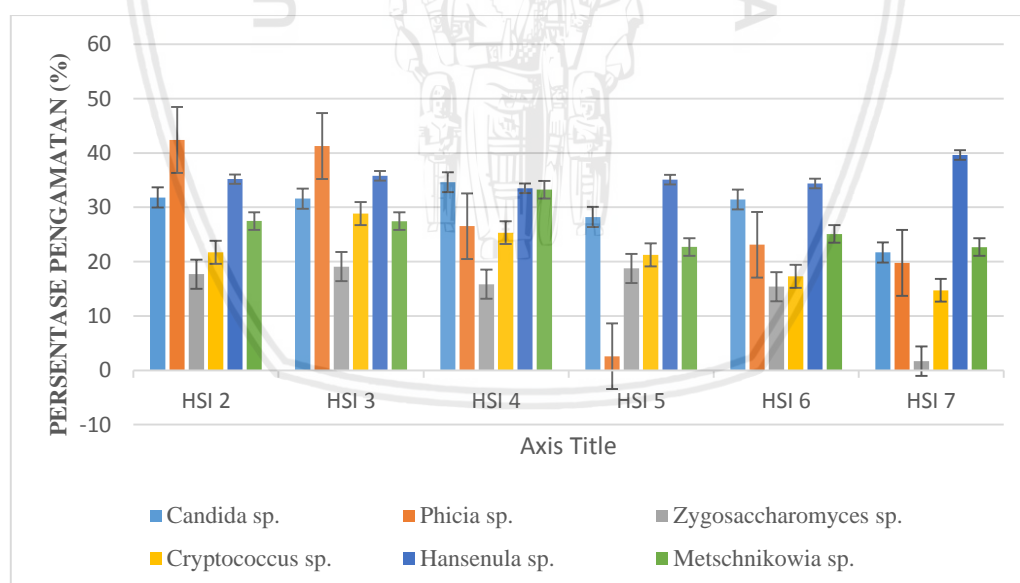
Gambar 14. Khamir *Metschnikowia* sp. dari perakaran tanaman melon. (a) Sel Khamir, (b) Biakan murni umur 3 hari pada media YMA

Kurtzman and Fell (1998) mendeskripsikan bahwa *Metschnikowia* sp. menunjukkan koloni yang mengkilap, berwarna putih, berbentuk butiran, dan cembung. Sedangkan ciri-ciri mikroskopisnya *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.

4.3 Uji Antagonis Khamir terhadap Patogen *F. oxysporum* Secara *In-vitro*

Pengujian antagonis dilakukan terhadap 6 isolat khamir dengan isolat patogen *F. oxysporum* fs. *melonis* pada media PDA. Pengamatan daya hambat khamir terhadap patogen *F. oxysporum* f.sp. *melonis* dilakukan sejak 1 hari setelah inokulasi (hsi) sampai 7 hsp.

Rerata persentase hambatan khamir terhadap pertumbuhan patogen *F. oxysporum* f.sp. *melonis* selama 7 hari pada media PDA. Pengamatan disajikan pada grafik sebagai berikut:



Gambar 15. Histogram rerata persentase hambatan khamir terhadap pertumbuhan patogen *F. oxysporum* selama 7 hari pada media PDA.

Pada gambar 15 menunjukkan bahwa persentase hambatan yang paling tinggi pada 7 hari setelah inokulasi yaitu perlakuan menggunakan *Hansenula* sp. yang didapat dari tanah perakaran tanaman melon. Perlakuan dengan khamir yang

menunjukkan persentase hambatan yang paling rendah adalah perlakuan *Zygosaccharomyces* sp. dibandingkan dengan penghambatan khamir yang lain. Sedangkan perlakuan yang menunjukkan persentase tanpa hambatan adalah pada perlakuan kontrol yang menunjukkan nilai nol sejak awal pengamatan hingga 7 hari berikutnya.

