

POTENSI KHAMIR UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT ANTRAKNOSA (*Colletotrichum acutatum* L.) PADA TANAMAN CABAI

(*Potency of Endophytic Fungi and Yeast as Biological Control to Pepper Anthracnose*
(*Colletotrichum acutatum* L.)

Weni Wilia¹⁾, Widodo²⁾, dan Suryo Wiyono²⁾

¹⁾ Lecturer at Agriculture Faculty, The University of Jambi, Mandalo Darat, Jambi.
Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor , Bogor, Jawa Barat
email: whenny_lia@yahoo.com

ABSTRACT

Anthracnose caused by *Colletotrichum actuate* is one of devastated disease of pepper in Indonesia that has great impact on yield loss. Most of farmers use fungicides as controller for this disease. Application of biocontrol agents could be one ways to control anthracnose. Beneficial microorganism such as yeast is able to be promising biocontrol agents of some pathogens, including *Colletotrichum*. The aim of this research was to isolate yeast from fruit and branch as biocontrol agents for pepper anthracnose. The research results 9 isolates of yeasts that were further tested against anthracnose. Isolates of yeasts were identified as *Cryptococcus terreus*, *C. abides* var. *aerius* IPB 1, and *C. abides* var. *aerius* IPB 2, *Candida Edam*. Other isolates coded as CBN, CBM, CBK, CBF, and CBR were not identified yet. Five of potential yeasts, *Cryptococcus terreus*, *C. albidus* var *aerius* IPB 1, *C. albidus* var *aerius* IPB 2, *Candida edax*, and unidentified yeast CBN showed direct antagonist mechanism. Among of potential yeasts isolated, CBN showed ability to reduce incidence of disease up to of 87.50%.

Key word: Pepper, antrachnose, *C. acutatum*, yeast

PENDAHULUAN

Tanaman cabai (*Capsicum annuum* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang mempunyai peranan penting di Indonesia. Dalam usaha budidaya tanaman cabai banyak kendala yang dihadapi terutama gangguan dari Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT), dan salah satu penyakit utama yang menyerang tanaman cabai yaitu penyakit antraknosa (*C. acutatum*).

Penyakit antraknosa merupakan kendala biotik paling besar dalam usaha tani cabai merah, karena menurunkan hasil cabai hingga 75% (Suryaningsih *et al.* 1996). Berbagai upaya pengendalian dilakukan untuk mengendalikan penyakit antraknosa namun masih kurang optimal menekan penyakit dan hasil yang diperoleh masih sangat beragam dan belum memuaskan baik secara teknis maupun ekonomis. Salah satu upaya pengendalian yang dikembangkan saat ini yaitu pengendalian hayati dengan penggunaan agens biokontrol.

Teknik pengendalian ini berkembang pesat karena berbasis sumber daya hayati nasional, dan ramah lingkungan.

Beberapa pengendalian hayati yang sudah dikembangkan yaitu Penggunaan *C. gloesporioides* avirulen (Istikorini 2000). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) merupakan campuran *Pseudomonas fluorescens* PG 01 dan *Bacillus polymixa* BG 25 (Sutariati 2006). Khamir *Pichia guilliermondii*, *Candida musae*, *Issatchenka orientalis*, dan *Candida quercitrusa* (Chanchaichaovivat *et al.* 2007).

Cendawan penyebab penyakit antraknosa bersifat laten dan sistemik. Sulitnya pengendalian terhadap patogen ini karena hifa yang menginfeksi terlindung di dalam kutikula tanaman inang (Walker 1957), sehingga diperlukan agens pengendali yang berada dalam relung ekologi yang sama, agens tersebut dapat diperoleh dari spesies yang tumbuh secara endofitik dalam jaringan tanaman (Parke 1991 *dalam* Narisawa *et al.* 2000).

