

**AGROSAINSTEK****Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian**Website jurnal : <http://agrosainstek.ubb.ac.id>**Research Article****Potensi dan Mekanisme Yeast-Like Fungus *Pseudozyma* dalam Mengendalikan Antraknosa pada Cabai*****Potency and Mechanism of Yeast-Like Fungus *Pseudozyma* in Controlling Anthracnose on Chili*****Sri Hartati^{1*}, Suryo Wiyono², Sri Hendrastuti Hidayat², Meity Suradji Sinaga²**¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21 Jatinangor, Sumedang 45363²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl. Kamper Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

Received: April 3, 2021 /Received in revised : August 30, 2021/ Accepted: May 31, 2023

ABSTRACT

Application of biocontrol agents on pre- and post-harvest commodities is a promising disease control strategy. This research was objected to study the potencies and antagonism mechanisms of eight isolates of yeast-like fungus *Pseudozyma*, i.e. *P. hubeiensis* Dmg 18 BEP, Dmg 20 DEP, Dmg 23 DEP, Dmg 27 BEP, and Dmg 32 DEP, *P. shanxiensis* Dmg 28 DEP, dan *P. aphidis* SG 25 BE and SG 53 BE in controlling *Colletotrichum acutatum*, the cause of anthracnose on chili. Those isolates of *Pseudozyma* were obtain from chili leaf and fruit surfaces and tissues. To study their potencies in controlling anthracnose on chili caused by *C. acutatum*, the eight *Pseudozyma* isolates were applied on chili fruit. While the study of the antagonism mechanisms was performed by antibiosis, volatile compound formation, chitinolytic activities, hyperparasitism, and ACC deaminase production tests. The results showed that all isolates of the *Pseudozyma* had the potencies to control anthracnose on chili caused by *C. acutatum* with more than 60% control levels. The mechanisms were production of volatile compounds, chitinolytic activities, and hyperparasitism. Those *Pseudozyma* isolates did not produce ACC deaminase.

Keywords: *chitinolytic activity, Colletotrichum acutatum, hyperparasitism, volatile compound***ABSTRAK**

Lilium longiflorum Thunb. adalah florikultura potensial untuk dikembangkan di bidang industri farmasi dan florikultura. Perbanyakan *L. longiflorum* secara generatif sulit dilakukan dan perbanyakan vegetatif dengan kultur jaringan jauh lebih efektif. Oleh karena itu, diperlukan sebuah protokol perbanyakan *L. longiflorum* secara in vitro yang efisien. Tujuan penelitian ini adalah mengamati induksi kalus dari eksplan sisik umbi dari planlet *L. longiflorum* dan respons pertumbuhannya terhadap penambahan auksin dan sitokinin dalam media kultur. Respons sisik umbi pada induksi kalus diuji dengan dua perlakuan, yaitu MS + 3,0 mg L⁻¹ 2,4-D + 0,5 mg L⁻¹ BAP dengan inkubasi dalam keadaan 24 jam gelap (perlakuan 1) dan MS + 1,5 mg L⁻¹ 2,4-D + 1,0 mg L⁻¹ BAP dengan fotoperiode 16/8 jam (perlakuan 2), selama 28 minggu. Kemudian, respons regenerasi kalus menjadi tunas diuji dengan penanaman kalus pada media regenerasi (MS + 3,4 mg L⁻¹ BAP + 0,09 mg L⁻¹ NAA) selama 12 minggu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan pada perlakuan 2 lebih responsif untuk menginduksi kalus dari sisik umbi *L. longiflorum* dibandingkan eksplan pada perlakuan 1. Kalus yang dihasilkan bertekstur kompak dan

*Korespondensi Penulis.

E-mail : s.hartati@unpad.ac.idDOI: <https://doi.org/10.33019/agrosainstek.v7i1.275>

berwarna hijau kekuningan dengan tingkat kesintasan 100% dan daya proliferasi yang tinggi. Media regenerasi berhasil meregenerasikan kalus menjadi tunas sebesar 100%, meskipun tidak terdapat pertumbuhan akar dalam penelitian ini. Perlakuan MS + 1,5 mg L⁻¹ 2,4-D + 1,0 mg L⁻¹ BAP dengan fotoperiode 16/8 jam direkomendasikan sebagai sebuah protokol yang efektif dalam pengembangan *L. longiflorum*.

Kata kunci: mikropopulasi, kultur jaringan, *Lilium longiflorum*, organogenesis

1. Pendahuluan

Antraknosa merupakan penyakit utama pada tanaman cabai yang membatasi produksi cabai di semua negara baik tropik maupun subtropik (Sangdee 2011). Penyakit ini bersifat tular benih dan tular udara dan berpengaruh terhadap perkecambahan benih dan kesehatan bibit cabai (Saxena et al. 2016). Antraknosa pada cabai disebabkan oleh beberapa spesies *Colletotrichum* seperti *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Colletotrichum capsici* (AVRDC 2004). Seperti halnya cendawan yang lain, genus *Colletotrichum* memiliki dinding sel yang mengandung kitin (Prihatiningsi et al. 2019). Kandungan kitin dalam dinding sel merupakan karakteristik dari mikroorganisme yang termasuk dalam kelompok cendawan. Cendawan *Colletotrichum* dapat menyerang bagian daun, batang, dan buah cabai (Manda et al. 2020). Konidia cendawan ini dapat menempel dan berkecambah pada permukaan tanaman cabai, peg penetrasi yang dihasilkan akan mempenetrasi lapisan kutikula tanaman dan menghasilkan hifa infeksi yang menyebabkan terjadinya lesio (Yu et al. 2013). Gejala antraknosa pada buah berupa lesio cekung melingkar atau bersudut, lesio pada batang dan daun tampak seperti bintik kecil coklat keabuan dengan pinggiran gelap (Saxena et al. 2016). Kehilangan hasil akibat patogen antraknosa pada buah cabai dapat mencapai 50% (Pakdeevanaporn et al. 2005).

