

**EKSPLORASI, PENGUJIAN, DAN IDENTIFIKASI KHAMIR ANTAGONIS
TERHADAP PATOGEN ANTRAKNOS (*COLLETOTRICHUM LAGENARIUM*)
PADA SEMANGKA**

***EXPLORATION, EXAMINATION, AND IDENTIFICATION OF ANTAGONISTIC
YEAST AGAINST ANTRACNOSE PATHOGEN (*COLLETOTRICHUM
LAGENARIUM*) ON WATER MELON***

Kardi Raharjo

PT. Prana Ardita, Temanggung

Christanti Sumardiyono, Nursamsi Poesposedjojo

Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada

Sismindari

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Phyllosphere is one of habitat of yeast and the other microorganism included an antagonistic microorganism. The antagonistic yeasts have been isolated from watermelon phyllosphere on YM Agar medium. There are 30 isolates of yeast have been found.

The pure culture of virulent isolate I₁₅ of C. lagenarium used for testing the antagonistic ability of yeast isolates. Two yeast isolates namely K₁₀ and K₃₅ have highest ability to inhibit growth and development of C. lagenarium colony. From microscopic observation, the isolates K₁₀ and K₃₅ caused deflated on C. lagenarium hyphae. The result of identification of K₁₀ is Candida sp. and K₃₅ is Sirobasidium sp

Keywords: Candida, Sirobasidium, Colletotrichum

INTISARI

Filosfer merupakan salah satu habitat khamir dan mikroorganisme lain yang beberapa di antaranya merupakan mikroorganisme antagonis. Khamir antagonis terhadap *C. lagenarium* diisolasi dari filosfer semangka dengan medium YM Agar. Dari 30 isolat khamir yang diperoleh, diuji kemampuan antagonisme-nya pada *Colletotrichum lagenarium* isolat I₁₅ yang virulen terhadap tanaman semangka. Dari hasil pengujian ini diketahui dua isolat khamir yakni K₁₀ dan K₃₅ mempunyai kemampuan tertinggi dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan *C. lagenarium*. Berdasarkan pengamatan mikroskopi diketahui terjadi parasitisme pada miselium *C. lagenarium* oleh isolat khamir K₁₀ dan K₃₅ dengan gejala pengempisan hifa.

Hasil identifikasi berdasarkan morfologi koloni, organ vegetatif, organ reproduksi aseksual dan seksual diketahui bahwa K₁₀ adalah *Candida* sp. dan K₃₅ adalah *Sirobasidium* sp.

Kata kunci: Candida, Sirobasidium, Colletotrichum

PENGANTAR

Penyakit antraknos merupakan salah satu penyakit penting pada semangka (Sherf dan Macnab, 1986; Semangun, 1991; Sitterly dan Keinath, 1996). Penyakit ini sudah diketahui dan dilaporkan di Italia pada tahun 1867 (Sitterly dan Keinath, 1996). Menurut Sherf dan Macnab (1986) penyakit ini dapat menimbulkan kerugian ekonomi antara 30-35 persen.

Penyebab penyakit antraknos pada semangka adalah jamur *Colletotrichum lagenarium* (Sherf dan Macnab, 1986; O'Connell, 1991; Semangun, 1991; O'Connell, *et al.*, 1992; Esquerre *et al.*, 1992; Jeffries and Koomen, 1992; Sitterly dan Keinath, 1996) sinonim dengan *C. orbiculare* (Sherf dan Macnab, 1986; Sitterly dan Keinath, 1996; Zitter, 1987; Zitter *et al.*, 1998). Jamur ini membentuk stadium *teleomorph* dengan nama *Glomerella lagenarium* (Sitterly dan Keinath, 1996) sinonim dengan *G. cingulata* (Semangun, 1991), *G. cingulata var orbiculare* (Sherf dan Macnab, 1986) yang jarang dijumpai di alam.

Di Indonesia, belum pernah dilakukan penelitian pengendalian penyakit ini, terutama menggunakan mikroorganisme antagonis sebagai agen hayati. Campbell (1989) menyatakan bahwa pengendalian hayati mempunyai arti penting dalam upaya pengendalian penyakit tumbuhan karena mempunyai beberapa keunggulan antara lain biayanya murah, aman terhadap pekerja, konsumen produk pertanian, dan lingkungan serta mempunyai efek pengendalian yang berkelanjutan. Menurut Jacobsen (1997), dalam hubungannya dengan implementasi PHT (Pengendalian Hama Terpadu), pengendalian hayati merupakan salah satu komponen utama karena PHT merupakan konsep dengan pendekatan yang memaksimalkan peranan pengendalian alamiah.

Sebagai negara yang berada di daerah tropis, Indonesia memiliki potensi sumber keaneka-ragaman mikroorganisme yang tinggi, sehingga terdapat peluang yang besar untuk diperoleh mikroorganisme antagonis yang efektif untuk mengendalikan penyakit antraknos pada semangka.

