

Nama: Ulivia Alfina Zahra

NPM: 1914121011

AGT 2019

Teknik Laboratorium Produk Hortikultura

Resume Materi 1 (HPLC)

Judul jurnal: *Validation of High-Performance Liquid Chromatography for Determination of Bromelain in Pineapple (Ananas comosus (L) Merr) Water*

Pendahuluan:

Buah nanas (*Ananas comosus* (L). Merr) mengandung nutrisi yang bermanfaat bagi kesehatan. Buah nanas mengandung enzim protease termasuk ananin, comosain, dan bromelain. Bromelain dapat ditemukan di semua jaringan tanaman nanas, termasuk batang, buah, dan daun. Bromelain juga memiliki beberapa aktivitas antikanker dan dapat menyebabkan kematian sel apoptosis. Selain itu, bromelain juga dapat digunakan sebagai indikator kualitas buah nanas. Berbagai manfaat buah nanas tersebut dapat diperoleh dengan mengonsumsi buah nanas baik dalam bentuk segar maupun yang telah diolah dan disimpan dalam jangka waktu tertentu. Berdasarkan tingkat vitamin C, beberapa studi telah melaporkan 78 Bromelain dapat digunakan sebagai indikator kualitas buah nanas dalam periode simpan tertentu, karena bromelain merupakan komponen terbesar dari enzim protease dalam nanas. Bromelain sensitif terhadap suhu tinggi, keasaman dan pelarut organik. Ketidakstabilan antara komponen tersebut akan mengakibatkan penurunan aktivitas enzim dan membatasi efek farmakologisnya. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai metode analisis yang tervalidasi untuk mengetahui kandungan bromelain selama penyimpanan air buah nanas untuk menentukan kandungan bromelain.

Bahan dan Metode:

- Persiapan sampel dilakukan dengan memotong buah nanas berukuran kecil kemudian dicampur dengan juicer, lalu dimasukkan ke dalam wadah kaca dan ditutup dengan plastik wrap dan disimpan dalam lemari es pada suhu 10°C.

- Optimalisasi gerak sistem HPLC dilakukan dengan menentukan komposisi fase gerak yang memberikan hasil yang efektif dan efisien dalam analisis HPLC. Kondisi kromatografi didukung dengan C18 (150 mm X 4,6 mm) sebagai fase diam, metanol udara sebagai fase gerak dengan laju alir 0,8, 1,0, dan 1,2 ml/menit dan photodiode array (PDA) sebagai detektor pada 230 nm. Uji kesesuaian sistem biasa dilakukan sebelum analisis.
- Dibuat kurva kalibrasi untuk menentukan konsentrasi analit dalam sampel. Seri bromelain sebanyak konsentrasi 1, 2, 3, 4, 8, dan 10 % disisipkan dalam metanol. Kemudian sebanyak 20 L larutan disuntikkan ke dalam kromatografi. Korelasi koefisien (r) dibuat dari hubungan antara analit dan konsentrasi.
- Uji linearitas dilakukan dengan menggunakan sampel jus nanas sebanyak 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0; 1,2 ; dan 1,4 ml dimasukkan ke dalam masing-masing labu ukur, kemudian ditambahkan metanol hingga 5 ml. Sebanyak 20 L larutan dari masing-masing konsentrasi disuntikkan ke dalam kromatografi. Korelasi koefisien (r) kurva dibuat dari hubungan antara analit dan konsentrasi.
- Uji akurasi dilakukan dengan menggunakan metode penambahan 1 % dan 2 %. Sebanyak 20 L larutan disuntikkan ke dalam kromatografi masing-masing sebanyak 5 kali konsentrasi. Akurasi dapat ditentukan dengan menghitung recovery.
- Uji presisi dilakukan dengan menggunakan menggunakan metode penambahan 1 % dan 2 %. Sebanyak 20 L larutan disuntikkan ke dalam kromatografi masing-masing sebanyak 5 kali konsentrasi. Presisi dihitung sebagai koefisien varians dari setiap konsentrasi
- Penentuan bromelain dalam buah nanas dilakukan dengan menyimpan buah nanas pada waktu yang berbeda, yaitu 0, 1, 2, 4, dan 8 jam. Kadar Bromelain dianalisis pada setiap waktu penyimpanan. Kemudian sampel disaring menggunakan kertas saring. Filtrat dipipet sebanyak 0,4 ml dan dimasukkan ke dalam 5 larutan yang disaring dengan filter membran 0,2 m dan disonikasi untuk 15 menit sebelum disuntikkan ke kromatografi.

