

Optimalisasi Fosfat untuk Meningkatkan Pertumbuhan Kerapatan Populasi dan Kemampuan Antagonis *Saccharomyces cerevisiae* terhadap *Fusarium* sp.

Hardianto, Anton Muhibuddin, Antok Wahyu Sektiono

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya

Jl. Veteran, Malang 65145

Correspondence Author: antonmhb@gmail.com

ABSTRACT

Saccharomyces cerevisiae is a common yeast used as a fermenter in the home industry. This yeast is able to grow in media like waste materials. One of the waste materials that can be used as a medium of yeast growth is waste of coconut water. The use of coconut water as a medium of yeast propagation has been widely used in some types of yeasts. The intake of nutrients such as phosphate will make the yeast cells begin to grow and work faster. The yeast cell takes phosphate as ATP. Khamir will turn it into a phosphate polymerization form that is often found within the mitochondria of these cells. *S. cerevisiae* has the ability not only in terms of fermentation but also can perform other functions in the biological control process. The main methods of this study include the growth test of *S. cerevisiae* with the addition of a phosphate (KH_2PO_4), *S. cerevisiae* growth test by aerator method, yeast antagonist test. The results showed that *S. cerevisiae* was able to grow higher with the addition of phosphate nutrients (0.5% KH_2PO_4). This yeast has the potential to control *Fusarium* sp. The percentage of inhibition was isolate A0 (9,67%), A1 (11%), A2 (10,67%), A3 (12%), A4 (13%), and A5 (6%).

Keywords: Yeast, phosphate nutrient, biological control, *Fusarium* sp.

INTISARI

Saccharomyces cerevisiae merupakan khamir yang umum dimanfaatkan sebagai fermentor dalam industri rumah tangga. khamir ini mampu tumbuh di media seperti bahan buangan. Salah satu bahan limbah yang bisa dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan khamir adalah limbah air kelapa. Penggunaan air kelapa sebagai media perbanyakan khamir telah banyak digunakan pada beberapa jenis khamir. Asupan nutrisi seperti fosfat akan membuat sel khamir mulai tumbuh dan bekerja lebih cepat. Sel khamir mengambil fosfat sebagai ATP. Khamir akan mengubahnya menjadi bentuk polimerisasi fosfat yang sering ditemukan di dalam mitokondria sel-sel ini. *S. cerevisiae* memiliki kemampuan tidak hanya dalam hal fermentasi tetapi juga dapat melakukan fungsi lain dalam proses pengendalian biologis. Metode utama penelitian ini meliputi uji pertumbuhan *S. cerevisiae* dengan penambahan fosfat (KH_2PO_4), uji pertumbuhan *S. cerevisiae* dengan metode aerator, Uji antagonis khamir. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* mampu tumbuh lebih tinggi dengan penambahan nutrisi fosfat (0,5% KH_2PO_4). Khamir ini memiliki potensi untuk mengendalikan *Fusarium* sp. Persentase penghambatannya adalah isolat A0 (9,67%), A1 (11%), A2 (10,67%), A3 (12%), A4 (13%), dan A5 (6%).

Keywords: Yeast, phosphate nutrient, biological control, *Fusarium* sp.

1. PENDAHULUAN

Saccharomyces cerevisiae merupakan khamir yang dikenal dimasyarakat umum sebagai ragi tape dengan fungsi sebagai fermentor dalam industri rumahan. Khamir mampu tumbuh pada media limbah atau bahkan bahan buangan. Salah satu bahan buangan yang mampu dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan khamir ialah limbah air kelapa. Penggunaan air kelapa sebagai media perbanyakan khamir sudah banyak di gunakan pada beberapa jenis khamir (Fardiaz *et al.*,1996), Unsur karbon dalam air kelapa berupa karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, fruktosa, inositol, dan sorbitol sehingga mudah digunakan sebagai media pertumbuhan *S. cerevisiae*. Air kelapa juga mengandung protein, mineral, vitamin B, dan vitamin C (Santoso ,2003). Hal ini di ini memungkinkan bahwa air kelapa mampu menjadi media alternatif yang dapat digunakan dalam menumbuhkan *S. cerevisiae* secara massal dan lebih ekonomis.

Nutrisi seperti fosfat akan memasok tidak hanya sebagai substrat untuk pertumbuhannya tetapi, juga sinyal untuk pertumbuhan (Swinnen *et al.*,2006). Asupan dalam kecil nutrisi seperti fosfat akan membuat sel- sel khamir mulai tumbuh dan akan bekerja jauh lebih cepat. Sel-sel khamir mengambil fosfat sebagai ATP. Khamir mengubahnya menjadi bentuk dipolimerisasi fosfat yang sering ditemukan dalam mitokondria sel-sel khamir (Wykoff dan O'Shea, 2001).

S. cerevisiae memiliki kemampuan tidak hanya dalam hal fermentasi. *S.cerevisiae* juga mampu melakukan fungsi lainnya yaitu dalam proses pengendalian biologis. Mekanisme ini umumnya didasarkan pada kemampuan agen biokontrol, termasuk khamir yang mampu menekan sel patogen, Setiap khamir memiliki cara mekanisme dalam menghambat suatu patogen. Bersaing untuk mendapatkan nutrisi, mensekresikan enzim tertentu, menginduksi resistensi, mengatur kepadatan populasi, mengeluarkan zat antimikroba dan membentuk biofilm pada permukaan bagian dalam dari luka yang dibuat sel patogen. (Droby,1994).

Salah satu patogen penyebab penyakit tanaman yang menyebabkan kerugian adalah patogen *Fusarium*. Menurut Phillips dan Hossein (2008) dalam Dwiastuti *et al.*, (2015) *Fusarium oxysporum* menyebabkan penurunan produksi buah stroberi di Asia tahun 2010 sekitar 40%, di Australia Barat dilaporkan tanaman yang terinfeksi penyakit ini padat tahun 2005 – 2006 sebesar 70%. Tidak hanya *F.oxysporum*, namun *Fusarium moniliformae* juga merupakan pathogen penyebab penyakit yang sangat merugikan pada pertanaman tebu (Pratiwi *et al.*, 2013). Genus *Fusarium* penyebab penyakit ini dapat menyebabkan kerugian dan gagal panen hingga 50% (Rostini,2011). Pengendalian penyakit ini masih bertumpu pada penggunaan fungisida sintetik, yang apabila diaplikasikan tidak sesuai dengan rekomendasi dapat mempengaruhi karakteristik fisik dan biologi tanah, serta meninggalkan residu yang membahayakan lingkungan dan makhluk hidup lainnya, serta meningkatkan resistensi patogen. Oleh karena itu, diperlukan adanya langkah solutif dalam mengendalikan penyakit ini.

