



Inhibition of the In Vitro Growth of *Colletotrichum* sp. the Cause of Anthracnose on Avocado Fruit by Yeast

Sri Hartati^{1*}, Syifa Aulia Rahmah², & Ceppy Nasahi¹

¹Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, West Java, Indonesia, 45363

²Agrotechnology Program Study, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, West Java, Indonesia, 45363

*Corresponding Author: s.hartati@unpad.ac.id

Received May 14, 2025; revised June 20, 2025; accepted June 25, 2025

ABSTRACT

Anthracnose caused by *Colletotrichum* sp. is a major disease on avocado fruit. An alternative to control this post harvest disease is by using biocontrol agents, such as yeasts. The research was objected to test the abilities of three yeast isolates i.e. *Aureobasidium pullulans* Dmg 11 DEP, *Rhodotorulla minuta* Dmg 16 BE and *Candida tropicalis* Lm 13 BE, to inhibit the in vitro growth of *Colletotrichum* sp. The experiment was arranged in the completely randomized design consisting of five treatments that were repeated four times each. The treatments were dual culture and double dish system of the culture of *Colletotrichum* sp. vs the yeast isolates as follow *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *R. minuta* Dmg 16 BE, *C. tropicalis* Lm 13 BE, fungicide mancozeb, and a control. The results showed that the three yeast isolates were able to inhibit the colony growth of *Colletotrichum* sp. by 19,9% – 56,10% on the dual culture and 15,56% – 26,08% on the double dish system. The yeasts caused abnormal growth of the *Colletotrichum* sp. hyphae, such as swollen, curly, rolled, and lysis. *A. pullulans* Dmg 11 DEP caused the highest inhibition, with the category of strong antifungal activity on dual culture, and moderate on double dish system. It was concluded that the three yeast isolates have the ability to inhibit the in vitro growth of *Colletotrichum* sp. the caused of anthracnose on avocado fruit.

Keywords: *Aureobasidium pullulans*, *Biocontrol agents*, *Candida tropicalis*, *Double dish system*, *Rhodotorulla minuta*

Penghambatan Pertumbuhan *Colletotrichum* sp. Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Alpukat secara In Vitro oleh Khamir

ABSTRAK

Antraknosa merupakan salah satu penyakit penting pada buah alpukat yang disebabkan oleh jamur *Colletotrichum* sp. Salah satu alternatif pengendalian penyakit pada produk pascapanen yaitu dengan memanfaatkan agens biokontrol seperti khamir. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan khamir *Aureobasidium pullulans* Dmg 11 DEP, *Rhodotorulla minuta* Dmg 16 BE dan *Candida tropicalis* Lm 13 BE dalam menekan *Colletotrichum* sp. penyebab penyakit antraknosa pada buah alpukat. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap terdiri dari lima perlakuan dan empat ulangan. Perlakuan tersebut adalah khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *R. minuta* Dmg 16 BE, *C. tropicalis* Lm 13 BE, fungisida mancozeb serta kontrol. Pengujian dilakukan secara *in-vitro* dengan uji *dual culture* dan *double dish system*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga khamir yang diuji mampu menekan pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. sebesar 19,9% – 56,10% pada *dual culture* dan sebesar 15,56% – 26,08% pada *double dish system*. Perlakuan khamir menyebabkan hifa *Colletotrichum* sp. menjadi abnormal yaitu hifa membengkak, mengeriting, menggulung, dan lisis. Khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP menunjukkan hasil penekanan tertinggi dengan kategori tingkat aktivitas antijamur kuat pada uji *dual culture* dan moderat pada uji *double dish system*. Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa ketiga khamir yang diuji mampu menekan *Colletotrichum* sp. penyebab penyakit antraknosa pada buah alpukat.

Kata Kunci: *Agens biokontrol*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida tropicalis*, *Double dish system*, *Rhodotorulla minuta*.

PENDAHULUAN

Buah alpukat (*Persea americana* Mill.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang diminati masyarakat. Buah ini memiliki kandungan

nutrisi seperti protein, lemak, vitamin A, E, dan C, serta mineral seperti Fe, Na, K, dan P (Marsigit dkk., 2016). Buah alpukat dapat dikonsumsi dalam bentuk segar maupun olahan.

Produksi buah alpukat mengalami peningkatan sebesar 42% dari tahun 2020 sampai 2022, produksi buah alpukat pada tahun 2020 sebesar 609.049 ton, sedangkan pada tahun 2022 produksinya mencapai 865.780 ton (Badan Pusat Statistik, 2023). Peningkatan produksi buah alpukat harus diikuti dengan penanganan pascapanen yang tepat terhadap berbagai faktor penyebab kerusakan buah tersebut. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan kerusakan pada buah alpukat pascapanen di antaranya adalah infeksi patogen penyebab penyakit antraknosa.

Antraknosa merupakan penyakit utama pada buah alpukat. Penyakit ini disebabkan oleh jamur *Colletotrichum* sp. Gejala antraknosa yang ditimbulkan oleh jamur *Colletotrichum* sp. mula-mula berupa bercak berwarna coklat gelap yang lama-kelamaan akan menyebar luas dan membentuk cekungan pada bagian tengah gejala sehingga menyebabkan busuk pada buah (Nelson, 2008). Gejala antraknosa dapat berkembang dengan cepat di tempat penyimpanan yang kurang baik seperti udara yang terlalu panas ataupun lembap. Hal tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada buah sehingga menurunkan kualitas (Nelson, 2008). Jamur *Colletotrichum* sp. masuk dan menginfeksi buah karena adanya luka pada buah, ataupun terjadi memar, lecet dan pecah karena jatuh saat proses panen.

