

Potensi Senyawa Volatil dari Khamir untuk Mengendalikan *Cercospora coffeicola*

Potency of Yeast's Volatile Compounds to Control *Cercospora coffeicola*

Sri Hartati^{1*}, Rika Meliansyah¹, Tri Mayanti²

¹Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran
Jalan Raya Bandung-Sumedang KM 21, Jatinangor, Sumedang 45363

(diterima September 2023, disetujui Desember 2023)

ABSTRAK

Penyakit bercak daun cercospora yang disebabkan oleh *Cercospora coffeicola* merupakan salah satu penyakit utama pada tanaman kopi. Di antara metode alternatif untuk mengendalikan penyakit tanaman ialah dengan memanfaatkan senyawa volatil anticendawan yang dihasilkan oleh agens antagonis. Khamir merupakan salah satu agens yang berperan dan berpotensi menghasilkan senyawa volatil anticendawan. Penelitian ini bertujuan menentukan karakter morfologi khamir dan kemampuannya menghasilkan senyawa volatil yang bersifat anticendawan terhadap *C. coffeicola*. Isolasi khamir dilakukan dari tanaman kopi di beberapa lokasi di Kecamatan Cilengkrang, Kabupaten Bandung dan Kecamatan Jatinangor, Kabupaten Sumedang. Tahapan penelitian yang dilakukan terdiri atas isolasi khamir dari daun dan buah kopi, karakterisasi koloni dan sel khamir secara morfologi, dan uji kemampuan anticendawan senyawa volatil khamir secara *in vitro* dengan metode *double dish system*. Hasil penelitian didapatkan sebanyak 52 isolat khamir. Karakteristik koloni isolat khamir yang didapatkan didominasi oleh warna putih, krem, dan oranye, memiliki tepian yang rata, bergerigi hingga berfilamen serta memiliki bentuk koloni bulat hingga tidak beraturan. Karakteristik mikroskopis dari isolat khamir yang didapatkan menunjukkan bentuk yang bervariasi, yaitu bulat, bundar telur, jorong, bulat telur, serta memanjang dengan ukuran berkisar $2.59-18.13 \times 1.23-7.77 \mu\text{m}$. Seluruh isolat khamir yang didapatkan mampu menghambat pertumbuhan *C. coffeicola* melalui aktivitas senyawa volatil anticendawan dengan tingkat penghambatan berkisar antara 11.85% dan 79.26%.

Kata kunci: agens antagonis, anticendawan, bentuk koloni, *double dish system*, warna koloni

ABSTRACT

Cercospora leaf spot caused by *Cercospora coffeicola* is a major disease on coffee plants. Antifungal volatiles produced by some antagonistic agents can be useful in biological control approach of this pathogen. Some yeasts have been reported to produce antifungal volatiles and may have the potency as antagonistic agents against fungal pathogens. This research was aimed to determine the morphological characteristics of the yeast isolates and their ability to suppress *C. coffeicola* by producing antifungal volatiles. The yeasts were isolated from coffee leaves and berries grown in several location at Kecamatan Cilengkrang, Kabupaten Bandung and Kecamatan Jatinangor, Kabupaten Sumedang. The research was started by isolation of yeasts and followed by morphological characterization of yeasts' colony. The

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran. Jalan Raya Bandung-Sumedang KM 21, Jatinangor, Sumedang 45363.
Tel: 022-7796316, Faks: 022-7796316, Surel: s.hartati@unpad.ac.id.

potency of the volatiles produced by the antagonistic isolates were tested *in vitro* using double dish system. As many as 52 yeast isolates were obtained. The dominant colors of the yeasts colonies on PDA were white, cream, and orange, with smooth, serrated, and filamentous edges. The colony shapes were round to irregular. The microscopic observation showed that the cells were round, ovate, and elongated, with the size ranged around $2.59-18.13 \times 1.23-7.77 \mu\text{m}$. Those yeasts isolates were able to suppress the growth of *C. coffeicola* by the activity of antifungal volatile compound, with the inhibition level of 11.85% to 79.26%. The results showed that all the isolates were capable to inhibit the *in vitro* growth of *C. coffeicola*.

Keywords: antagonistic agents, antifungal, colony color, colony shape, double dish system

PENDAHULUAN

Penyakit bercak daun (*brown eye spot*) merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman kopi, bahkan keberadaan penyakit ini terdapat di seluruh perkebunan kopi di dunia (Vasco *et al.* 2015; Laborde *et al.* 2019; Junior *et al.* 2022; Resende *et al.* 2022). Penyakit bercak daun pada tanaman kopi dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 30% (Souza *et al.* 2019). Penyakit ini disebabkan oleh cendawan *Cercospora coffeicola* dengan gejala berupa bercak-bercak bulat, cokelat kemerahan hingga cokelat tua, berbatas jelas, dan konsentris (Harni *et al.* 2015). Cendawan *C. coffeicola* dapat menyerang tanaman kopi pada bagian daun dan buah, nama umum penyakit pada daun disebut bercak daun cercospora dan pada buah disebut *cercospora berry blotch*. Kerusakan parah pada daun akan menyebabkan terjadinya kerontokan daun, sedangkan pada buah akan menyebabkan busuk sampai ke biji kopi sehingga menurunkan kualitas dan mutu kopi (Vasco *et al.* 2015; de Paula *et al.* 2019; Andrade *et al.* 2021; Alamsyah *et al.* 2022; Moreira-Morrillo *et al.* 2023).

Kultivar tanaman kopi yang resisten terhadap patogen *C. coffeicola* sejauh ini belum ditemukan sehingga pengendalian penyakit yang disebabkan oleh patogen ini pada umumnya dilakukan dengan kultur teknis dan penyemprotan fungisida sintetik (Harni *et al.* 2015; Vasco *et al.* 2015; Tembo 2020). Pengendalian dengan menggunakan bahan kimia sintetik secara intensif akan menimbulkan dampak negatif seperti patogen menjadi resisten, kerusakan organisme nontarget, dan kerusakan terhadap lingkungan. Salah satu alternatif pengendalian untuk mengurangi

dampak negatif fungisida sintetik ialah dengan agens biokontrol (Rani *et al.* 2021; Ayilara *et al.* 2023). Khamir dilaporkan berperan sebagai agens biokontrol (Ferraz *et al.* 2019; Freimoser *et al.* 2019; Ferraz *et al.* 2021; Gil-Rodríguez dan Garcia-Gutierrez 2021; Bhandari *et al.* 2022; Boekhout *et al.* 2022). Salah satu mekanisme pengendalian penyakit tanaman oleh khamir ialah antibiosis dengan memproduksi dan melepaskan senyawa volatil anticendawan (Farbo *et al.* 2018; Contarino *et al.* 2019; Köhl *et al.* 2019; Alkuwari *et al.* 2022). Beberapa senyawa volatil anticendawan yang dihasilkan oleh khamir telah dilaporkan dapat mengendalikan penyakit baik prapanen maupun pascapanen (Di Francesco *et al.* 2015; Liu *et al.* 2018; Contarino *et al.* 2019; Hernández-Fernández *et al.* 2021; Hernandez-Montiel *et al.* 2021; Millan *et al.* 2022; Kuchen *et al.* 2023).