Filosfer merupakan salah satu habitat mikroorganisme saprofit. Beberapa di antaranya merupakan mikroorganisme antagonis (Preece and Dickinson, 1971). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Tantawi *et al.* (1993) terdapat 26 spesies jamur yang berhasil diisolasi dari daun karet yang berasal dari kebun pembibitan karet Pusat Penelitian Perkebunan Getas. Menurut Leben (1971) pada daun apel terdapat banyak spesies jamur benang dan khamir, di mana 80-90 % di antaranya merupakan khamir. Beberapa jenis khamir (*Cryptococcus infirmo-miniatius*, *C. laurentii*, *Rhodotorula glutinis*) efektif untuk mengendalikan penyakit pascapanen pada buah pear (Benbow dan Sugar, 1999).

Sebagaimana telah dilaporkan oleh peneliti-peneliti sebelumnya bahwa mikroorganisme antagonis dapat menekan pertumbuhan dan perkembangan patogen melalui mekanisme antibiosis (pembentukan antibiotik, bakteriosin, toksin dan enzim hidrolisis), parasitisme, dan kompetisi (Wells, 1986; Cabib, 1987; Ohtakara *et al.*, 1988; Crawford, 1999; Elad *et al.*, 1999; Johnson dan Dileon, 1999; Mazzola, 1999; Raaijmakers *et al.*, 1999; Sabaratnam, 1999; Singh *et al.*, 1999; Xu *et al.*, 1999; Yedidia *et al.*, 1999; Zhang *et al.*, 1999; Kriger, 2000; Mathivanan *et al.*, 2000; Selitrennikoff, 2001; Suzuki *et al.*, 2000; Tsujibo *et al.*, 2000; Velazhahan *et al.*, 2000; Yoon *et al.*, 2001).

Sehubungan dengan hal tersebut di atas, akan dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi dan menseleksi khamir antagonis dari filosfer

yang efektif untuk menekan pertumbuhan dan perkembangan patogen antraknos (*C. lagenarium*).

BAHAN DAN METODE

1. Isolasi Khamir dari Filosfer

a. Pembuatan suspensi propagul khamir filosfer

Dua lembar daun semangka yang sehat diambil dari tanaman yang berumur 30-60 HST dari pertanaman semangka di kabupaten Temanggung, Purworejo, dan Magelang. Daun yang diambil adalah daun tertua karena pada daun tua terdapat populasi jamur dan khamir yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun muda (Tantawi *et al.*, 1993). Daun selanjutnya dipotong-potong dengan diameter 0,5 cm menggunakan bor gabus. Pada setiap daun diambil 5 potongan dari helaian bagian kanan dan 5 potongan dari helaian bagian kiri daun. Duapuluh potongan daun yang berasal dari 2 daun dari tanaman yang sama selanjutnya dimasukkan ke dalam 100 ml air steril dalam erlenmeyer 250 ml, kemudian dikocok pada meja *shaker* selama 30 menit untuk melepaskan mikroorganisme dari permukaan daun (Dickinson, 1971).

b. Satu ml suspensi propagul tersebut selanjutnya dicampur dengan medium YM agar (3 g ekstrak malt, 5 g peptone, 10 g glukosa, 20 g agar, 40 mg khloramfenikol, 1 l air) yang masih mencair (suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$) dan kemudian dituangkan ke dalam petridis. Campuran tersebut diinkubasikan pada suhu kamar selama 24-48 jam. Semua koloni yang tumbuh yang diduga khamir dipisahkan satu dengan yang lain berdasarkan warna, bentuk, dan ciri-ciri yang lain (van der Walt dan Yarrow, 1987) dengan cara memindahkan pada medium yang baru. Reisolasi dilakukan 2-4 kali sampai diperoleh biakan murni. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium PHPTPH Wilayah Kedu di Temanggung.

2. Pengujian Daya Antagonisme dan Gejala Parasitisme. Pengujian dilakukan dengan modifikasi metode yang dilakukan oleh Campbell (1989) dengan prosedur sebagai berikut:

- a. Isolat *mono spore C. lagenarium* I₁₅ yang telah diuji dalam penelitian sebelumnya dan terbukti mempunyai virulensi tertinggi diantara isolat yang diuji digunakan dalam penelitian ini. Biakan murni *C. lagenarium* berumur 5 hari pada medium YM agar ditetesi dengan suspensi khamir dengan konsentrasi 10⁶ sel/ml. Penetesan dilakukan menggunakan pipet mikro pada 5 posisi, masing-masing ditetesi dengan 0,02 ml suspensi (gambar 1 F). Tiap perlakuan terdiri dari tiga ulangan.
- b. Luas koloni khamir dan *C. lagenarium* diukur menggunakan plastik transparan yang pada permukaannya telah dibuat garis membujur dan melintang yang membentuk kotak-kotak berukuran 1 x 1 mm.
- c. Pengamatan parasitisme:
 1. Secara makroskopis. Cara kontak antara koloni khamir dengan *C. lagenarium*: diamati pada areal yang saling bersinggungan.
 2. Secara mikroskopis. Pengamatan kontak antara sel khamir dengan hifa *C. lagenarium*: sel khamir menempel atau masuk ke dalam hifa *C. lagenarium*. Pengamatan dilakukan juga pada perubahan morfologi hifa jamur.
 3. Pengamatan dilakukan tiap hari sekali dimulai 3 hari setelah perlakuan sampai dengan 8 hari setelah perlakuan.