Hasil dan Pembahasan:

Berdasarkan hasil penelitian, pada optimalisasi fase gerak sistem HPLC diketahui puncak bromelain terjadi pada waktu retensi 2 menit, dimana area laju analit lebih pada laju alir 1 mL/menit lebih tinggi dibandingkan laju alir 0,8 dan 1,2. Artinya pada laju alir 1 mL/menit sensitivitas metode HPLC meningkat. Adapun berdasarkan hasil uji kesesuaian sistem diketahui bahwa standar larutan bromelain berada pada konsentrasi 6%. Hasil uji menunjukkan bahwa nilai CV area dan waktu retensi ($n = 5$) masing-masing sebesar 1,07% dan 1,49%. Artinya nilai kesesuaian sistem memenuhi persyaratan dengan KV sebesar 2%. Hasil uji linearitas menunjukkan bahwa linearitas metode memenuhi syarat dengan $R^2 = 0,993$. Artinya metode tersebut menghasilkan respon yang linear terhadap konsentrasi bromelain. Hasil uji akurasi dan presisi menunjukkan bahwa perolehan kembali akibat penambahan bromelain 1% dan 2%, masing-masing sebesar $106,37 \pm 1,94\%$ dan $98,12 \pm 1,29\%$ ($n = 5$). Adapun hasil uji presisi dinyatakan sebagai koefisien variasi (CV), dimana, hasil penelitian jurnal ini menunjukkan bahwa nilai CV pada penambahan 1% dan 2% bromelain masing-masing sebesar 1,83% dan 1,32% ($n = 5$). Artinya metode ini memenuhi akurasi dan presisi menurut ICH. Adapun hasil analisis kandungan bromelain dalam air buah nanas pada berbagai waktu penyimpanan menunjukkan bahwa kadar bromelain dalam air nanas tidak menurun setelah disimpan selama 8 jam pada suhu 10°C. Meskipun demikian, hasil uji statistik menunjukkan bahwa penurunan kadar bromelain setelah disimpan 8 jam pada suhu 10°C pada taraf 5% tidak signifikan. Adapun nilai rerata penurunannya sebesar $78,46\% \pm 2,88\%$ dengan penurunan relatif kadar bromelain 91,17 – 99,14% dari 1 – 8 jam penyimpanan pada suhu 10°C.

Kesimpulan:

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa pengembangan metode HPLC dengan analisis yang didukung dengan fase diam C18 (150 mm x 4,6 mm), metanol-udara (70:30) sebagai fase gerak dengan laju alir 1,0 mL/menit dan PDA sebagai detektor pada 230 nm merupakan metode yang selektif, akurat, tepat, efisien dan sederhana untuk penentuan kadar bromelin

dalam air nanas. Metode ini terbukti dapat diterapkan untuk studi umur simpan air nanas berdasarkan kandungan bromelain. Dengan penurunan 91,17-99,14% dari 1 hingga 8 jam pada 10°C. Kandungan bromelain dalam jus nanas tidak signifikan secara statistik ($\alpha = 0,05$) setelah penyimpanan 8 jam pada suhu 10°C selama 2 menit.

Resume Materi 2 (GCMS)

Judul jurnal: *Early detection and classification of pathogenic fungal disease in post-harvest strawberry by electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry*

Pendahuluan:

Strawberry merupakan salah satu buah-buahan yang banyak dikonsumsi saat ini dan menempati posisi 5 buah segar yang paling banyak dikonsumsi di Amerika Serikat setelah pisang, apel, jeruk, dan anggur. Salah satu permasalahan dalam proses produksi strawberry ini adalah sifat buah yang mudah rusak dan rentan mengalami kerusakan jaringan selama panen maupun saat masa penanganan pasca panen dan penyimpanannya. Strawberry memiliki umur simpan yang relatif pendek (± 5 hari) karena proses respirasinya berjalan cepat, gangguan fisiologis, memar akibat luka mekanis, maupun infeksi berbagai jamur fitopatogen, bakteri, atau virus, misalnya *Botrytis* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. Penyakit yang disebabkan oleh jamur umumnya sulit diidentifikasi, akibatnya penyakit jamur akan dengan cepat menyebar ke buah sehat lainnya dalam satu unit pake sehingga menurunkan kualitas dan menyebabkan kerugian.