Nilai rerata presentase hambatan khamir terhadap patogen *F. oxysporum* sp. *melonis* disajikan pada tabel berikut:

Tabel 1. Presentase Rerata Hambatan Khamir Selama 7 Hari Pengamatan

Perlakuan	Presentase Penghambatan (%)					
	HSI 2	HSI 3	HSI 4	HSI 5	HSI 6	HSI 7
<i>Candida</i> sp.	31,81±15,23	31,59±11,94	34,10±12,08	28,22±2,7bc	31,44±4,23c	21,69±6,01b
<i>Pichia</i> sp.	42,39±27,56	41,28±15,36	26,53±12,13	22,59±8,42b	23,11±7,48bc	19,77±4,08b
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	17,69±7,32	19,09±8,03	15,84±10,33	18,75±8,44b	15,40±11,18b	11,68±8,37ab
<i>Cryptococcus</i> sp.	21,72±7,96	28,85±9,47	25,32±11,51	21,24±6,75b	17,30±6,52b	14,73±2,53b
<i>Hansenula</i> sp.	35,18±6,29	35,81±13,21	33,49±12,89	35,08±6,71c	34,38±6,49c	39,64±6,51c
<i>Metschnikowia</i> sp.	27,46±19,44	27,45±12,29	33,25±22,96	22,70±4,27b	25,10±4,24bc	22,67±3,63b

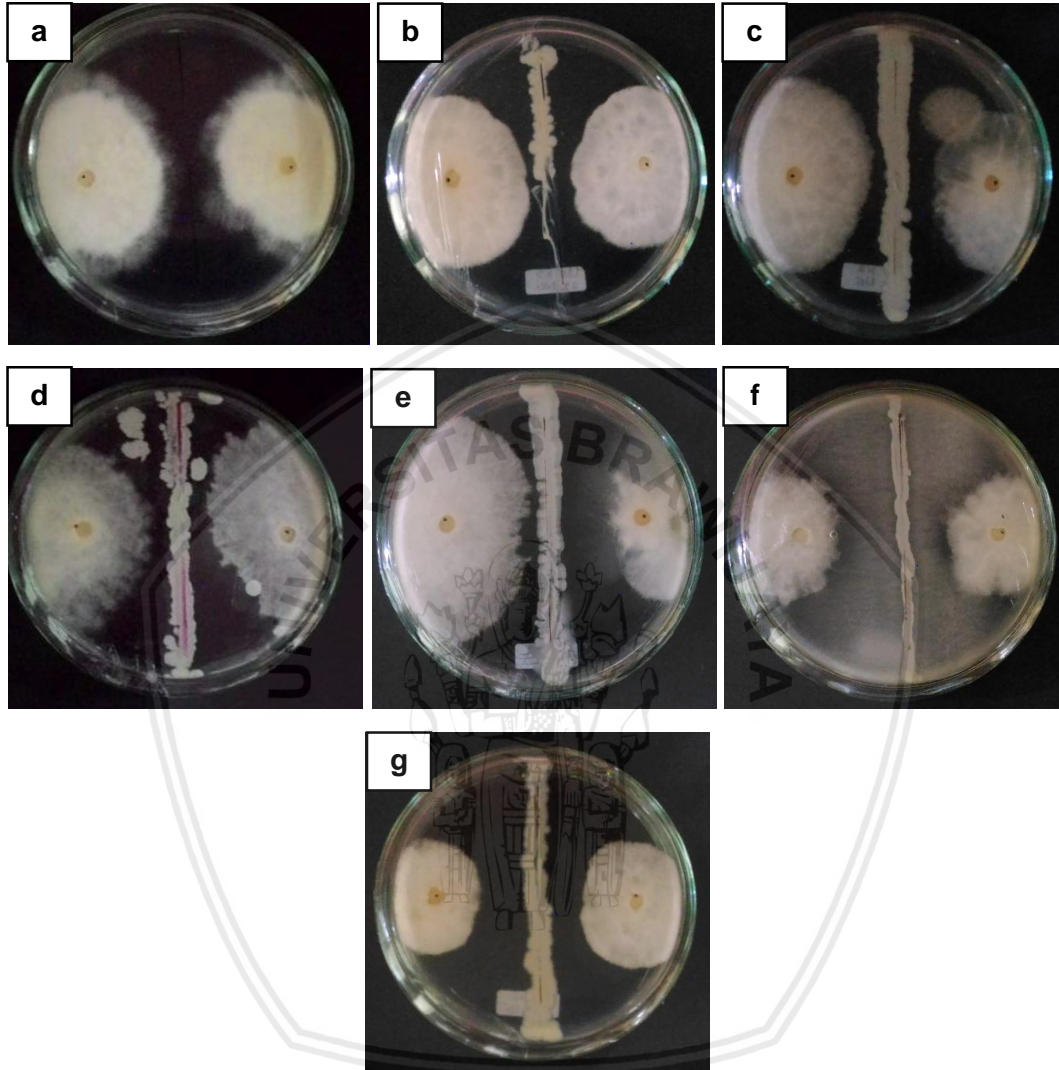
Keterangan: Angka disertai huruf yang sama pada kolom menunjukkan tidak terdapat beda nyata antar perlakuan.