Dari data yang diperoleh dipilih khamir yang mempunyai daya penghambatan yang tinggi melalui mekanisme parasitisme. Penelitian dilakukan di Laboratorium PHPTPH Wilayah Kedu di Temanggung.

3. Identifikasi Khamir Antagonis Terpilih.

Dua isolat khamir antagonis terpilih yang diperoleh dari kegiatan nomor 5 diidentifikasi sampai genus. Menurut van der Walt dan Yarrow (1987), khamir dapat diidentifikasi genusnya dengan pengamatan karakteristik:

A. Reproduksi aseksual (vegetatif)

1. Cara reproduksi vegetatif

Reproduksi vegetatif dapat terjadi melalui proses pertunasan, pembelahan, atau gabungannya.

2. Karakteristik sel vegetatif

a. Morfologi sel vegetatif pada media YM cair dan media YM padat.

b. Pembentukan miselium semu (*pseudomycelium*) dan miselium sejati (*true mycelium*), endospora aseksual, klamidospora, buluh kecambah, ballistospora.

B. Reproduksi seksual

1. Karakteristik pembentukan askospora

2. Karakteristik pembentukan basidiospora

Dari data tersebut di atas, selanjutnya khamir diidentifikasi menggunakan kunci determinasi seperti tertera pada lampiran II (van der Walt dan Yarrow (1987).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. *Isolasi Khamir dari Filosfer.* Dari kegiatan isolasi khamir dari daun semangka sehat menggunakan medium YM Agar telah diperoleh 30 isolat yakni K₂, K₃, K₇, K₈, K₉, K₁₀, K₁₁, K₁₃, K₁₅, K₁₇, K₁₉, K₂₁, K₂₂, K₂₃, K₂₄, K₂₆, K₂₉, K₃₀, K₃₁, K₃₂, K₃₄, K₃₅, K₃₆, K₃₇, K₃₈, K₃₉, K₄₀, K₄₁, K₄₂, dan K₄₃. Tiga puluh isolat khamir ini digunakan untuk penelitian selanjutnya.

2. Pengujian Daya Antagonisme dan Gejala Parasitisme

a. Pengamatan makroskopis

Untuk menguji daya antagonisme isolat

khamir digunakan isolat *C. lagenarium* I₁₅ (gambar 1 E) pada medium YM Agar. Tiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan.

Berdasarkan pengamatan luas koloni *C. lagenarium* sampai dengan 8 hari setelah perlakuan, terdapat dua isolat khamir yakni K₁₀ dan K₃₅ yang menunjukkan kemampuan paling tinggi dalam menekan pertumbuhan dan perkembangan *C. lagenarium* (gambar 1 A, 1 B dan tabel 1).

B. Pengamatan mikroskopis

Pengamatan mikroskopis gejala parasitisme dilakukan pada khamir terpilih (K₁₀ dan K₃₅), dengan hasil sebagai berikut:

Khamir K₁₀

Pada pengamatan makroskopis pada bagian koloni *C. lagenarium* yang bersinggungan dengan koloni khamir K₁₀ tampak terjadinya perubahan warna dari semula putih berubah menjadi coklat (gambar 1 C). Bila miselia pada bagian ini diamati di bawah mikroskop tampak sel-sel khamir menempel pada hifa *C. lagenarium* dan diameter hifa tampak lebih kecil dibandingkan dengan hifa normal (gambar 2 A).

Khamir K₃₅

Berdasarkan pengamatan makroskopis pada bagian koloni *C. lagenarium* yang bersinggungan dengan koloni khamir K₃₅ menunjukkan terjadinya perubahan warna dari semula putih berubah menjadi hitam (gambar 1 D). Bila miselium pada bagian ini diamati di bawah mikroskop tampak adanya gejala pengempisan hifa yang tidak merata sehingga tampak lekukan-lekukan (gambar 2 B).