Pengendalian penyakit pascapanen yang tepat dapat menunda atau menghambat infeksi patogen sehingga dapat mempertahankan kualitas buah dan produk pascapanen lainnya. Pengendalian penyakit antraknosa biasanya dilakukan dengan menggunakan fungisida sintetis. Namun, penggunaan fungisida sintetis dapat menimbulkan dampak negatif berupa residu yang ditimbulkannya pada produk pascapanen. Penggunaan agens biokontrol dapat menjadi salah satu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan. Salah satu mikroba yang berpotensi sebagai agens biokontrol adalah khamir.

Penggunaan khamir dalam mengendalikan penyakit memiliki beberapa kelebihan seperti khamir mudah didapatkan dari beberapa tempat, dapat meningkatkan umur simpan buah, dan dapat bertahan lama pada permukaan buah (El-Tarabily & Sivasithamparan, 2006; Jumawati dkk., 2018; Tofalo & Suzzi, 2015). Khamir juga dapat menjadi agens biokontrol yang potensial karena memiliki mekanisme pengendalian seperti kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis, parasitisme dan induksi resistensi (Mohamed & Saad, 2009). Potensi khamir sebagai agens biokontrol telah banyak dilaporkan untuk mengendalikan penyakit pascapanen. Beberapa spesies khamir dilaporkan dapat menekan penyakit antraknosa pada berbagai komoditas hortikultura.

Khamir *Aureobasidium pullulans* isolat Dmg 11 DEP, *Candida tropicalis* isolat Lm 13 BE, dan *Rhodotorula minuta* isolat Dmg 16 BE yang diisolasi dari daun dan buah cabai dilaporkan berpotensi sebagai agens biokontrol (Hartati dkk., 2015). Ketiga khamir tersebut telah diketahui memiliki kemampuan dalam

menekan *Colletotrichum acutatum* secara *in vitro* dan penyakit antraknosa pada buah cabai (Hartati dkk., 2015). Khamir *R. minuta*, *C. tropicalis*, dan *A. pullulans* telah dilaporkan mampu menekan beberapa patogen berturut-turut *Alternaria solani*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Diplodia natalensis*, *Phytophthora cactorum* dan *Botrytis cinerea* secara *in vitro* menggunakan metode *dual culture* dan *double dish system* (Setiawan *et al.*, 2020; Sriram & Poornachandra, 2013; Iqbal *et al.*, 2021). Akan tetapi, kemampuan ketiga khamir tersebut dalam menghambat *Colletotrichum* sp. penyebab penyakit antraknosa pada buah alpukat secara *in vitro* belum diketahui. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji kemampuan khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *R. minuta* Dmg 16 BE dan *C. tropicalis* Lm 13 BE dalam menghambat pertumbuhan *Colletotrichum* sp. penyebab penyakit antraknosa pada buah alpukat secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Percobaan

Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Proteksi Tanaman, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran dari bulan Maret sampai Juli 2023.

Rancangan Percobaan dan Perlakuan

Percobaan dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengujian dilakukan secara *in vitro* yang terdiri dari lima perlakuan dan empat ulangan dengan metode *dual culture* dan *double dish system*. Perlakuan tersebut terdiri dari khamir *R. minuta* isolat Dmg 16 BEP, *C. tropicalis* isolat Lm 13 BE, *A. pullulans* isolat Dmg 11 DEP, Fungisida mancozeb, dan kontrol (tanpa perlakuan khamir).

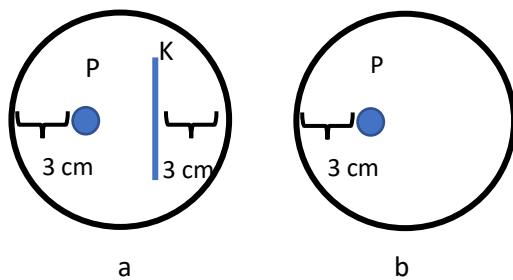
Persiapan Percobaan

Khamir yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium Bioteknologi Proteksi Tanaman. Khamir tersebut diperoleh dari tanaman cabai dan telah diidentifikasi oleh Sri Hartati pada penelitian sebelumnya, sedangkan *Colletotrichum* sp. diisolasi dari buah alpukat yang menunjukkan gejala antraknosa. Jamur *Colletotrichum* sp. yang didapatkan selanjutnya diuji patogenisitasnya pada buah alpukat sehat. Jamur *Colletotrichum* sp. yang bersifat patogenik digunakan untuk pengujian.

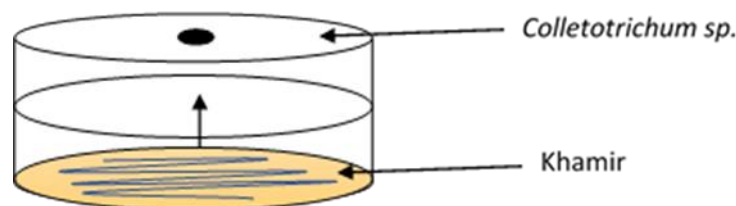
Peremajaan khamir dilakukan dengan menumbuhkan kembali khamir dalam media *Yeast Malt Extract Broth* (YMB), selanjutnya dishaker selama 24 jam. Khamir yang telah tumbuh diperbanyak dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dengan cara digoreskan. Perbanyakkan jamur *Colletotrichum* sp. dilakukan pada media PDA. Jamur ini diperbanyak dengan menumbuhkan potongan koloni dari biakan murni berumur 7 hari dengan ukuran 0,5 cm dan diinkubasi pada suhu ruang.