Oleh karena itu dibutuhkan suatu metode non-destruktif yang lebih cepat, sensitif, dan dapat diterapkan secara langsung dan realtime, salah satunya dengan E-nose dan GCMS yang sensitif dan selektif terhadap senyawa volatil. Senyawa volatil dalam buah strawberry telah banyak dipelajari secara ekstensif dan telah ditemukan lebih dari 360 senyawa volatil. Meskipun demikian, deteksi dini infeksi mikroorganisme khususnya jamur pada strawberry dalam penyimpanan pascapanen belum dievaluasi secara memadai. Oleh karena itu diperlukan penelitian untuk mendeteksi dan membedakan buah strawberry yang terinfeksi

jamur pada penyimpanan pascapanen. Penelitian pada jurnal ini bertujuan untuk mengetahui kinerja E-nose dalam mendeteksi dan membedakan buah stroberi yang terinfeksi oleh tiga jamur patogen pascapanen yang umum pada tahap penyimpanan awal dan mengetahui perbedaan senyawa volatil yang diamati pada buah yang terinfeksi serta kontrol dan dianalisis lebih lanjut dengan GC-MS.

Bahan dan Metode:

- Sampel berupa buah Strawberry Hongyan utuh dan disimpan dalam ruang terkontrol dengan suhu $1 \pm 1^{\circ}\text{C}$ pada kelembaban relatif 90%. Sterilisasi buah dilakukan dengan merendam buah dalam etanol 75% selama 30 detik dan dibilas tiga kali dengan aquadest sebelum diinokulasi. Inokulasi menggunakan tiga jamur berbeda, yaitu *Botrytis* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. yang dikembangbiakkan pada PDA pada 24°C dengan RH 85% selama 7 hari
- Sistem E-nose terdiri dari pengambilan unit sampel, detektor dengan susunan 10 sensor oksida logam yang berbeda dan perangkat lunak pengenalan pola untuk perekaman dan analisis data. Setiap sensor biasanya sensitif terhadap beberapa senyawa volatil yang berbeda.
- Sebelum setiap pengujian dilakukan, semua sensor dicuci dengan udara bersih yang disaring dengan arang aktif selama 80 detik. Nilai dipilih pada area datar dari kurva respons dalam setiap pengukuran. Sampel stroberi ditempatkan di dalam kotak pada $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ dan RH 85% tanpa penyegelan. Setelah 2 jam, ketika suhu buah mencapai suhu kamar (24°C), mulut gelas dengan buah strawberry ditutup dengan kertas timah dan senyawa volatil di ruang kepala diseimbangkan selama 10 menit pada suhu kamar (24°C). Tabung Teflon 3 mm yang terhubung ke gas ruang kepala dipompa di ruang sensor dengan laju konstan 120 mL/menit. Kertas timah selama pengukuran berfungsi untuk menyerap gas yang terakumulasi dalam gelas kimia. Setelah masuknya gas di ruang sensor, rasio konduktansi dari 10 sensor berubah.
- Respons sensor diperoleh dengan rasio G/Go, di mana Go dan G mewakili konduktansi sensor oksida logam yang dikombinasikan dengan udara bersih dan gas sampel. Perangkat lunak yang digabungkan dengan E-nose mengatur

seluruh prosedur. Waktu deteksi ditetapkan selama 60 detik untuk mendapatkan kurva respons yang stabil untuk sensor. Setelah setiap pengukuran, ada fase pembersihan selama 80 detik, dan fase pengaturan nol otomatis selama 5 detik sebelum deteksi berikutnya. Semua data direkam dan disimpan oleh komputer. Dalam percobaan ini, kurva respons distabilkan setelah 25 detik dan digunakan nilai yang diperoleh pada 30 detik.