3. Identifikasi Khamir Antagonis Terpilih

a. Khamir K₁₀

1. Morfologi koloni

Koloni khamir K₁₀ berwarna kuning kecoklatan pada bagian pinggir dengan bagian tengahnya berwarna kuning tua sehingga membentuk lingkaran dalam

Tabel 1. Luas koloni *C. lagenarium* (cm²) hasil pengujian parasitisme

Isolat khamir	Luas koloni (cm ²) pada pengamatan hari ke					
	3	4	5	6	7	8
Kontrol	9,01	20,43	20,90	22,32	27,10	29,81 _a
K ₂	2,10	3,61	4,33	6,92	7,50	8,89 _{ij}
K ₃	1,72	4,50	6,21	8,92	10,09	12,68 _g
K ₇	1,21	5,73	7,11	8,89	10,53	11,90 _g
K ₈	1,40	1,61	2,31	5,24	6,70	7,61 _j
K ₉	1,64	3,62	4,72	6,20	7,91	9,05 _i
K ₁₀	0,80	1,32	1,34	1,36	1,37	1,42 _l
K ₁₁	2,50	7,41	8,89	10,23	11,42	12,33 _g
K ₁₃	1,24	3,61	4,22	6,13	9,57	11,50 _{gh}
K ₁₅	0,62	3,41	5,14	6,70	7,51	8,25 _{ij}
K ₁₇	6,22	8,41	8,73	8,96	9,27	9,52 _i
K ₁₉	3,21	8,12	8,27	8,98	9,57	9,83 _{hi}
K ₂₁	1,61	6,72	8,15	10,02	14,37	16,68 _e
K ₂₂	1,60	4,22	7,21	9,81	12,77	15,76 _{ef}
K ₂₃	1,61	2,20	3,07	6,28	7,61	8,90 _i
K ₂₄	1,70	4,51	4,92	5,78	6,94	8,19 _{ij}
K ₂₆	1,62	3,21	5,04	7,76	9,81	11,59 _{gh}
K ₂₉	2,60	4,50	5,12	6,50	7,83	8,50 _i
K ₃₀	3,70	5,36	7,22	11,4 ₅	17,12	22,95 _c
K ₃₁	4,10	5,74	6,97	9,89	10,03	11,48 _{gh}
K ₃₂	4,10	5,53	5,59	5,67	5,95	5,95 _k
K ₃₄	2,87	3,69	5,17	9,91	15,67	17,43 _{de}
K ₃₅	0,31	0,34	0,36	0,41	0,80	0,85 _m
K ₃₆	0,85	5,03	9,09	11,87	19,75	26,65 _b
K ₃₇	4,10	6,37	7,89	8,81	10,21	11,70 _g
K ₃₈	0,62	11,61	11,99	12,91	13,48	14,65 _f
K ₃₉	4,05	6,70	8,12	11,45	16,06	18,28 _d
K ₄₀	2,98	6,88	9,05	11,34	14,01	15,73 _{ef}
K ₄₁	1,60	3,55	5,16	7,44	8,15	9,35 _i
K ₄₂	0,62	3,35	4,16	4,98	5,22	5,42 _k
K ₄₃	5,33	9,06	9,19	10,23	10,55	10,74 _h

Keterangan : Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dengan uji Duncan pada taraf 5 %.

lingkaran (gambar 1 A).

2. Morfologi sel vegetatif

Morfologi sel khamir K₁₀ pada media YM agar berbentuk lonjong dengan ujung runcing berukuran (1-1,5) x (5-9) μ m, hialin, sel yang masih

muda tidak bersekat setelah dewasa bersekat.

3. Reproduksi aseksual

Berdasarkan pengamatan mikroskopis, khamir ini membentuk miselium semu (*pseudomycelium*) tipe *mycocandida* yang

membentuk blastospora (gambar 2 C). Khamir K_{10} juga membentuk miselium sejati (*true mycelium*) yang bercabang-cabang dan arthrospora (arthrokonidia) yang terbentuk dari fragmentasi miselium sejati. Arthrospora berbentuk agak bulat dengan ukuran (1,5-2) x (5-6) μm , kemudian memanjang dan membelah diri. Pembentukan tunas merupakan cara reproduksi yang paling penting pada khamir K_{10} . Pada umumnya tunas dibentuk secara monopolar dan kadangkala secara bipolar. Sel khamir dewasa tidak memperbanyak diri dengan pembelahan sel, kecuali pada sel arthrospora.

4. Reproduksi seksual

Pada khamir ini belum dijumpai adanya organ reproduksi seksual baik askospora maupun basidiospora.

5. Nama genus khamir

Berdasarkan ciri-ciri morfologi koloni, bentuk sel khamir, dan bentuk blastospora tersebut di atas, khamir K_{10} mirip dengan *Candida boidinii* yang merupakan spesies tipikal genus *Candida*. Menurut Meyer *et al.* (1987) sel *C. boidinii* berbentuk oval lonjong sampai silindris atau kadang-kadang berbentuk agak bulat, ukuran (1,5-3-5) x (7-12) μm , koloni krem kekuningan, lembab sampai kering, lunak, lembut berkerut. Miselium semu terdiri dari hifa semu berukuran pendek sampai agak panjang, membentuk percabangan, dan memproduksi blastospora berbentuk oval.