Khamir dapat tumbuh dalam kisaran lingkungan yang luas. Kelompok cendawan ini dapat ditemukan pada bagian tanaman seperti daun, buah, bunga, dan jaringan tanaman lainnya serta rizosfer (Kamel *et al.* 2016; Gross *et al.* 2018; Freimoser *et al.* 2019). Sumber daya genetik dan keanekaragaman hayati pada lahan pertanian merupakan salah satu sumber didapatkannya agens antagonis, termasuk khamir. Keberadaan khamir pada daun, bunga, dan buah merupakan sumber alami yang tepat untuk mendapatkan agens biokontrol. Isolasi khamir antagonis diperlukan untuk mendapatkan sebanyak-banyaknya kandidat agens antagonis. Penelitian ini bertujuan menentukan karakter morfologi dan kemampuan anticendawan dari senyawa volatil yang dihasilkan oleh khamir terhadap *C. coffeicola*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan dengan metode eksplorasi dari beberapa lokasi perkebunan kopi di Kecamatan Cilengkrang, Kabupaten Bandung dan Kecamatan Jatinangor, Kabupaten Sumedang. Pengambilan sampel daun dan buah kopi untuk isolasi khamir dilakukan dengan memilih tanaman kopi yang sehat, sedangkan untuk isolasi cendawan *C. coffeicola* dipilih tanaman kopi yang menunjukkan gejala penyakit bercak daun cercospora.

Isolasi dan Uji Patogenisitas Cendawan Patogen *Cercospora coffeicola*

Isolasi cendawan *C. coffeicola* dilakukan dari tanaman kopi yang menunjukkan gejala penyakit bercak daun cercospora. Isolasi dilakukan dari bagian daun dan buah kopi pada medium agar-agar dekstrosa kentang (ADK) selama 7 hari pada suhu ruang. Miselium yang tumbuh dipindahkan ke medium ADK baru dan diinkubasi selama 7 hari. Cendawan diidentifikasi secara morfologi dari karakteristik makroskopis dan mikroskopis untuk mendapatkan *C. coffeicola*. Hasil pengamatan dicocokkan dengan buku identifikasi cendawan “*Illustrated Genera of Imperfect Fungi*” (Barnett dan Hunter 1987).

Uji patogenisitas *C. coffeicola* dilakukan pada daun bibit kopi. Daun kopi terlebih dahulu didesinfeksi dengan NaOCl 1% setelah itu dibilas dengan akuades steril, selanjutnya daun kopi dikeringanginkan. Daun dilukai menggunakan jarum steril sebanyak tiga titik luka. Biakan cendawan *C. coffeicola* berusia 7 hari dipotong dengan diameter 5 mm diletakkan dan direkatkan dengan selotip pada daun yang telah dilukai. Daun yang telah diinokulasi patogen ditutup menggunakan plastik. Bibit kopi yang telah diinokulasi *C. coffeicola* ditempatkan pada wadah tertutup dan disungkup plastik, setelah itu diamati gejala yang muncul.

Isolasi Khamir

Pengambilan sampel daun dan buah kopi dilakukan dengan cara memilih tanaman kopi yang daun dan buahnya sehat. Isolasi khamir

dilakukan pada medium agar-agar ekstrak malt khamir (AMK) (3 g ekstrak malt, 3 g ekstrak khamir, 5 g pepton, 10 g glukosa, 1 L akuades) dan diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu 23–30 °C (Assis *et al.* 1999). Pemurnian koloni khamir menggunakan medium AMK (Diana dan Lasmini 2016). Isolasi khamir juga menggunakan medium kloramfenikol glukosa khamir (KGK) (0.1 g kloramfenikol, 20 g glukosa, 5 g ekstrak khamir, 1 L akuades) dan pemurniannya pada medium AMK (Diana dan Lasmini 2016).

Karakterisasi Morfologi Khamir

Morfologi khamir diamati secara makroskopis maupun mikroskopis dengan mengacu pada buku *The Yeast: a Taxonomic Study* (Kurtzman *et al.* 2011). Pengamatan makroskopis dilakukan terhadap morfologi koloni, sedangkan pengamatan mikroskopis dilakukan terhadap morfologi sel khamir. Pengamatan karakteristik morfologi koloni meliputi bentuk, warna, tepian, dan elevasi koloni khamir, sedangkan karakteristik morfologi sel khamir meliputi bentuk dan ukuran sel. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali.

Uji Patogenisitas Khamir

Uji patogenisitas khamir dilakukan untuk menentukan apakah koloni khamir yang diperoleh bersifat patogenik atau tidak. Uji patogenisitas dilakukan pada daun kopi. Daun kopi terlebih dahulu didesinfeksi dengan NaOCl 1% setelah itu dibilas dengan akuades steril, selanjutnya dikeringanginkan. Daun kopi sehat dilukai menggunakan jarum steril sebanyak tiga titik luka. Sebanyak 5 µL suspensi khamir (koloni khamir umur 5 hari dalam 10 mL akuades steril) dengan kerapatan 10^8 sel mL⁻¹ diteteskan pada ketiga titik luka pada daun kopi. Pengamatan dilakukan terhadap gejala yang muncul.

Uji Aktivitas Anticendawan Senyawa Volatil Khamir

Uji aktivitas anticendawan senyawa volatil yang dihasilkan oleh khamir dilakukan secara *in vitro* dengan metode *double dish*

system (Ruiz-Moyano *et al.* 2020). Pengujian dilakukan terhadap isolat khamir yang tidak bersifat patogenik pada tanaman. Pengujian tersebut dilakukan dengan menangkupkan cawan petri berisi koloni *C. coffeicola* di atas cawan petri yang berisi koloni khamir uji (Gambar 1). Cendawan *C. coffeicola* berumur 7 hari dengan diameter 0.5 cm ditumbuhkan pada medium ADK, sedangkan 1 lup koloni khamir berumur 5 hari digoreskan pada permukaan medium ADK yang lain. Sebagai kontrol ialah *C. coffeicola* tanpa diberi perlakuan volatil khamir. Uji ini diulang sebanyak 3 kali.

Pengamatan terhadap kemampuan khamir dalam menekan pertumbuhan *C. coffeicola* secara *in vitro* pada uji ini dilakukan dengan mengukur diameter koloni *C. coffeicola* pada perlakuan khamir maupun perlakuan kontrol. Persentase tingkat hambatan relatif oleh aktivitas anticendawan senyawa volatil yang dihasilkan oleh khamir terhadap pertumbuhan koloni *C. coffeicola* dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$THR = \frac{Dk - Dp}{Dk} , \text{ dengan}$$

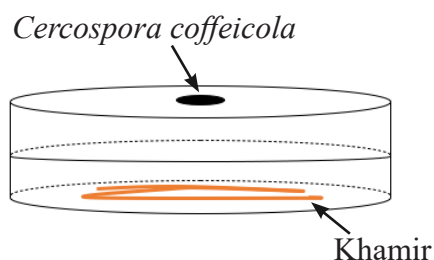
THR, tingkat hambatan relatif (%); Dk, diameter koloni *C. coffeicola* pada perlakuan kontrol (mm); dan Dp, diameter koloni *C. coffeicola* pada perlakuan khamir (mm). Pengamatan pengaruh senyawa volatil terhadap morfologi hifa *C. coffeicola* dilakukan pada akhir pengamatan uji *double dish system* menggunakan mikroskop cahaya.

