

Potensi Khamir sebagai Agens Pengendalian Hayati *Colletotrichum capsici*, Cendawan Penyebab Antraknosa pada Buah Cabai

Potency of Yeast as Biological Control Agent of Colletotrichum capsici; Fungal Causing Antrachnose in Chilli.

Okky Setyawati Dharmaputra^{1*}, Lisdar I. Sudirman¹, Maria Magdalena Misnawati¹

Diterima 21 Desember 2015/Disetujui 06 Juli 2016

ABSTRACT

Antrachnose on chilli fruit caused by *Colletotrichum capsici* can reduce yield and quality of chilli fruit. Biological control agent can be used as an alternative to control *C. capsici*. Yeast is one of biological control agent which is potential to control the pathogen. This study was aimed at testing antagonistic potential of yeast on fruits and vegetables against *C. capsici*. Twenty two yeast isolates were isolated from banana, rambutan, red chilli, tomato, and eggplant fruits. Screening for antagonistic yeast using well test showed that 5 isolates of yeast (CMM-1, CMM-3, CMM-4, TMM-1, and EMM-11) completely inhibited the growth of *C. capsici*. Based on the result of biocontrol assay of the pathogen in vivo, four yeast isolates (CMM-3, CMM-4, TMM-1, and EMM-11) completely inhibited *C. capsici* in vivo. Identification using morphological and molecular characteristics showed that these four yeast isolates were *Issatchenkia orientalis*.

Keywords: antagonistic yeast, antrachnose, biocontrol, Issatchenkia orientalis

ABSTRAK

Antraknosa pada buah cabai yang disebabkan oleh *Colletotrichum capsici* dapat menyebabkan penurunan produksi dan kualitas buah cabai. Penggunaan agens pengendalian hayati dapat menjadi salah satu alternatif untuk mengendalikan *C. capsici*. Khamir merupakan salah satu agens pengendalian hayati yang berpotensi mengendalikan *C. capsici*. Penelitian ini bertujuan menguji potensi antagonistik khamir pada buah-buahan dan sayuran terhadap *C. capsici*. Sebanyak 22 isolat khamir diisolasi dari buah rambutan, pisang, cabai merah besar, tomat, dan terung ungu. Seleksi khamir antagonis menggunakan uji sumur diperoleh sebanyak 5 isolat khamir, yaitu isolat CMM-1, CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 menghambat total pertumbuhan *C. capsici*. Isolat CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 menghambat total pertumbuhan *C. capsici* in vivo. Berdasarkan hasil identifikasi secara morfologi dan molekuler, isolat CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 adalah *Issatchenkia orientalis*.

Kata kunci: antraknosa, *Issatchenkia orientalis*, khamir antagonis, pengendalian hayati

PENDAHULUAN

Menurut Kementan (2015) di Indonesia pada tahun 2013 produksi cabai merah besar adalah 1 012 879 ton. Adanya organisme pengganggu tanaman dapat menyebabkan penurunan produksi dan mutu buah cabai

merah. Salah satu organisme pengganggu tanaman yang dapat menyerang tanaman cabai merah adalah *Colletotrichum capsici*. Serangan *C. capsici* dapat terjadi pada saat tanaman cabai masih di lapangan (prapanen) dan pascapanen. *Colletotrichum capsici* menyebabkan penyakit antraknosa pada buah

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University) Jl. Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, 16680, Indonesia. Telp/Faks: (0251) 8622833. email: okky@biotrop.org (*penulis korespondensi)

cabai merah. Selama ini, usaha pengendalian pascapanen serangan *C. capsici* pada buah cabai yang dilakukan oleh petani adalah menggunakan fungisida sintetik yang dianggap lebih cepat dan efektif. Penggunaan fungisida sintetik secara terus-menerus dapat menimbulkan berbagai masalah karena fungisida sintetik sulit terdegradasi secara alami. Masalah yang timbul akibat penggunaan fungisida sintetik yaitu timbulnya resistensi patogen dan adanya residu pada bahan pangan yang bersifat karsinogenik (Pal *et al.*, 2006). Hal ini menyebabkan diperlukannya suatu agens pengendalian hayati *C. capsici* yang aman, baik untuk manusia maupun lingkungan.

Beberapa agens pengendalian hayati antraknosa pada buah cabai yang telah dilaporkan adalah khamir *Pichia guilliermondii*, *Candida musae*, *C. quercitrusa*, dan *Issatchenkia orientalis*. Efikasi pengendalian hayati *C. capsici* tertinggi yaitu disebabkan oleh *P. guilliermondii* (93.3%), diikuti oleh *C. musae* (83.1%), *I. orientalis* (76.6%) dan *C. quercitrusa* (66.4%). (Chanchaichaovivat *et al.*, 2007). Wilia *et al.* (2012) melaporkan bahwa *Cryptococcus terreus*, *C. albidus* var *aerius* IPB 1, *C. albidus* var *aerius* IPB 2, *Candida edax* dan isolat CBN masing-masing dapat mengendalikan *C. capsici* sebesar 62.5, 57.5, 52.5, 62.5 dan 87.5%. Penelitian pada tanaman cabai menunjukkan bahwa aplikasi dengan mulsa organik dapat meningkatkan pertumbuhan dan hasil buah cabai yang baik (Harsono, 2012).