Uji Antagonisme Khamir terhadap *Colletotrichum* sp. dengan Metode *Dual Culture*

Khamir *C. tropicalis* isolat Lm 13 BE, *R. minuta* isolat Dmg 16 BE, dan *A. pullulans* isolat Dmg 11 DEP diuji kemampuan antagonismenya terhadap jamur *Colletotrichum* sp. menggunakan metode *dual culture*. Biakan khamir berumur 5 hari digoreskan sepanjang 3 cm pada media PDA dalam cawan Petri dengan jarak ± 3 cm dari tepi cawan Petri. Potongan koloni *Colletotrichum* sp. berdiameter 0,5 cm diletakkan pada permukaan media PDA dalam cawan Petri yang sama berhadapan dengan isolat khamir dengan jarak ± 3 cm dari tepi cawan Petri (Gambar 1).



Gambar 1. Skema uji antagonisme metode *dual culture* antara khamir (K) dan *Colletotrichum* sp. (P), (a) perlakuan khamir, (b) perlakuan kontrol



Gambar 2. Skema uji antagonisme metode *double dish system* antara khamir dengan *Colletotrichum* sp.

Uji Pengaruh Khamir terhadap Hifa *Colletotrichum* sp.

Pengujian pengaruh khamir terhadap hifa *Colletotrichum* sp. mengacu pada Hartati dkk. (2015). Pengujian tersebut dilakukan dengan cara menggoreskan khamir berumur 5 hari pada permukaan media *Water Agar* (WA) blok dan *Colletotrichum* sp. pada sisi lain dari permukaan media WA blok. Media WA blok yang telah berisi khamir dan *Colletotrichum* sp. disimpan di atas gelas objek steril dan ditutup dengan kaca penutup steril (Gambar 3), selanjutnya gelas objek ditempatkan pada kotak *thinwall* yang dialasi kertas tisu steril lembap.



Gambar 3. Skema uji pengaruh khamir (K) terhadap hifa *Colletotrichum* sp. (P)

Jamur *Colletotrichum* sp. diletakkan pada media PDA tanpa perlakuan khamir sebagai perlakuan kontrol dengan jarak yang sama dengan perlakuan lain. Perlakuan fungisida diberikan dengan mencampurkan fungisida mancozeb dengan konsentrasi 0,2 g/100 ml kedalam media PDA yang masih cair. Potongan koloni *Colletotrichum* sp. diletakkan pada permukaan media PDA yang telah dicampur dengan fungisida dengan jarak ± 3 cm dari tepi cawan Petri. Biakan uji selanjutnya diinkubasi pada suhu 28 °C hingga *Colletotrichum* sp. pada perlakuan kontrol tumbuh memenuhi cawan Petri (Adhi & Suganda, 2020).

Uji Antagonisme Khamir terhadap *Colletotrichum* sp. dengan Metode *Double Dish System*

Pengujian antagonisme juga dilakukan dengan metode *double dish system* untuk menguji aktivitas antijamur senyawa volatil khamir dengan mengikuti metode Huang *et al.* (2011). Pengujian tersebut dilakukan dengan cara menggores khamir sebanyak 1 lup ose pada cawan Petri yang berisi media PDA dan menumbuhkan koloni *Colletotrichum* sp. berdiameter 0,5 cm pada cawan Petri yang berbeda. Kedua cawan Petri tersebut ditangkupkan saling berhadapan dengan cawan Petri berisi khamir berada dibawah cawan Petri berisi *Colletotrichum* sp. (Gambar 2).

Variabel Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan pada uji antagonisme dengan metode *dual culture* dilakukan setiap hari hingga patogen pada perlakuan kontrol memenuhi cawan Petri. Variabel yang diamati yaitu jari-jari koloni *Colletotrichum* sp., selanjutnya dihitung tingkat hambatan relatifnya menggunakan rumus sebagai berikut (Chaurasia *et al.*, 2005):

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

Keterangan :

THR = Persentase tingkat hambatan relatif terhadap pertumbuhan patogen; R1 = Jari-jari patogen pada kontrol; R2 = Jari-jari patogen pada perlakuan.

Pengamatan pada uji antagonisme dengan metode *double dish system* dilakukan terhadap diameter koloni *Colletotrichum* sp.. Tingkat hambatan relatif pertumbuhan *Colletotrichum* sp. oleh khamir dihitung dengan rumus:

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

Keterangan:

THR = Persentase tingkat hambatan relatif terhadap pertumbuhan patogen; dk = Diameter patogen pada kontrol; dp = Diameter patogen pada perlakuan khamir

Pengaruh khamir terhadap hifa *Colletotrichum* sp. diketahui dengan melakukan pengamatan di bawah mikroskop. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya pada 3-6 hari inkubasi terhadap pengaruh khamir pada hifa *Colletotrichum* sp..

Nilai penghambatan pada uji antagonisme dengan metode *dual culture* dan *double dish system* diklasifikasikan ke dalam kategori *Anti-Fungal Activity* (AFA) yang mengacu pada Mori *et al.* (1997) (Tabel 1).