- Pembusukan jamur buah stroberi dari empat kelompok masing-masing diperiksa secara visual oleh panelis yang terdiri dari 10 orang berpengalaman berdasarkan 3 tingkat skala, yaitu 0 = tidak ada pembusukan; 1 = pembusukan ringan (menutupi <25% permukaan buah); 2 = pembusukan sedang (menutupi 25% permukaan buah).
- Senyawa volatil buah stroberi dikumpulkan dan dianalisis dengan ekstraksi mikro fase padat headspace dan spektrometri massa kromatografi gas (HS-SPME-GC-MS). Setelah analisis *E-nose*, masing-masing buah stroberi dari ketiga ulangan dipotong dan dicampur untuk identifikasi dan kuantifikasi gas yang mudah menguap. Volatil dalam sampel headspace diekstraksi dan dipekatkan menggunakan serat SPME (*poly-dimethylsiloxane*, PDMS, 100 m, Supelco, USA), dipisahkan dan diidentifikasi dengan GC-MS. Sekitar 10 g buah stroberi dari satu sampel ditimbang dan ditempatkan dalam botol 20 mL. Volatil diseimbangkan pada 40 ° C selama 40 menit dalam botol yang disegel dengan septum PTFE/BYTL dan diserap oleh kepala ekstraksi SPME dari botol. Setelah kesetimbangan, kepala ekstraksi disuntikkan ke *port inlet* GC dalam mode *split-less*. Senyawa volatil yang diserap dalam serat SPME didesorpsi secara termal pada 250°C selama 3 menit dan dipindahkan ke sistem GC. Senyawa volatil kemudian dipisahkan oleh kolom kapiler (ketebalan film 30 mm x 0,25 mm x 0,25 mm).

Hasil dan Pembahasan:

Pada tahap awal, respons setiap sensor meningkat pesat dan mencapai nilai puncak sekitar 25 detik. Selanjutnya, perubahan yang sangat kecil pada kurva respons diamati, dan konduktivitas masing-masing sensor tetap stabil.

Pembusukan diamati pada hari ke-2 untuk buah stroberi yang diinokulasi dengan tiga jamur patogen, sedangkan buah stroberi kontrol mulai membusuk setelah 4

hari. Indeks peluruhan masing-masing adalah 0%, 8,3%, 3,3% dan 6,7% pada hari ke-2 untuk kelompok kontrol, BO, PE dan RH. Selain itu, pembusukan yang terkait dengan semua jamur patogen akan lebih tinggi daripada kelompok kontrol selama seluruh periode penyimpanan. Berdasarkan hasil analisis PCA diketahui bahwa pembusukan karena infeksi jamur dapat dibedakan pada hari ke-2. Selanjutnya, untuk mewujudkan deteksi pembusukan stroberi pada penyimpanan awal, dapat diterima dan bermakna bahwa waktu uji ditetapkan pada hari ke-2.

Hasil pengujian dengan GCMS diketahui bahwa Terdapat 20 senyawa volatil utama yang diperoleh dengan HS-SPME untuk empat kelompok buah stroberi dan dianalisis dengan GC-MS untuk tiga ulangan pada hari ke-2. Berdasarkan sifat kimia dan biologinya, semua senyawa volatil dibagi menjadi kategori yang lebih luas seperti ester, aldehida, alkohol, asam, fenol dan olefin. Jumlah senyawa volatil utama yang terdeteksi masing-masing adalah 8, 11, 12 dan 12 untuk kelompok CK, BO, PE dan RH. Di antara senyawa volatil, hanya lima senyawa heksil asetat, metil-heksanoat, etil heksanoat, asam heksanoat heksil ester dan trans-nerolidol yang umum di antara empat kelompok. Trans-nerolidol dan metil heksanoat adalah yang pertama dan kedua tertinggi dalam kelimpahan volatil di antara semua kelompok buah stroberi.

Kesimpulan:

Kinerja *E-nose* dalam mendeteksi dan membedakan buah stroberi yang terinfeksi oleh tiga jamur patogen pascapanen yang umum pada tahap penyimpanan awal merupakan metode deteksi yang cepat dari infeksi jamur patogen khas buah stroberi selama penyimpanan pasca panen. Teknologi tersebut dapat membedakan pembusukan pada hari ke-2 penyimpanan awal dan jelas membedakan tiga jenis infeksi jamur umum dengan plot skor PCA. Selain itu, dapat juga membedakan antara buah strawberry yang sehat dan tiga buah stroberi yang diinokulasi jamur pada hari ke-2, dengan akurasi klasifikasi 96,6% dengan menggunakan jaringan saraf perceptron multilayer. GC-MS dapat mengkonfirmasi dan memvalidasi diskriminasi antara empat kelompok buah stroberi berdasarkan data E-nose. Terdapat 4, 2 dan 3 senyawa volatil unik dalam buah-buahan yang diberi

perlakuan BO, PE dan RH, masing-masing dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Resume Materi 3 (ASS)

Judul jurnal: *A New Method For Decomposition and Comprehensive Analysis Of Silicates By Atomic Absorption Spectrometry*

Pendahuluan:

Dekomposisi silikat yang cepat biasa menggunakan bejana yang dirancang khusus dan terbuat dari Teflon (*Du Pont*) tanpa kehilangan penguapan oleh asam fluorida pada 110 °C. Sistem asam fluoroborat ditemukan untuk menyediakan media dekomposisi yang menguntungkan dan sistem matriks tunggal bebas garam yang sesuai. Atomic Absorption Spectrometry menemukan peningkatan penggunaan dalam analisis geokimia, dan prosedur untuk penentuan beberapa konstituen utama dan kecil.