Penggunaan khamir sebagai agens pengendalian hayati memiliki beberapa kelebihan, yaitu khamir mudah diperbanyak dalam waktu singkat, tidak menghasilkan toksin, mampu mengkolonisasi dan bertahan pada permukaan buah dalam waktu yang cukup lama pada berbagai kondisi (Hashem dan Alamri, 2009). Tujuan penelitian ini adalah menguji potensi isolat-isolat khamir yang diisolasi dari buah-buahan dan sayuran untuk mengendalikan *C. capsici* pada buah cabai.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel Buah-buahan dan Sayuran

Pada penelitian ini buah-buahan dan sayuran yang sehat dan digunakan untuk

isolasi khamir adalah pisang ambon (Ditbuah, 2012), rambutan varietas Binjai, tomat varietas Betavila dan Servo, cabai merah besar varietas Adipati dan Imperial-308, terung ungu varietas Mustang, Yumi dan Largo (Ditbenih, 2014), diperoleh dari beberapa pasar tradisional di Kota Bogor dan sekitarnya. Buah cabai merah besar yang digunakan pada uji pengendalian *C. capsici in vivo* adalah buah cabai merah besar varietas Gada (Ditbenih, 2014) yang diperoleh dari Toko Buah Total, Bogor.

Asal Isolat *C. capsici*

Pada penelitian ini isolat *C. capsici* yang digunakan adalah isolat BIO 51047, diperoleh dari koleksi biakan SEAMEO BIOTROP, Bogor.

Isolasi Khamir dari Buah-buahan dan Sayuran

Isolasi khamir pada pisang, rambutan, tomat, cabai merah besar, dan terung ungu dilakukan berdasarkan metode pengenceran berseri 1:10 sampai 1:1000 yang dilanjutkan dengan metode cawan sebar. Sebanyak 0.1 mL dari setiap pengenceran diambil menggunakan pipet, kemudian disebar pada media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA) yang mengandung kloramfenikol (100 mg L^{-1}) menggunakan batang gelas berbentuk segitiga (Chanchaichaovivat *et al.*, 2007). Selanjutnya, semua cawan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang ($28 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Setiap koloni khamir yang berbeda ciri-cirinya berdasarkan pengamatan secara visual dan dari pengenceran yang memberikan koloni terpisah dimurnikan pada media YMEA tanpa kloramfenikol, kemudian dibiakkan pada media *Nutrient Yeast Dextrose Agar* (NYDA). Setiap koloni khamir tersebut selanjutnya disebut isolat.

Seleksi Khamir Antagonis terhadap *C. capsici*

Seleksi khamir antagonis terhadap *C. capsici* dilakukan menggunakan uji sumur (*well test*) berdasarkan metode Dan *et al.* (2003). Sebanyak 5 potong biakan murni setiap isolat khamir (diameter 5 mm) dibiakkan pada 25 mL media *Nutrient Yeast Dextrose Broth* (NYDB) di dalam labu erlenmeyer volume 100 mL, kemudian diinkubasi pada suhu $28 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 7 hari dan digoyangkan selama 1 jam setiap 24 jam

menggunakan *shaker* merek Kottermann 4020. Sel-sel khamir diendapkan melalui sentrifugasi menggunakan sentrifuse mikro 200 R (jenis rotor sentrifuse adalah *fixed-angle rotor*) dengan kecepatan 7 000 rpm selama 15 menit dan dibilas dua kali menggunakan akuades steril, selanjutnya disuspensikan kembali di dalam akuades steril hingga konsentrasinya mencapai 5×10^8 sel mL^{-1} . Sel khamir dihitung menggunakan hemasitometer.

Bagian tengah media PDA yang mengandung 15% jus buah cabai merah var. IPB Perbani di dalam cawan petri (diameter 9 cm) dibuat sumur menggunakan *cork-borer* (diameter 6 mm), kemudian suspensi sel khamir (20 μL dari 5×10^8 sel mL^{-1}) ditempatkan di dalam sumur menggunakan pipet mikro. Cawan petri dibiarkan selama 2 jam supaya suspensi sel khamir berdifusi ke dalam sumur. Selanjutnya, 20 μL dari 5×10^6 konidium mL^{-1} *C. capsici* ditempatkan di dalam sumur. Sebagai kontrol, pada sumur tidak diberi suspensi sel khamir. Setiap perlakuan (setiap isolat khamir) dan kontrol dibuat 3 ulangan (= 3 cawan petri). Semua cawan diinkubasi pada suhu ruang (28 ± 2 °C) dalam kondisi gelap. Pertumbuhan *C. capsici* pada setiap cawan diamati berdasarkan keberadaan koloninya setelah 7 hari inkubasi. Isolat khamir yang menghambat total pertumbuhan *C. capsici* setelah 7 hari inkubasi digunakan pada uji pengendalian hayati *C. capsici in vivo*.

Pengendalian Hayati *C. capsici* Menggunakan Khamir *In Vivo*.