Potensi penggunaan agens antagonis yang berpotensi dalam pengendalian penyakit antraknosa cabai yaitu *yeasts* (khamir). Kelebihan khamir adalah bioekologinya yang lebih adaptif pada permukaan tanaman yang kering, tahan terhadap terpaan sinar matahari yang kuat, fluktuasi cuaca yang tajam, dan miskin nutrisi (El-Tarably & Sivasithamparam 2006). Khamir mudah diperbanyak dalam waktu yang cepat, umumnya tidak menghasilkan mikotoksin seperti cendawan lain atau antibiotik seperti bakteri (Droby & Chalutz 1994), sehingga untuk aplikasi pada produk yang dikonsumsi segar, secara sosial khamir lebih bisa diterima (Spadaro *et al.* 2002).

Penelitian pengendalian hayati antraknosa khususnya yang disebabkan oleh *C. acutatum* menggunakan khamir sampai saat ini di Indonesia masih sedikit dilakukan. Berdasarkan permasalahan tersebut penelitian penggunaan khamir untuk pengendalian antraknosa pada cabai yang disebabkan *C. acutatum* sangat diperlukan.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh khamir pada permukaan buah yang potensial sebagai agens antagonis *C. acutatum* penyebab penyakit antraknosa pada cabai.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikologi Tumbuhan Departemen Proteksi Tanaman, Institut Pertanian Bogor.

Isolasi khamir

Metode isolasi merujuk pada Assis dan Mariano (1999). Daun dan buah yang sehat ditimbang sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam 100 ml air steril kemudian digojok pada *rotary shaker* selama 15 menit dengan kecepatan 120 rpm. Selanjutnya dilakukan seri pengenceran sampai 10^{-7} , dengan cara yaitu 1 ml suspensi dimasukkan ke dalam 9 ml Martin Agar pada cawan petri lalu diinkubasi dan khamir yang tumbuh dimurnikan pada media PDA. Menurut Tabuchi *et al.* (1981), khamir yang berhasil diisolasi lalu diamati dibawah mikroskop Cahaya pada perbesaran 400-500 kali. Sel yang terlihat dibawah mikroskop dianggap berukuran 5-12 mikrometer merupakan sel khamir.

Pengujian potensi khamir dalam menekan kejadian penyakit

Pengujian *in vivo* khamir mengacu pada metode Dan *et al.* (2003). Buah cabai disterilisasi pada NaCl 0,5% selama 5 menit dan dicuci pada air steril, selanjutnya permukaan buah disterilisasi dengan etanol 70%. Perlakuan terdiri dari isolat khamir hasil eksplorasi dan isolat yang telah ada, kontrol negatif (air) dan pembanding yaitu fungisida berbahan aktif mancozeb. Setiap perlakuan diulang 4 kali, masing masing ulangan terdiri dari 5 buah cabai dan dua titik inokulasi. 20 ml suspensi 10^7 cells ml⁻¹ dan 0,02% tween 80% (v/v) disemprotkan pada buah cabai. Setelah 2 jam diteteskan dengan mikropipet cendawan antraknosa sebanyak 20 μ l 5×10^5 konidia/ml dan 0,02% tween 80% (v/v) pada permukaan buah lalu diinkubasi selama 5 hari. Aplikasi khamir juga dilakukan dengan cara pencelupan, dengan cara buah dicelupkan dalam suspensi khamir.

Buah cabai diletakkan dalam wadah tertutup pada kondisi lembab (RH 95%) dengan kondisi gelap pada suhu 28°C. Kejadian penyakit dihitung dengan persentase buah yang bergejala. Sedangkan keparahan penyakit ditentukan dari diameter bercak pada 3 dan 7 hari setelah inokulasi.

Pengamatan uji kejadian penyakit dilakukan pada buah cabai (10 hari setelah inokulasi). Persentase kejadian penyakit dihitung;

$$\text{Kejadian penyakit} = \frac{\text{banyak titik inokulasi yang bergejala}}{\text{Banyak buah yang diamati}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pemanfaatan Khamir untuk Mengendalikan Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai

Dari hasil isolasi didapatkan 5 isolat khamir yang potensial sebagai agens antagonis, selain itu terdapat 4 isolat khamir yang berasal dari koleksi klinik tanaman IPB.