Metode:

- Penguraian dilakukan dengan memindahkan 50 mg (300 mg untuk vanadium) dari sampel berukuran 150 mesh yang representatif ke dalam bejana dekomposisi Teflon. Kemudian ditambahkan 0,5 ml aqua regia sebagai bahan pembasah dan dipastikan sampel telah benar-benar basah. Kemudian ditempatkan wadah ke dalam oven pengering selama 30-40 menit pada suhu 110 °C dan biarkan dingin sampai suhu lingkungan.
- Reaksi dan penentuan matriks ditentukan dengan cara memindahkan larutan sampel yang telah terurai dengan bantuan 4-6 ml air suling dari botol pencuci ke dalam vial Spex polistiren 50 ml. Selanjutnya ditambahkan 2,8 gram asam borat dan aduk dengan batang pengaduk Teflon untuk melarutkan asam borat dan mempercepat reaksi yang sedikit eksotermis. Setelah itu ditambahkan 5-10 ml air suling. Setiap fluorida logam yang diendapkan akan larut pada tahap ini dan pada pengenceran lebih lanjut hingga sekitar 40 ml, larutan sampel homogen yang jernih akan dihasilkan.
- Selanjutnya larutan dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml dan simpan dalam wadah polietilen. Larutan sampel tidak boleh berada dalam wadah kaca lebih

dari dua jam. Setelah itu ditentukan semua konstituen dari larutan atau dapat dilakukan pengenceran lebih lanjut dengan pipet kaca agar sesuai dengan rentang konsentrasi yang diberikan.

Hasil dan pembahasan:

Hasil untuk sampel granit, diabase, dan tektite yang di dalam tabel menunjukkan penetapan elemen 1,3% lebih baik untuk konstituen utama dan 4,0% lebih baik untuk konstituen minor. Tingkat keandalan yang relatif tinggi secara keseluruhan menunjukkan bahwa metode yang disederhanakan untuk analisis silikat ini memberikan akurasi yang memuaskan. Vanadium dalam sampel granit G-1 dan Australite hilang karena matrix berair yang digunakan tidak memberikan sensitivitas yang cukup untuk penentuan. Keberadaan konstituen pembentuk refraktori utama, silikon, aluminium, dan titanium, tidak memiliki efek merugikan pada penentuan alkali tanah. Pembentukan HBF₄-H₃BO₃ melibatkan dua reaksi eksotermik, dimana, asam fluoborat terhidrolisis secara bertahap menjadi ion hidroksifluoborat, yaitu BF₂OH⁻, BF₂(OH)₂⁻, BF(OH)₃⁻ dan H₃BO₃, dengan asam fluorida sebagai co-produk dari setiap langkah. Sistem HF-H₃BO₃-HBF₄ telah dikembangkan untuk mempelajari sejauh mana parameter konsentrasi asam fluorida dan borat, pengenceran, dan suhu mempengaruhi laju dan kondisi kesetimbangan hidrolisis. Hidrogen dan ion kalsium diketahui berkontribusi pada peningkatan laju hidrolisis, dan kation multivalen lainnya diasumsikan berperilaku serupa.

Adapun pada pengaruh asam borat pada penghambatan hidrolisis asam fluoborat dalam sistem (konstituen HBF₄-H₃BO₃-H⁺-ion silikat) diperoleh hasil bahwa larutan sampel yang terkontaminasi oleh silikon tidak lebih dari 0,1 mg pada akhir dua jam dengan adanya 2,8 gram asam borat per 100 dengan konsentrasi asam fluoborat adalah 0,207M. Kehadiran aqua regia (kurva b) dan konstituen sampel (kurva c) juga berkontribusi sampai batas tertentu pada penekanan hidrolisis asam fluoborat seperti yang ditunjukkan oleh efek kontaminasi yang lebih rendah. Dengan demikian adanya kelebihan asam borat, dekomposisi hidrolitik asam fluoborat ditekan untuk jangka waktu setidaknya dua jam dan selama periode ini hanya terjadi kontaminasi yang tidak signifikan secara analitis.

