

ISOLASI DAN UJI PATOGENITAS KAPANG PERUSAK PADA APEL MALANG (*Malus sylvestris* Mill.) PASCA PANEN

Andisa Shabrina¹, Iman Hidayat², dan Dalia Sukmawati^{1*}

¹Program Studi Biologi FMIPA Universitas Negeri Jakarta (UNJ). Jl. Rawamangun Muka No.1 Rawamangun, Jakarta Timur. 13220. Indonesia.

²Research Centre for Biology, Indonesian Institute of Sciences-LIPI Jl, Raya Jakarta-Bogor KM 46, Cibinong, 16911, West Java, Indonesia.

*Corresponding Email: Dalia-Sukmawati@unj.ac.id

ABSTRACT

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan menguji patogenitas kapang perusak pada buah apel bergejala busuk. Sampel buah apel busuk berasal dari Pasar Perumnas, Klender, Jakarta Timur. Isolasi dilakukan dengan teknik tanam langsung yang sebelumnya dilakukan proses sterilisasi permukaan kemudian ditanam di media PDA. Uji patogenitas berdasarkan *Postulat Koch* dengan cara kapang-kapang hasil isolasi diinfeksi ke buah apel segar. Hasil isolasi sebanyak 18 isolat kapang berhasil diisolasi dari buah apel bergejala busuk. Isolat kapang yang diperoleh memiliki koloni yang berbeda yaitu, koloni bersporulasi hijau granul, koloni bersporulasi koloni hitam granul, koloni bersporulasi abu-abu, dan koloni bermiselium abu-abu. Isolat dengan kode A1 dengan ciri memiliki sporulasi hitam merupakan isolat kapang paling perusak buah apel. Hal ini diketahui berdasarkan uji patogenitas yaitu nilai Keterjadian Penyakit (KP) sebesar 100% dan Keparahan Penyakit (KeP) sebesar 50%..

Keyword: buah busuk, kapang pembusuk, Postulat koch.

PENDAHULUAN

Apel merupakan salah satu jenis buah yang banyak diminati masyarakat Indonesia. Apel memiliki kandungan yang bermanfaat bagi tubuh manusia, seperti vitamin A, B, dan C, serta mineral (kalsium, fosfor, zat besi, klor, magnesium, natrium, potassium) (Wulandari, 2012). Menurut data dari Departemen Pertanian Nasional, produksi apel di Indonesia pada tahun 2012 sebesar 247,38 ton, pada tahun 2013 sebesar 255,33 ton dan mengalami penurunan pada tahun 2014 yaitu menjadi sebesar 242,91 ton.

Penurunan produksi buah apel pasca panen terjadi karena adanya kerusakan yang disebabkan oleh faktor fisik, kimiawi, dan biologis. Faktor fisik dapat berupa tekanan, suhu yang terlalu rendah (*chilling injury-freezing injury*) dan suhu yang terlalu tinggi. Faktor kimiawi berupa polusi udara (ozon dan sulfur dioksida) serta pestisida berlebihan. Faktor biologis disebabkan oleh mikroorganisme penyebab kerusakan pada buah (Utama & Rina, 2009). Salah satu mikroorganisme perusak buah apel adalah kapang (Semangun, 2007).

Kapang perusak buah apel dapat menyebabkan penyakit busuk buah, antara lain: busuk buah *Alternaria* (*Alternaria rot*) oleh *A. alternata*, busuk buah *Coprinus* (*Coprinus rot*) oleh *Coprinus*

psychromorbidus, busuk buah *Mucor* (*Mucor rot*) oleh *M. piriformis* (Semangun, 2007), penyakit kudis apel (*apple scab*) oleh *Venturia* sp., busuk buah (*apple rot*) oleh *Colletotrichum* sp., dan busuk pahit (*bitter rot*) oleh *Monilia* sp. (Pradana *et al.*, 2013).