Pengendalian hayati penyakit tanaman yaitu penggunaan mikroba (mikroorganisme) antagonis untuk menekan penyakit (Pal *et al.*, 2006). Pengendalian hayati *C. capsici* menggunakan khamir *in vivo* dilakukan berdasarkan metode Dan *et al.* (2003). Buah cabai merah besar varietas Gada yang sehat, tidak ada luka dan goresan pada permukaan buah, serta tidak diberi perlakuan pestisida dibilas dengan air leding. Setelah dikering-udarkan, permukaan buah cabai merah didesinfeksi dengan cara diseka menggunakan kapas steril yang telah dibasahi etanol 70%. Sebanyak 20 μL suspensi sel setiap isolat khamir dengan konsentrasi 5×10^8 sel mL^{-1} dan ditambahkan 0.1% Tween 20 diinokulasikan pada bagian tengah buah cabai menggunakan

suntikan plastik merek Concepon. Setelah 2 jam inokulasi khamir, sebanyak 20 μL konidium *C. capsici* (5×10^6 konidium mL^{-1}) dan ditambahkan 0.1% Tween 20 diinokulasikan pada titik inokulasi yang sama dengan inokulasi khamir pada buah cabai merah. Sebagai kontrol negatif, buah cabai merah hanya diinokulasi dengan 20 μL konidium *C. capsici* (5×10^6 konidium mL^{-1}), sedangkan sebagai kontrol positif digunakan 20 μL larutan fungisida benomil 0.5% dan 20 μL suspensi konidium *C. capsici* (5×10^6 konidium mL^{-1}). Setiap perlakuan dan kontrol dibuat 12 ulangan (= 12 buah cabai). Buah cabai merah ditempatkan di dalam wadah plastik dengan diameter atas 18 cm, diameter bawah 14 cm, tinggi 15 cm, dan volume 3 L (4 buah cabai per wadah plastik) yang telah didesinfeksi menggunakan etanol 70%. Kondisi di dalam wadah dibuat lembab (kelembaban relatif 90%). Semua wadah ditutup dengan kain batis steril, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang (28 ± 2 °C) selama 7 hari. Pengamatan gejala antraknosa dilakukan terhadap luas permukaan buah cabai merah yang terserang *C. capsici* dengan metode gravimetri (Rindita *et al.*, 2015) Persentase hambatan antraknosa dihitung berdasarkan rumus berikut:

$$H = \frac{LK - LP}{LK} \times 100\%$$

H : hambatan antraknosa (%)

LK : luas gejala antraknosa pada kontrol negatif (mm^2)

LP : luas gejala antraknosa pada perlakuan (mm^2)

Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan pada seleksi khamir antagonis dan uji pengendalian hayati *C. capsici* menggunakan khamir *in vivo* adalah rancangan acak lengkap masing-masing dengan 3 dan 12 ulangan (Mattjik dan Sumertajaya, 2002). Tiga ulangan (= 3 cawan petri) yaitu pada tahap penelitian seleksi khamir antagonis terhadap *C. capsici*, sedangkan 12 ulangan (= 12 buah cabai) yaitu pada tahap penelitian pengendalian hayati *C. capsici* menggunakan khamir *in vivo*. Analisis statistika dilakukan menggunakan program SPSS versi 22.0. Jika analisis ragam (ANOVA) memberikan perbedaan yang nyata, maka dilakukan uji lanjut (DMRT) banding Duncan.

Identifikasi Khamir Antagonis Secara Morfologi dan Molekuler

Isolat khamir yang menghambat total perumbuhan *C. capsici in vivo* diidentifikasi secara morfologi berdasarkan pustaka Kurtzman *et al.* (2011). Setiap isolat khamir ditumbuhkan pada media *Malt Extract Agar* (MEA) selama 7 hari pada suhu 28 ± 2 °C. Warna, bentuk, tepi, dan elevasi koloni setiap isolat khamir diamati, kemudian dibuat preparat menggunakan pewarna laktofenol biru katun. Ciri-ciri setiap sel khamir diamati menggunakan mikroskop Olympus.

Identifikasi khamir secara molekuler dilakukan di Laboratorium Biorin PPSHB IPB berdasarkan pustaka Mitchell *et al.* (1992). Primer yang digunakan adalah primer umum 18 S rDNA dengan *forward primer* ITS1 dan *reverse primer* ITS4. Fragmen DNA hasil amplifikasi dikirim ke PT Genetica Science untuk sikuensing. Analisis homologi gen khamir dilakukan menggunakan *basic local*

alignment search tool (BLAST) pada situs *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) (www.blast.ncbi.nlm.nih.gov).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Khamir pada Buah-buahan dan Sayuran

Sebanyak 22 isolat khamir berhasil diisolasi dari permukaan buah-buahan dan sayuran yang sehat, yaitu isolat CMM-1, CMM-3, CMM-4, PMM-1, PMM-3, TMM-1, TMM-6, RMM-1, EMM-1, EMM-2, EMM-4, EMM-5, EMM-9, EMM-10, EMM-11, EMM-13, EMM-14, EMM-15, EMM-16, EMM-17, EMM-18, dan EMM-19. Kode isolat khamir pada permukaan buah-buahan dan sayuran yang diperoleh dari beberapa pasar tradisional di Kota Bogor dan sekitarnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kode isolat khamir pada permukaan buah-buahan dan sayuran yang diperoleh dari beberapa pasar tradisional di Kota Bogor dan sekitarnya