Pada penelitian ini dilakukan pemanfaatan limbah air kelapa dengan penambahan nutrisi fosfat sebagai media tumbuh *S.cerevisiae* untuk meningkatkan pertumbuhan kepadatan populasi dan diharapkan juga dengan asupan nutrisi fosfat yang berlebih, khamir mampu menekan pertumbuhan *Fusarium* sp.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya dan Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen, Bogor. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni – September 2017.

2.2 Isolasi, purifikasi dan identifikasi *S. cerevisiae*

S. cerevisiae diisolasi dari ragi tape yang diperoleh dari pasar Dinoyo, Malang. Langkah awal melakukan isolasi khamir ialah pertama siapkan ragi sebanyak 10 gr, kemudian tempatkan dalam tabung Erlenmeyer yang berisi air akuades steril sebanyak 50 ml. Diaduk dengan cara digoyangkan pada *rotary shaker* selama 2 jam pada suhu kamar. Hasil tersebut dibuat seri pengenceran 10^5 - 10^6 . Sebanyak 0.1 ml suspensi hasil pengenceran ditumbuhkan secara taburan pada media YPD (*Yeast Peptone Dextrose*) yang mengandung 5 gr/l chloramphenicol. Biakan kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari. Isolat khamir dengan koloni yang tumbuh dipindah ke media YPD yang masih segar (McCormack *et al.*, 1994). Isolat khamir kemudian dimurnikan dengan mengacu pada metode penggosokan Talukder *et al.* (2016) memindahkan koloni secara berulang ke media agar YPD hingga isolat murni dengan digosokkan pada media agar menggunakan jarum ose, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C . Proses identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan mengamati koloni yang tumbuh pada media agar meliputi tekstur, warna, permukaan, elevasi, dan tepi koloni. Pengamatan secara mikroskopis dilakukan terhadap bentuk sel, tipe pertunasan, dan ukuran sel.

2.3 Pembuatan media perbanyakan *S. cerevisiae*

Pembuatan media pertumbuhan khamir dengan limbah air kelapa dengan penambahan nutrisi berupa Potassium Fosfat (KH_2PO_4) untuk media perlakuan yaitu air kelapa dimasukkan ke dalam botol berukuran 250ml dan ditambahkan (KH_2PO_4) dengan konsentrasi yang berbeda kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm untuk menghilangkan kontaminasi mikroorganisme yang tidak diinginkan. Sedangkan untuk pembuatan media kontrol air kelapa tidak ditambahkan (KH_2PO_4). Rancangan uji pertumbuhan *S. cerevisiae* pada media perlakuan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Media perlakuan *S. cerevisiae*

Kode	Perlakuan
A1	Media limbah air kelapa + 0,125% KH_2PO_4
A2	Media limbah air kelapa + 0,25% KH_2PO_4
A3	Media limbah air kelapa + 0,375% KH_2PO_4
A4	Media limbah air kelapa + 0,5% KH_2PO_4
A5	Media limbah air kelapa + 0,625% KH_2PO_4
A0 (Kontrol)	Media limbah air kelapa + 0% KH_2PO_4

Keterangan ; A=penggunaan limbah air kelapa sebagai media pertumbuhan khamir, 0-5 = Penggunaan fosfat (KH_2PO_4)

2.4 Uji pertumbuhan *S. cerevisiae* dengan penambahan fosfat (KH_2PO_4)

Uji pertumbuhan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 1 faktorial dengan 5 perlakuan dan 1 kontrol yang kemudian diulang sebanyak 4 kali. *S. cerevisiae* yang telah tumbuh pada media YPD agar kemudian diinokulasikan sebanyak satu ose pada media YPD cair (2gr *yeast extract*, 4gr pepton, 20g dekstros, dan 200 ml akuades). Tahapan inokulasi mengacu pada metode Suprayogi *et al.* (2015) dan Purwitasari (2004) Inokulasi dilakukan dengan cara menyiapkan media cair yang telah disterilisasi sebanyak 200 mL, lalu inokulasi isolat yang diambil dari biakkan koloni menggunakan jarum ose kedalam tabung reaksi kemudian diinkubasi selama 24 jam menggunakan *rotary shaker* dengan kecepatan 160 rpm. Setelah itu khamir yang telah tumbuh pada media YPD cair di

lakukan penyamaan massa (OD=1), selanjutnya inokulasikan khamir sebanyak 1 mL ke setiap media perbanyak yang diperkaya KH_2PO_4 . Setelah itu diinkubasi diatas *rotary shaker* pada suhu ruang. Kemudian media tersebut diukur pH, suhu dan dihitung kerapatan populasi *S.cerevisiae* setiap 24 jam selama 4 hari.

2.5 Uji pertumbuhan *S. cerevisiae* dengan metode aerator

Uji pertumbuhan ini menggunakan media dengan nilai kerapatan tertinggi pada pengujian sebelumnya, inokulum *S. cerevisiae* dengan nilai OD tertinggi, KMnO_4 (1%) dan fermentor yang telah diset, Setelah itu, media dimasukkan ke dalam tabung erlenmayer 1000 ml sebanyak 500ml dengan dialiri udara menggunakan aerator melalui fermentor yang sudah diset sebelumnya, selanjutnya biarkan hingga kurang lebih 15 menit. Selanjutnya masukkan inokulum *S. cerevisiae* dengan nilai OD tertinggi kedalam media sebanyak 3 ml, kemudian udara dialiri kembali pada media tersebut. Pemasangan aerator dilakukan sampai kurang lebih 4 hari dan setiap harinya diamati jumlah kerapatan populasinya, pH dan suhu. Pengukuran jumlah kerapatan populasi menggunakan spektrofotometer. Pengukuran ini dilakukan dengan mengukur nilai OD (*Optical Density*) dari contoh substrat.

2.6 Uji antagonis khamir

1. Media

Media yang digunakan untuk pengujian antagonis khamir terhadap jamur patogen mengacu pada Nurlela *et al.* (2016). Jamur patogen dan khamir ditumbuhkan pada media PDA (40 gr/L PDA powder, 1000 ml akuades).

2. Isolasi, purifikasi dan identifikasi *Fusarium* sp.

Jamur patogen diisolasi dari tanaman budidaya yang memiliki gejala penyakit layu fusarium. Metode inokulasi mengacu pada Muhibuddin *et al.* (2011) sampel dipotong ± 1 cm dan dicuci menggunakan NaOCl selama 1 menit kemudian dicuci menggunakan alkohol selama 1 menit. Setelah itu, sampel dibersihkan menggunakan air dan dikeringanginkan pada tisu seril. Setelah kering, potongan sampel ditanam pada media PDA didalam cawan petri. Selanjutnya isolat diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu ruang. Setelah melalui tahap inkubasi, selanjutnya langkah purifikasi dan identifikasi mengacu pada Shofiana *et al.* (2015) purifikasi dilakukan dengan mengambil jamur yang telah diisolasi dan dipisahkan kedalam media PDA baru dengan menggunakan jarum ose.

