

# PENGUJIAN PRODUKSI SEL *DEBARYOMYCES* SP. PADA BEBERAPA MEDIA UNTUK PENGENDALIAN HAYATI PENYAKIT ANTRAKNOSA PADA CABAI

Dian Indratmi

Jurusan Argoteknologi, Fakultas Pertanian Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang  
Alamat Korespondensi : Landungsari Permai E/5 Dau  
Telpon : 0341-465645, Hp: 085649921614, E-mail: dian@umm.ac.id

## ABSTRACT

Result of research Dian Indratmi previously (2000, 2001, and 2002) indicated among antagonis fungi that shown potential inhibition *Colletotrichum gloeosporioides* better were fructoplant yeast inoculan especially *Debaryomyces* sp. For evaluation of efficacy yeast *Debaryomyces* sp.as a potential biokontrol agent of chilli anthracnose or to develop this agent as biopesticide, it is important to have available culture media that maximize production at low cost.

The aimed of this research to find out a low cost media culture formulation for yeast fructoplant biomass production for their application on field to suppressed anthracnose disease on pepper.

The laboratory experiment with Complete Randomized Design and 6 replication. There were 11 treatment, it's A = malt extract liquid media; B = malt extract liquid media + pepper extract; C = corn meal liquid media; D = corn meal liquid media + pepper extract; E = sugar potato extract liquid media; F = Alioshina liquid media; G = sugar mixture of rice and bran liquid media; H = sugar pepper extract liquid media; I = maize solid media; J = waste water rice media; K = ipomoea liquid media.

Results of the experiment indicated 11 of the yeast media culture test can as a substrate for yeast biomass production. Yeast *Debaryomyces* sp that cultured on the substrate corn meal liquid media that added with or without pepper extract resulted better weight and quantity cell of yeast *Debaryomyces* sp. The yeast for their growing needed a rather acid substrate, it's about pH 4.79-6.07.

Key word : Anthracnose Disease, yeast *Debaryomyces* sp., Biological Control

## PENDAHULUAN

Usahatani komoditas hortikultura khususnya cabai merupakan usahatani yang berorientasi pada bisnis, karena mempunyai nilai ekonomis tinggi. Oleh karena itu, pemerintah berupaya untuk meningkatkan produksi meliputi kuantitas, kualitas, kontinuitas produk, bahkan saat ini keamanan konsumsi produk juga mendapat perhatian.

Dalam usahatani tanaman cabai, sering menghadapi berbagai kendala; antara lain risiko kerusakan tanaman dan kehilangan hasil yang cukup tinggi akibat serangan organisme pengganggu tanaman (OPT). Untuk mengamankan produksi akibat serangan OPT, petani seringkali menggunakan pestisida secara berlebihan, sehingga

menimbulkan dampak negatif yang tidak diinginkan, seperti terjadi resurgensi hama, timbulnya hama sekunder, mati musuh alaminya, merusak lingkungan, bahkan penolakan pasar akibat produk mengandung residu pestisida.

Penerapan Pengendalian Hama Terpadu (PHT) dalam pengendalian OPT telah menjadi kebijakan pemerintah, dimana penggunaan pestisida merupakan alternatif terakhir. Kebijakan ini dituangkan dalam Peraturan Pemerintah Nomor 6 Tahun 1995 tentang Perlindungan Tanaman dan Keputusan Menteri Pertanian No. 887/Kpts/OT.210/9/97 tentang Pedoman Pengendalian OPT. Untuk mengurangi penggunaan pestisida, maka diperlukan alternatif pengendalian OPT yang ramah lingkungan. Saat ini, perhatian mulai beralih ke sumber daya biologi dalam meningkatkan

kesehatan (ketahanan) tanaman, melalui peran mikroba fillosofer dan fruktosfer yang bermanfaat.

Mikroba yang bersifat menguntungkan bagi tanaman, termasuk sebagai agensia pengendali hayati atau agensia penginduksi ketahanan, hidup di daerah sekitar daun (*fillosofer*), buah (*fruktosfer*), dan perakaran (*rizosfer*), dimana terdapat eksudat yang dikeluarkan tanaman sebagai nutrisi bagi mikroba. Saat ini, mikroba bermanfaat dalam meningkatkan ketahanan/kesehatan tanaman yang banyak diteliti adalah kelompok khamir fruktoplan (*yeast and yeast like fungi*) sebagai penghambat perkembangan patogen yang menyerang bagian buah tanaman atau sebagai bioprotektan. Beberapa khamir fruktoplan merupakan agensia pengendali hayati yang potensial dapat menekan patogen penyebab penyakit yang menyerang buah di lapang. Khamir fruktoplan tersebut diantaranya adalah khamir putih *Debaryomyces* sp, khamir hitam *Schizosaccharomyces* sp. dan khamir merah *Rhodotorula* sp.