HASIL

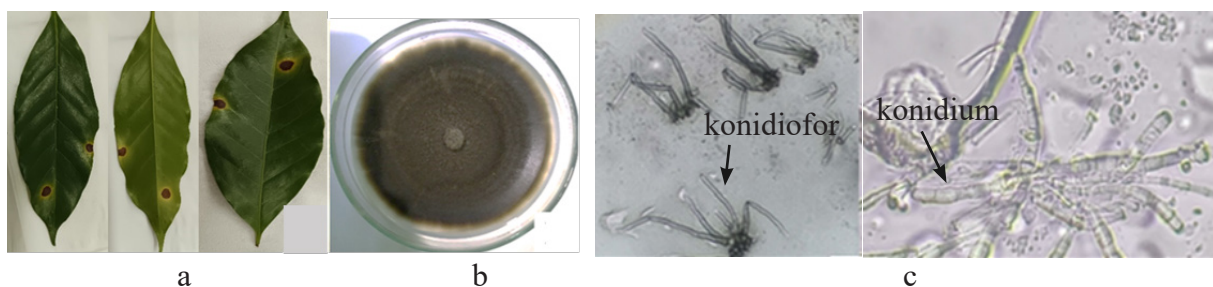
Isolasi dan Uji Patogenisitas Cendawan *Cercospora coffeicola*

Gejala bercak daun cercospora dari lapangan (Gambar 2a) yang diisolasi pada medium ADK memiliki karakteristik koloni berwarna hijau kehitaman pada bagian tengah dan berwarna cokelat muda pada bagian tepi (Gambar 2b). Hasil pengamatan secara mikroskopis dari bagian daun bergejala yang diambil dari lapangan menunjukkan bahwa cendawan *C. coffeicola* memiliki hifa bersekat dan memiliki konidiofor serta konidium. Konidiofor dan konidium *C. coffeicola* berwarna keemasan, konidiofor bercabang, dinding konidiofor agak kasar, tidak memiliki filialid dan metula, tipe pertumbuhan konidiumnya bergerombol, dan konidium mempunyai 3-5 sekat (Gambar 2c).

Hasil uji patogenisitas *C. coffeicola* pada daun kopi menunjukkan bahwa cendawan yang diperoleh bersifat patogenik. Hal tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya bercak



Gambar 1 Skema uji aktivitas senyawa volatil khamir terhadap *Cercospora coffeicola* dengan *double dish system*.



Gambar 2 Karakteristik gejala bercak daun kopi dari lapangan dan penyebabnya. a, Gejala bercak cercospora; b, Koloni *Cercospora coffeicola* dari daun kopi pada medium agar-agar dekstrosa kentang; dan c, Struktur konidiofor dan konidium *C. coffeicola* secara mikroskopi pada perbesaran 400×.

berwarna coklat keabuan dengan tepian berwarna kuning pada bagian daun kopi yang diinokulasi *C. coffeicola* (Gambar 3a). Akan tetapi, pada daun bergejala tersebut tidak ditemukan konidium *C. coffeicola*. Daun tanpa inokulasi *C. coffeicola* (kontrol) tidak menunjukkan gejala bercak (Gambar 3b).

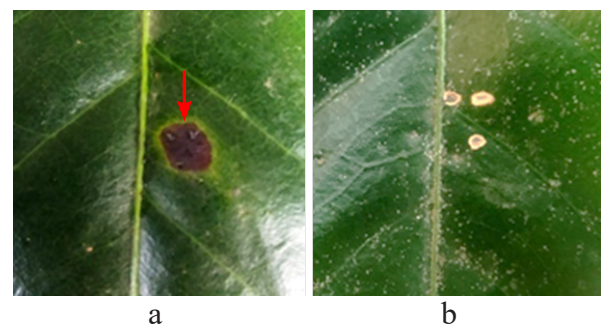
Khamir dari Daun dan Buah Kopi

Khamir yang berhasil diisolasi dari daun dan buah kopi sehat ialah sebanyak 52 isolat. Sebanyak 37 isolat khamir yang diperoleh dari sampel daun, 27 merupakan khamir epifit daun dan 10 khamir endofit daun. Sebanyak 15 isolat khamir yang diperoleh dari sampel buah merupakan 9 khamir epifit buah dan 6 khamir endofit buah.

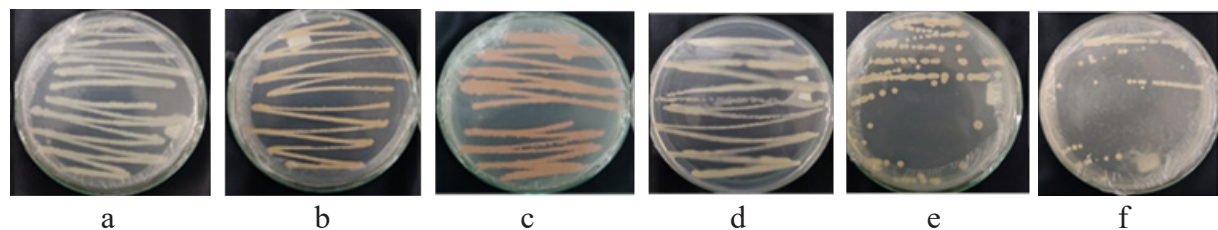
Karakteristik koloni khamir yang didapatkan bermacam-macam dengan tepian yang bergerigi, filamen, dan rata, sedangkan permukaan koloni ada yang halus dan meruncing (Tabel 1). Karakteristik koloni khamir yang diperoleh dari daun dan buah kopi memiliki warna bervariasi mulai dari putih pucat, krem, krem kekuningan, merah muda, dan ada yang oranye kemerahan (Gambar 4). Pengamatan secara mikroskopis menunjukkan bahwa sel-sel khamir memiliki bentuk bulat hingga memanjang dengan ukuran sel yang bervariasi

(Gambar 5). Berdasarkan bagian tanaman yang diisolasi, khamir tidak memiliki karakteristik yang khas antara yang didapatkan dari daun dan buah, demikian juga antara yang epifit dan endofit. Akan tetapi, pada umumnya sel khamir epifit baik yang diisolasi dari daun maupun dari buah memiliki ukuran sel yang lebih besar dibandingkan dengan sel khamir endofit (Tabel 1).

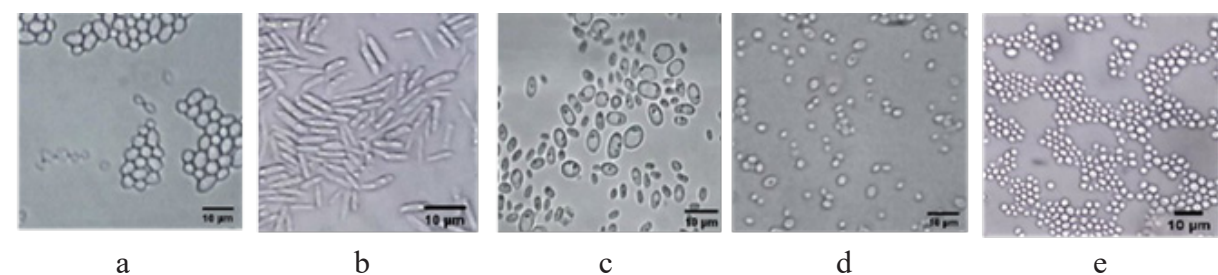
Berdasarkan uji patogenesis seluruh khamir pada daun kopi tidak bersifat patogenik terhadap tanaman kopi. Dalam pengamatan, gejala nekrosis atau bercak tidak muncul pada bagian daun kopi yang diinokulasi khamir (Gambar 6).



Gambar 3 Uji patogenesis *Cercospora coffeicola* pada daun kopi. a, Gejala bercak cercospora pada umur 28 hari setelah inokulasi dan b, Kontrol.



Gambar 4 Warna koloni khamir dari daun dan buah kopi pada medium agar-agar dekstrosa kentang. a, Putih; b, Oranye pucat; c, Oranye kemerahan; d, Kuning pucat; e, Krem; dan f, Putih kekuningan.