Pengendalian antraknosa pada cabai umumnya dilakukan menggunakan fungisida sintetik. Akan tetapi, penggunaan fungisida sintetik dapat menyebabkan efek negatif terhadap lingkungan, resistensi patogen, dan residu pada produk pascapanen. Pengendalian hayati telah dikembangkan sebagai alternatif pengendalian antraknosa pada cabai seperti *Trichoderma viride* dan *Pseudomonas fluorescens* (Lokhande et al. 2019). Beberapa spesies khamir juga dilaporkan efektif mengendalikan antraknosa cabai seperti *Pichia guilliermondii* (Y-12) dan *Hanseniaspora uvarum* (Y-73) (Raghunandan et al. 2019).

Mekanisme agens biokontrol dalam menekan perkembangan patogen penting diketahui untuk mengoptimalkan aplikasi dan pemanfaatan agens biokontrol tersebut. Mekanisme utama agens

biokontrol dalam mengendalikan patogen meliputi kompetisi ruang dan nutrisi, antibiosis, hiperparasitisme dan induksi resistensi (Srivastava et al. 2021). Saat ini penggunaan khamir dan yeast-like fungus sebagai agens biokontrol patogen pada komoditas pra- dan pascapanen telah dikembangkan. Beberapa penelitian menunjukkan mekanisme kerja khamir dan yeast-like fungus dalam mengendalikan patogen pada komoditas pascapanen melalui mekanisme antibiosis, senyawa volatil (VOCs), enzim hidrolitik, dan hiperparasitisme (Nunes 2012; Liu et al. 2013). *Candida intermedia* (Huang et al. 2011) dan *Aureobasidium pullulans* (Francesco et al. 2014) dilaporkan memiliki kemampuan membentuk VOCs, *Candida oleophila* (Tamayo-Urbina et al. 2016) dilaporkan membentuk ekstraselular eksokitinase dan β -1,3-glukanase, dan *Candida famata* memiliki mekanisme hiperparasitisme (Magallon-Andalon et al. 2012). Khamir juga dilaporkan memiliki aktivitas ACC deaminase yang berperan sebagai penghambat sintesis hormon etilen seperti *Candida tropicalis* (Amprayn et al. 2012).

Genus *Pseudozyma* merupakan yeast-like fungus yang telah dilaporkan berpotensi sebagai agens biokontrol. Beberapa genus *Pseudozyma* seperti *Pseudozyma aphidis* dan *Pseudozyma flocculosa* dilaporkan mampu mengendalikan penyakit kapang kelabu (*Botrytis cinerea*) dan embun tepung (*Podosphaera xanthii*) melalui mekanisme antibiosis, induksi resistensi, dan kompetisi ruang dan nutrisi (Buxdorf et al. 2013; Gafni et al. 2015). Khamir *P. flocculosa* dilaporkan menghasilkan komponen antimikroba yang efektif mengendalikan patogen embun tepung (Hammami et al. 2011). Akan tetapi, potensi maupun mekanisme biokontrol dari spesies genus *Pseudozyma* seperti *Pseudozyma hubeiensis*, *Pseudozyma shanxiensis*, dan *P. aphidis* dalam mengendalikan penyakit antraknosa cabai belum banyak dilaporkan. Lima isolat *P. hubeiensis*, satu isolat *P. shanxiensis*, dan dua isolat *P. aphidis* telah diisolasi dari daun dan buah cabai. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dan menentukan mekanisme pengendalian delapan isolat dari ketiga spesies *Pseudozyma* tersebut terhadap antraknosa yang disebabkan oleh *C. acutatum* pada cabai.

2. Bahan dan Metode

Lima isolat *P. hubeiensis* (Dmg 18 BEP, Dmg 20 DEP, Dmg 23 DEP, Dmg 27 BEP, dan Dmg 32 DEP), satu isolat *P. shanxiensis* (Dmg 28 DEP), dan dua isolat *P. aphidis* (SG 25 BE, SG 53 BE) telah diisolasi dari permukaan daun dan buah cabai (*Capsicum annuum*) pada penelitian sebelumnya (Hartati *et al.* 2014). Patogen antraknosa *C. acutatum* diisolasi dari buah cabai yang menunjukkan gejala antraknosa (Hartati *et al.* 2014). Percobaan dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diuji adalah a. *P. hubeiensis* Dmg 18 BEP, b. *P. hubeiensis* Dmg 20 DEP, c. *P. hubeiensis* Dmg 23 DEP, d. *P. hubeiensis* Dmg 27 BEP, e. *P. hubeiensis* Dmg 32 DEP, f. *P. shanxiensis* Dmg 28 DEP, g. *P. aphidis* SG 25 BE, h. *P. aphidis* SG 53 BE, dan i. Kontrol.