Tabel 1. Klasifikasi tingkat *Anti-Fungal Activity* (AFA) berdasarkan Mori *et al.* (1997)

<i>Anti-Fungal Activity</i> (AFA) (%)	Tingkat aktivitas
AFA ≥ 75%	Sangat kuat
75% ≤ AFA < 50%	Kuat
50% ≤ AFA < 25%	Moderat
25% ≤ AFA < 0	Lemah
0	Tidak aktif

Tabel 2. Jari-jari koloni *Colletotrichum* sp. dan tingkat hambatan relatif oleh khamir pada uji antagonisme dengan metode *dual culture* pada 8 HSP

Perlakuan	Jari-jari koloni <i>Colletotrichum</i> sp. (cm) ± SD	Tingkat hambatan relatif <i>Colletotrichum</i> sp. (%)	<i>Anti-Fungal Activity</i> (AFA)
<i>A. pullulans</i> Dmg 11 DEP	2,2 ± 0,56 b	56,1	Kuat
<i>R. minuta</i> Dmg 16 BE	3,4 ± 1,43 c	30,9	Moderat
<i>Ca. tropicalis</i> Lm 13 BE	3,9 ± 0,67 cd	19,9	Lemah
Fungisida (mancozeb)	0,0 ± 0,00 a	100	Sangat kuat
Kontrol	4,9 ± 0,51 d	-	-

Keterangan: Angka rata-rata pada perlakuan dalam kolom yang sama yang ditandai dengan huruf sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%. HSP: Hari Setelah Perlakuan. SD : Standar Deviasi. Kriteria AFA menurut Mori *et al.* (1997).

Tingkat aktivitas antijamur dari ketiga khamir yang diuji dengan metode *dual culture* yaitu *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *R. minuta* Dmg 16 BEP, dan *C. tropicalis* Lm 13 BE, berturut-turut memiliki kategori penghambatan kuat, moderat, dan lemah terhadap pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum* sp. (Tabel 2). Adanya hambatan pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. oleh ketiga khamir yang diuji tersebut diduga disebabkan oleh mekanisme antibiosis dan kompetisi ruang dan nutrisi yang dihasilkan oleh khamir. Khamir antagonis menghasilkan mekanisme antibiosis dengan menghasilkan senyawa metabolit seperti enzim, toksin, dan senyawa volatil (Freimoser, 2019). Produksi enzim seperti glukukanase, kitinase, dan proteinase dapat menekan pertumbuhan jamur

Data yang diperoleh diuji normalitasnya, selanjutnya dianalisis menggunakan analisis ragam (Anova) menggunakan program SPSS versi 26.0, dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan Khamir dalam Menghambat Pertumbuhan *Colletotrichum* sp. dengan Metode *Dual Culture*

Hasil uji antagonisme khamir terhadap *Colletotrichum* sp. dengan metode *dual culture* menunjukkan bahwa ketiga khamir yang diuji dapat menghambat pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. (Tabel 2). Berdasarkan pengamatan diketahui bahwa penghambatan pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum* sp. oleh khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *R. minuta* Dmg 16 BE, dan *C. tropicalis* Lm 13 BE terjadi pada hari ke- 4 hingga hari ke-7 setelah perlakuan. Perlakuan ketiga khamir yang diuji menyebabkan penghambatan pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. berkisar antara 19,9% - 56,1% (Tabel 2). Penghambatan pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp. ini menunjukkan adanya aktivitas antagonisme yang diakibatkan oleh ketiga khamir yang diuji serta perlakuan fungisida mancozeb. Tingkat hambatan tertinggi terhadap jamur *Colletotrichum* sp. dihasilkan oleh perlakuan khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP.

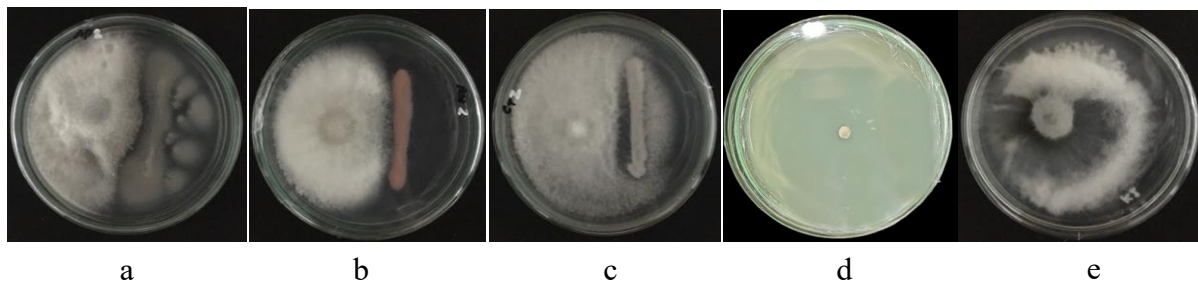
Colletotrichum sp. dan dapat mendegradasi dinding sel jamur patogen (Sharma, 2009; Ferraz *et al.*, 2016; Urbina *et al.*, 2016; Pinto *et al.*, 2018; Podgórska-Kryszczuk, 2023). Khamir *Aureobasidium*, *Candida*, dan *Rhodotorula* telah dilaporkan mampu menghasilkan enzim, toksin, dan senyawa volatil yang berperan dalam mekanisme antibiosis (Prasongsuk *et al.*, 2018; Di Francesco *et al.*, 2020; Cai *et al.*, 2023).

Khamir *A. pullulans* dilaporkan mampu menghasilkan enzim kitinase, β-1,3-glukanase, dan protease, serta toksin sehingga khamir ini dianggap sebagai agens biokontrol yang sangat baik (Freimoser *et al.*, 2019; Di Francesco *et al.*, 2020; Podgórska-Kryszczuk, 2023). Khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP dalam penelitian ini juga menunjukkan efek

penghambatan tertinggi terhadap pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. dibandingkan dengan dua spesies khamir lainnya (Tabel 2). Khamir *A. pullulans* juga dilaporkan mampu menghasilkan enzim amilase, proteinase, lipase, selulase, xilanase, mannanase, transferase, pullulan, dan siderofor (Wang *et al.*, 2022). Agirman & Erten (2020) melaporkan bahwa khamir *A. pullulans* mampu menghambat pertumbuhan koloni *Penicillium digitatum* DSM2750 sebesar 74,7% secara *in vitro* menggunakan metode *dual culture*. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa *A. pullulans* Dmg 11 DEP menyebabkan penghambatan tertinggi terhadap pertumbuhan koloni *Sclerotium rolfsii* dengan metode *dual culture* (Hartati dkk., 2024).