Sampel Buah-buahan dan Sayuran	Lokasi Pengambilan Sampel	Kode Isolat*
Cabai merah var. Adipati	Pasar Gunung Batu	CMM-1
		CMM-3
Cabai merah var. Imperial	Pasar Bogor	CMM-4
		PMM-1
Pisang ambon	Pasar Bogor	PMM-3
		TMM-1
Tomat var. Betavila	Pasar Gunung Batu	TMM-6
Tomat var. Servo	Pasar Anyar	RMM-1
Rambutan var. Binjai	Pasar Dramaga	EMM-2
Terung var. Mustang	Pasar Gunung Batu	EMM-4
		EMM-5
		EMM-10
		EMM-1
Terung var. Yumi	Pasar Bogor	EMM-9
		EMM-11
Terung var. Yumi	Pasar Anyar	EMM-14
		EMM-15
		EMM-13
Terung var. Largo	Pasar Gembrong	EMM-16
		EMM-17
		EMM-18
		EMM-19

Keterangan: *Kode isolat berdasarkan (a) huruf pertama nama buah-buahan dan sayuran, misal C = Cabai, P = Pisang, R = Rambutan, E = Egg plant; (b) MM = singkatan nama mahasiswa yang terlibat pada penelitian. Angka 1 pada CMM-1 yaitu isolat khamir pertama kali yang diisolasi dari cabai merah var. Adipati.

Khamir Antagonis terhadap *C. capsici*

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan 22 isolat khamir dan kontrol menghasilkan luas koloni *C. capsici* yang berbeda sangat nyata pada taraf kepercayaan 99% (Tabel 2). Berdasarkan hasil seleksi khamir menggunakan uji sumur, diperoleh 5 dari 22 isolat khamir yang menghambat total pertumbuhan *C. capsici* karena berdasarkan pengamatan secara visual tidak ada pertumbuhan miselium *C. capsici* pada media PDA yang mengandung 15% jus cabai merah (Gambar 1).

Kelima isolat tersebut adalah isolat CMM-1 dan CMM-3 yang diisolasi dari buah cabai merah besar var. Adipati, isolat CMM-4

yang diisolasi dari cabai merah besar var. Imperial, isolat TMM-1 yang diisolasi dari tomat var. Betavila, dan isolat EMM-11 yang diisolasi dari terung ungu var. Yumi.

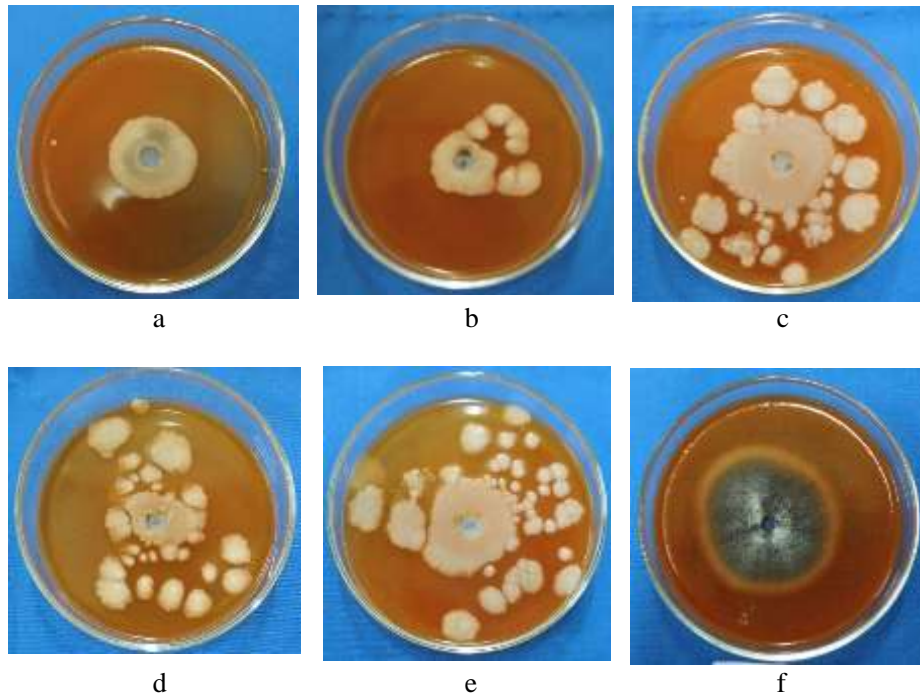
Pengendalian Hayati *C. capsici* Menggunakan Khamir *In Vivo*

Strategi umum pengendalian hayati adalah menggunakan organisme hidup sebagai agens pengendalian hayati penyakit prapanen dan pascapanen pada buah-buahan dan sayuran (Janisiewicz dan Korsten, 2002). Menurut Sharma *et al.* (2009) pengendalian penyakit pascapanen lebih efektif dan efisien daripada pengendalian prapanen.

Tabel 2. Analisis ragam hasil seleksi khamir antagonis menggunakan uji sumur

Sumber Keragaman	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	F-Hitung
A	2.708E7	22	1230725.125	72.284**
Galat	783203.571	46	17026.165	
Total	2.786E7	68		

Keterangan: A: perlakuan isolat khamir; **: berbeda sangat nyata pada taraf kepercayaan 99%.