2.1. Pengujian Potensi *Pseudozyma* dalam Mengendalikan Antraknosa Cabai

Pengujian potensi *Pseudozyma* dilakukan menggunakan buah cabai tanpa gejala antraknosa dan tanpa perlakuan pestisida. Buah cabai yang telah didisinfeksi dengan NaOCl 1% dan alkohol 70% dicelupkan ke dalam suspensi isolat *Pseudozyma* dengan kerapatan sel khamir 10^7 sel ml^{-1} yang telah diberi 0,02% tween 80% (v/v). Buah berperlakuan dikeringanginkan selama 2 jam. Selanjutnya, buah tersebut diinokulasi patogen dengan meneteskan suspensi konidia *C. acutatum* kerapatan 10^4 konidia ml^{-1} sebanyak 20 μl . Inokulasi dilakukan melalui luka yang dibuat dengan menggunakan jarum steril pada dua titik. Kontrol positif dibuat dengan menginokulasi buah cabai dengan suspensi konidia *C. acutatum* tanpa perlakuan *Pseudozyma*, sedangkan kontrol negatif dibuat dengan meneteskan akuades steril dengan teknik yang sama. Sebagai pembanding, digunakan Mankozeb 80%. Buah yang telah diberi perlakuan dan kontrol diinkubasi dalam wadah tertutup pada kondisi lembap (RH 95%) pada suhu 28-30 °C. Perlakuan diulang 3 kali, masing-masing ulangan terdiri dari 3 buah cabai.

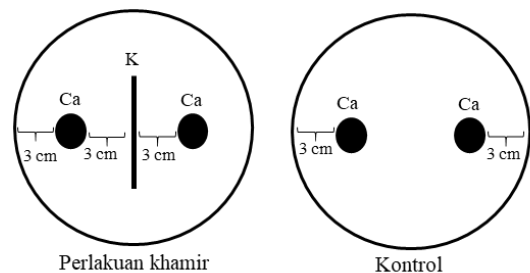
Pengamatan dilakukan terhadap persentase gejala antraknosa yang timbul pada hari ke-5 setelah perlakuan (hsp) dan menghitung tingkat pengendaliannya. Tingkat pengendalian antraknosa dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{TP} = ((\text{Gk} - \text{Gp}) / \text{Gk}) \times 100\%$$

Keterangan: TP = Tingkat pengendalian (%); Gk = Gejala antraknosa pada kontrol (%); Gp = Gejala antraknosa pada perlakuan (%).

2.2. Pengujian Antibiosis

Pengujian antibiosis dilakukan dengan metode kultur ganda (*dual culture*). Isolat *Pseudozyma* umur 5 hari digoreskan pada medium PDA tepat di tengah cawan petri (diameter 9 cm) secara transversal sebanyak 1 lup inokulasi dan *C. acutatum* umur 10 hari (diameter 6 mm) ditumbuhkan di tepi kiri dan kanan goresan khamir dengan jarak 3 cm (Gambar 1). Potongan isolat *C. acutatum* diletakkan pada posisi yang sama tanpa isolat *Pseudozyma* sebagai kontrol (Gambar 1). Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap lebar zona bening hingga isolat *C. acutatum* pada kontrol memenuhi cawan petri.



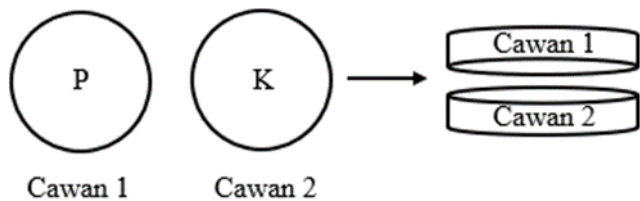
Gambar 1. Skema uji antibiosis khamir terhadap *Colletotrichum acutatum* (K: khamir, Ca: *Colletotrichum acutatum*)

2.3. Pembentukan Senyawa Volatil

Pengujian pembentukan senyawa volatil dilakukan menurut metode Huang *et al.* (2011) dengan beberapa modifikasi (Gambar 2). Isolat *Pseudozyma* umur 5 hari digoreskan sebanyak 1 lup tepat di tengah cawan petri yang berisi medium PDA dan potongan *C. acutatum* umur 10 hari (diameter 6 mm) ditumbuhkan tepat di tengah cawan petri lain yang juga berisi medium PDA. Selanjutnya, kedua cawan petri tersebut ditangkupkan dengan posisi cawan petri yang berisi *Pseudozyma* diletakkan di bawah dan cawan petri yang berisi *C. acutatum* di atas kemudian ditutup dengan menggunakan plastik wrap. Medium PDA dalam cawan petri yang berisi *C. acutatum* ditangkupkan dengan cawan petri yang hanya berisi medium PDA tanpa *Pseudozyma* digunakan sebagai kontrol. Pengamatan dilakukan setiap hari sampai koloni *C. acutatum* pada kontrol memenuhi cawan petri. Persentase tingkat hambatan relatif terhadap *C. acutatum* dihitung menggunakan rumus:

$$\text{HR} = ((\text{Øk} - \text{Øp}) / \text{Øk}) \times 100\%$$

Keterangan: HR = tingkat hambatan relatif; Øk = diameter *C. acutatum* pada kontrol; Øp = diameter *C. acutatum* pada perlakuan.



Gambar 2. Skema uji pembentukan senyawa volatil khamir terhadap *Colletotrichum acutatum* (K: khamir, P: patogen (*Colletotrichum acutatum*))

2.4. Pengujian Aktivitas Kitinolitik

Pengujian pembentukan kitinolitik dilakukan pada medium koloidal kitin agar 0,5%. Pembuatan koloidal kitin mengikuti metode Arnold & Solomon (1986). Medium koloidal kitin dibuat dengan melarutkan sebanyak 20 g kitin ($C_8H_{13}NO_5$)_n yang diperoleh dari kulit udang (*C7170 practical grade sigma*) ke dalam 400 ml HCl pekat. Larutan tersebut dibiarkan selama 24 jam pada kondisi dingin, selanjutnya disaring menggunakan *glass wool*. Filtrat yang diperoleh ditambah dengan 200 ml akuades dingin dan ditambah 10 N NaOH hingga diperoleh pH 7. Filtrat disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 10 menit, selanjutnya diresuspensi dengan akuades dingin dan disentrifugasi lagi. Medium koloidal kitin agar dibuat dengan melarutkan koloidal kitin (5 g) dan agar (20 g) dalam 1000 ml akuades atau larutan garam mineral.