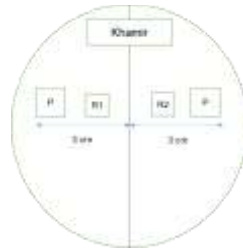
Identifikasi jamur *Fusarium* sp. dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi dengan mengamati makroskopis meliputi pengamatan morfologi koloni seperti pertumbuhan jamur pada cawan Petri, tekstur koloni, warna koloni, dan pola sebaran. Pengamatan mikroskopis dengan cara melihat hifa, warna hifa, bentuk hifa, bentuk konidia, dan ukuran spora menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000.

3. Uji antagonis *S. cerevisiae* dengan *Fusarium* sp.

Uji antagonis isolat *S. cerevisiae* dengan jamur *Fusarium* sp. menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 1 faktor dengan 6 perlakuan yang diulang sebanyak 3 kali dan kontrol disiapkan sebagai pembanding. Isolat khamir *S. cerevisiae* pada pengujian antagonis dengan *Fusarium* sp. merupakan hasil perbanyak dengan penambahan fosfat. Metode pengujian merujuk pada penelitian Shofiana *et al.* (2015) Pengujian isolat *S.cerevisiae* yang diperoleh dilakukan dengan cara menggoreskan *S.cerevisiae* pada media PDA tepat ditengah petridis berdiameter 9 cm dengan posisi tegak lurus sebanyak 1 lup inokulasi.

Biakan

Fusarium sp. diambil dengan *cork borer* dan diletakkan pada sisi kanan dan kiri goresan khamir dengan jarak ± 3 cm. kemudian diinkubasi pada suhu kamar dan diamati selama 7 hari dengan cara mengukur lebar zona hambat khamir terhadap *Fusarium* sp. pada setiap harinya.



Gambar 1. Peta uji antagonis khamir dengan patogen

Presentase tingkat hambatan relatif terhadap patogen dihitung dengan rumus yang mengacu pada Begum *et al.* (2008) yaitu:

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

Keterangan:

THR : presentase tingkat hambatan terhadap pertumbuhan patogen

R1 : jumlah jari-jari (R1 + R2) koloni patogen tanpa perlakuan khamir (kontrol)

R2 : jumlah jari-jari (R1 + R2) koloni patogen yang diberi perlakuan khamir

4. Preparasi sampel pengamatan mekanisme antagonis dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Metode yang digunakan mengacu pada Hastuti (2016) yaitu hasil uji antagonis dipreparasi terlebih dahulu dengan cara menyiapkan *cover glass* steril dan diletakkan pada cawan steril-, Lalu mengiris 2 x 2 mm pada zona antagonis dan diletakkan diatas *cover glass* steril yang telah disiapkan. Kemudian dilakukan pengeringan atau dehidrasi bertingkat menggunakan konsentrasi larutan etanol 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, dan 96% dengan cara disemprotkan kurang lebih dengan jarak 30 cm. Setiap penyemprotan konsentrasi etanol dilakukan dengan jarak waktu 5 menit untuk pengeringan. Setelah isolat dikeringkan kurang lebih selama 4-5 hari, selanjutnya diamati menggunakan mikroskop elektron skanning.

2.7 Analisis data

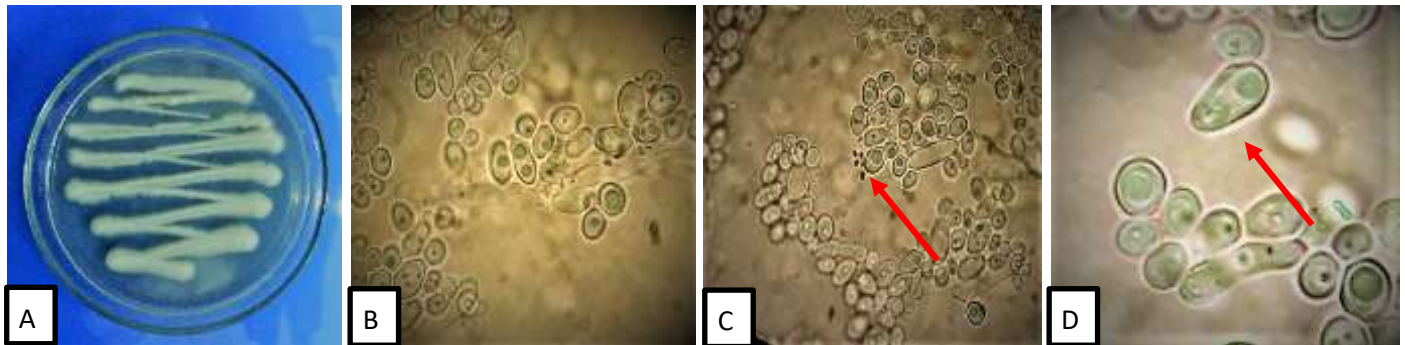
Data yang diperoleh dari uji pertumbuhan *S. cerevisiae* dengan penambahan fosfat (KH_2PO_4) dan uji antagonis *S. cerevisiae* dengan patogen *Fusarium* sp. dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (Anova) dan apabila terdapat nilai yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji perbandingan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kesalahan 5% dengan menggunakan *software Microsoft Excel 2013* dibantu dengan program DSAASTAT.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Isolasi dan identifikasi *S. cerevisiae*

Pengamatan koloni *S. cerevisiae* dilakukan secara makroskopis dan juga mikroskopis (Gambar 2). Pada pengamatan makroskopis (Gambar 2a) diketahui bahwa koloni biakan murni *S. cerevisiae* berwarna putih kekuningan, memiliki permukaan lembut, bertekstur lunak terlihat halus, memiliki tepian yang bergerigi dan koloni memiliki elevasi agak cembung Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bentuk silindris,

memiliki warna hialin serta dari kumpulan sel terdapat sel yang berpasangan atau tunggal (Gambar 2b).



Gambar 2. *S. cerevisiae*. A: Biakan murni pada media YPD umur 7 HSI, B: Mikroskopis pada mikroskop cahaya perbesaran 1000, C: Pertunasan, D: bentuk dari sel khamir yang akan membelah diri.