Gambar 5 Bentuk sel khamir dari daun dan buah kopi dari medium agar-agar dekstrosa kentang. a, Jorong; b, Memanjang; c, Bundar telur; d, Bulat telur; dan e, Bulat.

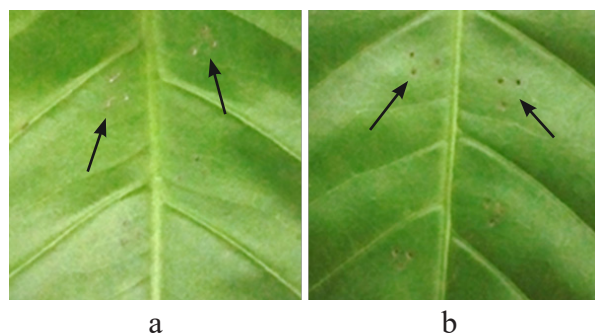
Tabel 1 Karakteristik sel dan koloni khamir dari daun dan buah kopi

Galur khamir	Sel		Koloni			
	Bentuk	Ukuran (μm)	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi
Epifit daun						
Ep DC 1	Jorong	2.59-7.77 \times 1.23-5.18	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DC 2	Memanjang	4.53-5.18 \times 2.59-3.24	Bulat	Oranye pucat	Rata	Cembung
Ep DC 3	Jorong	2.59-5.18 \times 1.94-3.89	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DC 4	Bundar telur	2.59-7.77 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Terkerkah	Hampir rata
Ep DC 5	Bundar telur	2.59-7.77 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
Ep DC 6	Memanjang	2.59-5.18 \times 2.59-7.77	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DC 7	Memanjang	2.59-7.77 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DC 8	Memanjang	2.59-7.77 \times 1.23-5.18	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DC 9	Bulat telur	3.89-10.36 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Rata	Hampir rata
Ep DC 10	Bulat telur	2.59-5.18 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DC 11	Bundar telur	5.18-7.77 \times 2.59-3.89	Bulat	Oranye kemerahan	Rata	Cembung
Ep DC 12	Jorong	2.59-7.77 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
Ep DC 13	Memanjang	3.89-5.18 \times 1.23-2.59	Bulat	Oranye kemerahan	Rata	Cembung
Ep DC 14	Memanjang	2.59-7.77 \times 1.23-5.18	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
Ep DC 15	Jorong	3.89-5.18 \times 2.59-5.18	Bulat	Kuning pucat	Rata	Cembung
Ep DK 1	Bulat telur	3.89-6.48 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DK 2	Bulat	2.59-3.89 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DK 3	Bulat	2.59-3.89 \times 1.23-3.89	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DK 4	Bulat telur	2.59-6.48 \times 2.59-3.89	Bulat	Kuning pucat	Rata	Hampir rata
Ep DK 5	Bundar telur	2.59-6.48 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DK 6	Bundar telur	2.59-6.48 \times 2.59-5.18	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DK 7	Bundar telur	2.59-5.18 \times 1.23-3.18	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DK 8	Jorong	2.59-7.77 \times 1.23-2.59	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DK 9	Memanjang	3.89-7.77 \times 2.59	Bulat	Oranye kemerahan	Rata	Cembung
Ep DK 10	Memanjang	5.18-12.59 \times 1.23-2.59	Bulat	Krem	Filamen	Membodong
Ep DK 11	Memanjang	3.89-5.18 \times 2.59-3.89	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep DK 12	Memanjang	5.18-10.36 \times 1.23-2.59	Bulat	Krem	Filamen	Cembung
Endofit Daun						
En DC 1	Memanjang	3.89-11.66 \times 1.23-3.89	Bulat	Putih	Rata	Cembung
En DC 2	Memanjang	1.23-6.48 \times 2.59-3.89	Bulat	Putih	Rata	Hampir rata
En DC 3	Memanjang	3.89-18.13 \times 1.23-2.59	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
En DC 4	Jorong	3.89-10.36 \times 1.23-2.59	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
En DK 1	Bundar telur	2.59-7.77 \times 1.23-2.59	Bulat	Putih	Rata	Cembung
En DK 2	Memanjang	2.59-5.18 \times 1.23-2.59	Bulat	Putih	Terkerkah	Cembung
En DK 3	Jorong	2.59-7.77 \times 2.59-3.89	Bulat	Putih sedikit krem	Terkerkah	Cembung
En DK 4	Jorong	2.59-6.48 \times 2.59-3.89	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
En DK 5	Memanjang	2.59-5.18 \times 1.23-2.59	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
En DK 6	Jorong	3.89-9.07 \times 1.23-2.59	Bulat	Putih	Rata	Cembung

.... lanjutan

Tabel 1 Karakteristik sel dan koloni khamir dari daun dan buah kopi

Galur khamir	Sel		Koloni			
	Bentuk	Ukuran (µm)	Bentuk	Warna	Tepi	Elevasi
Epifit Buah						
Ep BC 1	Memanjang	2.59-6.48 × 1.23-2.59	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
Ep BC 2	Memanjang	3.89-6.48 × 1.23-3.89	Bulat	Putih	Terkerkah	Cembung
Ep BC 3	Memanjang	5.18-15.54 × 2.59-3.89	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
Ep BC 4	Memanjang	3.89-5.18 × 1.23-2.59	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
Ep BC 5	Memanjang	5.18-12.59 × 1.23-3.89	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
Ep BC 6	Jorong	2.59-7.77 × 2.59-3.89	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep BC 7	Jorong	2.59-7.77 × 1.23-2.59	Iregular	Putih	Bergelombang	Hampir rata
Ep BC 8	Bundar telur	2.59-6.48 × 2.59-3.89	Bulat	Putih	Rata	Cembung
Ep BK 1	Memanjang	3.89-7.77 × 1.23-5.18	Bulat	Putih kekuningan	Filamen	Cembung
Endofit Buah						
En BK 1	Jorong	2.59-5.18 × 1.23-3.18	Bulat	Putih	Terkerkah	Hampir rata
En BK 2	Memanjang	2.59-6.48 × 2.59-3.89	Bulat	Putih	Terkerkah	Datar
En BK 3	Memanjang	3.89-7.77 × 2.59-5.18	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
En BC 1	Jorong	2.59-7.77 × 1.23-2.59	Bulat	Putih	Filamen	Cembung
En BC 2	Jorong	2.59-7.77 × 1.23-2.59	Bulat	Putih	Rata	Cembung
En BC 3	Jorong	2.59-7.77 × 1.23-2.59	Bulat	Putih	Terkerkah	Cembung



Gambar 6 Uji patogenesis sel khamir pada daun kopi tidak menunjukkan gejala. a, 7 hari setelah inokulasi; dan b, Kontrol.

Uji Aktivitas Anticendawan Senyawa Volatil Khamir terhadap *Cercospora coffeicola* secara *in Vitro*

Seluruh khamir menghasilkan senyawa volatil yang bersifat anticendawan dan mampu menghambat pertumbuhan koloni *C. coffeicola*. Uji ini membuktikan diameter koloni *C. coffeicola* yang diberi perlakuan senyawa volatil khamir memiliki ukuran lebih kecil dibandingkan dengan diameter koloni *C. coffeicola* pada kontrol (Gambar 7).