Khamir antagonis juga mampu beradaptasi dan tumbuh lebih cepat dibandingkan patogen. Hal ini terjadi karena khamir antagonis memiliki mekanisme persaingan ruang dan nutrisi (Sharma, 2009). Hasil

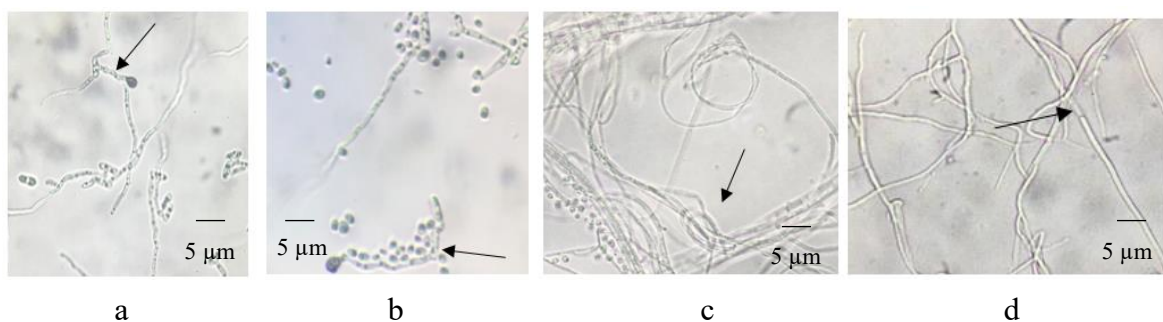
pengamatan koloni jamur *Colletotrichum* sp. yang diberi perlakuan khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *R. minuta* Dmg 16 BEP, dan *C. tropicalis* Lm 13 BE pada uji *dual culture* menunjukkan penipisan koloni *Colletotrichum* sp. yang berhadapan dengan khamir (Gambar 4). Hal ini terjadi karena kompetisi nutrisi dan toksin yang dihasilkan oleh khamir (Muhibuddin *et al.*, 2018). Hasil uji *dual culture* juga menunjukkan bahwa pada 8 HSP pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. melampaui koloni khamir pada perlakuan *C. tropicalis* Lm 13 BE (Gambar 4c). Kondisi ini diduga karena khamir *C. tropicalis* Lm 13 BE bersifat fungistatik yaitu mampu menghambat pertumbuhan jamur namun tidak mematikannya. Senyawa metabolit yang dihasilkan oleh khamir seperti senyawa volatil, siderophores atau senyawa toksik lainnya dapat menyebabkan efek fungistatik (Haggag & Mohamed, 2007; Don *et al.*, 2021; Diaz *et al.*, 2020).



Gambar 4. Pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum* sp. dengan perlakuan khamir menggunakan metode *dual culture* pada 8 HSP (a) *A. pullulans* Dmg 11 DEP, (b) *R. minuta* Dmg 16 BE, (c) *C. tropicalis* Lm 13 BE, (d) Fungisida, dan (e) Kontrol.

Hasil pengamatan pengaruh khamir terhadap hifa *Colletotrichum* sp. menunjukkan bahwa khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *C. tropicalis* Lm 13 BE, dan *R. minuta* Dmg 16 BE menempel pada hifa jamur *Colletotrichum* sp. (Gambar 5). Khamir yang menempel pada hifa *Colletotrichum* sp. mengakibatkan kerusakan dan pertumbuhan abnormal hifa tersebut. Khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP mengakibatkan hifa *Colletotrichum* sp. membengkak dan mengeriting (Gambar 5a). Perlakuan *R. minuta* Dmg 16 BE menyebabkan hifa *Colletotrichum* sp.

mengeriting (Gambar 5b) dan pada perlakuan *C. tropicalis* Lm 13 BE hifa membengkak dan menggulung (Gambar 5c). Menurut Zhang (2020) menempelnya khamir terhadap hifa patogen dapat menghancurkan atau melisis dinding sel jamur patogen dan menyebabkan hifa abnormal. Pertumbuhan hifa abnormal seperti pembengkakan, pemendekkan, serta lisis dapat diakibatkan oleh adanya produksi senyawa metabolit yang bersifat toksik dan enzim oleh khamir (Zhang, 2020).



Gambar 5. Kondisi hifa jamur *Colletotrichum* sp. pada perlakuan khamir, tanda panah pada gambar menunjukkan (a) hifa membengkak dan mengeriting pada perlakuan *A. pullulans* Dmg 11 DEP, (b) hifa mengeriting pada perlakuan *R. minuta* Dmg 16 BE, (c) hifa membengkak dan menggulung pada perlakuan *C. tropicalis* Lm 13 BE, (d) hifa normal pada kontrol (perbesaran 400x).

Kemampuan Khamir dalam Menghambat Pertumbuhan *Colletotrichum* sp. dengan Metode *Double Dish System*

Uji antagonisme khamir dengan metode *double dish system* terhadap *Colletotrichum* sp. menunjukkan bahwa pertumbuhan *Colletotrichum* sp. terhambat oleh ketiga khamir yang diuji (Tabel 4). Kemampuan khamir dalam menekan pertumbuhan koloni jamur dengan metode *double dish system* menunjukkan bahwa khamir tersebut mampu menghasilkan senyawa volatil yang berperan sebagai antijamur. Senyawa volatil yang dihasilkan oleh ketiga khamir yang diuji dapat menekan pertumbuhan *Colletotrichum* sp. dengan daya hambat berkisar antara 15,56% - 26,08% pada hari ke-8 setelah perlakuan (HSP) (Tabel 3).