Aktivitas kitinolitik diuji dengan menanam isolat *Pseudozyma* umur 5 hari pada medium koloidal kitin agar. Khamir memiliki aktivitas kitinolitik apabila menghasilkan zona bening pada tepi koloni. Indeks kitinolitik dihitung berdasarkan rumus:

$$\Delta Y = y_2/y_1$$

Keterangan: ΔY = indeks kitinolitik; y_2 = lebar zona bening dan koloni; y_1 = lebar koloni.

2.4. Pengujian Hiperparasitisme

Hiperparasitisme diuji menggunakan metode agar blok dengan *water agar* berukuran 0,6 cm². Isolat *Pseudozyma* umur 5 hari ditumbuhkan pada satu sisi agar blok dan *C. acutatum* umur 10 hari ditumbuhkan pada sisi yang lain. Agar blok ditempatkan pada gelas obyek steril dan ditutup dengan gelas penutup steril, selanjutnya gelas obyek ditempatkan pada cawan petri steril. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop

photomicrograph multi eyepiece (Zeiss Axiocam) pada 4 sampai 6 hari inkubasi.

2.5. Pengujian Produksi Enzim ACC Deaminase

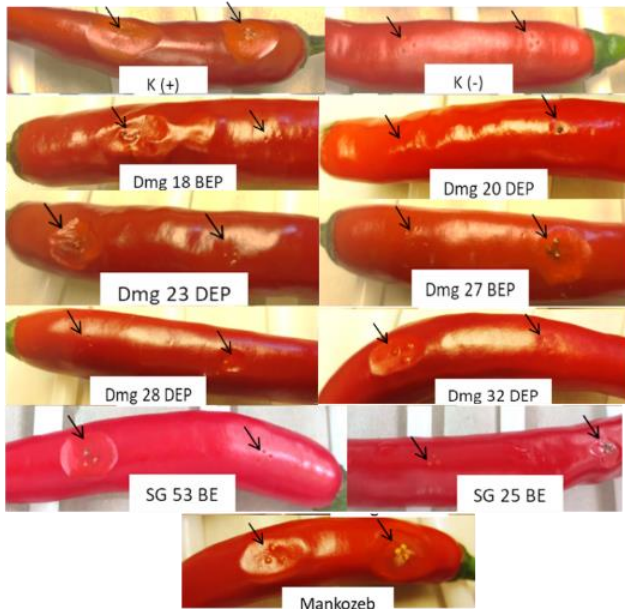
Pengujian aktivitas enzim ACC deaminase menggunakan medium garam Dworkin-Foster (DF) (Dworkin & Foster 1958) yang diperkaya dengan substrat *1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid* (ACC) dan ammonium sulfat. Isolat *Pseudozyma* umur 5 hari pada medium PDA, ditumbuhkan dalam medium *Yeast Malt Extract Broth* (YMB) dan *dishaker* (IKA KS 260 *Basic type rotary shaker*) selama 48 jam kecepatan 150 rpm. Pelet sel dipanen dengan sentrifugasi (*Beckman Coulter Allegra X-22R Centrifuge*) kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Pelet sel dibilas dengan akuades steril dan disuspensikan kembali dalam larutan 100 mM $MgSO_4$ steril (pH 7). Suspensi sel diatur pada kerapatan optik 0,5 dengan panjang gelombang 780 nm. Pelet sel diinokulasikan ke medium cair DF, DF+ACC dan DF+ammonium sulfat, masing-masing sebanyak 1 ml. Pertumbuhan isolat pada medium cair diamati setiap 6 jam selama 24 jam dengan mengukur kerapatan optik biakan pada panjang gelombang 600 nm dengan UV spektrofotometer (*Shimadzu UV Mini 1240*). Nilai kerapatan optik 0,05 atau lebih, khususnya isolat yang ditumbuhkan pada media DF+ACC, mengindikasikan bahwa isolat memiliki aktivitas enzim ACC deaminase.

2.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan software SPSS (versi 25.0 for Windows). Uji lanjut dilakukan dengan uji Jarak Berganda Duncan (*Duncan Multiple Range Test*) pada taraf nyata 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

3. Hasil

Hasil pengujian potensi lima isolat *P. hubeiensis*, satu isolat *P. shanxiensis*, dan dua isolat *P. aphidis* dalam mengendalikan antraknosa cabai menunjukkan bahwa seluruh isolat mampu mengendalikan penyakit antraknosa pada cabai (Gambar 3). Tingkat pengendalian delapan isolat *Pseudozyma* yang diuji mencapai lebih dari 60%, tingkat pengendalian tersebut berkisar antara 63,80%-99,14% (Tabel 1). Apabila dibandingkan dengan mankozeb 80%, tingkat pengendalian antraknosa oleh delapan isolat *Pseudozyma* lebih tinggi.