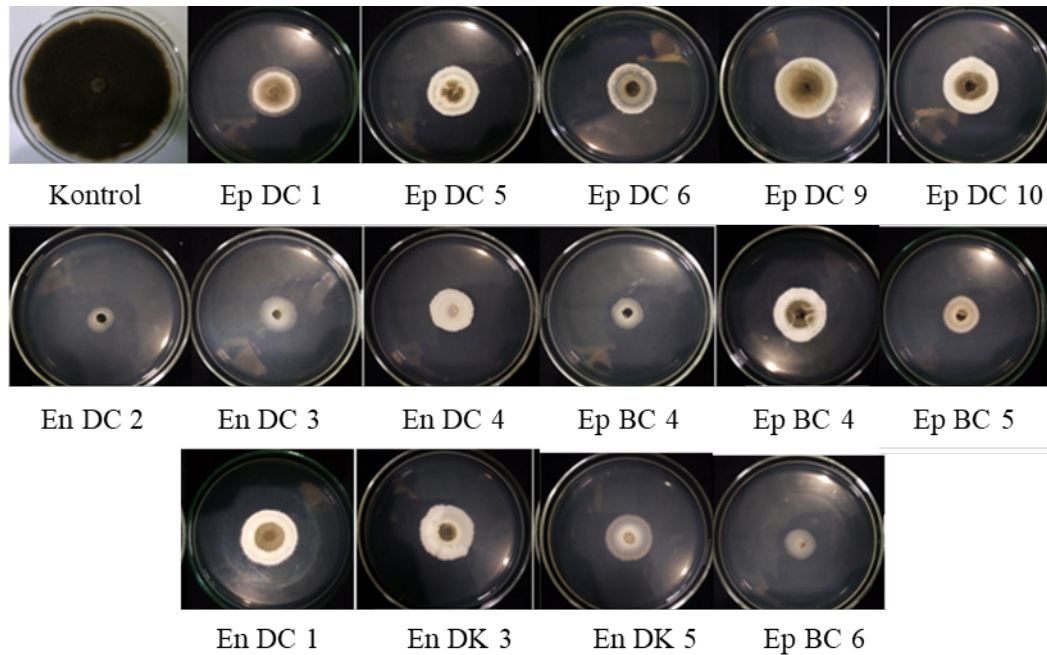
Pengaruh senyawa volatil terhadap pertumbuhan *C. coffeicola* menunjukkan bahwa khamir yang diuji memiliki kemampuan menghambat yang berbeda-beda (Tabel 2). Koloni khamir tersebut mampu menghambat

pertumbuhan *C. coffeicola* berkisar antara 11.85% dan 79.26%. Berdasarkan pengamatan diketahui bahwa sebanyak 15 galur khamir memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *C. coffeicola* lebih dari 50% dengan kisaran nilai penghambatan sebesar 51.11%–79.26%. Apabila dibandingkan dengan kemampuan menghambat antara galur khamir epifit dan endofit yang diisolasi dari daun dan buah, galur khamir endofit dari daun memiliki kemampuan menghambat tertinggi terhadap koloni *C. coffeicola*, yaitu sebesar 79.26%. Nilai penghambatan tersebut diikuti oleh galur khamir epifit buah dan epifit daun.

Selain menghambat pertumbuhan koloni, senyawa volatil yang dihasilkan oleh khamir berpengaruh terhadap hifa *C. coffeicola*. Hifa *C. coffeicola* tampak saling membelit (Gambar 8a) dan juga membengkok (Gambar 8b).

PEMBAHASAN

Cendawan *C. coffeicola* yang diperoleh dari daun kopi yang bergejala bercak daun diketahui bersifat patogenik. Sifat patogenik cendawan ini ditunjukkan oleh adanya gejala bercak daun cercospora pada daun kopi yang diinokulasi *C. coffeicola*. Kemampuan *C. coffeicola* dalam menginfeksi jaringan



Gambar 7 Uji antagonisme khamir asal daun dan buah kopi terhadap *Cercospora coffeicola* dengan *double dish system* pada 12 hari setelah perlakuan pada medium agar-agar dekstrosa kentang. EP D, Epifit daun; EN D, Endofit daun; EP B, Epifit buah; C, Cilengkrang; dan K, Kiara payung Jatinangor.



Gambar 8 Pengaruh senyawa volatil khamir terhadap hifa *Cercospora coffeicola* pada 12 hari setelah perlakuan. a, Hifa saling membelit; b, Hifa membengkak; dan c, Hifa sehat pada kontrol (perbesaran 400x).

tanaman kopi diduga karena kerja enzim pendegradasi dinding sel tanaman yang dihasilkan seperti kitinase, pektinase, dan poligalakturonase. Hifa cendawan akan tumbuh di dalam jaringan sel epidermis tanaman dan merusak bagian tanaman yang diserang (Quoc dan Bao Chau 2016; Aron *et al.* 2021).

Karakteristik khamir yang diisolasi dari tanaman dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan tempat tanaman tumbuh. Hal ini merupakan salah satu faktor yang menentukan ditemukannya berbagai ragam khamir yang berbeda-beda dalam penelitian ini. Bagian

tanaman seperti daun dan buah mampu menyediakan nutrisi yang cukup bagi berbagai jenis khamir sehingga menentukan keanekaragamannya (Kamel *et al.* 2016). Khamir yang diperoleh dalam penelitian ini memiliki karakteristik makroskopis dan mikroskopis yang mirip dengan beberapa genus khamir, seperti *Cryptococcus* sp., *Candida* sp., *Hansenulla* sp., *Metschnikowia* sp., *Pichia* sp., *Saccharomyces* sp., dan *Zygosaccharomyces* sp. (Kurtzman *et al.* 2011), tetapi khamir tidak dapat diidentifikasi hanya dengan melihat karakteristik morfologi koloni dan selnya saja.

Tabel 2 Diameter koloni *Cercospora coffeicola* dan tingkat hambatan relatif oleh galur khamir asal daun dan buah kopi pada uji *double dish system* pada 12 hari setelah perlakuan

Galur khamir	Diameter koloni \pm SD (mm)	Tingkat hambatan relatif \pm SD (%)
Kontrol	90.00 \pm 00.00	0.00 \pm 00.00
Epifit Daun		
Ep DC 1	36.00 \pm 4.00	60.00 \pm 4.44
Ep DC 2	54.33 \pm 20.53	39.63 \pm 22.81
Ep DC 3	48.33 \pm 10.41	46.30 \pm 11.56
Ep DC 4	45.67 \pm 12.66	49.26 \pm 14.07
Ep DC 5	42.33 \pm 15.50	52.96 \pm 17.23
Ep DC 6	36.00 \pm 7.81	60.00 \pm 8.67
Ep DC 7	53.33 \pm 31.13	40.74 \pm 28.28
Ep DC 8	55.67 \pm 30.09	38.15 \pm 33.43
Ep DC 9	44.00 \pm 4.36	51.11 \pm 4.84
Ep DC 10	42.00 \pm 6.00	53.33 \pm 6.67
Ep DC 11	52.33 \pm 15.69	41.85 \pm 17.44
Ep DC 12	47.00 \pm 4.36	47.78 \pm 4.84
Ep DC 13	62.67 \pm 17.62	30.37 \pm 19.57
Ep DC 14	47.67 \pm 4.16	47.03 \pm 4.63
Ep DC 15	64.67 \pm 12.58	28.15 \pm 13.98
Ep DK 1	62.00 \pm 10.39	31.11 \pm 11.55
Ep DK 2	69.33 \pm 6.11	22.96 \pm 6.79
Ep DK 3	74.00 \pm 7.81	17.78 \pm 8.69
Ep DK 4	79.33 \pm 8.08	11.85 \pm 8.98
Ep DK 5	52.00 \pm 10.44	42.22 \pm 11.64
Ep DK 6	57.00 \pm 1.73	36.67 \pm 1.93
Ep DK 7	59.00 \pm 6.08	34.44 \pm 6.76
Ep DK 8	47.33 \pm 5.51	47.41 \pm 6.12
Ep DK 9	62.67 \pm 3.51	30.37 \pm 3.89
Ep DK 10	70.67 \pm 9.29	21.48 \pm 10.32
Ep DK 11	52.33 \pm 5.03	41.85 \pm 5.59
Ep DK 12	52.67 \pm 12.01	41.48 \pm 13.35
Endofit Daun		
En DC 1	36.67 \pm 15.01	59.26 \pm 16.68
En DC 2	18.67 \pm 1.53	79.26 \pm 1.69
En DC 3	27.00 \pm 3.61	70.00 \pm 3.92
En DC 4	34.00 \pm 5.29	62.22 \pm 5.87
En BC 3	49.67 \pm 10.07	44.81 \pm 11.19
En DK 1	58.67 \pm 12.86	34.81 \pm 14.29
En DK 2	65.33 \pm 13.05	27.41 \pm 14.50
En DK 3	42.67 \pm 10.97	52.59 \pm 12.19
En DK 4	54.00 \pm 14.53	40.00 \pm 16.14
En DK 5	35.00 \pm 6.00	61.11 \pm 6.67
En DK 6	74.00 \pm 11.53	17.78 \pm 12.81
Epifit Buah		
Ep BK 1	60.00 \pm 12.49	33.33 \pm 13.87
Endofit Buah		
En BK 1	64.00 \pm 14.42	28.89 \pm 16.02
En BK 2	66.00 \pm 16.82	26.67 \pm 18.69
En BK 3	64.67 \pm 8.62	28.15 \pm 9.58