4.4 Analisis Data Khamir

Dari data yang didapat menunjukkan bahwa beberapa jenis isolat khamir yang didapat dari tanah di perakaran tanaman melon mampu memberikan penghambatan terhadap pertumbuhan patogen *F. oxysporum* f.sp *melonis* selama 7 hsi.

Pada perlakuan kontrol yaitu *F. oxysporum* f.sp *melonis* saja tanpa khamir, tidak dihasilkan hambatan sehingga presentase hambatannya adalah 0%. Pada perlakuan menggunakan *Candida* sp. mampu menghasilkan penghambatan sebesar 21,69%. Pada perlakuan *Pichia* sp. mampu menghasilkan penghambatan sebesar 19,77%. Pada perlakuan *Zygosaccharomyces* sp. mampu menghasilkan penghambatan sebesar 11,68%. Perlakuan menggunakan *Cryptococcus* sp. mampu menghasilkan penghambatan sebesar 14,73%. Kemudian penghambatan yang dihasilkan pada perlakuan menggunakan *Hansenula* sp. adalah sebesar 39,64%. Sedangkan pada perlakuan menggunakan *Metschnikowia* sp. menghasilkan hambatan sebesar 22,67%.

Berikut hasil dokumentasi uji antagonis khamir hasil isolasi dari tanah perakaran tanaman melon di desa Lebo, Sidoarjo terhadap patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* pada 7 hsi (Gambar 16).



Gambar 16. Hasil uji antagonis khamir *F. oxysporum* pada 7 HSI secara in-vitro. A: kontrol patogen *F. oxysporum*, B: perlakuan *Candida* sp., C: perlakuan *Phicia* sp., D: perlakuan *Zygosaccharomyces* sp., E: perlakuan *Cryptococcus* sp., F: perlakuan *Hansenula* sp. G: perlakuan *Metschnikowia* sp.

Hasil uji antagonis menunjukkan bahwa antara 6 isolat khamir memiliki interaksi antagonis dengan *F. oxysporum* f.sp. *melonis*. Mekanisme antagonis yang dihasilkan oleh khamir antara lain antibiosis dan kompetisi. Mekanisme antibiosis ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar yang tidak ditumbuhi koloni patogen *F. oxysporum* f.sp. *melonis*.

Haggag and Mohamed (2007) melaporkan bahwa mekanisme antibiosis oleh khamir melibatkan penggunaan senyawa metabolit sekunder seperti enzim pelisis, senyawa volatile, siderophores atau senyawa toksik lainnya sehingga dapat menyebabkan fungistatik, lisis dinding sel, atau nekrotik, sehingga pertumbuhan jamur patogen menjadi terhambat. Sedangkan mekanisme kompetisi ditunjukkan dengan lambatnya pertumbuhan koloni jamur patogen ketika ditumbuhkan bersama dengan khamir pada media yang sama. Hal tersebut didukung oleh pernyataan Janisiewicz and Korsen (2002) bahwa mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi terjadi apabila khamir berusaha memperoleh ruang dan nutrisi yang terbatas ketika ditumbuhkan bersama jamur patogen.