## METODELOGI PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Pertanian UMM pada bulan Juli sampai Desember 2009. Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Sederhana yang terdiri dari 11 perlakuan media produksi massal sel khamir *Debaryomyces* sp. diulang 6 kali, perlakuan dimaksud adalah:

- A = media cair ekstrak taoge
- B = media cair ekstrak taoge + ekstrak cabai besar
- C = media cair corn meal
- D = media cair corn meal + ekstrak cabai besar
- E = media cair ekstrak kentang gula
- F = media cair Alioshina
- G = media cair dedak gula
- H = media cair ekstrak cabai gula
- I = media padat jagung
- J = media cair leri
- K = media ubi jalar

## Tahap-Tahap Pelaksanaan Penelitian

### 1. Isolasi khamir *Debaryomyces* sp

Khamir fruktoplan *Debaryomyces* sp. diisolasi dari permukaan buah cabai besar / cabai merah besar yang sehat. Isolasi dilakukan dengan metode pencucian permukaan buah cabai dengan air distilasi steril. Specimen buah cabai yang diambil meliputi buah yang masih muda, buah yang sudah tua tapi belum masak, dan buah cabai besar yang sudah masak. Masing-masing specimen buah (a 10 g berat basah) dipotong-potong dan ditempatkan dalam labu yang berisi air suling steril sebanyak 50ml dan digojok selama 2 jam pada suhu kamar.

Hasil gojokan tadi dibuat seri pengenceran  $10^0 - 10^6$ . Sebanyak 0.1 ml suspensi hasil masing-masing pengenceran ditumbuhkan secara taburan pada media Malt Extract Agar yang mengandung 5 g/l aureomycin dalam cawan petri. Selanjutnya diinkubasi selama 3 hari pada suhu kamar. Isolat khamir yang tumbuh dipindah ke media MEA dalam tabung reaksi.

### 2. Pengujian produksi massal sel khamir *Debaryomyces* sp.

Khamir *Debaryomyces* sp. yang berhasil diisolasi selanjutnya dimurnikan dan diperbanyak pada media MEA dalam tabung reaksi sebagai biakan murni. Selanjutnya biakan murni dijadikan sebagai biang (sumber inokulum) dan diproduksi secara massal dalam media sesuai dengan perlakuan dan diinkubasi selama 2 hari.

### 3. Pengamatan

#### a. Jumlah sel khamir *Debaryomyces* sp.

Jumlah sel diamati setelah tiga hari inkubasi dengan metode hitung langsung menggunakan hemasitometer. Apabila jumlah sel yang akan dihitung terlalu padat maka dilakukan seri pengenceran sampai 10<sup>-7</sup>. kepadatan sel khamir dinyatakan dalam satuan sel/ml.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### b. Morfologi sel

Mengamati morfologi sel khamir yang diproduksi pada masing-masing media dibawah mikroskop.

### c. Berat spora per liter media.

Menimbang berat basah spora yang berhasil dipanen dalam satuan gram/liter media.

### d. Mengukur pH awal dan akhir media dengan pH meter.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan macam media berpengaruh sangat nyata terhadap peubah berat spora khamir dan kerapatan sel khamir. Sebanyak 11 macam media tumbuh yang telah diuji, ternyata dapat dijadikan media produksi sel khamir *Debaryomyces* sp. hal ini ditunjukkan dengan kemampuan khamir tumbuh dan berkembang biak pada masing-masing media tersebut. Perbedaan rata-rata berat spora khamir pada masing-masing media dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Rata-Rata Berat Spora Khamir Akibat Perlakuan Macam Media Tumbuh**

Perlakuan	Rerata berat spora (gram) per 10 ml media	Rerata berat spora (gram) per liter media
A. Media ekstrak taoge	0.1690 b	16.90 b
B. Media ekstrak taoge + ekstrak cabai besar	0.1289 a	12.89 a
C. Media corn meal	2.6758 e	267.58 e
D. Media corn meal + ekstrak cabai besar	1.0602 c	106.02 c
E. Media ekstrak kentang gula	0.1431 b	14.31 b
F. Media Alioshina	0.1164 a	11.64 a
G. Media dedak gula	0.1342 ab	13.42 ab
H. Media ekstrak cabai gula	0.0801 a	8.01 a
I. Media padat jagung	1.7753 d	177.53 d
J. Media Ieri	0.2275 bc	22.75 bc
K. Media ubi jalar	0.1582 b	15.82 b