Berdasarkan kemiripan antara khamir K_{10} dengan *C. boidinii* tersebut dapat disimpulkan bahwa khamir K_{10} adalah *Candida sp.* (familia Cryptococcaceae, form-ordo Cryptococcales, sub kelas Blastomyceti-dae, kelas Deuteromycetes, sub divisi Deuteromycotina, divisi Amastigomicota, kingdom Myceteae).

b. Khamir K_{35}

1. Morfologi koloni

Koloni khamir K_{35} yang masih muda

berwarna putih keunguan, kemudian berubah menjadi ungu dan akhirnya pada bagian tengah menjadi coklat kehitaman pada saat tua. Pada biakan murni pada umur 5 hari mulai membentuk benang-benang miselium berwarna putih (gambar 1 B).

2. Morfologi sel khamir

Khamir K_{35} berbentuk batang pendek, ujung agak runcing sampai tumpul, hialin, dengan ukuran (2-3) x (4-5) μm .

3. Reproduksi aseksual

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopi, khamir K_{35} dapat membentuk miselium semu yang tidak berlanjut dengan pembentukan blastospora. Miselium semu yang demikian disebut dengan buluh kecambah (*germ tube*). Khamir ini juga membentuk miselium sejati. Arthrospora dibentuk oleh khamir ini dengan ukuran yang lebih panjang dari sel induk. Arthrospora ini selanjutnya memanjang lagi dan membelah menjadi dua sel. Cara reproduksi dengan pembelahan sel tidak hanya terjadi pada sel arthrospora namun juga terjadi pada sel khamir dewasa yang lain. Khamir ini juga membentuk balistospora. Pembentukan tunas pada khamir K_{35} merupakan cara reproduksi aseksual yang penting. Pembentukan tunas terjadi secara monopolar.