Gambar 1. Hasil seleksi khamir antagonis yang mencegah total pertumbuhan *C. capsici* menggunakan uji sumur pada media PDA yang mengandung 15% jus cabai merah setelah 7 hari inkubasi pada suhu 28 ± 2 °C. Isolat khamir CMM-1 (a); CMM-3 (b); CMM-4 (c); TMM-1 (d); EMM-11 (e); kontrol (pada sumur hanya ditempatkan suspensi konidium *C. capsici*) (f).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa luas gejala antraknosa pada buah cabai merah varietas Gada yang disebabkan oleh perlakuan *C. capsici* dan isolat khamir CMM-1 dan kontrol negatif berbeda sangat nyata pada taraf kepercayaan 99%. Isolat CMM-1 tidak dapat menghambat total pertumbuhan *C. capsici* pada buah cabai merah varietas Gada, namun isolat ini dapat menghambat perkembangan antraknosa sebesar 84.10% (Tabel 3). Isolat CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 dapat menghambat total pertumbuhan *C. capsici* pada buah cabai merah var. Gada, karena berdasarkan pengamatan secara visual tidak ada gejala antraknosa pada permukaan buah cabai setelah 7 hari inkubasi. Keempat isolat ini menyebabkan persentase hambatan gejala antraknosa yang sama dengan fungisida benomil 0.5% sehingga berpotensi sebagai agens pengendalian hayati.

Mekanisme Antagonisme Khamir terhadap *C. capsici*

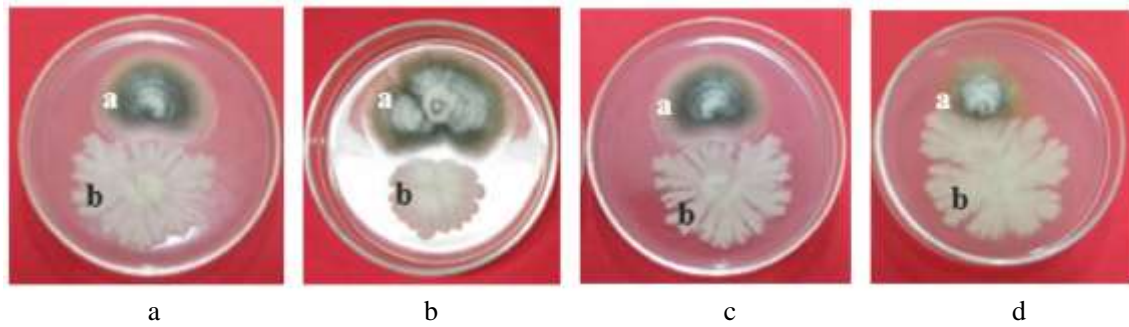
Interaksi antara isolat khamir CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 dengan *C. capsici* menghasilkan tipe interaksi inhibisi patogen yang memenuhi kriteria interaksi tipe E dan F (Wheeler dan Hocking, 1993, dimodifikasi dari Magan dan Lacey, 1984). Interaksi yang dihasilkan memenuhi kriteria tipe E karena *C. capsici* tidak mengalami pertumbuhan lagi, dan memenuhi kriteria tipe

F karena setiap isolat khamir mengalami pertumbuhan melewati *C. capsici* dengan cara mengelilingi koloni *C. capsici*. Berdasarkan pengamatan secara visual, koloni keempat isolat khamir dan *C. capsici* saling kontak tanpa membentuk zona hambatan (Gambar 2). Persaingan ruang dan nutrisi diduga merupakan mekanisme antagonisme antara keempat isolat khamir dengan *C. capsici*. Hal ini dapat dilihat pada uji sumur dan uji pengendalian hayati *C. capsici* *in vivo*. Isolat khamir dapat mengkolonisasi dengan cepat, menggunakan ruang dan nutrisi yang tersedia pada media PDA yang mengandung 15% jus buah cabai merah dan pada luka yang terdapat di buah cabai merah besar var. Gada sehingga dapat menghambat pertumbuhan *C. capsici*. Hal ini sesuai dengan Bleve *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa khamir mampu mengkolonisasi dengan cepat pada luka yang terdapat pada permukaan buah-buahan dan sayuran dan menggunakan nutrisi yang tersedia sehingga dapat mencegah pertumbuhan cendawan patogen. Chalutz *et al.* (1988) juga melaporkan bahwa kompetisi ruang dan nutrisi merupakan mekanisme dasar dalam penghambatan patogen oleh khamir. Mekanisme hambatan lainnya adalah produksi kitinase, pelekatan pada dinding sel cendawan, aktivitas peroksidase, induksi ketahanan (El Gouth *et al.*, 2003), dan menghasilkan sekresi yang menghambat pertumbuhan patogen (Guetsky *et al.*, 2002).

Tabel 3. Hasil uji pengendalian hayati *C. capsici* menggunakan khamir *in vivo* pada buah cabai merah besar var. Gada setelah 7 hari inkubasi pada suhu 28 ± 2 °C dengan kelembaban relatif 90%.

Isolat Khamir + <i>C. capsici</i> , dan Kontrol	Luas Gejala Antraknosa (mm ²)	Hambatan (%)
CMM-1 + <i>C. capsici</i>	15.25 ± 3.07 b	84.10 ± 3.67 b
CMM-3 + <i>C. capsici</i>	0.00c	100.00c
CMM-4 + <i>C. capsici</i>	0.00c	100.00c
TMM-1 + <i>C. capsici</i>	0.00c	100.00c
EMM-11 + <i>C. capsici</i>	0.00c	100.00c
Kontrol negatif (<i>C. capsici</i>)	96.61 ± 6.54 a	0.00a*
Kontrol positif (benomil 0.5% + <i>C. capsici</i>)	0.00c	100.00c

Keterangan: Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji banding Duncan pada taraf kepercayaan 99%; *Asumsi persentase hambatan luas gejala antraknosa pada kontrol negatif (96.6102 mm²) adalah 0%.