3.2 Pengaruh konsentrasi fosfat terhadap kerapatan populasi *S.cerevisiae*

Pengujian dilakukan terhadap isolat khamir *S.cerevisiae* pada media limbah air kelapa dengan penambahan Potassium Fosfat (KH_2PO_4) dengan kode isolat A0(0%), A1(0,125%), A2(0,25%), A3(0,375%), A4(0,5%) dan A5(0,625%), isolat khamir dengan kode isolat A0 merupakan kontrol.

Tabel 1. Rerata Nilai Optical Density (OD) *S. cerevisiae* dalam media perlakuan yang berbeda selama 96 jam

Perlakuan	Waktu (Jam)			
	24 jam	48 jam	72 jam	96 jam
A0	0,976 a	1,187 b	1,17 bc	0,912 ab
A1	1,007 a	0,825 a	1,06 a	0,833 a
A2	0,923 a	1,101 b	1,105 ab	0,985 ab
A3	1,093 ab	1,363 cd	1,481 d	0,866 a
A4	1,2 b	1,391 d	1,555 d	1,07 b
A5	1,239 b	1,218c bc	1,208 c	0,903 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama dalam satu kolom menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Berdasarkan sidik ragam diketahui bahwa nilai OD *S. cerevisiae* antar perlakuan menunjukkan adanya beda nyata. Hal ini berarti terdapat pengaruh media terhadap jumlah sel. Pengamatan pada jam ke 24-72 pada isolat khamir A3 dan A4 menunjukkan nilai OD yang cenderung meningkat, isolat A5 menunjukkan hasil nilai OD yang stabil dan isolat khamir lainnya menunjukkan hasil nilai OD yang fluktuatif. Pengamatan jam ke- 96 jumlah kerapatan populasi khamir cenderung menurun.

Waktu pembiakan 72 jam pada semua media memberikan jumlah sel yang terbanyak, karena pada masa tersebut laju pertumbuhan merupakan puncak dari perkembangbiakan khamir atau dikenal dengan fase logaritmik. Menurut Fardiaz (1992) fase logaritmik merupakan fase pada saat mikroorganisme membelah dengan cepat. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara.

Menurut Sari *et al.*,(2016) pada jam ke-0 sampai jam ke-72 terjadi fase eksponensial pada isolat *Saccharomyces*. Khamir akan membelah dengan cepat dan konstan. Sel khamir membelah tiap 90 menit sekali, sel melakukan konsumsi nutrisi dalam medium fermentasi dan proses fisiologis lainnya. Selain itu, pada fase ini mikroorganisme membutuhkan energi lebih banyak daripada fase lainnya.

Selama pembiakan 72 jam *S. cerevisiae* mengalami pertumbuhan yang cepat karena khamir memasuki fase log. Menurut Ivanesthi *et al.*(2016) fase log terjadi mulai hari kesatu sampai hari ketiga. Pada fase ini peningkatan jumlah sel sangat terjadi cepat diiringi dengan penggunaan nutrisi yang semakin banyak. Pertumbuhan yang khamir yang cepat juga dipengaruhi dengan adanya nutrisi yang terkandung dalam media, tersedia dalam jumlah yang berlebih untuk dimanfaatkan *S. cerevisiae* bagi . *S. cerevisiae* memanfaatkan protein, karbon, dan mineral yang terkandung dalam limbah air kelapa sebagai substrat metabolisme untuk sintesis komponen sel dan fosfat yang diberikan dalam media perlakuan sebagai pemicu pertumbuhan sel terutama dalam pembentukan asam nukleat dan transfer energi. Nutrisi seperti fosfat akan memasok tidak hanya sebagai substrat untuk pertumbuhannya tetapi, juga sinyal untuk pertumbuhan. Fosfat berperan sebagai sumber daya dimana sel meningkatkan massa dan menghasilkan energi untuk mendorong aktivitas biosintesis, tetapi juga sebagai sinyal mendikte metabolisme, transkripsi, dan program-program pembangunan yang mengoptimalkan kelangsungan hidup, meningkatkan efek yang sangat stimulatif pada pertumbuhan khamir (Swinnen *et al.* 2006). Menurut Machfud *et al.* (1989) peningkatan jumlah sel dan massa sel menandai adanya pertumbuhan mikroorganisme. Semakin tinggi kecepatan pertumbuhan semakin banyak jumlah massa sel (Fardiaz, 1987).

Pengamatan jam ke- 96 jumlah kerapatan populasi khamir cenderung menurun dan berdasarkan sidik ragam diketahui bahwa nilai OD *S. cerevisiae* antar perlakuan menunjukkan tidak beda nyata. Hal ini berarti tidak terdapat pengaruh media terhadap jumlah sel. Hal tersebut disebabkan oleh berkurangnya nutrisi penting dalam media karena *S. cerevisiae* telah memanfaatkan nutrisi yang terkandung dalam media tersebut untuk kebutuhan metabolismenya. Selain itu, pada jam ke 96 *S. Cerevisiae* telah memasuki fase stasioner. Menurut Kusmiati *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa khamir *S.cerevisiae* pada jam ke-84 memasuki fase stasioner dan pada hari selanjutnya akan memasuki fase kematian. Fase stasioner akan menunjukkan bahwa jumlah sel akan menurun dengan berkurangnya nutrisi dalam medium dan akan semakin menurun dengan bertambahnya waktu (Mashitoh, 2012).

Media limbah air kelapa dengan penambahan fosfat (KH_2PO_4) sebanyak 0.5% menghasilkan nilai OD tertinggi yaitu sebesar 1.07. Hal ini menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* mampu tumbuh dan berkembang secara optimal pada media dengan penambahan fosfat sebanyak 0.5% dibandingkan dengan media yang lainnya. Nutrisi seperti fosfat harus diberikan secara optimal, fosfat akan meningkatkan efek yang sangat stimulatif pada pertumbuhan khamir (Swinnen *et al.*,2006). Jika khamir kekurangan fosfat akan menyebabkan tidak terjadinya pembelahan sel (Suharsono,2003). Menurut Cochrane,(2004) jika penambahan fosfat tidak sesuai kebutuhan khamir maka nutrisi seperti fosfat akan menjadi racun yang menghambat pertumbuhan. Selain itu *S.cerevisiae* dapat menggunakan karbohidrat sederhana yang terdapat pada air kelapa tersebut. Menurut Nuraida *et al.* (1996) dan Santoso (2003) air kelapa mengandung karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, fruktosa, inositol, dan sorbitol yang dapat digunakan oleh *S. cerevisiae* sebagai sumber karbon.