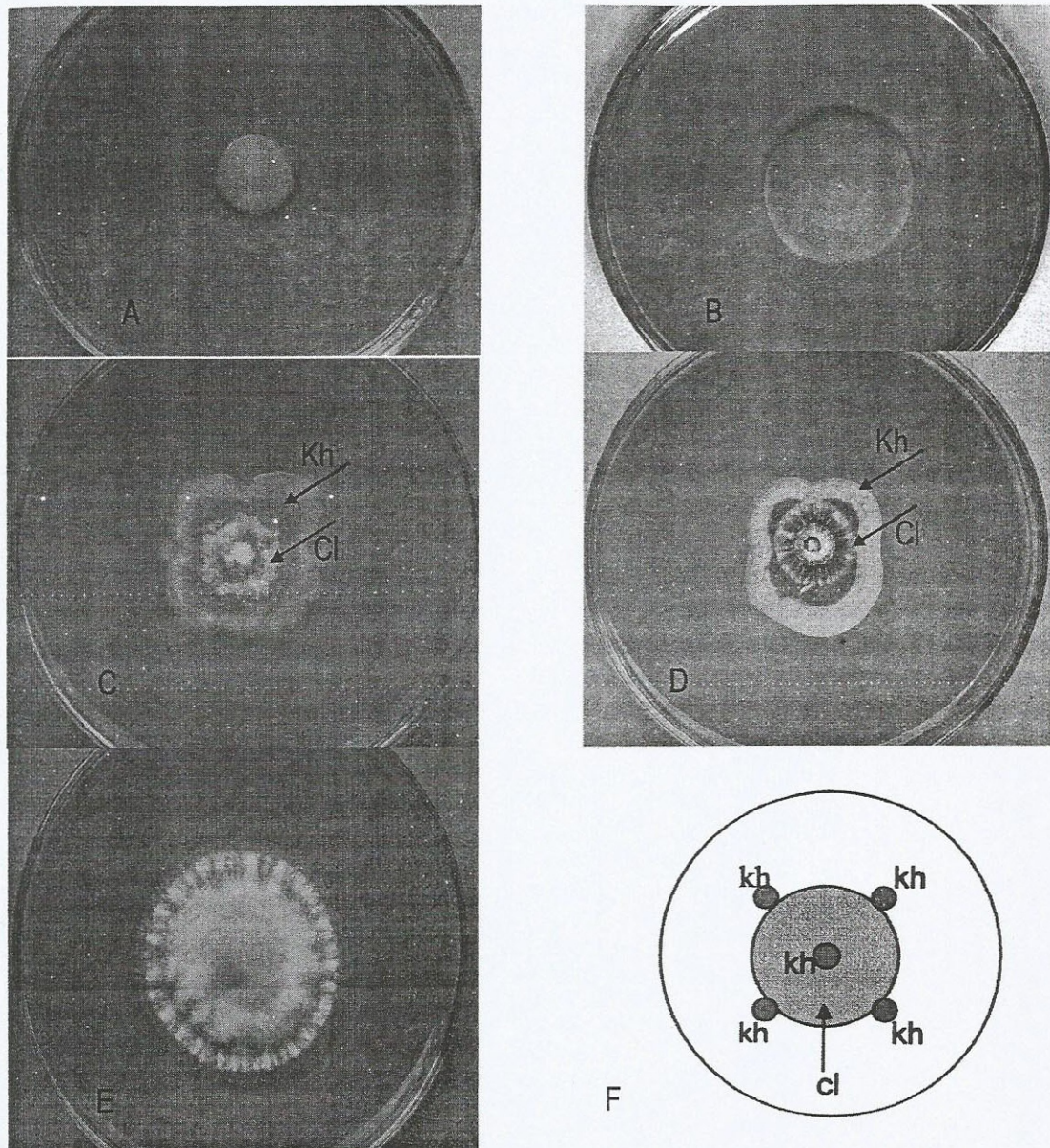
4. Reproduksi seksual

Khamir K_{35} dapat membentuk basidium dengan 4 basidiospora. Basidium terbentuk pada basidiokarp pada sekat hifa sejati dengan ukuran (3-4,5) x (6-7,5) μm . Hifa sejati yang membentuk basidium mengalami pembesaran 5-6 kali diameter hifa normal. Pada tiap sekat hifa terbentuk dua basidia (gambar 2 D).

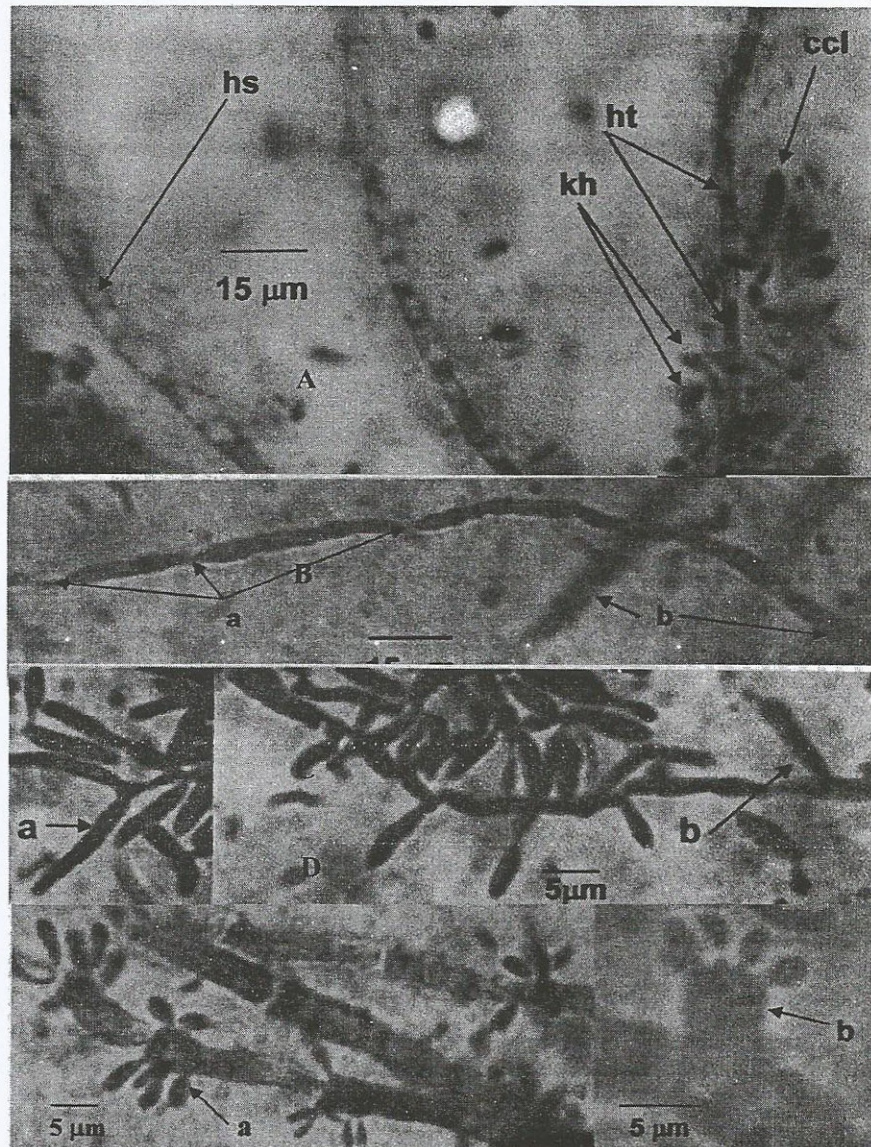
5. Nama genus khamir

Berdasarkan bentuk sel khamir, basidiokarp, basidium dan basidiospora, dapat disimpulkan bahwa khamir K_{35} adalah *Sirobasidium sp.* (familia Sirobasidiaceae, ordo Tremellales, kelas Basidiomycetes, sub

devisi Basidiomycotina, devisi Amastigomycota, kingdom Myceteae (Alexopoulos dan Mim, 1979; Bandoni, 1987).



Gambar 1. Koloni khamir K_{10} (A), khamir K_{35} (B); penghambatan pertumbuhan *C. lagenarium* oleh khamir K_{10} (C), K_{35} (D), dan kontrol (E) pada empat hari setelah perlakuan; posisi penetesan suspensi khamir (F), khamir (kh), *C. lagenarium* (cl).