Semua isolat khamir menunjukkan kemampuan penekanan penyakit secara nyata dibandingkan dengan tanpa perlakuan (air steril), kecuali isolat CBK. Selain itu khamir isolat CBN menunjukkan kejadian penyakitnya lebih rendah dan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan Mankozeb. Khamir *Cryptococcus terreus* A, *Candida edax*, dan *C. albidus* var *aerius* IPB 1 kejadian penyakitnya tidak berbeda nyata dengan perlakuan Mankozeb (Tabel 11). Hasil uji *in vivo* beberapa isolat khamir dengan *C. acutatum* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Uji *in vivo* beberapa isolat khamir dengan *C.acutatum* Uji *in vivo* beberapa isolat khamir dengan *C.acutatum*

Pengujian antibiosis antara khamir dengan cendawan *C.acutatum* menghasilkan *Cryptococcus terreus*, *C. albidus* var *aerius* IPB 1, *C. albidus* var *aerius* IPB 2, *Candida edax* dan isolat CBN mampu menghambat cendawan secara langsung dengan memperlihatkan zona hambatan terhadap *C. acutatum*. Zona hambatan yang dibentuk diduga karena adanya mekanisme enzimatik yang dihasilkan oleh khamir, terjadi kompetisi makanan, tempat hidup antara khamir dengan cendawan patogen. Chet & Henis (1975) mengatakan bahwa enzim yang dihasilkan oleh khamir mampu mendegradasi dinding sel patogen dengan merangsang hidrolisis kandungan kitin (poli β -1,4(acetamido-2-deoxy)-D-glucosida yang merupakan komponen terbesar penyusun dinding sel cendawan.

Sel khamir dapat menempel kuat pada miselia cendawan dan memproduksi enzim β -glukonase yang dapat melisis dinding sel cendawan patogen (Ray 2001). Aktivitas enzim β -1,2-glukanase dan ekto-kitinase khamir *Phichia membranefaciens* lebih tinggi dibandingkan *Cryptococcus albidus*, dan mempunyai kemampuan menempel pada sel cendawan patogen *Monilinia fructicola*, *Penicillium expansum*, dan *Rhizopus stolonifer* (Chan & Tian 2005). Selanjutnya penelitian yang dilakukan Raharjanti (2006) *Saccharomyces* sp. mampu melisis cendawan *Aspergillus parasiticus* dengan menghasilkan enzim β -glukanase.

Tabel 1 Pengaruh perlakuan khamir dengan aplikasi pencelupan terhadap kejadian penyakit pada buah cabai

Perlakuan	Kejadian penyakit (%) ¹⁾	Penekanan (%)
<i>Cryptococcus terreus A</i>	37,50±15,00 de	62,50
<i>C. albidus</i> var <i>aerius</i> IPB 1	42,50±9,57 de	57,50
<i>C. albidus</i> var <i>aerius</i> IPB 2	47,50±9,57 cd	52,50
<i>Candida edax</i>	37,50±22,17 de	62,50
CBN	12,50±9,57 f	87,50
CBM	70,00±14,14 b	30,00
CBK	82,50±5,00 ab	17,50
CBF	65,00±12,91 bc	35,00
CBR	50,00±14,14 cd	50,00
Mankozeb	27,50±9,57 ef	72,50
Air steril	100,00±0,00 a	0,00

¹⁾

- rataan ± standar deviasi

- angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap perlakuan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 5%

Khamir yang diaplikasikan melalui pencelupan buah menghasilkan penekanan penyakit yang tinggi yaitu 87,50%. Metode pencelupan mampu memberikan peluang bagi khamir untuk menginfeksi buah cabai sehingga penekanan terhadap infeksi *C. acutatum* lebih baik dibanding mankozeb. Buah cabai yang diinokulasikan dengan khamir menjadikan buah lebih tahan lama karena permukaannya dilapisi oleh khamir sehingga mampu menghambat infeksi patogen. Pelapisan buah dengan menggunakan agens antagonis dikenal dengan *bioedible coating*. Menurut Greener & Fennema (1989), pelapisan buah dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu pencelupan (*dip application*), penyemprotan (*spray application*), pembuihan (*foam application*) dan penetesan (*drip application*).