Tabel 2. Nilai pH dan suhu dalam media perlakuan yang berbeda selama 96 jam

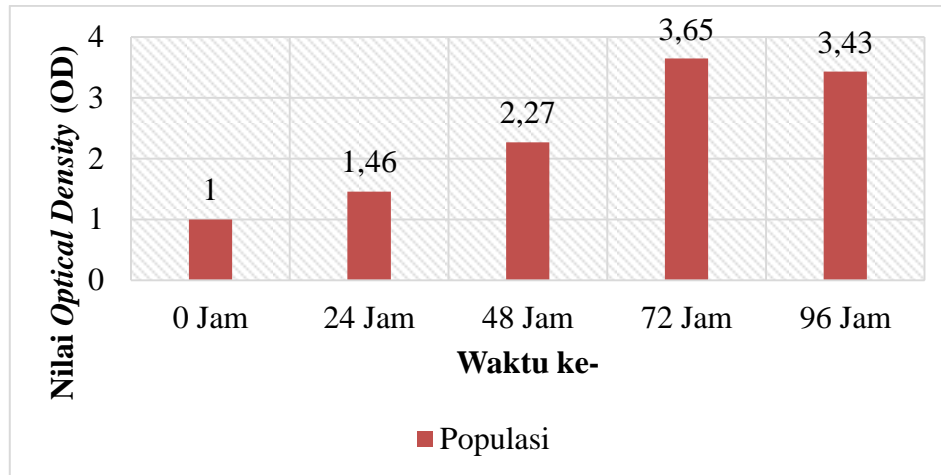
Perlakuan	Pengamatan			
	pH		Suhu (°C)	
	0 jam	96 jam	0 jam	96 jam
A0	6.33	5.31	26.1	26.6
A1	6.31	5.14	26.1	26.6
A2	6.33	5.20	26.1	26.6
A3	6.33	5.28	26.1	26.6
A4	6.33	5.28	26.1	26.6
A5	6.33	5.27	26.1	26.6

Berdasarkan data diatas diketahui bahwa nilai pH media pada semua perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dan nilai rerata pH cenderung menurun mulai dari jam ke 24 hingga 96. Nilai pH tertinggi di jam ke 96 dari semua perlakuan diperoleh pada perlakuan media limbah air kelapa dengan penambahan fosfat 0.375% (A3) dan perlakuan media limbah air kelapa dengan penambahan fosfat 0.5% (A4) . Sedangkan nilai pH terendah diperoleh pada media limbah air kelapa dengan penambahan fosfat 0.125% sebesar 5.14. Nilai pH awal pada masing-masing perlakuan adalah 6.3. Menurut Said *dalam* Wahono *et al.* (2011) menuturkan nilai pH tersebut masih berada dalam batas normal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* yaitu 2,5-8,5, sehingga perubahan pH pada semua perlakuan tidak menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*.

Berdasarkan data diatas diketahui bahwa nilai Suhu pada semua perlakuan menunjukkan tidak adanya perbedaan dan nilai rerata suhu mulai naik pada jam ke 72 dan turun kembali pada jam ke 96. Suhu tertinggi pada jam ke 72 dari semua perlakuan media limbah air kelapa dengan penambahan fosfat sebesar 27.5 °C . Suhu awal pada masing-masing perlakuan adalah 25.5 °C. Suhu tersebut masih berada dalam batas normal untuk pertumbuhan *S. cerevisiae* yaitu berkisar 25-30 °C, sehingga perubahan suhu pada semua perlakuan tidak menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*. Khamir mempunyai keadaan lingkungan tempat hidup yang spesifik. Kisaran suhu optimal untuk kebanyakan khamir sama dengan kapang, yaitu pada 25-30 °C (Elevri dan Putra, 2006)

3.3 Perbanyak khamir pada media air kelapa dengan metode aerator

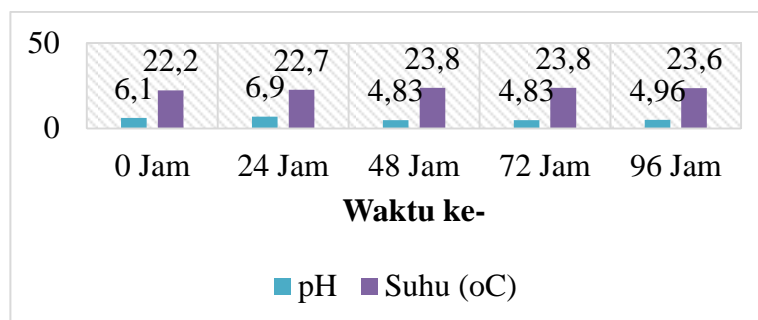
Perbanyak dengan metode aerator berguna sebagai uji lapang dari perbanyak dengan metode shaker. Media yang digunakan adalah media air kelapa dengan perlakuan penambahan KH_2PO_4 sebanyak 0,5gr. Media ini digunakan karena pada perbanyak menggunakan shaker memiliki nilai kerapatan populasi sel tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hasil pengamatan pertumbuhan *S.cerevisiae* dalam media perlakuan penambahan KH_2PO_4 sebanyak 0,5gr disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik kerapatan populasi *S. cerevisiae* dengan metode aerator

Berdasarkan dari hasil pengamatan yang dilakukan pada jam ke 0 – 96 menunjukkan perbedaan jumlah kerapatan populasi yang signifikan, terlihat bahwa kerapatan populasi khamir meningkat pada jam ke 0 -72 , yaitu dengan nilai OD awal 1 hingga mencapai nilai OD sebesar 3.65. Peningkatan jumlah kerapatan populasi ini dipengaruhi oleh nutrient yang tersedia pada media dan pada jam ke 72 ini khamir memasuki fase puncak dalam pertumbuhannya. Fase puncak pertumbuhan khamir ini disebut fase log (eksponensial) yang dipengaruhi oleh komposisi medium, lingkungan, dan juga jumlah sel pada medium (Rahmana *et al.*, 2016). Menurut Walker dalam Mashitoh (2012) pertumbuhan khamir optimum terjadi pada hari ketiga, karena khamir secara optimal mampu memanfaatkan nutrisi di dalam media pertumbuhan sehingga aktivitas pembelahan sel berjalan dengan baik. Pengamatan pada jam ke 96 menunjukkan hasil sebaliknya, kerapatan populasi khamir menurun yaitu sebesar 3.43. Hal ini dikarenakan khamir *S. cerevisiae* sudah memasuki fase stasioner dan menuju fase kematian sehingga menyebabkan pertumbuhannya terhambat. Menurut Kusmiati *et al.*,(2011) *S. cerevisiae* yang memasuki fase stasioner akan terhambat pertumbuhannya hingga berhenti pertumbuhannya dan pada hari selanjutnya akan memasuki fase kematian, pada fase kematian adanya akumulasi autotoksin dan metabolit penghambat pertumbuhan.