Perlakuan khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *C. tropicalis* Lm 13 BE, dan *R. minuta* Dmg 16 BE

menyebabkan pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. yang berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 3). Hartati dkk. (2024) melaporkan bahwa senyawa volatil khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *C. tropicalis* Lm 13 BE, dan *R. minuta* Dmg 16 BE mampu menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* melalui metode *double dish system*. Setiawan *et al.* (2020) juga melaporkan bahwa senyawa volatil khamir *R. minuta* Dmg 16 DEP mampu menghambat pertumbuhan *A. solani* melalui metode *double dish system*. Iqbal *et al.* (2021) melaporkan bahwa senyawa volatil khamir *A. pullulans* mampu menekan pertumbuhan *Phytophthora cactorum* penyebab busuk batang, busuk akar, dan *grey mold* pada tanaman stroberi dengan metode *double dish system* sebesar 44%.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan khamir terhadap pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. dan daya hambatnya pada uji antagonisme dengan metode *double dish system* pada 8 HSP

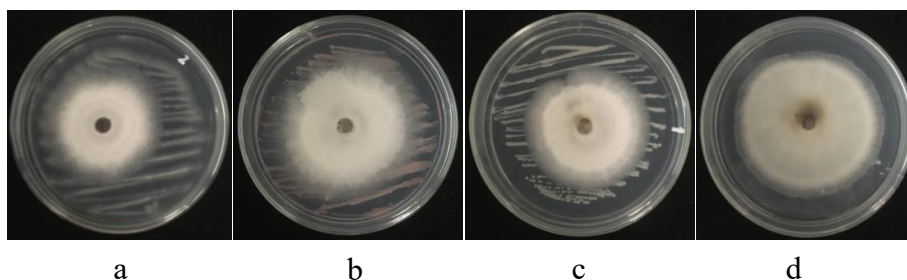
Perlakuan	Diameter koloni <i>Colletotrichum</i> sp. (cm) ± SD	Penghambatan pertumbuhan <i>Colletotrichum</i> sp. (%)	<i>Anti-Fungal Activity</i> (AFA)
<i>A. pullulans</i> Dmg 11 DEP	5,0 ± 0,29 a	26,08	Moderat
<i>R. minuta</i> Dmg 16 BE	6,1 ± 0,50 a	15,56	Lemah
<i>Ca. tropicalis</i> Lm 13 BE	4,9 ± 0,13 a	24,90	Lemah
Kontrol	6,8 ± 0,30 b	-	

Keterangan: Angka rata-rata perlakuan dalam kolom yang sama yang ditandai dengan huruf sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji jarak Berganda Duncan pada taraf nyata 5%, SD: Standar Deviasi, HSP: Hari Setelah Perlakuan. Kriteria AFA menurut Mori *et al.* (1997).

Berdasarkan kategori tingkat aktivitas antijamur Mori *et al.* (1997) diketahui bahwa hanya senyawa volatil *A. pullulans* Dmg 11 DEP yang memiliki aktivitas penghambatan moderat terhadap pertumbuhan koloni jamur *Colletotrichum* sp. (Tabel 3). Senyawa volatil merupakan senyawa yang mudah menguap seperti senyawa campuran alkohol, ester, terpenes, ketones, aldehid dan hidrokarbon aromatik. Menurut Dalilla *et al.* (2015) senyawa volatil yang dihasilkan oleh khamir pada umumnya berasal dari golongan alkohol. Senyawa volatil dari golongan alkohol dapat menyebabkan terjadinya denaturasi protein serta memengaruhi kestabilan lapisan lipid pada membran plasma jamur, sehingga menyebabkan pertumbuhan jamur menjadi abnormal (Dalilla *et al.*, 2015). Khamir *Aureobasidium* sp. dilaporkan mampu

menghasilkan senyawa volatil berupa alkohol, etanol, 3-metil-1-butanol, dan 2-metil-1-propanol yang dapat menghambat pertumbuhan patogen (Di Francesco *et al.*, 2020; Don *et al.*, 2021). Don *et al.* (2021) melaporkan bahwa khamir *A. pullulans* dapat menghasilkan senyawa berupa ethanol, 2-methyl-1-propanol, 3-methyl-1butanol dan 2-phenylethanol yang dapat merusak jamur *B. cinerea* dan *Alternaria alternata*. Produksi dan aktivitas senyawa volatil dapat dipengaruhi oleh jenis media, kondisi biakan dan kerapatan sel (Choinska *et al.*, 2020).

Senyawa volatil yang dihasilkan oleh khamir uji selain mampu menghambat pertumbuhan koloni juga menyebabkan warna koloni *Colletotrichum* sp. menjadi lebih muda (Gambar 6).



Gambar 6. Koloni jamur *Colletotrichum* sp. pada pengujian antagonisme khamir dengan metode *double dish system* pada 12 hsp (a) *A. pullulans* Dmg 11 DEP, (b) *R. minuta* Dmg 16 BE, (c) *C. tropicalis* Lm 13 BE dan (d) kontrol.