Beberapa spesies kapang dari *Penicillium* yaitu *P. expansum*, *P. solitum* dan *P. komune* menyebabkan penyakit busuk kapang biru. Gejala awal terlihat pada permukaan buah apel yang lembek, berair, dan berwarna cokelat muda. Kemudian timbul miselium jamur berwarna putih yang akhirnya membentuk spora berwarna biru kehijauan (Semangun, 2007).

Kapang *B. cinerea* menyebabkan penyakit busuk kapang kelabu. Busuk kapang kelabu terjadi akibat adanya luka seperti tusukan dan memar yang timbul pada saat panen dan selama proses penanganan pasca panen. Gejala awal terlihat pada daerah pembusukan yang berwarna cokelat muda hingga cokelat tua. Kemudian timbul miselium jamur berwarna putih keabu-abuan yang akhirnya membentuk spora berwarna cokelat (Semangun, 2010).

Kapang *Venturia inaequalis* menyebabkan penyakit kudis pada buah apel pasca panen. Gejala awal timbulnya bintik-bintik tidak teratur berwarna hitam kecokelatan dan pecah-pecah (Agrios, 2005). Kapang *G. perennans*, *C. gloeosporides*, *Clasdosporium herbarum* menyebabkan busuk antraknose. Serangan pada buah apel ditandai dengan bercak cokelat atau hitam. Awalnya bercak berukuran kecil dan dapat bersatu dengan bercak lainnya sehingga dapat berukuran lebih besar (Nugraheni *et al.*, 2014).

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian berupa autoklaf, inkubator, laminar air flow, kompor gas, cawan petri, tabung reaksi, labu erlenmeyer, gelas beaker, pengaduk kaca, timbangan digital, rak tabung reaksi, jarum tanam bulat (ose), jarum dental (yang dimodifikasi pada bagian gagang), pembakar spiritus, kontener plastic dan lemari pendingin.

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi sampel buah apel malang, medium PDA (*Potato Dextrose Agar*), MEA (*Malt Extract Agar*), YMA (*Yeast Malt Agar*) steril, alkohol 70%, plastik tahan panas, kertas *yellow pages*, karet gelang, *aluminium foil*, *plastik warp*, kertas label, spidol marker, tisu, dan tali kasur

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2016. Tempat penelitian di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Universitas Negeri Jakarta (UNJ), Jakarta Timur.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah eksperimen. Rancangan penelitian yang digunakan adalah RAL (Rancangan Acak Lengkap). Khamir yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi, UNJ, sebanyak 19 isolat. Kapang yang digunakan adalah kapang hasil isolasi pada buah apel pasca panen yang mengalami gejala penyakit akibat kapang.

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel dan Isolasi Kapang Perusak Buah Apel Pasca panen

Sampel buah apel diperoleh dari Pasar Perumnas, Klender, Jakarta Timur. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dengan metode *purposive sampling*. Buah apel yang diambil sebagai sampel adalah buah yang mengalami gejala busuk akibat kapang. Masing-masing sampel dimasukkan ke dalam map cokelat dan diberi label nama.

Isolasi kapang perusak pada buah apel dilakukan berdasarkan metode Bajpai *et al.*, (2010) yang dimodifikasi dengan teknik tanam langsung yang sebelumnya dilakukan proses sterilisasi permukaan. Buah dipotong setengah bagian yang rusak dan setengah bagian yang sehat dengan ukuran ± 1 cm. Potongan buah diletakkan pada cawan petri yang telah dilapisi kertas saring steril. Kemudian potongan buah ditumbuhkan pada media PDA ditambah *chloramphenicol*. Setiap cawan petri ditumbuhi 2 potongan buah dan inkubasi selama 72 jam pada suhu 28° C. Isolat yang tumbuh diamati kemudian dipurifikasi dengan metode *hyphal tip* hingga mendapatkan koloni tunggal dan dipindahkan ke dalam medium PDA miring untuk pengujian selanjutnya..