SD, standar deviasi

Identifikasi khamir harus melibatkan pengamatan terhadap karakteristik fisiologi dan biokimia, atau secara molekuler (Ting *et al.* 2018; Montoya *et al.* 2021; Terryana *et al.* 2022).

Agens antagonis memiliki peluang yang besar untuk didapatkan dari tanaman. Peran khamir sebagai agens antagonis ditentukan oleh kemampuannya dalam mengendalikan patogen. Khamir antagonis memiliki beberapa mekanisme dalam mengendalikan patogen seperti antibiosis, kompetisi ruang dan nutrisi, hiperparasitisme, dan induksi resistensi (Kowalska *et al.* 2022). Khamir yang berperan sebagai agens antagonis juga harus memiliki sifat nonpatogen pada tanaman. Oleh karena itu, uji patogenitas suatu khamir sebagai agens antagonis pada tanaman penting dilakukan. Sebanyak 52 galur khamir yang ditemukan dalam penelitian ini tidak bersifat patogenik pada tanaman kopi sehingga memiliki peluang untuk dikembangkan sebagai agens antagonis.

Peran khamir sebagai agens antagonis didukung oleh kemampuannya untuk tumbuh dan beradaptasi dengan baik pada lingkungan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan pada tanaman (Choińska *et al.* 2020). Kemampuan ini sangat penting dimiliki oleh khamir yang berperan sebagai agens antagonis. Hal ini mengingat agens antagonis memiliki peran untuk mengendalikan patogen yang menginfeksi tanaman sehingga diperlukan khamir yang mampu bertahan hidup serta memiliki kemampuan beradaptasi dengan baik pada tanaman tersebut. Selain itu, khamir memiliki kemampuan untuk menguraikan senyawa organik dan menghasilkan energi dari proses fermentasi (Kurtzman *et al.* 2011). Khamir pada umumnya juga tidak merusak tanaman (Kurtzman *et al.* 2011). Beberapa khamir dilaporkan mampu berperan sebagai agens antagonis karena dapat menghasilkan enzim pendegradasi kitin (Zajc *et al.* 2019) dan hormon pertumbuhan seperti auksin dan giberelin (Al-Shaheen and Farhan 2018; Streletskii *et al.* 2019).

Hasil pengujian antagonisme dengan *double dish system* dalam penelitian ini membuktikan kemampuan khamir yang diperoleh dalam menghasilkan senyawa volatil dan mampu menekan pertumbuhan *C. coffeicola*.

Choińska *et al.* (2020) dan Into *et al.* (2020) menjelaskan bahwa khamir yang berasal dari daun dan buah memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa volatil yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa cendawan penyebab penyakit pada tanaman. *Pichia kudriavzevii*, *P. occidentalis*, dan *Meyerozyma quilliermondii* yang berasal dari buah anggur menghasilkan senyawa volatil yang dapat mengendalikan patogen *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum*, *Botrytis cinerea*, dan *Aspergillus fumigatus* (Choińska *et al.* 2020). Selain itu, khamir yang berasal dari daun padi juga dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan patogen *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani*, dan *Helminthosporium solani* melalui mekanisme produksi senyawa volatil (Into *et al.* 2020).

Bagian buah dari suatu tanaman pada umumnya mengandung nutrisi yang lebih banyak dibandingkan dengan daun. Tingginya nilai penghambatan oleh khamir yang berasal dari daun kopi pada uji *double dish system* dalam penelitian ini diduga karena khamir tersebut diperoleh dari habitat yang mengandung sedikit nutrisi sehingga memiliki kemampuan antagonisme yang lebih baik. Hal ini ditunjukkan dengan kemampuan khamir dalam menghasilkan senyawa volatil anticendawan.

Senyawa volatil merupakan produk samping dari proses metabolisme primer dan sekunder suatu mikroba, termasuk khamir (Oufensou *et al.* 2023). Senyawa volatil mudah terdifusi ke dalam jaringan karena memiliki ukuran dan bobot molekul yang kecil. Senyawa volatil yang dihasilkan oleh khamir seperti alkohol, tioalkohol, tioester, fenol, terpena, hidrokarbon, senyawa heterosiklik, aldehida, dan keton memiliki peran penting dalam mengendalikan patogen (Oufensou *et al.* 2023). Mekanisme senyawa volatil khamir dalam mengendalikan patogen tersebut di antaranya dilaporkan dari kelompok alkohol yang menyebabkan terjadinya denaturasi protein serta memengaruhi kestabilan lapisan lipid pada membran plasma (Dalilla *et al.* 2015; Botelho *et al.* 2019; Intana *et al.* 2021; Andrade *et al.* 2022). Akibat dari mekanisme senyawa volatil tersebut menyebabkan berbagai kerusakan dan keabnormalan hifa

cendawan patogen seperti yang terlihat dalam penelitian ini.

Terjadinya hifa yang abnormal akibat senyawa volatil telah dilaporkan dalam beberapa penelitian. Senyawa volatil feniletil alkohol diketahui dihasilkan oleh cendawan *Trichoderma asperellum* yang menyebabkan terjadinya keabnormalan pada hifa cendawan *Fusarium incarnatum* penyebab busuk buah pada melon (Intana *et al.* 2021). Khamir *Hanseniaspora uvarum* dan *H. opuntiae* diketahui dapat menghasilkan asam oktanoat, 2-feniletil asetat, dan fulfuril asetat yang dapat menghambat perkecambahan spora *A. flavus* dan *A. niger* (Galván *et al.* 2022).