Kemampuan khamir dalam menekan kejadian penyakit diduga karena khamir mampu menghasilkan enzim yang berpotensi menghambat, menekan dan mampu merangsang beberapa jenis respon pertahanan inang. Enzim tersebut mampu mendegradasi dinding sel patogen. Jijakli & Lepoivre (1998) juga menunjukkan bahwa *P. anomala* strain K mampu menghasilkan enzim β 1,3-glukanase yang mampu menghancurkan dinding sel cendawan.

Menurut Chet dan Henis (1975) enzim ini mampu merangsang proses hidrolisis kandungan kitin (poli β -1,4-(acetamido-2-deoxy)-D-glucoside merupakan komponen terbesar penyusun dinding sel cendawan. Paster *et al.* (1993) mengatakan bahwa sel khamir dapat menghambat proliferasi cendawan. Hal ini didukung oleh Suzzi *et al.* (1995) yang melaporkan bahwa sel khamir pada mikrob lainnya memegang peranan penting dalam mendegradasi dinding sel dan spora cendawan.

Selain itu, mekanisme penghambatan cendawan oleh khamir bisa juga secara parasitisme. Potensi lain khamir sebagai agens pengendali hayati yaitu khamir tidak menghasilkan spora alergenik atau mikotoksin seperti cendawan miselia (Droby dan Chalutz 1994), sehingga memiliki sedikit resiko terhadap konsumen (Arras *et al.* 1999), selain itu

dapat tumbuh dengan cepat pada media yang murah, dan khamir dapat dihasilkan dalam jumlah yang besar (Druvefors, 2004).

Sel khamir juga mengandung vitamin, mineral, dan asam amino penting digunakan dalam makanan (Hussein *et al.* 1996). Dengan demikian secara sosial masyarakat lebih bisa menerima penggunaan khamir untuk pengolahan makanan. Sehingga perlakuan khamir untuk mengendalikan penyakit pada cabai mempunyai potensi yang besar untuk dikembangkan. Wisniewski *et al.* (1991) melaporkan bahwa *Pichia guilliermondii* mampu menghambat pertumbuhan *Botrytis cinerea*, dan juga mampu menghambat *Penicillium digitatum* pada buah anggur (Droby *et al.* 1997).

KESIMPULAN DAN SARAN

Khamir *Cryptococcus terreus*, *C. albidus* var *aerius* IPB 1, *C. albidus* var *aerius* IPB 2, *Candida edax*, dan isolat CBN dapat menekan penyakit antraknosa pada uji dengan buah petik. Penekanan tertinggi ditunjukkan oleh isolat CBN yaitu sebesar 87,50%.

Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengkaji dan mengetahui senyawa metabolik yang dikandung oleh khamir dalam menekan penyakit antraknosa.

DAFTAR PUSTAKA

- Arras, G., P. Nicolussi , C. Ligios. 1999. *Non-toxicity of some antifungal yeasts (Pichia guilliermondii, Rhodoturula glutinis, and Candida oleophila) in laboratory animals.* Ann. Microbiol Enzymol 49:125-131
- Assis SMP, R.L.R. Mariano. 1999. *Antagonism of Yeasts to Xanthomonas campestris pv. campestris on Cabbage phylloplane in Field.* Rev. Microbiol. Vol 30. hal 191-195.
- Chanchaichaovivat A, P. Ruenwongsa, B. Panijpan . 2007. *Screening and identification of yeasts strains from fruits and vegetables:potential for biological control of postharvest chili anthracnose Colletotrichum capsici.* Biological Control Vol 42. Hal : 326-335.
- Chan Z, Tian S. 2005. *Interaction of antagonistic yeasts postharvest pathogens of apple fruit and possible mode of action.* Postharvest Biology and Technology. 36: 215-223
- Chet I, Y. Henis. 1975. *Microbiology control of plant pathogen.* Adv. App. Microbiol 19:85-111
- Dan H, X. D. Zheng , Y.M. Yin , P. Sun , H.Y. Zhang . 2003. *Yeasts application for controlling apple postharvest diaseases associated with Pennicillium expansum* Bot. Bull. Acad. Sin . Vol. 44 : 211-216.