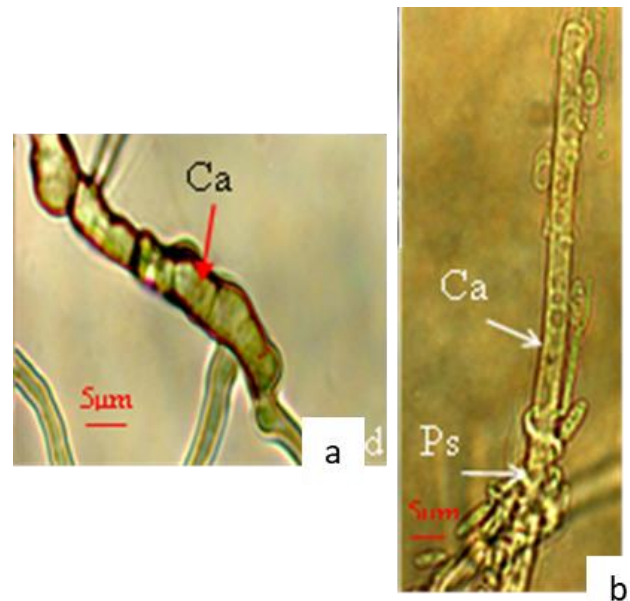
Gambar 3. Variasi gejala antraknosa (*C. acutatum*) pada buah cabai dengan perlakuan khamir (K(+): Kontrol +, K (-): Kontrol -)

Hasil pengamatan terhadap mekanisme antibiosis dengan kultur ganda menunjukkan bahwa seluruh isolat *Pseudozyma* baik *P. hubeiensis*, *P. shanxiensis* maupun *P. aphidis* tidak menghasilkan zona bening (Tabel 1). Berbeda dengan pengujian antibiosis dengan kultur ganda, seluruh isolat *Pseudozyma* mampu menghasilkan senyawa volatil (VOCs) (Tabel 1). Kemampuan membentuk senyawa volatil ini menunjukkan bahwa seluruh isolat *Pseudozyma* yang diuji menghasilkan mekanisme antibiosis. Pembentukan senyawa volatil ditunjukkan oleh adanya penghambatan pertumbuhan koloni *C. acutatum* yang terjadi tanpa adanya kontak fisik antara kedua mikroba tersebut. Spesies *P. hubeiensis* isolat Dmg 23 DEP menyebabkan penghambatan pertumbuhan *C. acutatum* tertinggi melalui pembentukan senyawa volatil yaitu sebesar 38,52% (Tabel 1).

Mekanisme pengendalian oleh isolat *Pseudozyma* terhadap antraknosa cabai yang disebabkan oleh *C. acutatum* juga ditunjukkan dengan adanya aktivitas kitinolitik. Aktivitas kitinolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening pada tepi koloni isolat yang ditumbuhkan pada medium koloidal kitin agar. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat memanfaatkan kitin dalam medium tumbuhnya. Dua isolat *P. hubeiensis* Dmg 23 DEP dan Dmg 27 BEP, satu isolat *P. shanxiensis* Dmg 28 DEP, serta

satu isolat *P. aphidis* SG 25 BE memiliki aktivitas kitinolitik (Tabel 1).

Mekanisme hiperparasitisme isolat *Pseudozyma* terhadap *C. acutatum* hanya ditunjukkan oleh dua isolat. Mekanisme hiperparasitisme tersebut ditunjukkan oleh isolat *P. hubeiensis* Dmg 20 DEP dan isolat *P. shanxiensis* Dmg 28 DEP. Isolat *P. hubeiensis* Dmg 20 DEP menyebabkan malformasi berupa pembengkakan hifa *C. acutatum*, sedangkan isolat *P. shanxiensis* Dmg 28 DEP melilit hifa *C. acutatum* (Gambar 4).



Gambar 4. Kerusakan hifa *C. acutatum* akibat mekanisme hiperparasitisme beberapa isolat *Pseudozyma* a. *P. hubeiensis* (Dmg 20 DEP), b. *P. shanxiensis* (Dmg 28 DEP), Ca: *C. acutatum*, Ps: *P. shanxiensis* (photomicrograph multi eyepiece Zeiss Axiocam)

Pengamatan produksi ACC deaminase menunjukkan bahwa *P. hubeiensis* yang diwakili oleh isolat Dmg 18 BEP, *P. shanxiensis* Dmg 28 DEP, dan *P. aphidis* SG 25 BE tidak menghasilkan ACC deaminase (Tabel 1). Hal ini ditunjukkan dengan nilai kerapatan optik pada 600 nm kurang dari 0,05 dalam medium DF yang diperkaya dengan ACC. Meskipun hasil pengamatan pada medium DF ammonium sulfat menunjukkan bahwa isolat *P. hubeiensis* Dmg 18 BEP, *P. shanxiensis* Dmg 28 DEP, dan *P. aphidis* SG 25 BE tersebut menghasilkan ACC deaminase, namun kemampuan ini masih bersifat *putative* karena ACC deaminase yang dihasilkan hanya berupa potensi secara intrinsik (Tabel 2).