Gambar 2. Hasil uji mekanisme antagonisme antara khamir dengan *C. capsici* dengan tipe interaksi E dan F pada media PDA setelah 7 hari inkubasi pada suhu 28 ± 2 °C. CMM-3 vs *C. capsici* (a); CMM-4 vs *C. capsici* (b); TMM-1 vs *C. capsici* (c); EMM-11 vs *C. capsici*. a= *C. capsici*, b= isolat khamir.

Identifikasi Khamir Antagonis

Identifikasi secara morfologi terhadap 4 isolat khamir yang dapat mencegah total pertumbuhan *C. capsici* *in vivo* menunjukkan bahwa keempat isolat tersebut tergolong genus *Issatchenkia*. Koloni isolat CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 pada media MEA setelah 7 hari inkubasi berwarna krem terang, berbentuk tak beraturan dan menyebar, memiliki tepi bergelombang, dan elevasi datar. Bentuk sel isolat CMM-3 dan TMM-1 adalah oval dan ukuran selnya $8.3-10.9 \times 3.26-4.99$ μm , sedangkan isolat CMM-4 dan EMM-11 memiliki bentuk oval dan agak memanjang,

ukuran selnya $9.33-11.93 \times 4.39-5.97$ μm . Hasil identifikasi secara molekuler menunjukkan bahwa isolat CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 adalah *Issatchenkia orientalis* karena berdasarkan analisis BLAST keempat isolat khamir memiliki tingkat kesamaan sikuen nukleotida dengan *Issatchenkia orientalis* (*Pichia kudriazevii*) sebesar 99%. Panjang sikuen CMM-3, CMM-4, TMM-1 dan EMM-11 masing-masing adalah 513, 515, 448 dan 513 bp (*base pair*). Hasil BLAST isolat CMM-3, CMM-4, TMM-1 dan EMM-11 adalah sebagai berikut:

Hasil BLAST isolat CMM-3:

```

Query 1 CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGC 60
      |||
Sbjct 1 CTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGC 60

Query 61 GGAACGAAAACAACAACACCTAAAATGTGGAATATAGCATATAGTCGACAAGAGAAATCT 120
      |||
Sbjct 61 GGAACGAAAACAACAACACCTAAAATGTGGAATATAGCATATAGTCGACAAGAGAAATCT 120

Query 121 ACGAAAAACAACAACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTCGCATCGATGAAGAGCG 180
      |||
Sbjct 121 ACGAAAAACAACAACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTCGCATCGATGAAGAGCG 180

Query 181 CAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACG 240
      |||
Sbjct 181 CAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACG 240

Query 241 CACATTGCGCCCCTCGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGC 300
      |||
Sbjct 241 CACATTGCGCCCCTCGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGC 300

Query 301 GCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGACGCTGTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACT 360
      |||
Sbjct 301 GCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGACGCTGTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACT 360
    
```

(Lanjutan hasil BLAST isolat CMM-3)

```

Query 361 CGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGAACTAGACTtttttttCAGGGACGCTTGGCG 420
          |||
Sbjct 361 CGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGAACTAGACTTTTTTTTCAGGGACGCTTGGCG 420

Query 421 GCCGAGAGCGAGTGTTCGCGAGACAACAAAAGCTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCC 480
          |||
Sbjct 421 GCCGAGAGCGAGTGTTCGCGAGACAACAAAAGCTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCC 480

Query 481 GCTGAACTTAAGCATATCAATAAGNCGGAGGAA 513
          |||
Sbjct 481 GCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGAGGAA 513
    
```

Hasil BLAST isolat CMM-4:

```

Query 3 CTTCCTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGC 62
          |||
Sbjct 1 CTTCCTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGC 60

Query 63 GGAACGAAAACAACAACACCTAAAATGTGGAATATAGCATATAGTCGACAAGAGAAATCT 122
          |||
Sbjct 61 GGAACGAAAACAACAACACCTAAAATGTGGAATATAGCATATAGTCGACAAGAGAAATCT 120

Query 123 ACGAAAAACAACAACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCG 182
          |||
Sbjct 121 ACGAAAAACAACAACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCG 180

Query 183 CAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACG 242
          |||
Sbjct 181 CAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACG 240

Query 243 CACATTGCGCCCCCTCGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTTGGAGCGTCGTTTCCATCTTGC 302
          |||
Sbjct 241 CACATTGCGCCCCCTCGGCATTCCGGGGGGCATGCCTGTTTGGAGCGTCGTTTCCATCTTGC 300

Query 303 GCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGACGTGTAAGAGCGTCGGAGCTGCGACT 362
          |||
Sbjct 301 GCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGACGTGTAAGAGCGTCGGAGCTGCGACT 360

Query 363 CGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGAACTAGACTtttttttCAGGGACGCTTGGCG 422
          |||
Sbjct 361 CGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGAACTAGACTTTTTTTTCAGGGACGCTTGGCG 420

Query 423 GCCGAGAGCGAGTGTTCGCGAGACAACAAAAGCTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCC 482
          |||
Sbjct 421 GCCGAGAGCGAGTGTTCGCGAGACAACAAAAGCTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCC 480

Query 483 GCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCCGGAGGAA 515
          |||
Sbjct 481 GCTGAACTTAAGCATATCAATAAGGCGGAGGAA 513
    
```