Uji Patogenitas Kapang Perusak Buah Apel (Postulate Koch)

Uji patogenitas (Pustulate Koch) dilakukan menggunakan metode pelukaan berdasarkan Kwon *et al.*, (2011) dengan modifikasi. Kapang hasil isolasi dari buah apel busuk selanjutnya diujikan kembali pada buah apel sehat untuk mengetahui apakah isolat perusak yang didapat menyebabkan busuk pada buah apel (Masudi *et al.*, 2012). Buah apel yang akan digunakan dalam pengujian, terlebih dahulu dilakukan sterilisasi permukaan. Buah apel dicuci menggunakan akuades steril, kemudian direndam dalam larutan sodium hipoklorit 0.5% (NaOCl) selama satu menit, selanjutnya direndam dalam alkohol 70% selama satu menit dan dibilas dengan akuades steril.

Buah apel dibuat tiga luka seragam dengan diameter 5mm dan kedalaman 3 mm menggunakan cork borer pada sisi permukaan buah. Kemudian pada bagian luka tersebut diinokulasikan suspensi kapang perusak. Buah apel yang telah dilukai diletakkan pada bak plastik dan ditutup dengan plastik bening. Keempat sudut bak diletakkan kapas basah untuk menjaga kelembaban. selanjutnya diinkubasi selama 7 hari pada suhu 28° C. Pengamatan dilakukan setiap hari hingga hari ke- 7 inkubasi setelah inokulasi, dengan menentukan skoring pada skala 0, 2, 4, 6, dan 8 (Wan *et al.*, 2008), dimana: 0 = tidak ada kerusakan; 2 = $\leq 1/4$ dari bagian buah yang rusak; 4 = $1/4 \sim 1/2$ dari bagian buah yang rusak; 6 = $1/2 \sim 3/4$ dari bagian buah yang rusak; 8 = seluruh bagian buah rusak. Identifikasi ketahanan tanaman dilakukan dengan menghitung persentase Keterjadian Penyakit (*Disease Incidence*) dan Keparahan penyakit (*Disease Severity*) berdasarkan Agrios (2005) dengan rumus:

Keterjadian Penyakit (Disease Incidence)

$$KP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

KP : keterjadian penyakit

n : jumlah tanaman atau bagian tanaman yang sakit

N : jumlah tanaman atau bagian tanaman yang sehat

Keparahan Penyakit (Disease Severity)

$$KeP = \frac{n \times v}{Z \times N} \times 100\%$$

Keterangan:

KeP : Keparahan Penyakit

n : jumlah jaringan terserang pada setiap kategori (skor)

v : kategori (skor) serangan

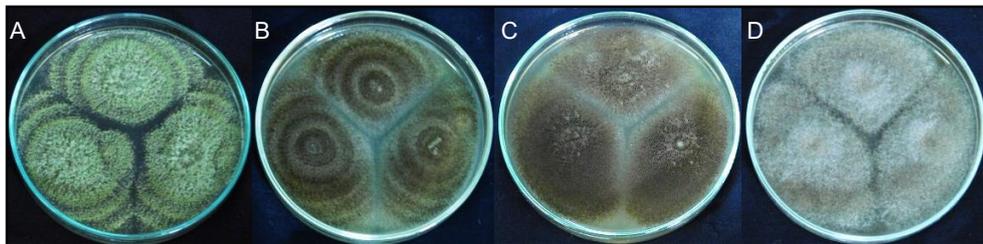
Z : nilai kategori serangan tertinggi

N : jumlah seluruh tanaman atau bagian tanaman yang diamati

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel buah apel yang diisolasi berasal dari Pasar Perumnas, Klender, Jakarta Timur. Kapang perusak diisolasi dari buah apel yang bergejala kebusukan. Buah apel yang digunakan untuk isolasi memiliki ciri tekstur buah lembek, kulit buah berkerut dan terdapat spora maupun miselium pada buah. Menurut Santoso (2011), ciri-ciri buah apel yang mengalami kebusukan yaitu kulit buah berkerut dan lembek, kulit buah berwarna kuning kecokelatan dan ditumbuhi miselium maupun spora pada permukaan buah.