Tabel 2. Mekanisme antagonisme beberapa isolat *Pseudozyma* terhadap antraknosa cabai

Spesies/kode isolat	Uji kultur ganda (Zona bening)	Hambatan pertumbuhan <i>C.acutatum</i> oleh senyawa volatil (%)	Indeks kitinolitik	Hiper-parasitisme	Aktivitas ACC deaminase
Kontrol	-	-	0,00 e	-	TD
Ph/Dmg18BEP	-	33,47 e	0,00 e	-	-
Ph/Dmg20DEP	-	9,43 b	0,00 e	+	TD
Ph/Dmg23DEP	-	39,00 g	1,41 ab	-	TD
Ph/Dmg27BEP	-	20,20 c	1,02 bc	-	TD
Ph/Dmg32DEP	-	36,70 f	0,00 e	-	TD
Ps/Dmg28DEP	-	29,47 d	1,43 ab	+	-
Pa/SG 53 BE	-	7,04 a	0,00 e	-	TD
Pa/SG 25 BE	-	21,13 c	1,28 b	-	-

Tabel 3. Aktivitas ACC deaminase beberapa isolat *Pseudozyma* pada medium garam minimal Dworkin-Foster (DF) ditambah ammonium sulfat dan ACC sebagai sumber N

Jenis khamir	DF+AmS (OD ₆₀₀) ^a	DF+ACC (OD ₆₀₀) ^a	DF kontrol (OD ₆₀₀) ^a
<i>Pseudozyma hubeiensis</i> (Dmg18BEP)	0,060	0,039	0,034
<i>Pseudozyma aphidis</i> (SG25BE)	0,064	0,044	0,041
<i>Pseudozyma shanxiensis</i> (Dmg28DEP)	0,060	0,039	0,035

4. Pembahasan

Pengendalian antraknosa dengan menggunakan *Pseudozyma* menunjukkan hasil yang baik. Seluruh isolat *Pseudozyma* yang diuji menunjukkan kemampuan antagonisme yang lebih tinggi dibandingkan mankozeb 80%. Teknik pencelupan buah dalam suspensi *Pseudozyma* yang dilakukan dalam penelitian ini memungkinkan isolat *Pseudozyma* mengkoloni permukaan buah dengan cepat sebelum datangnya patogen. Menurut Afsah-Hejri (2013) khamir mampu mengkoloni permukaan tanaman bahkan dalam kondisi kering, sehingga khamir mampu melawan patogen yang datang dari luar tanaman. Inokulasi *C. acutatum* setelah perlakuan pencelupan buah dalam suspensi *Pseudozyma*, menyebabkan proses pra- penetrasi atau infeksi awal patogen ini dapat dihambat. *Pseudozyma* merupakan salah satu mikrob utama di filoplan, sehingga dapat memengaruhi fase infeksi awal dengan mencegah adhesi konidia *C. acutatum* atau mendegradasi polimer ekstraseluler konidia *C. acutatum*. Degradasi polimer ekstraseluler konidia akan memecah dormansi konidia yang merupakan tahap kritis untuk mengawali proses infeksi (Jeffries & Koomen 1992).

Kemampuan *Pseudozyma* dalam mengendalikan antraknosa cabai dalam penelitian ini disebabkan oleh beberapa mekanisme pengendalian di antaranya adalah pembentukan senyawa volatil,

pembentukan enzim kitinolitik, dan hiperparasitisme. Mekanisme pembentukan senyawa volatil dihasilkan oleh seluruh isolat *Pseudozyma* yang diuji. Senyawa volatil (*Volatile Organic Compounds/VOCs*) merupakan campuran dari senyawa-senyawa fase gas berbau dasar karbon (Morath *et al.* 2012) seperti hidrokarbon, aldehid, keton, alkohol, fenol, tioalkohol, tioester dan turunannya, turunan benzen dan sikloheksan (Huang *et al.* 2011). Isolat *Pseudozyma* yang diuji diduga memiliki salah satu atau beberapa senyawa volatil yang pernah dilaporkan tersebut. Komponen senyawa volatil berperan dalam biokontrol patogen tumbuhan karena merupakan senyawa toksik yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan mematikan patogen. Pengaruh senyawa volatil dalam menghambat pertumbuhan patogen di antaranya diduga disebabkan oleh kemampuan senyawa ini dalam menghambat produksi enzim hidrolisis patogen (Fialho *et al.* 2011). Senyawa volatil juga dilaporkan dapat menginduksi ketahanan tanaman. Park *et al.* (2013) melaporkan bahwa senyawa volatil C13 VOC yang dihasilkan oleh *Paenibacillus polymyxa* E681 dapat menginduksi ketahanan tanaman untuk melawan *Pseudomonas syringae*. Senyawa volatil juga dapat meniadakan pengenalan signal antara patogen dengan tanaman, sehingga tidak terjadi hubungan

yang kompatibel antara patogen dan tanaman (Agrios 2005). Mekanisme ini diduga terlibat dalam hubungan antara *Pseudozyma* yang diuji dengan *C. acutatum*.

Mekanisme pengendalian lain yang dihasilkan oleh *Pseudozyma* dalam penelitian ini adalah aktivitas kitinolitik. Sekresi enzim seperti kitinase, glucanase atau protease selalu dilaporkan dan merupakan mekanisme penting dari khamir antagonis dalam pengendalian hayati (Freimoser *et al.* 2019). Menurut Zajc *et al.* (2019) suatu agens biokontrol diharapkan memiliki karakteristik berupa sekresi enzim kitinolitik dalam mekanisme pengendaliannya. Aktivitas kitinolitik dari *Pseudozyma* diduga terlibat dalam penghambatan antraknosa pada buah cabai dengan menghidrolisis ikatan β -1,4 dalam kitin, dimana kitin merupakan komponen utama dinding sel *C. acutatum* (Prihatiningsi *et al.* 2019). Aktivitas kitinolitik tersebut juga diduga berperan secara tidak langsung yaitu memicu ketahanan tanaman melalui monomer-monomer hasil degradasi dinding sel patogen yang berperan sebagai elisitor. Hasil degradasi kitin oleh enzim kitinase berupa chito-oligosaccharides (CHOS) dapat menginduksi ketahanan tanaman (Langner & Gohre 2015).