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata menurut uji Duncan 5 %

Media berbahan dasar jagung seperti media corn meal, media padat jagung, dan media corn meal + ekstrak cabai besar menghasilkan berat spora lebih besar daripada media yang lain. Meskipun demikian khamir tetap mampu berkembang biak pada media-media uji yang lain. Diduga dalam medium jagung dan medium jagung yang diperkaya dengan ekstrak cabai nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan biakan khamir lebih tersedia dan lengkap dibandingkan medium uji yang lain. Jagung merupakan bahan makanan yang mengandung

banyak karbohidrat. Pati merupakan komponen utama jagung (80% dari berat kering). Pati jagung terdiri dari 27% amilosa dan 73% amilopektin. Komposisi kimia jagung giling per 100 g bahan menurut Lawrence (2000), Kumalaningsih dan Hidayat (1995) adalah: pati 71,3%; protein 8,7%; lemak 4,1%, serat 3%, gula total 11,4%, Kalsium 0.009g, Fosfor 0.38g, Besi 0.0046g, vitamin A 350 SI, dan vitamin B1 0.0027 SI.

Tersedianya suatu media kultur yang murah dan mudah penyiapannya sangat penting bagi pengembangan khamir fruktoplan *Debaryomyces*

sp. sebagai agensia biopestisida. Dari sebelas media kultur yang diuji di atas 8 merupakan media alami, 2 media semi alami, dan 1 media sintetis. Termasuk media alami adalah media cair corn meal, media cair corn meal + ekstrak cabai besar, media cair ekstrak kentang gula, media cair dedak gula, media cair ekstrak cabai gula, media padat jagung, media cair leri, dan media ubi jalar. Termasuk media semi alami adalah media cair ekstrak taoge; dan media cair ekstrak taoge + ekstrak cabai besar. Termasuk media sintetis adalah media Alioshina.

Widodo (2006) telah memanfaatkan media dedak gula untuk media perbanyakan Plant Growth Promoting Rhizobacter (PGPR) yaitu kelompok rhizobakteria pemacu pertumbuhan tanaman yang

bersifat menguntungkan bagi tanaman. Termasuk sebagai agens penginduksi ketahanan dan pengendali hayati yang menjanjikan dapat menekan organisme pengganggu tanaman di lapang. Min Ho Choi dan Yun HeePark (2003) telah memanfaatkan jus kubis sortiran sebagai substrat untuk produksi biomassa khamir *Candida utilis*, *Pichia stipitis*, *Kluyveromyces marxianus*, dan *khamir Saccharomyces cerevisiae*.

Terdapat hal yang menarik antara rata-rata berat spora khamir dengan rata-rata kerapatan sel khamir. Ternyata media yang menghasilkan berat spora khamir tertinggi tidak diikuti dengan jumlah atau kerapat sel khamir yang tinggi pula. Rata-rata kerapatan sel khamir pada berbagai macam media tumbuh dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Rata-Rata Kerapatan Sel Khamir *Debaryomyces sp.* akibat Perlakuan Macam Media Tumbuh**

Perlakuan	Kerapatan/ml
A. Media ekstrak taoge	35.17 a
B. Media ekstrak taoge + ekstrak cabai besar	44.83 b
C. Media corn meal	44.33 b
D. Media corn meal + ekstrak cabai besar	49.50 c
E. Media ekstrak kentang + gula	34.33 a
F. Media Alioshina	28.17 a
G. Media dedak + gula	17.83 a
H. Media ekstrak cabai gula	56.50 d
I. Media padat jagung	20.50 a
J. Media leri	40.83 ab
K. Media ubi jalar	26.50 a

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata menurut uji Duncan 5 %. Penghitungan jumlah sel khamir dilakukan dengan haemocytometer dengan pengenceran 10<sup>6</sup>.

Khamir *Debaryomyces sp.* yang ditumbuhkan pada media ekstrak cabai gula menghasilkan jumlah sel paling tinggi dibandingkan pada media uji yang lain. Diikuti pada media corn meal + ekstrak cabai dan media ekstrak taoge + ekstrak cabai. Ketiga media tersebut adalah media alami yang telah diperkaya nutrisinya dengan ekstrak cabai besar.