Berdasarkan hasil pengamatan, diketahui pada pengamatan suhu tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari hasil jam ke 0 hingga jam ke-96. Terlihat memang suhu yang di tampilkan pada grafik diatas menurun, namun penurunan suhu tersebut tidak berpengaruh terhadap laju peningkatan kerapatan populasi khamir *S. cerevisiae* karena suhu yang dihasilkan dari perbanyakan ini masih dalam batas normal. Kisaran suhu optimal untuk kebanyakan khamir sama dengan kapang, yaitu pada 25-30 °C (Elevri dan Putra, 2006). Hal tersebut juga dituturkan dalam penelitian Nurhidayat *et al.*(2006) suhu optimum pada perkembangan khamir umumnya yaitu 28-30°C.



Gambar 4. Grafik nilai pH dan Suhu *S.cerevisiae* pada metode aerator

Perubahan pH yang terjadi pada media perbanyak cenderung menurun dari keadaan pH yang netral hingga menjadi asam, hal tersebut dikarenakan khamir memerlukan suasana asam, yaitu antara 4,8- 5,0 (Nurhidayat *et al.*, 2006). *S. cerevisiae* merupakan khamir yang mampu hidup dalam keadaan pH yaitu 2,5-8,5, sehingga perubahan pH pada semua perlakuan tidak menghambat pertumbuhan *S. cerevisiae*. Khamir *S. cerevisiae* tumbuh optimum pada kondisi lingkungan dengan pH optimum 4-5, suhu 28–30 °C, dan membutuhkan oksigen pada awal pertumbuhannya (Nurhidayat *et al.*, 2006). Menurut Budiyanto (2003) dalam Wahono *et al.* (2011) mengatakan pH yang optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 4-4,5.

3.4 Uji antagonis *S. cerevisiae* terhadap patogen *Fusarium sp.*

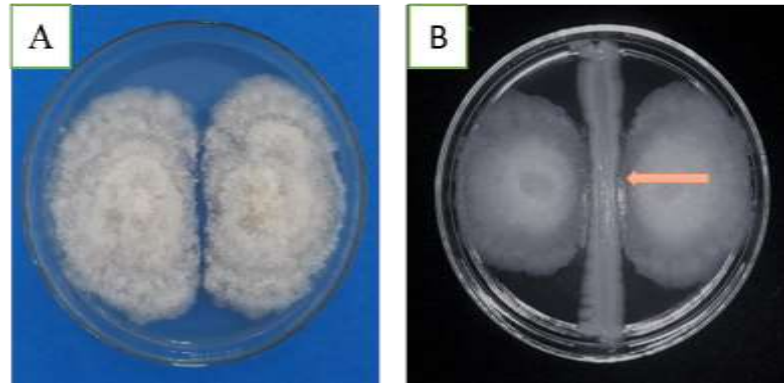
Uji antagonis *S. cerevisiae* terhadap *Fusarium sp* menggunakan media PDA dan hasil pengujian menunjukkan persentase hambatan yang beragam. Rerata persentase penghambatan *S. cerevisiae* terhadap *Fusarium sp* ditunjukkan pada Tabel 4.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa khamir memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Fusarium sp.* Berdasarkan hasil analisis sidik ragam pada taraf kesalahan 5% (Tabel 4) menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan. Persentase hambatan 7 HSI pada setiap perlakuan sebesar A0(9.67%), A1(11%), A2(10.67%), A3(12%), A4(13%) dan A5(6%). Mekanisme antagonis yang dihasilkan dapat berupa kompetisi nutrisi dan ruang, produksi enzim kitinase, parasitisme. Janisiewicz dan Korsten (2002) juga menyebutkan bahwa mekanisme kompetisi ruang dan nutrisi terjadi ketika khamir berusaha mendapatkan nutrisi dan ruang yang terbatas saat ditumbuhkan bersama patogen. Mekanisme yang terjadi antara *S.cerevisiae* dengan *Fusarium sp.* merupakan mekanisme antibiosis. Terlihat khamir adanya zona bening disekitar khamir yang tidak ditumbuhi koloni *Fusarium sp.* yang diduga digunakan untuk menghambat pertumbuhan dan perkembangan koloni *Fusarium sp.* hal ini membuktikan terjadi mekanisme antagonis antara khamir dengan pathogen (Gambar 5B).

Tabel 3. Rerata persentase hambatan khamir terhadap jamur *Fusarium sp.*

Perlakuan	Rerata persentase hambatan <i>Fusarium sp.</i> (%) hari ke -						
	1	2	3	4	5	6	7
Kontrol	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a
A0	8.33 ab	4.33 ab	7.67 b	2.33 b	7.33 ab	7.67 b	9.67 c
A1	25 c	4.33 ab	10.33 bc	4.67 bc	5.33 b	6 b	11 c
A2	33.33 c	8.67 bc	16 bc	9 bc	5.33 b	4.33 ab	10.67 c
A3	25 c	25 c	24.33 c	9 C	5.33 b	4.33 ab	12 c
A4	16.67 bc	17 bc	16 bc	8.67 bc	5.33 b	6 ab	13 c
A5	33.33 c	4.33 ab	0 a	4.67 a	5.33 b	1.33 ab	6 b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada uji lanjut menggunakan uji DMRT taraf kesalahan 5%. Data ditransformasi dalam bentuk $\sqrt{x + 0,5}$ untuk kepentingan analisis.



Gambar 5. Hasil uji antagonis *S.cerevisiae* terhadap patogen *Fusarium sp. 7 HSI* pada media PDA. A) Perlakuan kontrol, (B) perlakuan isolat khamirA3, dan tanda panah menunjukkan zona bening khamir yang terlihat.

Mekanisme ini menghambat pertumbuhan patogen dengan menghasilkan metabolit sekunder. Menurut Hagagg dan Mohamed, (2007) kemampuan khamir dalam menekan kejadian penyakit karena enzim mampu menghasilkan enzim yang berpotensi menghambat, menekan dan mampu merangsang beberapa jenis respon pertahanan inang. Mekanisme antibiosis melibatkan penggunaan senyawa metabolit sekunder seperti enzim pelisis, senyawa volatile, atau senyawa toksik lainnya sehingga dapat menyebabkan fungistatik, lisis dinding sel, atau nekrotik, sehingga pertumbuhan patogen menjadi terhambat (Hagagg dan Mohamed, 2007).