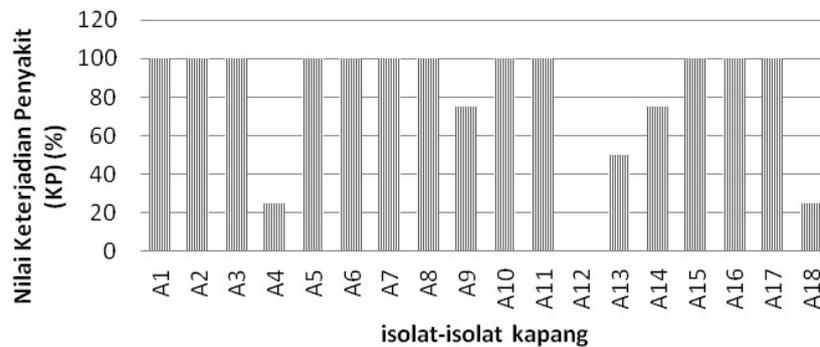
Isolat kapang yang berhasil diisolasi dari 10 sampel buah apel sebanyak 18 isolat. Isolat kapang yang diperoleh memiliki koloni yang berbeda yaitu, koloni bersporulasi hijau granul (3 isolat), koloni bersporulasi koloni hitam granul (13 isolat), koloni bersporulasi abu-abu (1 isolat) dan koloni bermiselium abu-abu (1 isolat) (Gambar 1).



Gambar 1. Isolat murni kapang perusak buah apel; A. Koloni bersporulasi hijau granul; B. Koloni bersporulasi koloni hitam granul; C. Koloni bersporulasi abu-abu; dan D. Koloni bermiselium abu-abu. [Sumber: Dokumentasi pribadi]

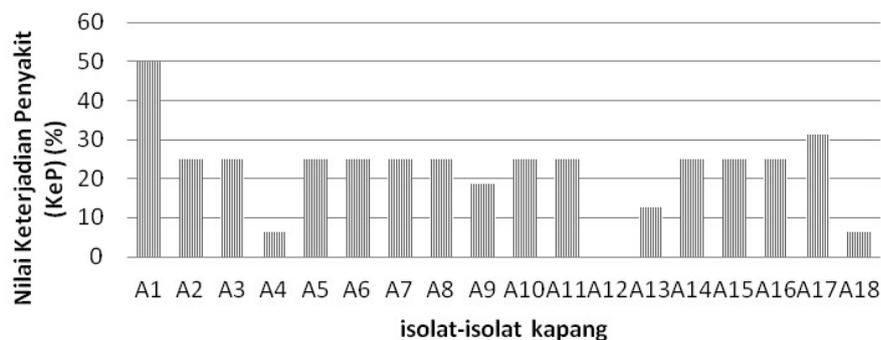
Uji patogenitas kapang perusak buah apel (*Postulate Koch*)

Uji patogenitas dilakukan pada 18 isolat kapang yang berhasil diisolasi dari buah apel. Hasil pengujian patogenitas menunjukkan isolat-isolat kapang asal buah apel busuk merupakan patogen dan dapat menyebabkan gejala kebusukan pada buah (Gambar 2; Gambar 3). Ciri-ciri terjadinya gejala kebusukan pada buah apel ditunjukkan dengan tingginya nilai persentase Keterjadian Penyakit (KP) dan Keparahan Penyakit (KeP).