Hartati dkk. (2022) melaporkan bahwa perlakuan senyawa volatil khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP dan *C. tropicalis* Lm 13 BE menyebabkan perubahan warna koloni pada jamur *Penicillium digitatum* menjadi lebih pucat dan pada perlakuan *R. minuta* Dmg 16 BE koloni berwarna hijau pada bagian tengah dan putih pada bagian luar. Indratni dkk. (2016) juga melaporkan bahwa senyawa volatil khamir *Debaryomyces hansenii* menyebabkan perubahan warna koloni pada jamur *Colletotrichum gloeosporioides* setelah perlakuan. Pemudaran warna koloni ini diduga karena kondisi stress yang diakibatkan oleh emisi senyawa volatil yang memiliki aktivitas antijamur (Gomez, 2021). Senyawa volatil yang bersifat antijamur dapat menimbulkan stress oksidatif dan kebocoran elektrolit pada sel patogen, sehingga menyebabkan disfungsi membran sel dan viabilitas sel (Don *et al.*, 2021). Hal tersebut dapat menimbulkan kerusakan pada sel dan kehilangan kemampuan untuk tumbuh dengan normal (Don *et al.*, 2021) seperti yang terlihat pada hasil penelitian ini.

KESIMPULAN

Khamir *A. pullulans* Dmg 11 DEP, *R. minuta* Dmg 16 BEP, dan *C. tropicalis* Lm 13 BE mampu menghambat pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. penyebab penyakit antraknosa pada buah alpukat secara in vitro. Ketiga khamir yang diuji menyebabkan hifa *Colletotrichum* sp. menjadi abnormal yaitu membengkak, mengeriting, dan menggulung. Penghambatan pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. oleh khamir melalui mekanisme antibiosis di antaranya oleh senyawa volatil antijamur. Penghambatan pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp. tertinggi terjadi pada perlakuan *A. pullulans* Dmg 11 DEP yang termasuk dalam kategori kuat dan moderat.

DAFTAR PUSTAKA

Adhi, SR, & Suganda T. 2020. Potensi jamur rizosfer bawang merah dalam menekan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* penyebab penyakit busuk umbi bawang merah. Jurnal Kultivasi. 19(1): 1015-1022. DOI: 10.24198/kultivasi.v19i1.22877

Agirman, B, & Erten H. 2020. Biocontrol ability and action mechanisms of *Aureobasidium pullulans* GE17 and *Meyerozyma guilliermondii* KL3 against *Penicillium digitatum* DSM2750 and *Penicillium expansum* DSM62841 causing postharvest diseases. Yeast. 37(9-10): 437-448. DOI: <https://doi.org/10.1002/yea.3501>

[BPS] Badan Pusat Statistik. 2023. Statistik Hortikultura 2022. Diakses melalui <https://www.bps.go.id/id/publication/2023/06/09/03847c5743d8b6cd3f08ab76/statistik-hortikultura-2022.html> pada 1 Juli 2023.

Cai, T, Shi P, Zhang S, Xiang W, Liu J, Lin Z, & Tang J. 2023. Inhibition of perilla frutescens essential oil on pellicle formation of *Candida tropicalis* and *Pichia kluyveri* and its effect on volatile

compounds in sichuan pickles. Foods. 12(8): 1593. DOI: 10.3390/foods12081593

Chaurasia, B, Pandey A, Palni LMS, Trivedi P, Kumar B, & Colvin N. 2005. Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause structural deformations in pathogenic fungi in vitro. Microbiological research. 160(1): 75-81.

Choińska, R, Piasecka-Jóźwiak 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.

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>

Díaz, MA, Pereyra MM, Picón-Montenegro E, Meinhardt F, & Dib JR. 2020. Review: Killer yeasts for the biological control of postharvest fungal crop diseases. Microorganisms. 8(1680): 1-14. DOI: 10.3390/microorganisms8111680

Di Francesco, A, Zajc J, Gunde-Cimerman N, Aprea E, Gasperi F, Placi N, Caruso F, & Baraldi E. 2020. Bioactivity of volatile organic compounds by *Aureobasidium* species against gray mold of tomato and table grape. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 36(11): 171. DOI: 10.1007/s11274-020-02947-7.

Don, SMY, Schmidtke LM, Gambetta JM, & Steel CC. 2021. Volatile organic compounds produced by *Aureobasidium pullulans* induce electrolyte loss and oxidative stress in *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata*. Research in Microbiology. 172(1): 103788. DOI: 10.1016/j.resmic.2020.10.003

El-Tarabily, KA, & Sivasithamparan K. 2006. Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. Mycoscience. 47(1): 25-35.

Ferraz, LP, da Cunha T, da Silva AC, & Kupper KC. 2016. Biocontrol ability and putative mode of action of yeasts against *Geotrichum citri aurantii* in citrus fruit. Microbiological Research. 4(12): 1-28. DOI: 10.1016/j.micres.2016.04.012

Freimoser, FM, Rueda-Mejia MP, Tilocca B, & Migheli Q. 2019. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 35: 154. DOI: 10.1007/s11274-019-2728-4