Hasil pengamatan hiperparasitisme menunjukkan bahwa dua isolat *Pseudozyma* menyebabkan mekanisme hiperparasitisme. Mekanisme hiperparasitisme oleh isolat *P. hubeiensis* Dmg 20 DEP menyebabkan malformasi hifa *C. acutatum*, sedangkan isolat *P. shanxiensis* Dmg 28 DEP menyebabkan pelilitan hifa. Gejala malformasi berupa pembengkakan hifa diduga disebabkan oleh enzim hidrolitik lain yang dihasilkan oleh isolat tersebut. Srivastava *et al.* (2021) menyatakan bahwa beberapa enzim pendegradasi dinding sel dan protease dapat menyebabkan mekanisme hiperparasitisme. Mekanisme hiperparasitisme juga ditunjukkan oleh adanya pelilitan hifa. Gafni *et al.* (2015) melaporkan bahwa *P. aphidis* menyebabkan gejala pelilitan hifa pada hifa *Podosphaera xanthii* penyebab embun tepung mentimun.

Mekanisme hiperparasitisme sangat ditentukan oleh kemampuan agens antagonis dalam melakukan proses adhesi pada patogen. Beberapa spesies khamir seperti *P. flocculosa* (Laur *et al.* 2018), *P. aphidis* (Gafni *et al.* 2015) dan *Rhodotorula mucilaginosa* (Magallon-Andalon *et al.* 2012) menunjukkan mekanisme hiperparasitisme melalui fiksasi miselium dengan proses adhesi.

Berdasarkan pengujian enzim ACC deaminase diketahui bahwa beberapa isolat *Pseudozyma* yang

diuji tidak menghasilkan ACC deaminase. Hasil ini mengindikasikan bahwa *Pseudozyma* yang diuji tidak mampu mendegradasi substrat ACC. ACC deaminase adalah enzim pendegradasi 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) menjadi α -ketobutirat dan ammonia. Asam amino ACC merupakan prekursor hormon etilen pada tanaman (Glick 2014). Aktivitas ACC deaminase dapat membantu tanaman untuk tumbuh di bawah tekanan biotik dan abiotik dengan mengurangi tingkat *stress ethylene* yang menghambat pertumbuhan tanaman (Singh *et al.* 2015). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ketiga isolat *Pseudozyma* yang diuji tidak mampu menghambat sintesis hormon etilen. Akan tetapi, ketiga isolat *Pseudozyma* tersebut mampu menghambat antraknosa cabai dengan mekanisme yang lain.

5. Kesimpulan

Delapan isolat *Pseudozyma* yaitu *P. hubeiensis* (Dmg 18 BEP, Dmg 20 DEP, Dmg 23 DEP, Dmg 27 BEP, dan Dmg 32 DEP), *P. shanxiensis* (Dmg 28 DEP), dan *P. aphidis* (SG 25 BE, SG 53 BE) berpotensi antagonis terhadap *C. acutatum* penyebab antraknosa cabai. Mekanisme pengendalian beberapa isolat *Pseudozyma* tersebut bersifat spesifik antar isolat. Mekanisme pengendalian antraknosa cabai melalui pembentukan senyawa volatil dihasilkan oleh seluruh isolat *Pseudozyma* yang diuji. Selain pembentukan senyawa volatil, isolat *P. hubeiensis* Dmg 23 DEP dan Dmg 27 BEP menghasilkan aktivitas kitinolitik, *P. hubeiensis* Dmg 20 DEP menghasilkan mekanisme hiperparasitisme, *P. shanxiensis* Dmg 28 DEP menghasilkan aktivitas kitinolitik dan hiperparasitisme, dan *P. aphidis* SG 25 BE menghasilkan aktivitas kitinolitik. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengetahui mekanisme lain yang diduga terlibat dalam pengendalian antraknosa cabai oleh isolat *Pseudozyma*.

6. Pernyataan Konflik Kepentingan (Declaration of Conflicting Interests)

Penulis menyatakan tidak ada potensi konflik kepentingan sehubungan dengan penelitian, kepengarangan, dan/atau publikasi dari artikel ini (The authors have declared no potential conflicts of interest concerning the study, authorship, and/or publication of this article).