Pada pengujian antagonis secara in-vitro terhadap *F. oxysporum* menunjukkan potensi baik dalam menghambat pertumbuhan patogen adalah *Hansenula* sp. yang diisolasi dari rizosfer tanaman melon. Khamir *Hansenula* sp. memiliki kemampuan antagonisme terhadap jamur patogen. Aplikasi senyawa antibiosis yang dihasilkan oleh *Hansenula* sp. mampu mengurangi intensitas serangan dan jumlah spora patogen *F. oxysporum* (Hajlaoui *et al.*, 1994).

V. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Khamir dari tanah perakaran tanaman melon di lahan milik UPT Lebo yang berhasil diisolasi yaitu *Candida* sp., *Pichia* sp., *Zygosaccharomyces* sp., *Cryptococcus* sp., *Hansenula* sp., *Metschnikowia* sp.
2. Beberapa isolat khamir yang didapat mampu menghambat pertumbuhan patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*.
3. Persentase penghambatan tertinggi pada 7 hari setelah inokulasi ditunjukkan pada perlakuan *Hansenula* sp. sebesar 39,64%, sedangkan persentase penghambatan terendah ditunjukkan pada perlakuan *Zygosaccharomyces* sp. sebesar 11,68%.

5.2 Saran

Dalam penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang:

1. Dalam penelitian ini diperlukan penelitian molekuler selanjutnya untuk identifikasi spesies dan mengetahui senyawa pada khamir yang ditemukan dalam menekan pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* penyebab layu fusarium pada tanaman melon.

Perlu dilakukan uji Postulat Koch untuk membuktikan bahwa jamur yang berhasil diisolasi merupakan *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman melon.