Druvefors U. A. 2004. *Yeast biocontrol of grain spoilage moulds: mode of action of Pichia anomala* [dissertation]. Department of Microbiology, Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala.

Droby S. E. Chalutz . 1994 . *Mode of action of biocontrol agents of postharvest disease. In: Wilson CL. Wisniewski ME (Eds.). Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables-Theory and Practice. CRC Press. Boca Raton FL. Hal 63-75*

El-tarabily . K. , A, K. Sivacithamparam. 2006. *Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. Mycoscience. Vol 47. hal : 25-35*

Greener I. K. O. Fennema. 1989. *Evaluation of Edible, Bilayer Films for Use as Moisture Barriers for Food. Journal of Food Science. Vol. 54: 6, pp. 1400-1406*

Hussein H.S, R.I. Mackie , N.R. Merchen , D.H. Baker , C.M. Parsons . 1996. *Effects of oleaginous yeast on growth performance, fatty acid composition of muscles, and energy utilization by poultry. Bioresour. Tech 55:125-130*

Istikorini Y. 2000. Pengimbasan ketahanan penyakit antraknosa pada cabai dengan *Colletotrichum gloeosporioides* avirulen. *Agrosains* 14 (3): 313-320

Jijakli HM, Lepoivre P. 1998. *Characterization of an Exo- β -1,3-Glucanase produced by Pichia anomala strain K, antagonist of Botrytis cinerea on apples. Phytopatology. 88:353-343*

Narisawa K, Ohki KT, Hashiba T. 2000. *Supression of Clubroot and Verticillium Yellows in Chinese Cabbage in the Field by the Root Endophytic Gungus, Heteroconium chaetospira. Plant Pathology 49: 141-146*

Paster N, Droby S, Chalutz E, Menasherov M, Ntzan R, Wilson CL. 1993. *Evauation of potential of the yeasts Pichia guilliermondii as a biocontrol agent against A. falfvus and fungi of stored soya beans. Mycol Res 97 (10):1201-1206*

Suryaningsih, E. R. Sutarya, dan A.S. Duriat,. 1996. *Penyakit tanaman cabai merah dan pengendaliannya dalam Duriat, AS. et al. Teknologi produksi tanaman cabai. Balitsa Lembang. Bandung*

Sutariati G.A.K. 2006. *Perlakuan benih dengan agens biokontrol untuk mengendalikan penyakit antraknosa, peningkatan hasil dan mutu benih cabai* [disertasi]. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

Suzzi G., P. Romano, I. Ponti , C. Montuschi. 1995. *Natural wine yeast as biocontrol agent. J. appl. Bacteriol 78:304-308.*

Tabuchi T, T. Sugisawa T. Ishidori, T. Nakahara, J. Sugiyama. 1981. *Itaconic acid fermentation by yeast belonging to genus Candida*. Agric. Biol. Chem.. 45(2):475-479

Walker J. C. 1957. *Plant Pathology*. : Mc Graw-Hill Book Company, inc.

Wisniewski M., C. Biles, S. Droby, R. McLaughlin, C. Wilson, E. Chalutz. 1991. *Mode of action of the postharvest biocontrol yeast, Pichia guilliermondii. Characterization of attachment to Botrytis cinerea*. Physiol Molecular Plant Pathol 39: 245-258