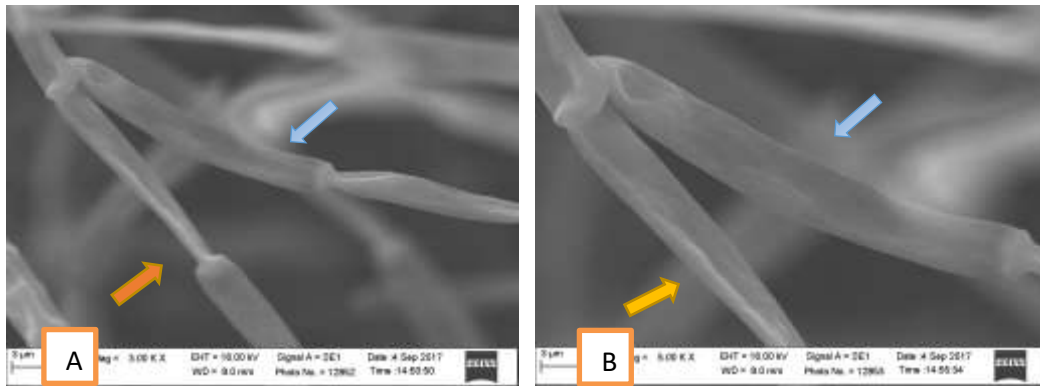
Menurut Droby (1994), bahwa setiap khamir memiliki cara mekanisme dalam menghambat suatu patogen. Seluruh genus khamir mampu menekan dan menghambat perkembangbiakan patogen dengan didukung oleh lingkungan, media tumbuh, dan nutrisi yang tersedia. Walaupun demikian, jamur patogen tetap mampu tumbuh memenuhi cawan Petri, namun miselium yang dihasilkan menjadi lebih tipis. Banyak faktor yang mempengaruhi kemampuan suatu mikroba antagonis dalam mengendalikan penyakit diantaranya adalah faktor lingkungan dan jenis mikroba yang digunakan. Menurut Octriana (2011) mikroba antagonis seharusnya mempunyai kecepatan tumbuh yang cepat sehingga dapat mengungguli cendawan patogen dalam penguasaan ruang dan akhirnya dapat menekan pertumbuhan patogen.

3.5 Pengamatan mekanisme antagonis dengan *Scanning Elctron Microscope (SEM)*




Pengamatan dengan SEM memperjelas mekanisme antagonisme antara *S. cerevisiae* dengan *Fusarium sp.* Pada hasil pengamatan dengan SEM (Gambar 5A) tampak hifa *Fusarium sp.* dengan keadaan malformasi pada bagian tertentu. Keadaan hifa malformasi merupakan kerusakan struktur hifa atau keadaan hifa yang mengalami penyusutan ukuran hifa sehingga hifa terlihat menunjukkan keadaan kurus dan berlekuk. Menurut Shalehah (2017) hifa jamur yang terkolonisasi oleh khamir dapat mengalami perubahan bentuk seperti penyusutan ukuran hifa sehingga hifa terlihat kurus dan berlekuk-lekuk, pembengkakan hifa dan terbentuknya tonjolan pada hifa. Mekanisme lainnya yang berperan penting dalam aktivitas biokontrol khamir terhadap jamur

diantaranya adalah kompetisi ruang dan nutrisi, produksi senyawa toksik volatil, produksi enzim kitinase, antibiosis, dan adanya aktivitas kinolitik.

Berikut hasil dokumentasi pengamatan menggunakan *Scanning Elctron Microscope (SEM)*.



Gambar 6. Hasil dokumentasi pengamatan antagonisme *S. cerevisiae* terhadap *Fusarium sp.* yang diamati menggunakan SEM dengan perbesaran 1000 dan 3000x.

Keterangan: (A) Bentuk malformasi hifa *Fusarium sp.* dengan perbesaran 1000x ()
 (B) Bentuk malformasi hifa *Fusarium sp.* dengan perbesaran 3000x ()
 dan bentuk keadaan normal hifa *Fusarium sp.* dengan perbesaran 3000x ()

Hasil pengamatan menggunakan SEM menunjukkan hasil dari mekanisme antibiosis, antibiosis sangat berperan dalam terjadinya antagonisme pada *S. cerevisiae* dengan *Fusarium sp.*, dalam keadaan antibiosis *S. cerevisiae* menghasilkan banyak senyawa kimia, baik berupa enzim, senyawa folatil dan non-folatil maupun metabolit sekunder yang dapat mempengaruhi dan menghambat sistem fungsional patogen (Hagagg dan Mohamed, 2007). Bersamaan dengan adanya interaksi antagonisme *S. cerevisiae* dengan *Fusarium .sp.* akan terjadi peristiwa degradasi dinding hifa patogen *Fusarium sp.* sehingga mengakibatkan hifa menjadi pipih. Hal tersebut disebabkan nutrisi dalam hifa akan terpapar keluar (Gambar 17), yang akan mengakibatkan metabolisme pada *Fusarium sp.* terhambat. Terhambatnya metabolisme mengakibatkan penurunan ATP yang dihasilkan, sehingga terjadi hambatan pertumbuhan koloni dan selanjutnya terjadi kematian sel-sel hifa.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa uji pertumbuhan *S. cerevisiae* pada media air kelapa dengan penambahan KH_2PO_4 pada metode perbanyakan shaker berpengaruh dalam meningkatkan kerapatan populasi *S. cerevisiae*. isolat khamir A4(0,5% KH_2PO_4) sebagai media dengan jumlah kerapatan populasi tertinggi dan pada validasi perbanyakan *S. cerevisiae*, isolat A4(0,5% KH_2PO_4) menghasilkan jumlah kerapatan populasi lebih tinggi menggunakan metode aerator dibandingkan dengan metode shaker.