Beberapa khamir dalam penelitian ini memiliki potensi sebagai agens antagonis untuk mengendalikan *C. coffeicola* melalui aktivitas anticendawan senyawa volatil. Oleh karena itu, khamir yang diperoleh ini dapat dikembangkan sebagai agens antagonis *C. coffeicola* pada tanaman kopi. Penelitian lanjut mengenai mekanisme pengendalian yang lain dan uji *in vivo* di lapangan, serta identifikasi khamir secara molekuler perlu dilakukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas Padjadjaran melalui pembiayaan Hibah Riset UNPAD Tahun 2023 skema Academic Leadership Grant Prof. Tri Mayanti, no kontrak 1549/UN6.3.1/PT.00/2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamsyah D, Pasaribu LS, Alfiansyah MJ. 2022. Influence disease spots leaves on coffee plants and their control. *Journal of Agriculture*. 1(01):9–13. DOI: <https://doi.org/10.47709/joa.v1i01.1435>.
- Alkuwari A, Hassan ZU, Zeidan R, Al-Thani R, Jaoua S. 2022. Occurrence of mycotoxins and toxigenic fungi in cereals and application of yeast volatiles for their biological control. *Toxins*. 14(6):1–13. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins14060404>.
- Al-Shaheen MR, Farhan MA. 2018. The possibility of cytokinins production from regular dry bakery yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). *Journal of Advanced Research in Applied Chemistry and Chemical Engineering*. 3(4):1–4.
- Andrade CCL, Resende MLV, Moreira SI, Mathioni SM, Botelho DMS, Costa JR, Andrade ACM, Alves E. 2021. Infection process and defense response of two distinct symptoms of *Cercospora* leaf spot in coffee leaves. *Phytoparasitica*. 49(4):727–737. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12600-021-00902-2>.
- Aron O, Wang M, Lin L, Batool W, Lin B, Shabbir A, Wang Z, Tang W. 2021. Mogln2 is important for vegetative growth, conidiogenesis, maintenance of cell wall integrity and pathogenesis of *Magnaporthe oryzae*. *Journal of Fungi*. 7(6):1–24. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7060463>.
- Assis SMP, Mariano RLR, Michereff SJ, Silva G, Maranhao EAA. 1999. Antagonism of yeasts to *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* on cabbage phylloplane in field. *Revista de Microbiologia*. 30(3):191–195. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0001-37141999000300002>.
- Ayilara MS, Adeleke BS, Akinola SA, Fayose CA, Adeyemi UT, Gbadegesin LA, Omole RK, Johnson RM, Uthman QO, Babalola OO. 2023. Biopesticides as a promising alternative to synthetic pesticides: A case for microbial pesticides, phytopesticides, and nanobiopesticides. *Frontiers in Microbiology*. 14(1):1–16. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1040901>.
- Barnett HL, Hunter BB. 1987. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. New York (NY): Macmillan Publishing Company.
- Bhandari S, Nepal S, Banstola R, Thapaliya B, Poudel A. 2022. Ecofriendly management of cercospora leaf spot, *Cercospora coffeicola* (berk & m.a. curtis) disease of coffee in gulmi. *Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences*. 7(127):111–123.
- Boekhout T, Amend AS, El Baidouri F, Gabaldón T, Geml J, Mittelbach M, Robert V, Tan CS, Turchetti B, Vu D, Wang QM, Yurkov A. 2022. Trends in yeast diversity discovery. *Fungal Diversity*. 114(1):

- 491–537. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00494-6>.
- Botelho DM, de Resende MLV, de Rezende JC, Júnior PMR, Andrade CCL, Alves E, Amaral DC. 2019. Difference between isolates from brown eye spot and black spot lesions in coffee plants. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 54(1):1–4. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.PAB2019.V54.01423>.
- Choińska R, Piasecka-Józwiak K, Chabłowska B, Dumka J, Łukaszewicz A. 2020. Biocontrol ability and volatile organic compounds production as a putative mode of action of yeast strains isolated from organic grapes and rye grains. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*. 113(8):1135–1146. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01420-7>.
- Contarino R, Brighina S, Fallico B, Cirvilleri G, Parafati L, Restuccia C. 2019. Volatile organic compounds (VOCs) produced by biocontrol yeasts. *Food Microbiology*. 82:70–74. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.01.008>.
- Dalilla CR, Mauricio BF, Simone CB, Silvia B, Sergio FP. 2015. Antimicrobial activity of volatile organic compounds and their effect on lipid peroxidation and electrolyte loss in *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum acutatum* mycelia. *African Journal of Microbiology Research*. 9(23):1527–1535. DOI: <https://doi.org/10.5897/ajmr2015.7425>.
- de Paula PVAA, Pozza EA, Alves E, Moreira SI, Paula JCA, Santos LA. 2019. Infection process of *Cercospora coffeicola* in immature coffee fruits. *Coffee Science*. 14(1):127–130.
- Di Francesco A, Ugolini L, Lazzeri L, Mari M. 2015. Production of volatile organic compounds by *Aureobasidium pullulans* as a potential mechanism of action against postharvest fruit pathogens. *Biological Control*. 81:8–14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.10.004>.
- Diana L, Lasmini T. 2016. Isolasi dan identifikasi khamir selulolitik dari tanah rizosfer angrek puser bumi (*Pecteilis susannae* L.) di hutan Wonosadi Gunung Kidul DIY. *Biogenesis*. 4(1):21–28. DOI: <https://doi.org/10.24252/bio.v4i1.1116>.
- Farbo MG, Urgeghe PP, Fiori S, Marcello A, Oggiano S, Balmas V, Hassan ZU, Jaoua S, Migheli Q. 2018. Effect of yeast volatile organic compounds on ochratoxin A-producing *Aspergillus carbonarius* and *A. ochraceus*. *International Journal of Food Microbiology*. 284(1):1–10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.023>.
- Ferraz P, Brandão RL, Cássio F, Lucas C. 2021. *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of cacao witches' broom disease is killed in vitro by *Saccharomyces cerevisiae* and *Wickerhamomyces anomalus* yeasts. *Frontiers in Microbiology*. 12(1):1–15. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.706675>.
- Ferraz P, Cássio F, Lucas C. 2019. Potential of yeasts as biocontrol agents of the phytopathogen causing cacao witches' broom disease: is microbial warfare a solution? *Frontiers in Microbiology*. 10(1):1–13 DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01766>.
- Freimoser FM, Rueda-Mejia MP, Tilocca B, Migheli Q. 2019. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 35:154–173. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2728-4>.
- Galván AI, Hernández A, Córdoba M de G, Martín A, Serradilla MJ, López-Corrales M, Rodríguez A. 2022. Control of toxigenic *Aspergillus* spp. in dried figs by volatile organic compounds (VOCs) from antagonistic yeasts. *International Journal of Food Microbiology*. 376(1):1–11. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109772>.
- Gil-Rodríguez AM, Garcia-Gutierrez E. 2021. Antimicrobial mechanisms and applications of yeasts. *Advances in Applied Microbiology*. 114(1):37–42. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2020.11.002>.
- Gross S, Kunz L, Müller DC, Santos Kron A, Freimoser FM. 2018. Characterization of antagonistic yeasts for biocontrol applications on apples or in soil by quantitative analyses of synthetic yeast