Gambar 2. Gejala parasitisme oleh khamir K_{10} (A), K_{35} (B) pada hifa *C. lagenarium*; khamir K_{10} (C): miselium semu yang memproduksi blastospora tipe *mycocandida* pada ujung (a) dan pangkal (b) rangkaian blastospora; khamir K_{35} (D): basidium pada sekat hifa (a), basidium dengan 4 basidiospora (b).

KESIMPULAN

1. Telah diperoleh 30 isolat khamir dari hasil kegiatan isolasi dari daun semangka yang diambil dari beberapa lokasi pertanaman semangka di kabupaten Temanggung, Magelang, dan Purworejo.
2. Isolat khamir K₁₀ dan K₃₅ menunjukkan kemampuan menekan pertumbuhan dan perkembangan *C. lagenarium* yang paling tinggi dibandingkan dengan isolat lain yang diuji. Dua isolat ini menunjukkan kemampuan menimbulkan gejala parasitisme terhadap *C. lagenarium* yang berupa pengempisan hifa.
3. Berdasarkan hasil identifikasi diketahui nama genus khamir K₁₀ adalah *Candida* sp dan khamir K₃₅ adalah *Sirobasidium* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Benbow, J. M. & D. Sugar. 1999. Fruit Surface Colonization and Biological Control of Postharvest Diseases of Pear by Preharvest Yeast Application. *Plant Disease* 83(6): 839-844.
- Cabib, E. 1987. The Synthesis and Degradation of Chitin. In A. Meister (ed.). *Advances in Enzymology. And Related Area of Molecular Biology*. John Wiley & Sons. New York, Toronto. 59-101 pp.
- Campbell, R. 1989. *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge University Press, Cambridge, New York, Sydney. 169-183 pp.
- Crawford, D. L. 1999. Mechanism of Biocontrol of Fungal Root Pathogens in The Rhizosphere by *Streptomyces lydicus* WYEC108. *Dissertation Abstracts*. University of Idaho. 70 p.
- Dickinson, C. H. 1971. Cultural Studies of Leaf Saprophytes. In T. F. Preece and C. H. Dickinson (Eds.). *Ecology of Leaf surface Microorganism*. Academic Press. London. New York. 129-157 pp.
- Elad, Y., D. R. David, T. Levi, A. Kapat, B. Kirshner, E. Guvrin & A. Levine. 1999. *Trichoderma harzianum* T 39. Mechanisms of Biocontrol of Foliar Pathogens. In I. Lyr, P. E. Russell and H. B. Modern (Eds.). *Fungicide and Antifungal Compounds II. 12th International Reinhardtsbrunn Symposium May 24th - 29th 1999*. Friedrichroda, Thuringia, Germany. Intercept, Andover, Hants, SP 10 1YG, UK. 459-467 pp.
- Esquerre-Tugaye, M. T., D. Mazau, J. P. Barthe, C. Lafitte, & A. Touze. 1992. In *Colletotrichum*. In J. a. Bailey and M. J. Jeger (eds.). *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. CAB International. Melksham. 67-87 pp.
- Jacobsen, B. J. 1997. Role of Plant Pathology in Integrated Pest Management. *Annu. Rev. Phytopath.* 35: 373-391.
- Jeffries, P. & I. Koomen. 1992. Strategies and Prospects for Biological Control of Diseases Caused by *Colletotrichum*. In J. A. Bailey and M. J. Jeger (Eds.). *Colletotrichum. Biology, Pathology And Control*. C. A. B. International. Melksham. 337-357 pp.
- Johnson, K. B. & J. A. Dileon. 1999. Effect of Antibiosis on Antagonist Dose Plant Disease