DAFTAR PUSTAKA

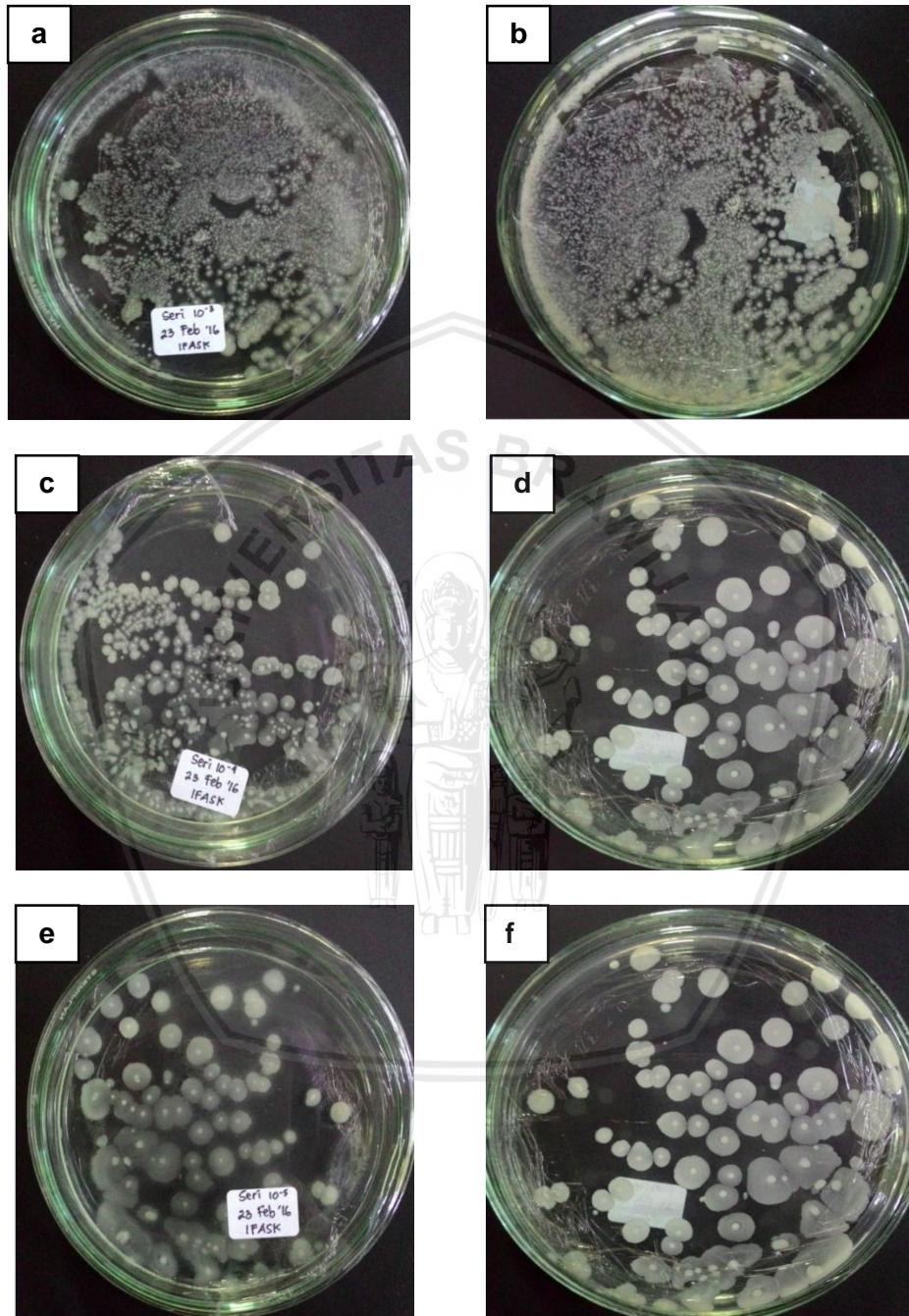
- Agrios, G. N., 2000. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Yogyakarta: UGM Press.
- Agrios G.N.2005. *Plant Pathology*. 5th Ed. Academic Press. New York. 332 – 334.
- Ashliha, I. N. and Alami, N. H. 2014. Karakterisasi Khamir dari Pulau Poteran
- Avis, T. J., Belanger, R.R. 2002. Mechanisms And Means Of Detection Of Biocontrol Activity Of *Pseudozyma* Yeasts Against Plant-Pathogenic Fungi. FEMS yeast Res. 2: 5-8.
- Madura. Jurnal Sains dan Seni POMITS 3 (2): 49-52.
- Astuti, 2007. Budidaya Melon. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Cahyono, B., 2008. TOMAT, Usaha Tani dan Penanganan pasca Panen. Yogyakarta: Kanisius.
- Cappucino, J. G. and Sherman, N., 1996. Microbiology: A Laboratory Manual. California: Benjamin/Cummings Publishing Company.
- De Cal, A., Garcia-Lepe, R. and Melgarejo, P. 2000. Induced Resistance by *Penicillium oxalicum* Against *F. oxysporum f.sp. lycopersici*: Histological studies of infected and induced tomato stem. Phytopathology 90:260-268.
- Druvefors UÄ, 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. Tersedia pada: <http://aem.asm.org/content/71/4/1865.full>. DOI: 10.1128/AEM.71.4.1865-1869.2005.
- Gandjar, I., Sjamsuridzal, W. and Oetari, A., 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Hadioetomo, R. S., 1985. Mikrobiologi Dasar-dasar Praktik. Jakarta: Gramedia.
- Hadiwiyono. 1999. Jamur Akar Gada (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) pada Cruciferae: Uji Toleransi Inang dan Pengendaliannya secara Hayati dengan Trichoderma, Purwokerto: Universitas Jenderal Sudirman, Hal. 365-371.
- Haggag, W. M., and Mohammed, H. A. A. 2007. Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture 1 (1): 7-12.
- Hajlaoui, M. R, Traquair, J. A, Jarvis, W. R. and Bèlanger, R. R. 1994. Antifungal activity of extracellular metabolites produced by *Sporothrix flocculosa*. Biocontrol Sci. Technol. 4 : 229–237.
- Janisiewicz, W. J. and Korsen, L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. Annu Rev Phytopathol. 40: 11-441.