Hasil BLAST isolat TMM-1:

```

Query 3 CTTCCTAGGGGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTATATCTTATAACACATGCGT 62
          |||
Sbjct 1 CTTCCTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTATATCTTATAACACATGCGT 60

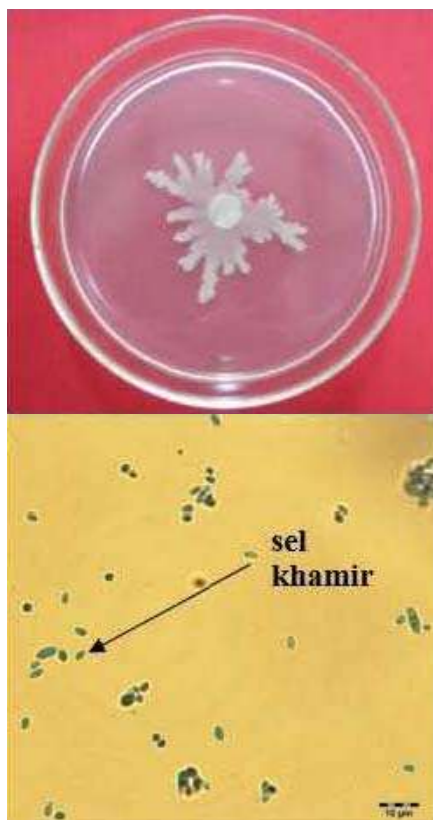
Query 63 GAGCGCACCAAACACCTAAAATTGTAATACCACGAGTCACTAAGTTTAAACAAAACAAA 122
          |||
Sbjct 61 GAGCGCACCAAACACCTAAAATTGTAATACTACCAGTCACTAAGTTTAAACAAAACAAA 120
    
```


(Lanjutan hasil BLAST isolat TMM-1)

Query	123	CTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGATACC	182
Sbjct	121	CTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCGCAGCGAAATGCGATACC	180
Query	183	TAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACGCACATTGCGCCCCATGG	242
Sbjct	181	TAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACGCACATTGCGCCCCATGG	240
Query	243	TATTCCATGGGGCATGCCTGTCTGAGCGTCGTTTCCTTCTTGCGCAAGCAGAGTTGAGAA	302
Sbjct	241	TATTCCATGGGGCATGCCTGTCTGAGCGTCGTTTCCTTCTTGCGCAAGCAGAGTTGAGAA	300
Query	303	CAGGCTATGCCTTTTTTCGAAATGGAACGTCGTTGGACGAAGTGAACATAAATTTTAGCACG	362
Sbjct	301	CAGGCTATGCCTTTTTTCGAAATGGAACGTCGTTGGACGAAGTGAACATAAATTTTAGCACG	360
Query	363	CTTTGGCCGCCGAACCTTTTAACTAAGCTCGACCTCAGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAA	422
Sbjct	361	CTTTGGCCGCCGAACCTTTTAACTAAGCTCGACCTCAGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAA	420
Query	423	CTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA	448
Sbjct	421	CTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA	446

Hasil BLAST isolat EMM-11:

Query	2	TTCCGTAGGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGC	61
Sbjct	153	TTCCGTAGG-TGAACCTGCGGAAGGATCATTACTGTGATTTAGTACTACACTGCGTGAGC	211
Query	62	GGAACGAAAACAACAACACCTAAAATGTGGAATATAGCATATAGTCGACAAGAGAAATCT	121
Sbjct	212	GGAACGAAAACAACAACACCTAAAATGTGGAATATAGCATATAGTCGACAAGAGAAATCT	271
Query	122	ACGAAAAACAACAACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCG	181
Sbjct	272	ACGAAAAACAACAACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAGCG	331
Query	182	CAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACG	241
Sbjct	332	CAGCGAAATGCGATACCTAGTGTGAATTGCAGCCATCGTGAATCATCGAGTTCTTGAACG	391
Query	242	CACATTGCGCCCCTCGGCATTCGGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGC	301
Sbjct	392	CACATTGCGCCCCTCGGCATTCGGGGGGCATGCCTGTTTGAGCGTCGTTTCCATCTTGC	451
Query	302	GCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGACGTGTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACT	361
Sbjct	452	GCGTGCGCAGAGTTGGGGGAGCGGAGCGGACGACGTGTAAAGAGCGTCGGAGCTGCGACT	511
Query	362	CGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGAACTAGACTtttttttCAGGGACGCTTGGCG	421
Sbjct	512	CGCCTGAAAGGGAGCGAAGCTGGCCGAGCGAACTAGACTTTTTTTTTCAGGGACGCTTGGCG	571
Query	422	GCCGAGAGCGAGTGTGCGAGACAACAAAAGCTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCC	481
Sbjct	572	GCCGAGAGCGAGTGTGCGAGACAACAAAAGCTCGACCTCAAATCAGGTAGGAATACCC	631
Query	482	GCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA	513
Sbjct	632	GCTGAACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAA	663



Gambar 3. Biakan murni *Issatchenkia orientalis* isolat CMM-3 pada media *Malt Extract Agar* (MEA) setelah 7 hari inkubasi pada suhu 28 ± 2 °C (a); Foto mikroskopis *Issatchenkia orientalis* isolat CMM-3 (1 000x) (b).