Jumlah sel khamir yang lebih tinggi pada ketiga media tersebut dapat disebabkan karena khamir uji berasal dari fruktosfer buah cabai besar. Secara

alami khamir uji merupakan khamir yang bersifat indigenous, yang menghuni permukaan buah cabai dan memperoleh sebagian atau seluruh kebutuhan nutrisinya dari buah cabai. Sehingga penambahan ekstrak cabai besar ke dalam substrat media tumbuhnya berdampak positif terhadap perkembangbiakannya.

Menurut Kumalaningsih dan hidayat (1995) untuk pertumbuhan dan perkembangan khamir yang optimum diperlukan medium kultur yang

mengandung semua elemen nutrisi yang dibutuhkan dalam proporsi yang seimbang. Nutrisi dimaksud mencakup makro nutrien, mesonutrien, dan mikronutrien. Diduga dalam medium ekstrak cabai gula dan medium corn meal + ekstrak cabai nutrisi yang diperlukan khamir lebih tercukupi dan lengkap. Kandungan gizi cabai merah segar per 100 g menurut Wiryanta (2002) adalah protein 1g, lemak 0.3g, karbohidrat 7.3g, Kalsium 29 mg, Fosfor 24mg, Besi 0.5mg, vitamin A 470 SI, vitamin C 18mg, vitamin B1 0.05mg, vitamin B2 0.03mg, Niasin 0.20mg, Kapsaikin 1.5%, Pektin 2.33%, Pentosan 8.57%, pati 1.4%. Pada kedua medium diatas gula yang ditambahkan berfungsi sebagai sumber karbon. Menurut Wiranda dan Soewondo (2006) gula merupakan karbohidrat paling sederhana, mempunyai kadar rasa manis berbeda-beda dan larut dalam air. Gula meja dikenal sebagai sukrosa terutama terdapat dalam tebu dan bit gula. Karbohidrat merupakan sumber untuk menghasilkan energi di dalam sel, juga merupakan komponen pembentuk struktur sel.

Hasil pengukuran berat spora menunjukkan, khamir uji yang ditumbuhkan pada media berbahan dasar jagung mempunyai berat paling besar tetapi tidak diikuti dengan jumlah sel yang lebih tinggi. Hal ini diduga karena ada sebagian komponen media yang turut mengendap bersama dengan spora khamir ketika dilakukan sentrifugasi. Akibatnya seolah menambah berat spora. Hal ini juga tampak pada warna media pertumbuhan yang keruh seperti terdapat zat tepung yang dilarutkan dalam air. Sebaliknya pada media ekstrak cabai, warna media terlihat bening meskipun berwarna merah. Tidak tampak seperti adanya zat tepung yang terlarut dalam media.

Khamir *Debaryomyces* sp. termasuk mikroorganisme golongan jamur. Golongan jamur agar tumbuh optimum memerlukan kondisi media tumbuh agak asam. Keasaman beberapa media tumbuh khamir yang diuji dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3. Rata-Rata pH Media Sebelum dan Setelah Pertumbuhan Khamir**

Perlakuan	pH awal	pH akhir
A. Media ekstrak taoge	7.18	5.23
B. Media ekstrak taoge + ekstrak cabai besar	7.15	5.09
C. Media corn meal	6.80	5.11
D. Media corn meal + ekstrak cabai besar	6.64	4.93
E. Media ekstrak kentang gula	7.02	5.03
F. Media Alioshina	6.56	4.79
G. Media dedak gula	11.28	9.79
H. Media ekstrak cabai gula	6.88	5.01
I. Media padat jagung	6.52	6.07
J. Media Ieri	7.21	5.22
K. Media ubi jalar	7.00	5.40

Hasil pengukuran pH kesebelas media tumbuh yang diuji menunjukkan kisaran pH yang netral, kecuali pH media dedak gula yang menunjukkan pH basa. Hal ini disebabkan karena pada media dedak gula salah satu komponen bahannya adalah kapur. Kapur menyebabkan kondisi pH media

menjadi basa. Ternyata meskipun dalam kondisi media yang basa khamir masih mampu berkembang biak. Hasil pengukuran pH akhir yaitu pH media setelah khamir ditumbuhkan selama 2 hari; menunjukkan rata-rata kondisi pH asam sampai agak asam dengan kisaran pH antara 4,79 – 6,07,

kecuali media dedak gula yang menunjukkan kondisi pH basa yaitu sebesar 9,79.