- Response Relationships for the Biological Control of Crown Gall of Tomato and Cherry. *Phytopathology* 89(10): 974-980.
- Kruger, P. S. 2000. Regulation of Alpha-1,3-glucanase and Other Polysaccharide-degrading Enzymes From *Trichoderma harzianum*. Dissertation Abstracts. The University of Rochester. 218 p.
- Leben, C. 1971. The Bud in Relation to Epiphytic Microflora. In T. F. Preece and C. H. Dickinson (eds.). *Ecology of Leaf Surface*. Academic Press. New York. 117-127 pp.
- Mathivanan, N., V. Kabilan, & K. Murugesan. 2000. Purification, Characterization, and Antifungal Activity of Chitinase from *Fusarium chlamydosporum*, A Mycoparasite to Groundnut Rust, *Puccinia arachidis*. *Can. J. Microbiol.* 44(7): 646-651.
- Mazzola, M. 1999. Transformation of Soil Microbial Community Structure and *Rhizoctonia*-Suppressive Potential in Response to Apple Roots. *Phytopathology* 89(10): 920-927.
- Meyer, S. A., D. G. Ahearn, & D. Yarrow. 1987. *Candida* Berkhout. In N. J. W. Kreger-van Rij (ed.). *The Yeast, A Taxonomic Study*. Third Revised and Enlarged Edition. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam. 585-844.
- O'Connell, R. J. 1991. Cytochemical Analysis of Infection Structures of *Colletotrichum lindemuthianum* Using Fluorochrome-labelled Lectins. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 39 (5):189-200.
- O'Connell, R. J., C. Nash & J. A. Bailey. 1992. Lectin Cytochemistry: A New Approach to Understanding Cell Differentiation, Pathogenesis And Taxonomy. In *Colletotrichum*. In J. a. Bailey and M. J. Jeger (eds.). *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. 67-87 pp.
- Ohtakara, A., M. Izume & M. Mitsutomi. 1988. Action Microbial Chitinases on Chitosan with Different Degrees of Deacetylation. *Agric. Biol. Chem.* 52(12): 3181-3182.
- Preece, T. F. & C. H. Dickinson. 1971. *Ecology of Leaf Surface Microorganism*. Academic Press. London. New York
- Raaijmakers, J. M. R. , R. F. Bonsall, & D. M. Weller. 1999. Relationship Between Root Colonization and In Situ Antibiotic Production by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 89(6): abstract supplement S63.
- Sabaratnam, S. 1999. Biological Control of Rhizoctonia Damping-Off of Tomato With a Rhizosphere Actinomycete. *Dissertation Abstracts*. The University Of Western Ontario, Canada. 209 p.
- Selitrechnikoff, C. P. 2001. Antifungal Protein. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(7):2883-2894 pp.
- Semangun, H. 1991. *Penyakit-penyakit Penting Tanaman Hortikultura Di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 850 p.
- Sherf, A. F. & A. A. Macnab. 1986. *Vegetable Diseases and Their Control*. Second Edition. Jhn Wiley & Sons. New York.
- Singh, P. P., Y. C. Shin, C. S. Park ,& Y. R. Chung. 1999. Biological Control of Fusarium Wilt of Cucumber by Chitinolytic Bacteria.

- Phytopathology* 89(1): 92-99.
- Sitterly, W. R. & A. P. Keinath. 1996. Antracnose. In *Compendium of Cucurbit Diseases*. APS Press. New York.
- Suzuki, K., T. Uchiyama, M. Suzuki, N. Nikaidou, M. Regue, & T. Watanabe. 2000. LysR-type Transkripsional Regulator ChiR is Essential for Production of All Chitinase and A Chitin-Binding Protein, CBP 21, in *Serratia marcescens* 2170. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65(2): 338-347.
- Tantawi, A. R., A. Harsojo, & H. Semangun. 1993. Jamur Filoplan Tanaman Karet. *Tesis S2 Program Pascasarjana UGM*. Yogyakarta.
- Tsujibo, H. T. Okamoto, N. Hatano, K. Miyamoto, T. Watanabe, M. Mitsutomi, & Y. Inamori. 2000. Family 19 Chitinase from *Streptomyces thermovilaceus* OPC-520: Molecular Cloning and Characterization. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64(11): 2445-2453.
- Van der Walt, J. P. & D. Yarrow. 1987. Methods for the Isolation, Maintenance, Classification and Identification of Yeast. In N. J. W. Kreger-van Rij (ed.). *The Yeasts. A Taxonomic Study (third revised and enlarged edition)*. Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam. 45-104 pp.
- Velazhahan, R., R. Samiyappan, & P. Vidhyasekaran. 2000. Purification of Elicitor-Inducible Antifungal Chitinase from Suspension-Cultured Rice Cells. *Phytoparasitica* 28 (2): 1-9
- Wells, H. D. 1986. *Trichoderma* as A Biocontrol Agent. Dalam K. G. Mukerji and K. L. Garg. CRC Press, Inc, Boca Raton, Florida. 71-82 pp.
- Xu, T., G. E. Harman, Y. L. Wang, & Y. Shen. 1999. Bioassay of *Trichoderma harzianum* strains for Control of Rice Sheath Blight *Phytopathology* 89(6): abstract supplement S86.
- Yedidia, I., N. Benhamou, & I. Chet. 1999. Induction of Defence Response in Cucumber Plants (*Cucumis sativus* L.) by The Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol* 65(3):1061-1070.
- Yoon, H. G., H. Y. Kim, H. K. Kim, B. S. Hong, D. H. Shin, & H. Y. Cho. 2001. Thermostable Chitosanase From *Bacillus* sp. Strain CK4: Its Purification, Characterization, and Reaction Patterns. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65 (4): 802-809.
- Zhang, J. X. ,B. D. Bruton, & C. L. Biles. 1999. Relationship of Cell Walldegrading Enzymes to Virulence of *Didymella bryoniae*. *Phytopathology* 89(6): abstract supplement S89.
- Zitter, T. A. 1987. Vegetable Crop. An Antracnose of Cucurbits. Cornell Univ. Ithaca, NY. Vegetable MD Online. http://ppathw3.cals.cornell.edu/extensiases/factsheets/cucurbit_antracnose.htm.
- Zitter, T. A., D. L. Hopkins, & C. E. Thomas. 1998. *Compendium of cucurbit Diseases*. APS Press. Minnesota.