Bleve *et al.* (2006) melaporkan bahwa *I. orientalis* galur 16C2 dan 2C2 yang diisolasi dari buah anggur dapat mereduksi kolonisasi cendawan *Aspergillus carbonarius* dan *A. niger* pada buah anggur. *Issatchenkia orientalis* galur ER1 yang diisolasi dari terung ungu dapat mereduksi timbulnya antraknosa pada buah cabai sebesar 76.6% (Chanchaichaovivat *et al.*, 2007).

KESIMPULAN

Lima dari 22 isolat khamir yang diisolasi dari buah-buahan dan sayuran, yaitu CMM-1, CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 dapat menghambat total pertumbuhan *C. capsici* setelah inkubasi 7 hari pada uji sumur. Isolat CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 dapat menekan total serangan antraknosa pada buah cabai merah

besar varietas Gada sehingga keempat isolat tersebut berpotensi sebagai agens pengendalian hayati antraknosa pada buah cabai merah. Berdasarkan hasil identifikasi secara morfologi dan molekuler, isolat CMM-3, CMM-4, TMM-1, dan EMM-11 adalah *Issatchenkia orientalis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ir. Ina Retnowati dan Nijma Nurfadila, SSi atas bantuan teknis; dan kepada Dr. Utut Widyastuti, MSi (Almh.) yang telah membantu mengidentifikasi khamir secara molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Bleve, G., F. Grieco, G. Cozzi, A. Logrieco, A. Visconti. 2006. Isolation of epiphytic yeast with potential for biocontrol of *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* on grape. *J. Food Microbiol.* 108: 204-209.
- Chalutz E., A.R. Ben, S. Droby, L. Cohen, B. Weiss, C.L. Wilson. 1988. Yeast as biocontrol agents of postharvest diseases of fruits. *Phytoparasitica.* 16: 69.
- Chanchaichaovivat, A., B. Panijpan, P. Ruenwongsa. 2007. Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*). *Biol. Control.* 42: 326-335.
- [Ditbenih] Direktorat Perbenihan Hortikultura. 2014. *Database Varietas*. <http://ditbenih.hortikultura.deptan.go.id> [12 Maret 2015].
- [Ditbuah] Direktorat Budidaya dan Pascapanen Buah. 2012. *Pedoman Penanganan Pascapanen Pisang*. <http://ditbuah.hortikulturapertanian.go.id> [11 Maret 2015].
- Dan, H., X.D. Zhenk, Y.M. Yin, P. Sun, H.Y. Zhang. 2003. Yeast application for controlling apple postharvest disease associated with *Penicillium expansum*. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 44: 211-216.

- El Gouth, A., C.L. Wilson, M. Wisniewski. 2003. Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoama* and induction of defense responses. J. Phytopathol. 93: 344-348.
- Guetsky, R., D. Shtienberg, Y. Elad, E. Fischer, A. Dinor. 2002. Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression. J. Phytopathol. 92: 976-985.
- Hashem, M., S. Alamri. 2009. The biocontrol of postharvest disease (*Botryodiplodia theobromae*) of guava (*Psidium guajava*) by the application of yeast strains. Postharvest Biol. Technol. 53: 123-130.
- Harsono, P. 2012. Mulsa organik: pengaruhnya terhadap lingkungan mikro, sifat kimia tanah dan keragaan cabai merah di tanah vertisol Sukoharjo pada musim kemarau. J. Hort. Indonesia. 3(1): 35-41.
- Janisiewicz, W.J., L. Korsten. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. Ann. Rev. Phytopathol. 40(1): 14-41.
- [Kementan] Kementrian Pertanian. 2015. Produksi Cabai Besar Menurut Provinsi, 2010-2014. <http://www.pertanian.go.id>. [19 Juni 2015].
- Khalimi, K. 2010. Pemanfaatan ragi (*Saccharomyces* sp.) dalam pengendalian penyakit tumbuhan yang ramah lingkungan. J. Bumi Lestari. 10(2): 215-221.
- Kurtzman, C.P., J.W. Fell, T. Boekhout. 2011. The Yeasts, A Taxonomic Study. Edisi ke-5. London (GB): Elsevier.
- Magan, N., J. Lacey. 1984. The effect of water activity, temperature and structure on interactions between field and storage fungi. Trans. Brit. Mycol. Soc. 92: 83-93.
- Mattjik, A.A., I.M. Sumertajaya. 2002. Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab. Ed ke-2. Bogor (ID): IPB Pr.
- Mitchell, T.G., T.J. White, J.W. Taylor. 1992. Comparison of 5.8S ribosomal DNA sequences among the *Basidiomycetous* yeast genera *Cystofilobasidium*, *Filobasidium*, and *Filobasidiella*. J. Med. Vet. Mycol. 30: 207-208.
- Pal, K.K., B.M. Gardener. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Rindita, L.I., Sudirman, Y. Koesmaryono. 2015. Air quality bioindikator using the population of epiphytic macrolichens in Bogor City, West Java. Hayati J. Biosci. 22 (2): 53-59.
- Sharma, R.R., D. Singh, R. Singh. 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. J. Biocontrol. 50: 205-221.
- Wheeler, K.A., A.D. Hocking. 1993. Interactions among xerophilic fungi associated with dried salted fish. J. Applied Bacteriol. 74: 164-169.
- Wilia, W., Widodo, S. Wiyono. 2012. Potensi khamir untuk mengendalikan penyakit antraknosa (*Colletotrichum acutatum* L.) pada tanaman cabai. Bioplantae. 1(4): 291-298.