- Kanti, A., 2006. Biodiversitas. Marga Candida, khamir tanah pelarut posfat yang diisolasi dari tanah Kebun Biologi Wamena Papua, Volume 7 (2), pp. 105-108.
- Kurtzman, C. P. and Fell J. W. 1998. *The Yeast: A Taxonomic Study*, 3rd ed. Elsevier. Amsterdam.
- Kurtzman, C. P and Fell J. W. 2006. Yeast systematics and phylogeny-implication of molecular identification methods for studies in ecology. *Biodiversity and Ecophysiology of Yeast*. Berlin. Springer-verlag.
- Kopperl, M.L.S., T.E. Hewlett, L.P. Norris. 2002. *Streptomyces* for biological control of pathogenic fungi and nematodes. <http://www.bssp.org.uk/icpp98/5.2/76.html>.
- Morrica S. and Ragazzi A. 2008. Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: a lesson from *Discula quercina*. *Phytopathology*. 98 (4): 380-386.
- Ohya, Y., Sese, J., Yukawa, M. 2005. High dimensional and large scale phenotyping of yeast mutant. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102 (52):19015-20.
- Petersson S, Schnürer J. 1995. Biocontrol of mold growth in high-moisture wheat stored airtight condition by *Pichia anomala*, *Pichia guilliermondii*, and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Environ Microbiol*. 61(3):1027-1032.
- Prepagdee B., C. Kuekulvong, and S. Mongkolsuk. 2008. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygrosopycus* against Phytopathogenic fungi. *International Journal of Biological Sciences* 4:330-337.
- Ploetz, R. C. 1994. *Banana: compendium of tropical fruit disease*. Minnesota: The American Phytopathology Society Press.
- Rao, N. S. S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Edisi Kedua. Jakarta: Universitas Indonesia Press. 15-76 hal.
- Roberts, P.D. 2001. *Fusarium Crown and Root Rot of Tomato in Florida*. UF/IFAS EDIS pub. 52 hal.
- Rogers, K. 2011. *Fungi, Algae, and Protists*. New York: Britannica Educational Publishing.
- Rukmana, R. 2004. *Budidaya Melon Hibrida*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Sastrahidayat, I. R., 1990. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Malang: Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
- Sastrahidayat, I.R. and Djauhari, S. 2012. *Teknik Penelitian Fitopatologi*. Malang: Universitas Brawijaya Press.
- Semangun, H., 1996. *Pengantar ilmu penyakit tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Semangun, H., 2000. Penyakit-Penyakit Tanaman Holtikultura di Indonesia. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Semangun, H., 2001. Pengantar ilmu penyakit tumbuhan. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Semangun, H., 2004. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sharma, R. R., Singh, D., and Singh R. 2009. Biological control of postharvest disease of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. Biol. Control. 50: 205-221.
- Shivas, R. and Beasley, D. 2005. Pengelolaan Koleksi Patogen Tanaman. Departemen Pertanian, Perikanan dan Perhutanan Pemerintah Australia (Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, DAFF). <http://daff.gov.au>.
- Soesanto, L., 2000. Ecology and Biological Control of *Verticillium dahliae*. Netherlands: Wageningen University, Wageningen.
- Waluyo, L., 2005. Mikrobiologi Umum. Malang: Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Watanabe, T., 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species second edition. USA: CRC Press.
- Widiastutik, N. and Alami, N. H. 2014. Isolasi dan identifikasi yeast dari rhizosfer *Rhizophora mucronata* Wonorejo. Jurnal sains dan Seni POMITS. 3 (1): 11-16.

LAMPIRAN

Lampiran 1



Gambar 17. Hasil uji antagonis khamir terhadap *F. oxysporum* pada 7 hsi. a: Khamir pengenceran seri 10^{-3} (tampak depan), b: Khamir pengenceran seri 10^{-3} (tampak belakang), c: Khamir pengenceran seri 10^{-4} (tampak depan), d: Khamir pengenceran seri 10^{-4} (tampak belakang), e: Khamir pengenceran seri 10^{-5} (tampak depan), f: Khamir pengenceran seri 10^{-5} (tampak belakang)

Lampiran 2a

Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 1 hsi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	7	2745,03	392,14	1,92	2,77
Galat	21	4282,56	203,93		
Total	28	7027,60			