Gambar 2. Nilai persentase Keterjadian Penyakit Buah Apel

Hasil uji patogenisitas menunjukkan bahwa tidak semua isolat kapang dapat menyebabkan kebusukan pada buah apel. Sebanyak 12 isolat kapang memiliki persentase KP tertinggi yaitu sebesar 100%. Sebanyak empat buah apel dalam pengujian ini mengalami kebusukan yang ditunjukkan dengan tumbuhnya kapang pada buah. Sebanyak dua isolat kapang memiliki persentase KP sebesar 75%. Sebanyak tiga buah apel dari empat buah dalam pengujian ini mengalami kebusukan. Sebanyak satu isolat kapang memiliki persentase KP sebesar 50%. Sebanyak dua buah apel dalam pengujian ini yang mengalami kebusukan. Sebanyak isolat isolat kapang memiliki nilai persentase KP sebesar 25%, artinya hanya satu buah apel dari empat buah yang mengalami kebusukan. Sebanyak satu isolat kapang yang tidak mengalami keterjadian penyakit.



Gambar 3. Nilai persentase keparahan penyakit buah apel (KeP)

Isolat kapang (A1, A2, A3, A5, A6, A7, A8, A10, A11, A15, A16, A17) yang memiliki persentase KP sebesar 100% tidak semuanya memiliki persentase keparahan penyakit tertinggi. Sebanyak 10 isolat kapang memiliki persentase KeP sebesar 25%. Kapang-kapang tersebut memperlihatkan pertumbuhan spora sedikit pada bekas luka disertai lingkaran berwarna cokelat kekuningan di sekitar luka. Sebanyak satu isolat kapang memiliki persentase KeP sebesar 31,25%. Kapang tersebut memperlihatkan pertumbuhan spora yang sedikit menyebar pada bekas luka disertai lingkaran berwarna cokelat muda di sekitar luka. Sebanyak satu isolat kapang memiliki persentase KeP sebesar 50%. Kapang tersebut memperlihatkan pertumbuhan spora lebar dan menyebar pada bekas luka disertai lingkaran berwarna cokelat kehitaman di sekitar luka.

Berdasarkan hasil uji patogenitas dengan persentase KP dan KeP tertinggi terdapat dua isolat (A1, A17) yang mampu menyebabkan buah apel menjadi busuk. Isolat kapang tersebut memperlihatkan pertumbuhan spora yang menyebar di sekitar bekas luka. Sporulasi kapang A1 berwarna hitam dan sporulasi kapang A17 berwarna hijau. Isolat kapang menyebabkan buah busuk dengan kulit sedikit berkerut dan tekstur sedikit lunak.

Beberapa peneliti telah melakukan pengujian patogenitas kapang yang diisolasi dari buah busuk. Hafsoh (2007) melaporkan isolat kapang dari buah pepaya dapat menyebabkan gejala patogenitas dengan menimbulkan bercak. Rata-rata diameter bercak berkisar 1,1 sampai 2,7 cm dengan masa inkubasi berkisar 4,33 sampai 6,67 hari. Hafsah & Zuyasna (2013) melaporkan isolat kapang dari buah kakao dapat menyebabkan gejala patogenitas dengan rata-rata masa inkubasi 2,11 sampai 3,06 hari dan diameter gejala pada 3 hari setelah inokulasi 2,39 sampai 3,64 cm. Persentase kemunculan gejala tergolong tinggi dengan kisaran 75 sampai 99%.

Pengujian patogenitas membuktikan bahwa kedua isolat kapang (A1, A17) asal buah apel busuk merupakan kapang penyebab kebusukan pada buah dengan patogenitas tinggi dan memenuhi kriteria sesuai Postulat Koch. Menurut Melanie (2004), Postulat Koch dapat digunakan sebagai kriteria patogenitas suatu isolat kapang. Berdasarkan prinsip tersebut, suatu isolat dapat menyebabkan penyakit apabila memenuhi syarat yaitu, 1) Isolat dapat diisolasi dari inang yang sakit; 2) Isolat tersebut dapat ditumbuhkan di laboratorium; 3) Isolat hasil isolasi akan memberikan gejala penyakit yang sama dengan pertama kali diisolasi ketika diinokulasikan pada inang yang sehat; 4) Isolat tersebut dapat diisolasi kembali ke inang yang sehat dengan ciri morfologi yang sama.