7. Daftar Pustaka

- [AVRDC] Asian Vegetable Research Development and Center. 2004. Evaluation of phenotypic and molecular criteria for the identification of *Colletotrichum* species causing pepper anthracnose in Taiwan. In: AVRDC Report. Shanhua : AVRDC. p 92-93.
- Afsah-Hejri L. 2013. Saprophytic yeasts: effective biocontrol agents against *Aspergillus flavus*. *Int. Food. Res J.* 20(6): 3403-3409.
- Agrios GN. 2005. *Plant Pathology*, fifth ed. New York : Elsevier Academic Press.
- Amprayn K, Rose MT, Kecskés M, Pereg L, Nguyen HT, Kennedy IR. 2012. Plant growth promoting characteristics of soil yeast (*Candida tropicalis* HY) and its effectiveness for promoting rice growth. *Appl. Soil Ecol.* 61: 295-299.
- Arnold LD, Solomon NA. 1986. *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. Washington : American Society for Microbiology.
- Buxdorf K, Rahat I, Gafni A, Levy M. 2013. The epiphytic fungus *Pseudozyma aphidis* induces jasmonic acid- and salicylic acid/nonexpressor of PR1-independent local and systemic resistance. *Plant Physiol.* 161: 2014-2022.
- Dworkin M, Foster J. 1958. Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. *J. Bacteriol.* 75(5): 592-601.
- Fialho MB, Ferreira LFR, Monteiro RTR, Pascholati SF. 2011. Antimicrobial volatile organic compounds affect morphogenesis-related enzymes in *Guignardia citricarpa*, causal agent of citrus black spot. *Biocont. Sci. Technol.* 2:797-807.
- Francesco AD, Ugolini L, Lazzeri L, Mari M. 2014. Production of volatile organic compounds by *Aureobasidium pullulans* as a potential mechanism of action against postharvest fruit pathogens. *Biol. Control.* 81: 8-14.
- Freimoser FM, Rueda Mejia MP, Tilocca B, Migheli Q. 2019. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 35:154
- Gafni A, Calderon CE, Harris R, Buxdorf K, Dafbarger A, Zelinger E, Levy M. 2015. Biological control of the cucurbit powdery mildew pathogen *Podosphaera xanthii* by means of the epiphytic fungus *Pseudozyma aphidis* and parasitism as a mode of action. *Front. Plant Sci.* 6: 132-142.
- Glick BR. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* 169(1):30-39.
- Hammami W, Castro CQ, Rémus-Borel W, Labbé C, Bélanger RR. 2011. Ecological basis of the interaction between *Pseudozyma flocculosa* and powdery mildew fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 926-33.
- Hartati S, Wiyono S, Hidayat SH, Sinaga MS. 2014. Seleksi Khamir Epifit Sebagai Agens Antagonis Penyakit Antraknosa Pada Cabai (Selection of Epiphytic Yeasts as Antagonist of Anthracnose on Chili). *J. Hort.* 24(3):258-265.
- 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.
- Jeffries P, Koomen I. 1992. Strategies and Prospects for Biological Control of Diseases caused by *Colletotrichum*. In: Bailey, J.A., M.J. Jeger (eds). *Colletotrichum Biology, Pathology and Control*. CAB Internasional : p 337-357.
- Langner T, Gohre V. 2016. Fungal chitinases: function, regulation, and potential roles in plant/pathogen interactions. *Curr. Genet.* 62:243-254.
- Laur J, Ramakrishnan GB, Labbé C, Lefebvre F, Spanu PD, Bélanger RR. 2018. Effectors involved in fungal-fungal interaction lead to a rare phenomenon of hyperbiotrophy in the tritrophic system biocontrol agent-powdery mildew-plant. *New Phytol.* 217: 713-725.
- Liu P, Luo L, Long C. 2013. Characterization of competition for nutrients in the biocontrol of *Penicillium italicum* by *Kloeckera apiculata*. *Biol. Control.* 67(2): 157-162.
- Lokhande RD, Tiwari S, Patil RV. 2019. Eco-friendly management of anthracnose of chilli (*Capsicum annum* L.) caused by *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler and Bisby. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 8(2): 1045-1052
- Magallon-Andalon CG, Luna-Solano G, Ragazzo-Sanchez JA, Calderon-Santoyo M. 2012. Parasitism and substrate competitions effect of antagonistic yeasts for biocontrol of *Colletotrichum gloeosporioides* in papaya (*Carica papaya* L.) var Maradol. *Mex. J. Sci. Res.* 1(1): 2-9.
- Manda RR, Pavithra G, Addanki VA, Srivastava S. 2020. Review Article: Anthracnose of *Capsicum annum* L. (Chilli). *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 9(11): 749-756.
- Morath SU, Hung R, Bennett JW. 2012. Review fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal Biol. Rev.* 26: 73-83.

- Nunes CA. 2012. Biological control of postharvest diseases of fruit. *Eur. J. Plant Pathol.* 133: 181-196.
- Pakdeevaporn P, Wasee S, Taylor PWJ, Mongkolporn O. 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum*. *Plant Breed.* 124(2): 206-208.
- Prihatiningsih N, Djatmiko HA, Erminawati, Lestari P. 2019. *Bacillus subtilis* from potato rhizosphere as biocontrol agent and chili growth promotor. *J. Perlindungan Tanaman Indones.* 23(2): 179-184.
- Raghunandan BL, Patel MV, Patel NM, Mehta DM. 2019. Bio-efficacy of different biological control agents for the management of chilli fruit rot/anthracnose disease. *J. Biol. Control.* 33(2): 163-168.
- Saxena A, Raghuwanshi R, Gupta VK, Singh HB. 2016. Review: Chilli anthracnose: The epidemiology and management. *Front. Microbiol.* 7(1527): 1-18.
- Singh RP, Shelke GM, Kumar A, Jha PN. 2015. Biochemistry and genetics of ACC deaminase: a weapon to "stress ethylene" produced in plants. *Front. Microbiol.* 6(937): 1-14.
- Tamayo-Urbina C, Guerrero-Prieto V, Guigon-Lopez C, Vargas-Albores F, Berlanga-Reyes D, Acosta-Muniz C, Ojeda-Barrios D. 2016. Purification and characterization of β -1,3-glucanase from *Candida Oleophila* for the biocontrol of *Penicillium expansum*. *J. Bot. Sci.* 5(1): 38-45.
- Yu, SM, Ramkumar G, Lee YH. 2013. Light quality influences the virulence and physiological responses of *Colletotrichum acutatum* causing anthracnose in pepper plant. *J. Appl Microbiol.* 115(2): 509-516.
- Zajc J, Gostincar C, Cernosa A, Gunde-Cimerman N. 2019. Stresstolerant yeasts: opportunistic pathogenicity versus biocontrol potential. *Genes (Basel).* 10:42.