Berdasarkan pengujian antagonisme antara *S. cerevisiae* dengan *Fusarium* sp. pada media PDA dengan menghitung tingkat hambatan relative didapatkan hasil bahwa pada isolat kode A1,A3, dan A4 setelah 7 HSI memiliki daya antagonis yang tertinggi dibandingkan dengan isolat lainnya, yaitu A1(10%), A3(12%) dan A4(13%) dengan kemampuan antagonis yang lebih tinggi dari isolate lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Begum, M.M., M. Sariah, M.A. Zainal, *et al.* 2008. Antagonistic Potential of Selected Fungal and Bacterial Biocontrol Agents against *Colletotrichum truncatum* of Soybean Seeds. *Pertanika Journal Tropic Agriculture Science* 31 (1): 45-53
- Cochrane, V.W. 1958. *Physiology of Fungi*. John Wiley and Sons, Inc., New York & London.
- Droby, S., Chalutz, E., 1994. Mode of action of biocontrol agents of postharvest diseases. In: Wilson, C.L., Wisniewski, M.E. (Eds.), *Biological Control of Postharvest Diseases: Theory and Practice*. CRC Press, Inc., pp. 63–76
- Dwiastuti, ME dan Fajri, MN 2015, Potensi *Trichoderma* spp. sebagai Agens Pengendali *Fusarium* sp.p. Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.) *Paper on International Tropical Horticulture Conference*, Yogyakarta 2-4 Oktober 2013, pp. 17.
- Fardiaz, S. 1987. *Fisiologi Fermentasi*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi pangan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fardiaz, S., E.D. Nuraeni, dan H. Kusumaningrum, 1996. Pemanfaatan air kelapa untuk produksi minuman sehat antidiare melalui proses fermentasi laktat. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan* 7(2): 47-53.
- Haggag, W. M., dan H. Mohamed. 2007. Biotechnological Aspects of Microorganism Used in Plant Biological Kontrol. *World Journal of Agricultural Sciences* 3: 771-776.
- Ivanesthi, I.R., Nurhatika, S.,Muhibuddin, A. 2016. Potensi Fermentasi Etanol Isolat Yeast Tanah yang Diisolasi dari Kabupaten Jember, Jawa Timur. *Jurnal Sains Dan Seni ITS* 5(2) : 2337-3520.
- Janisiewicz, W.J., Korsten, L., 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu. Rev. Phytopathol.* 40, 411–441
- Kusmiati, A. Thontowi., dan Nuswantara. 2011. Efek Sumber Karbon Berbeda terhadap Produksi α -Glukan oleh *Saccharomyces Cerevisiae* pada Fermentor Air Lift. *Jurnal Natur Indonesia* 13(2)
- Machfud, E., G. Said, dan Krisnani. 1989. *Fermentor*.Bogor: IPB Press
- Mashitoh, Erna.2012. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Terhadap Pertumbuhan Khamir Roti *Saccharomyces cerevisiae* Pada Media Bekatul Dalam Produksi Protein Sel Tunggal. Skripsi. Universitas Sebelas Maret Surakarta
- McComark, P.j., Wildman, H.G., Jeffries, P. 1994. Production of Antibacterial Compounds by Inhabitin Khamirs ang Khamirlike Fungi. *APP. Environ. Microbiol.* 60: 927-931.
- Muhibuddin, A., L. Addina., A. L. Abadi., A. Ahmad. 2011. Biodiversity of Soil Fungi on Integrated Pest Management Farming System. *Agrivita* Vol. 33, No. 22 : 111-118.
- Nurlela, L. Hakim, M.A. Ulim. 2016. Efektivitas Beberapa Agen Antagonis dan Cara Aplikasinya untuk Menekan Pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* pada Tanaman Kedelai *Glycine max* L. Merril. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Unsyiah* 1 (1): 155-167
- Octriana, L. 2011. Potensi Agen Hayati dalam Menghambat Pertumbuhan *Phytium* sp. Secara *In Vitro*. *Buletin Plasma Nutfah* 17(2) : 138-142
- Phillips, D & Hossein, G. 2008. Strawberry root and crownrot disease survey 2005 and 2006 seasons. *Departement of Agriculture and Food Government of Western Australia. Bulletin* 4747, pp. 72 - 83.
- Pratiwi, B.N., Sulistyowati, L, Muhibuddin, A., Kristini, A. 2013. Uji Pengendalian Penyakit Pokahbung (*Fusarium moniliformae*) Pada Tanaman Tebu (*Saccharum*

- officinarum*) Menggunakan *Trichoderma sp.* Indigenous Secara *In Vitro* Dan *In Vivo*. Jurnal HPT 1 (3) : 2338 – 4336
- Purwitasari, Erna., Pangastuti, A, Setyaningsih R. 2004 Pengaruh Media Tumbuh Terhadap Kadar Protein *Saccharomyces cerevisiae* Dalam Pembuatan Protein Sel Tunggal. Surakarta : Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta, *Bioteknologi* 1 (2): 37-42
- Rahmana,S.F., Nurhatika, S., Muhibuddin, A. 2016. Uji Potensi Fermentasi Etanol Beberapa Yeast Yang Diisolasi Dari Daerah Malang, Jawa Timur dengan Metode SDN (Soil Drive Nutrient). Jurnal Sains Dan Seni ITS 5(2):2337-3520
- Rostini, N. 2011. *6 Jurus Bertanam Cabai Bebas Hama dan Penyakit*. PT AgroMedia Pustaka, Jakarta. Hal. 41.
- Santoso, H. B. 2003. Air Kelapa Limbah Penuh Khasiat. [http: www.kompas.com/kesehatan/news/senior/gizi](http://www.kompas.com/kesehatan/news/senior/gizi). Diunduh pada tanggal 10 Februari 2017.
- Sari, D.Y.R., Saputro, T.B., Muhibuddin, A. 2016. Uji Potensi Fermentasi Etanol *Yeast* Tanah yang Diisolasi dari Metode Budidaya SDN Didaerah Batu, Jawa Timur. Jurnal Sains dan Seni ITS 17(2) : 2337-3520 .
- Shalehah, N. A. 2017. Eksplorasi Khamir dan Bakteri sebagai Kandidat Agens Antagonis Penyebab Penyakit Busuk Pangkal Batang (*Botryodiplodi theobromae* Pat.). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Shofiana, R. H., Sulistyowati, L., Muhibuddin, A. 2015. Eksplorasi Jamur Endofit dan Khamir pada Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) serta Uji Potensi Antagonismenya terhadap Jamur Akar Putih (*Rigidopus micoporus*). Jurnal HPT 3(1) : 2338-4336
- Suharsono. 2003. Metabolisme Sel. Jurusan Biologi FMIPA IPB, Bogor.
- Suprayogi, M. T. Nguyen, N. Lertwattanasakul, *et al.* 2015. A *Kluyveromyces marxianus* 2-Deoxyglucose-Resistant Mutant with Enhanced Activity of Xylose Utilization. Journal International Microbiology 18: 235—244
- Talukder, A. A., F. Easmin, S. A. Mahmud, M. Yamada. 2016. Thermotolerant Yeast Capable of Producing Bioethanol: Isolation from Natural Fermented Sources, Identification and Characterization. Journal Biotechnology & Biotechnological Equipment 30 (6): 1106-1114
- Wahono, S.K., Damayanti. E., Rosyida, T.K., Sadyastuti, E.I. 2011. Laju Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada Proses Fermentasi Pembentukan Bioetanol Dari Biji Sorgum (*Sorghum bicolor* L.). Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses Issn : 1411-4216 Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Semarang D-04- 1
- Wykoff, D. D., dan O'Shea, E. K. 2001. Phosphate Transport and Sensing in *Saccharomyces cerevisiae*. University of California, San Francisco.