Morfologi sel khamir uji yang ditumbuhkan pada 11 macam substrat pertumbuhan sesuai perlakuan bersifat tetap atau sama diantara masing-masing substrat, yaitu mempunyai ciri ciri : sel berbentuk bulat dan hialin; berkembang biak secara vegetatif dengan pertunasan multilateral. Berkembang biak secara generatif dengan konjugasi heterogamet antara sel induk dengan sel tunas. Tiap askus berisi satu askospora, berbentuk bulat, bersel satu, dan hialin.

Menurut Roostita (2004) khamir *Debaryomyces* sp. termasuk kelompok khamir sejati, yaitu termasuk kedalam klas *Ascomycetes* dengan ciri selalu berspora. Pemanfaatan khamir di Indonesia masih relatif terbatas, baik untuk diversifikasi pangan maupun pemanfaatannya sebagai agensia penghambat patogen penyebab penyakit pada tanaman. Khamir sangat berpotensi dan mempunyai prospek yang masih luas dan membutuhkan banyak informasi, serta peningkatan penelitian berkenaan dengan pemanfaatannya di bidang pangan dan perlindungan tanaman.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Terbatas pada penelitian yang sudah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa 11 macam media tumbuh khamir yang diuji dapat dijadikan sebagai media produksi sel-sel khamir *Debaryomyces* sp. Namun demikian khamir *Debaryomyces* sp. yang ditumbuhkan pada media cair corn meal baik yang ditambah dengan ekstrak cabai besar maupun tidak menghasilkan berat spora dan jumlah sel yang lebih besar. Khamir untuk pertumbuhannya menghendaki pH agak asam yaitu pada kisaran antara 4,79 – 6,07.

## DAFTAR PUSTAKA

Arun Chanchaichaovivat, Pintip Ruenwongsa, and Bhinyo Panijpan. 2007. Screening and identification of yeast strains from fruits and vegetables: Potential for biological control of postharvest chilli anthracnose (*Colletotrichum capsici*). Institute for Innovation and Development of Learning

Process, Mahidol University, Rama VI Road, Bangkok 10400, Thailand.

Droby S., Cohen, L., Daus, A., Weiss, B., Horev, B., Chalutz, E., Katz, H. M, Keren-Tzur, and Shachnai, A. 2002. Commercial Testing of Aspire: A Yeast Preparation for the Biological Control of Postharvest Decay of Citrus. Department of Postharvest Science, Institute for Technology and Storage of Agricultural Products. Israel.

Indratmi, D. 2000. Penggunaan yeast Fruktoplan *Debaryomyces* sp. untuk Pengendalian Hayati *Colletotrichum gloeosporioides* pada Cabai. Tropika Vol. 8 No.2.

\_\_\_\_\_. 2001. Eksplorasi dan Identifikasi Jamur Antagonis Terhadap *C. gloeosporioides* dari Fillosfer tanaman Cabe. Tropika Vol.9 No.1

\_\_\_\_\_. 2002. Pengujian Potensi Yeast Like-fungi *Schizosaccharomyces* sp. untuk pengendalian *Colletotrichum gloeosporioides* pada Tanaman Cabe, Tropika, Vol. 10 No. 2.

Kumalaningsih, S. dan Hidayat, N. 1995. Mikrobiologi Hasil Pertanian. IKIP Malang.

Lawrence, A.J. 2000. Corn The Mayor Cereal. Cereal Science and Technology. Marcel Dekker Inc.

Melin, P., Hakansson, S., Eberhard, TH., and Schnurer, J. 2006. Survival of biocontrol yeast *Pichia anomala* after long-term storage in liquid formulations at different temperature, assessed by flow cytometry. J Appl Microbiol 100 : 264-271.

Min Ho Choi and Yun Hee Park. 2003. Production of Yeast Biomass Using Waste Chinese Cabbage. Biomass and Bioenergy Vol 25(2): 221-226.

Patino VM., Jimenez B., Balderas K., and Galindo E. 2005. Pilot Scale Production and Liquid Formulation of Rhodotorula minuta, a Potential Biocontrol agent of Mango Anthracnose. *Appl Microbiol* Vol 99 (3): 540-550.

Roostita, L.B. 2004. Potensi dan Prospek Khamir dalam Meningkatkan Diversifikasi Pangan di Indonesia. Unpadj Bandung.

Widodo. 2006. Peran Mikroba Bermanfaat dalam Pengelolaan Terpadu Hama dan Penyakit Tanaman. Apresiasi Penanggulangan OPT Tanaman Sayuran.

Wiranda, G.P. dan Soewondo, D. 2006. Fisiologi Nutrisi Vol.I. IPB Press.

Wiryanta, B.T.W. 2002. Bertanam Cabai pada Musim Hujan. AgroMedia Pustaka.