- communities. *Yeast*. 35(10):559–566. DOI: <https://doi.org/10.1002/yea.3321>.
- Harni R, Samsudin AW, Indriati G, Soesanthy F, Khaerati, Taufiq E, Hasibuan AM, Haspari AD. 2015. *Teknologi Pengendalian Hama dan Penyakit Tanaman Kopi*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta (ID): IAARD Press.
- Hernández-Fernández M, Cordero-Bueso G, Ruiz-Muñoz M, Cantoral JM. 2021. Culturable yeasts as biofertilizers and biopesticides for sustainable agriculture: A comprehensive review. *Plants*. 10(5): 822–841. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10050822>.
- Hernandez-Montiel LG, Droby S, Preciado-Rangel P, Rivas-García T, González-Estrada RR, Gutiérrez-Martínez P, Ávila-Quezada GD. 2021. A sustainable alternative for postharvest disease management and phytopathogens biocontrol in fruit: antagonistic yeasts. *Plants*. 10(12): 2641–2653. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10122641>.
- Intana W, Kheawlang S, Sunpapao A. 2021. *Trichoderma asperellum* t76-14 released volatile organic compounds against post-harvest fruit rot in muskmelons (*Cucumis melo*) caused by *Fusarium incarnatum*. *Journal of Fungi*. 7(1):76–89. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7010046>.
- Into P, Khunnamwong P, Jindamoragot S, Am-in S, Intanoo W, Limtong S. 2020. Yeast is associated with rice phylloplane and their contribution to control of rice sheath blight disease. *Microorganisms*. 8(3): 362–374. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030362>.
- Junior JSZ, Costa H, Dorzenoni RR, Guarçoni RC, Fornazier ML, Sossai SR, Botacim LA, Souza EMR, Ferrão MAG, Martins D dos S, Favarato LF, Fornazier MJ. 2022. Modeling the brown eye spot sampling in Arabica coffee. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*. 9(4):226–231. DOI: <https://doi.org/10.22161/ijaers.94.26>.
- Kamel SM, Ebtsam MM, Massoud ON. 2016. Potentiality of some yeast species as biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* the causal agent of cucumber wilt. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 26(2):185–193.
- Köhl J, Kolnaar R, Ravensberg WJ. 2019. Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science*. 10:1–19. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>.
- Kowalska J, Krzywińska J, Tyburski J. 2022. Yeasts as a potential biological agent in plant disease protection and yield improvement—a short review. *Agriculture*. 12(9):1404–1419. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture12091404>.
- Kuchen B, Garay SA, Gil RM, Vazquez F, Scaglia GJE. 2023. Optimization of batch reactors: Application to the biocontrol of spoilage yeasts in wines. *IEEE Latin America Transactions*. 21(2):217–225. DOI: <https://doi.org/10.1109/TLA.2023.10015214>.
- Kurtzman CP, Fell JW, Boekhout T. 2011. *The Yeasts: A Taxonomic Study*. Ed ke-5. Amsterdam (NL): Elsevier.
- Laborde MCF, Botelho DMDS, Rodríguez GAA, de Resende MLV, de Queiroz MV, Batista AD, Cardoso PG, Pascholati SF, Gusmão LFP, Martins SJ, de Medeiros FHV. 2019. *Phialomyces macrosporus* reduces *Cercospora coffeicola* survival on symptomatic coffee leaves. *Coffee Science*. 14(1):1–11. DOI: <https://doi.org/10.25186/cs.v14i1.1448>.
- Liu Z, Du S, Ren Y, Liu Y. 2018. Biocontrol ability of killer yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*) isolated from wine against *Colletotrichum gloeosporioides* on grape. *Journal of Basic Microbiology*. 58(1):60–67. DOI: <https://doi.org/10.1002/jobm.201700264>.
- Millan AFS, Gamir J, Larraya L, Farran I, Veramendi J. 2022. Towards understanding of fungal biocontrol mechanisms of different yeasts antagonistic to *Botrytis cinerea* through exometabolomic analysis. *Biological Control*. 174:105033(1–16). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105033>.
- Montoya AM, Luna-Rodríguez CE, Bonifaz A, Treviño-Rangel RdeJ, Rojas OC, González GM. 2021. Physiological characterization and molecular identification of some rare

- yeast species causing onychomycosis. *Journal of Medical Mycology*. 31(2): 101–121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2021.101121>.
- Moreira-Morrillo AA, Vélez-Zambrano JP, Intra Moreira S, Garcés-Fiallos FR. 2023. Diseases affecting the coffee crop: Elucidating the life cycle of rust, thread blight and cercospora leaf spot. *Scientia Agropecuaria*. 13(3):395–412. DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2023.035>.
- Oufensou S, Ul Hassan Z, Balmas V, Jaoua S, Migheli Q. 2023. Perfume guns: potential of yeast volatile organic compounds in the biological control of mycotoxin-producing fungi. *Toxins*. 15(1):45–67. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins15010045>.
- Quoc NB, Bao Chau NN. 2016. The role of cell wall degrading enzymes in pathogenesis of *Magnaporthe oryzae*. *Current Protein and Peptide Science*. 18(10):1019–1034. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389203717666160813164955>.
- Rani AT, Kammar V, Keerthi MC, Rani V, Majumder S, Pandey KK, Singh J. 2021. Biopesticides: An alternative to synthetic insecticides. Di dalam: *Microbial Technology for Sustainable Environment*. Singapore (SG): Springer. hlm 439–466. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-16-3840-4_23.
- Resende LS, Pozza EA, Luz ALF, de Souza PE, Vilela MS, Castanheira DT, Guimarães RJ. 2022. Brown eye spot incidence during the vegetative stage of coffee grown in soil under sustainable management. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 57:e02477. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.PAB2022.V57.02477>.
- Ruiz-Moyano S, Hernández A, Galvan AI, Córdoba MG, Casquete R, Serradilla MJ, Martín A. 2020. Selection and application of antifungal VOCs-producing yeasts as biocontrol agents of grey mould in fruits. *Food Microbiology*. 92:103556. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103556>.
- Souza AGC, Herrero S, Daub ME. 2019. The toxin cercosporin is a virulence factor for infection of coffee by *Cercospora coffeicola*. *BioRxiv*. 1–24. DOI: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/818328v1.full>.
- Streletskii RA, Kachalkin AV, Glushakova AM, Yurkov AM, Demin VV. 2019. Yeast produces zeatin. *Peer Journal*. 7(2):e6474. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.6474>.
- Tembo SM. 2020. Cercospora leaf spot of coffee: *Cercospora coffeicola*; (Brown Eye Spot, Berry Blotch in English). PlantwisePlus Knowledge Bank. <https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/full/10.1079/pwkb.20207800276> [diakses 14 Nov 2023]. DOI: <https://doi.org/10.1079/pwkb.20207800276>.
- Terryana RT, Ilmiyah N, Setyawati I, Haryati T, Mulya K, Riyanti EI, Sastro Y, Lestari P. 2022. Morphological, physiological, and molecular identification and characterization of yeast isolated from Indonesian fruits and woods. Di dalam: *AIP Conference Proceedings The Second International Conference on Genetic Resources and Biotechnology: Harnessing Technology for Conservation and Sustainable Use of Genetic Resources for Food and Agriculture*; 24–25 May 2021; Bogor (ID). 2462(1):060004. DOI: <https://doi.org/10.1063/5.0075170>.
- Ting J, Xu R, Xu J. 2018. Molecular identification and distribution of yeasts in fruits. Di dalam: El Sheikha AF, Levin R, Xu J, editor. *Molecular Techniques in Food Biology: Safety, Biotechnology, Authenticity and Traceability*. Hoboken (NJ): Wiley online library. hlm 115–144.
- Vasco GB, Pozza EA, Scalco MS, Dias Santos LS, de Paiva Custódio AA, e Silva M de LO. 2015. Brown eye spot incidence in fruits of coffee: Different density planting and water managements. *Coffee Science*. 10(1):38–45.
- Zajc J, Gostinčar C, Černoša A, Gunde-Cimerman N. 2019. Stress-tolerant yeasts: opportunistic pathogenicity versus biocontrol potential. *Genes*. 10(1):42–65. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes10010042>.