Lampiran 2b

Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 2 hsi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	7	1631,67	233,09	1,07	2,77
Galat	21	4579,92	218,09		
Total	28	6211,59			

Lampiran 2c

Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 3 hsi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	7	1150,54	164,36	1,33	2,77
Galat	21	2590,98	123,38		
Total	28	3741,52			

Lampiran 2d

Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 4 hsi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	7	1033,54	147,64	0,84	2,77
Galat	21	3679,27	175,20		
Total	28	4712,81	168,31		

Lampiran 2e

Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 5 hsi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	7	703,71	100,53	2,722	2,77
Galat	21	775,67	36,93		
Total	28	1479,38			

Lampiran 2f

Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 6 hsi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	7	1130,80	161,54	3,74	2,77
Galat	21	905,16	43,10		
Total	28	2035,96			

Lampiran 2g

Tabel Analisis Ragam Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 7 hsi

Sumber Keragaman	db	JK	KT	F hit	F tab 5%
Perlakuan	7	1901,24	271,61	10,27	2,77
Galat	21	555,33	26,44		
Total	28	2456,57			

Lampiran 3a

Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 2 hsi

Perlakuan Khamir	Rerata persentase penghambatan (%)
Kontrol <i>F. oxysporum</i>	0,00 a
<i>Candida</i> sp.	17,69 b
<i>Pichia</i> sp.	21,72 bc
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	27,46 bc
<i>Cryptococcus</i> sp.	31,81 bcd
<i>Hansenula</i> sp.	35,18 cd
<i>Metschnikowia</i> sp.	41,39 d

Lampiran 3b

Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 3 hsi

Perlakuan Khamir	Rerata persentase penghambatan (%)
Kontrol <i>F. oxysporum</i>	0,00 a
<i>Candida</i> sp.	19,09 b
<i>Pichia</i> sp.	27,45 bc
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	28,85 bc
<i>Cryptococcus</i> sp.	31,59 cd
<i>Hansenula</i> sp.	35,81 cd
<i>Metschnikowia</i> sp.	41,28 d

Lampiran 3c

Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 4 hsi

Perlakuan Khamir	Rerata persentase penghambatan (%)
Kontrol <i>F. oxysporum</i>	0,00 a
<i>Candida</i> sp.	15,84 b
<i>Pichia</i> sp.	25,32 bc
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	26,53 bc
<i>Cryptococcus</i> sp.	33,25 c
<i>Hansenula</i> sp.	33,49 c
<i>Metschnikowia</i> sp.	34,61 c

Lampiran 3d

Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 5 hsi

Perlakuan Khamir	Rerata persentase penghambatan (%)
Kontrol <i>F. oxysporum</i>	0,00 a
<i>Candida</i> sp.	18,75 b
<i>Pichia</i> sp.	21,24 b
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	22,59 b
<i>Cryptococcus</i> sp.	22,71 b
<i>Hansenula</i> sp.	28,22 bc
<i>Metschnikowia</i> sp.	35,08 c

Lampiran 3e

Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 6 hsi

Perlakuan Khamir	Rerata persentase penghambatan (%)
Kontrol <i>F. oxysporum</i>	0,00 a
<i>Candida</i> sp.	15,40 b
<i>Pichia</i> sp.	17,30 b
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	23,10 bc
<i>Cryptococcus</i> sp.	25,09 bc
<i>Hansenula</i> sp.	31,44 c
<i>Metschnikowia</i> sp.	34,37 c

Lampiran 3f

Tabel Uji Lanjut Persentase Penghambatan Khamir terhadap Pertumbuhan Patogen *F. oxysporum* pada 7 hsi

Perlakuan Khamir	Rerata persentase penghambatan (%)
Kontrol <i>F. oxysporum</i>	0,00 a
<i>Candida</i> sp.	11,68 ab
<i>Pichia</i> sp.	14,73 b
<i>Zygosaccharomyces</i> sp.	19,77 b
<i>Cryptococcus</i> sp.	21,69 b
<i>Hansenula</i> sp.	22,67 b
<i>Metschnikowia</i> sp.	39,64 c