- Gómez, ÁG, Ramos FA, & Sinuco DC. 2021. Screening of volatile organic compounds from actinobacteria for the control of phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides*. *Biocontrol Science and Technology*. 31(10): 1067-1079.
- Haggag, WM, & Mohamed HALA. 2007. Biotechnological Aspects of Microorganisms Used in Plant Biological Control. *American Eurasian journal of sustainable agriculture*. 1(1): 7-12.
- Hartati, S, Wiyono S, Hidayat SH, & Sinaga MS. 2015. Mode of action of yeast-like fungus *aureobasidium pullulans* in controlling anthracnose of postharvest chili. *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR)*. 20(2): 253–263.
- Hartati, S, Utari E, Rasiska S, & Istifadah N. 2022. Capability of Three Yeast Species in Suppressing Green Mold (*Penicillium digitatum*) on Siam Citrus Fruit (*Citrus nobilis*). *Cropsaver-Journal of Plant Protection*. 5(2): 61-70.
- Hartati, S, Setiani C, Meliansyah R, Yulia E, Mayanti T. 2024. The Ability of Three Species of Yeast in Inhibiting the in vitro Growth of *Sclerotium rolfsii* Sacc., the cause of damping off on soybean plants (*Glycine max* L.). *Cropsaver-Journal of Plant Protection*. 7(2): 78-88. DOI: <https://doi.org/10.24198/cropsaver.v5i2.58059>
- Huang, R, Li GQ, Zhang J, Yang L, Che HJ, Jiang DH, & Huang HC. 2011. Disease control and pest management control of postharvest *botrytis* fruit rot of strawberry by volatile organic compounds of *Candida intermedia*. *Phytopathology*. 101: 859-869.
- Indratmi, D, Sastrahidayat IR, Abadi AL, & Djauhari S. 2016. Antagonist effect of volatile organic compounds produced by *Debaryomyces hansenii* on *Colletotrichum gloeosporioides* as anthracnose reason of tropical apples. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*. 9(4): 133-140.
- Iqbal, M, Jamshaid M, Zahid MA, Andreasson E, Vetukuri RR, & Stenberg JA. 2021. Biological control of strawberry crown rot, root rot and grey mould by the beneficial fungus *Aureobasidium pullulans*. *Bio Control*. 66(4): 535-545.
- Jumawati, R, Poerwanto R, Wiyono S, & Suketi K. 2018. Pengaruh Beberapa Khamir Antagonis terhadap Penyakit Antraknosa dan Umur Simpan pada Buah Mangga. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 14(5), 153–158.
- Lestari, MD, Suketi K, Widodo WD, & Wiyono S. 2020. Pemanfaatan khamir antagonis untuk memperpanjang umur simpan dan mengendalikan penyakit antraknosa buah pepaya. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*. 48(3): 300–306.
- Marsigit, W, Astuti M, Anggrahini S, & Naruki S. 2016. Kandungan gizi, rendemen tepung, dan kadar fenol total alpukat (*Persea americana*, Mill) varietas ijo panjang dan ijo bundar. *Jurnal Agritech*. 36(01): 48–55.
- Mori, M, Aoyama M, Doi S, Kanetosshi A, & Hayashi T. 1997. Antifungal activity of bark extracts of deciduous trees. *European Journal of Wood and Wood Products*. 55(2-4): 130-132.
- Mohamed, H, & Saad A. 2009. The biocontrol of postharvest disease (*Botryodiplodia theobromae*) of guava (*Psidium guajava* L.) by the application of yeast strains. *Postharvest Biology and Technology*. 53(3): 123–130.
- Muhibuddin, A, Fadhilah S, Sektiono AW, Qomariyah UKN, Faizah M, Susanti A, & Nurhatika S. 2018. Yeast from epiphyte of avocados to control *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease. *Saintekbu*. 10(2): 52-60.
- Nelson, S. 2008. Anthracnose of Avocado. *Plant Disease*. 58:1–6. <http://www.ctahr.hawaii.edu/freepubs>.
- Pinto, C, Custódio V, Nunes M, Songy A, Rabenoelina F, Courteaux B, & Fontaine F. 2018. Understand the potential role of *Aureobasidium pullulans*, a resident microorganism from grapevine, to prevent the infection caused by *Diplodia seriata*. *Frontiers in Microbiology*. 9: 3047. DOI: 10.3389/fmicb.2018.03047
- Podgórska-Kryszczuk, I. 2023. Biological control of *Aspergillus flavus* by the yeast *Aureobasidium pullulans* in vitro and on tomato fruit. *Plants*. 12(2): 236. DOI: 10.3390/plants12020236
- Prasongsuk, S, Lotrakul P, Ali I, Bankeeree W, & Punnapayak H. 2018. The current status of *Aureobasidium pullulans* in biotechnology. *Folia Microbiologica*. 63: 129-140. DOI: 10.1007/s12223-017-0561-4
- Setiawan, W, Wiyono S, Tondok ET, Kanti A, & Sudiana IM. 2020. *In vitro* Study of Action Mode of *Rhodotorula minuta* Dmg 16 BEP as Biocontrol Agents on *Alternaria solani*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 24: 28-33.
- Sharma, RR, Singh D, & Singh R. 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biological Control*. 50(3): 205–221.
- Sriram, S, and SR Poornachanddra. 2013. Biological control of postharvest mango fruit rot caused by *Colletotrichum gloeosporioides* and *Diplodia natalensi* with *Candida tropicalis* and *Alcaligenes faecalis*. *Indian Phytopathology*. 66(4): 375-380.
- Tofalo, R, & Suzzi G. 2015. Yeasts. *Encyclopedia of Food and Health*. 593–599.
- Urbina, CT, Prieto VG, Lopez CG, Albores FV, Reyes DB, Muniz CA, & Barrios DO. 2016. Purification and characterization of b-1,3-glucanase from *Candida oleophila* for the biocontrol of *Penicillium expansum*. *Research*

- & Reviews: Journal of Botanical Sciences. 5 (1): 38-45.
- Wang, P, Jia SL, Liu GI, Chi Z, & Chi ZM. 2022. *Aureobasidium* spp. and their applications in biotechnology. Process Biochemistry. 116: 72-83.
- Zhang, X, LiB, Zhang Z, Chen Y, & Tian S. 2020. Antagonistic yeasts: A promising alternative to chemical fungicides for controlling postharvest decay of fruit. Journal of fungi. 6(3): 158.