SIMPULAN

Hasil isolasi kapang yang memiliki gejala kerusakan diperoleh sebanyak 18 isolat kapang. Berdasarkan hasil uji patogenitas diperoleh 12 isolat kapang memiliki persentase KP tertinggi yaitu sebesar 100%. Sedangkan berdasarkan uji nilai kejadian penyakit (Kep) diperoleh kapang A1 dan A17 dengan nilai tertinggi. Isolat A1 memiliki nilai Kep 50% dan isolat A17 (31,25%).

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, N. G. 2005. *Plant pathology*. 5th ed. Departemen of Plant Pathology. University of Florida. United States of America.
- Bajpai, V. K., Yoon, J. I., Choi, S. W., & Kang, S. C. 2010. Isolation and Morphological Characterization of *Monilinia* spp. KV-27 Associated with Apple Anthracnose of Fuji Apples in Korea. *J. Plant Pathol.* 26 (2): 185-188.
- Hafsah, Siti & Zuyasna. 2013. Uji Patogenisitas Beberapa Isolat Penyakit Busuk Buah Kakao Asal Aceh Dan Evaluasi Efektivitas Metode Inokulasi. *J. Agrista* 17(1).
- Hafsoh, Siti. 2007. *Studi Patogen Penyebab Antraknosa Pada Pepaya*. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian.
- Kementerian Pertanian. 2014. *Volume ekspor, nilai ekspor, volume impor dan nilai impor komoditas apel hortikultura di Indonesia*. <https://aplikasi.pertanian.go.id/bdsp/newdata.asp>. [10 November 2015].

- Kwon, J., Kim, J., & Kim, W. 2011. First Report of *Rhizopus oryzae* as a Postharvest Pathogen of Apple in Korea. *Mycobiology* 39(2): 140-142.
- Masudi, S., Golam, H. S. B. 2012. Fulfillment of Koch postulates for in vitro pathogenicity of *Musicilium theobrome* (TURCONI) Zare & W. Gams as the cause of banana cigar end rot disease. *J. Plant Protect Research* 52(4): 410-414.
- Melanie, L., L. Ivey, C. Nava-Diaz & S. A. Miller. 2004. Identification and management of *Colletotrichum acutatum* on immature bell peppers. *Plant Dis.* 88: 1198-1204.
- Nugraheni, Astri, S., Djauhari, S., Cholil, A. & Utomo, Edi, P. 2014. Potensi Minyak Atsiri Serai Wangi (*Cymbopogon winterianus*) sebagai Fungisida Nabati terhadap Penyakit Antraknosa (*Colletotrichum gloeosporioides*) pada Buah Apel (*Malus sylvestris* Mill). *J. Hama dan Penyakit Tumbuhan* 2(4): 2338-4336. Malang. Universitas Brawijaya.
- Pradana, Galuh, S., Ardyati, Tri & Aini, Luqman Q. 2013. *Eksplorasi kapang antagonis dan kapang patogen tanaman apel di lahan perkebunan apel poncokusumo*. Malang. Universitas Brawijaya.
- Santoso, B. 2008. *Penyakit Pasca Panen Komoditi Hortikultura*. Jakarta. Rineka Cipta.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia* (Edisi Kedua). Yogyakarta. Penerbit Universitas Gajah Mada.
- Utama, S. I. M., & Rina, P. I. A. 2009. *Stres Produk Pascapanen Holtikultura*. Universitas Udayana. PPBT-UNUD.
- Wan M, Li G, Zhang J, Jiang D, Huang HC. 2008. Effect of volatile substances of *Steptomyces platensis* F-1 on control of plant fungal diseases. *Biol Control* 46: 552-559.
- Wulandari, A. 2012. Daya antibakteri ekstrak buah apel manalagi terhadap bakteri *Salmonella thyposa*. *J. Healthy Sci AAKMAL* 2:1-3.