Kesimpulan:

Metode pada penelitian ini merupakan solusi yang memuaskan untuk masalah dekomposisi, pelarutan garam fluorida yang tidak larut karena pengendapan, dan stabilitas larutan sampel. Sementara itu, efek positif lingkungan sistem pada pengukuran penyerapan atom dapat diringkas sebagai berikut: Matriks asam ditemukan untuk menghilangkan kebutuhan untuk melepaskan, mengkompensasi, atau mengkomplekskan agen, atau untuk mencocokkan komposisi matriks dengan sampel yang tidak diketahui, dimana, tidak terdapat kation yang dimasukkan oleh reagen yang berkontribusi pada stabilitas sinyal pengukuran penyerapan atom.

Resume Materi 4 (SEM-EDX)

Judul jurnal: *Scanning Electron Microscopy of the Interaction Between Cryptococcus magnus and Colletotrichum gloeosporioides on Papaya Fruit*

Pendahuluan:

Colletotrichum gloeosporioides merupakan patogen penyebab antraknosa, yangmana, penyakit ini merupakan salah satu penyakit paling penting dalam pascapanen pepaya (*Carica papaya* L.). Umumnya, pathogen ini menyerang pepaya pada masa pembungaan namun tetap dapat bertahan hingga kondisi lingkungan pascapanen mampu mendukung kolonisasi patogen pada jaringan buah dan menimbulkan gejala. Salah satu metode yang banyak digunakan untuk mengatasi masalah pascapanen pepaya tersebut adalah dengan pencelupan ke dalam fungisida atau perendaman dalam air panas setelah panen. Meskipun demikian, jika metode ini tidak dilakukan dengan tepat maka metode ini justru akan dengan mudah mendistribusikan inokulum dari buah yang terinfeksi di lapangan ke buah lain yang tidak terinfeksi atau buah yang terluka.

Selain itu, meningkatnya perhatian akan bahaya toksisitas fungisida, resistensi patogen, dan potensi efek samping yang berbahaya mendorong dilakukannya penelitian untuk memilih dan menguji metode pengendalian alternatif yang lebih aman dalam proses pascapanen, misalnya dengan menggunakan patogen antagonis. Meskipun penelitian akan patogen antagonis telah banyak dilakukan dan teruji efektif, namun, hanya ada sedikit penelitian mengenai pengendalian

penyakit antraknosa pada pepaya dengan menggunakan metode ini. Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan potensi *C. magnus* dalam menghambat perkembangan *C. gloeosporioides* pada jaringan buah pepaya yang diinokulasi secara artifisial setelah panen.

Bahan dan Metode:

- Penelitian dilakukan menggunakan buah pepaya yang dipanen pada fase masak komersial yaitu saat 2/3 bagian buah telah berubah warna.
- Sumber inokulum menggunakan isolat (Cg-32) *C. gloeosporioides* yang selanjutnya diuji patogenitasnya dengan cara menginokulasikan pada buah pepaya. Potongan jaringan dari tepi lesi yang terbentuk pada buah yang diinokulasi diambil dan direndam dalam etanol 70% selama 1 menit, dipindahkan ke larutan natrium hipoklorit 1% selama 1 menit, dan dicuci dengan aquadest sebanyak 3 kali masing-masing 2 menit kemudian dioleskan pada PDA yang ditambah streptomisin 0,1% melalui kertas saring. Selanjutnya inokulum diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 hari dan setelah tumbuh disimpan pada suhu 5 °C. Kultur stok ini diuji setiap dua bulan dan digunakan untuk menghasilkan kultur baru yang ditanam pada media PGA selama 7-10 hari pada suhu 25°C. Spora dikumpulkan di dalam air steril dan digunakan suspensi untuk inokulum dengan konsentrasi $\frac{10^4}{mL}$ spora yang dihitung dengan *hemocytometer*.
- Pengujian dilakukan dengan mencuci buah pepaya dengan fase panen komersial kemudian dicuci dan direndam dalam etanol 70% selama 1 menit diikuti dengan perendaman dalam natrium hipoklorit 2% selama 3 menit dan dibilas dengan aquadest. Kemudian dibuat luka 3x3x2 mm pada buah dan diberi perlakuan: a.) Buah dilukai dan tidak diinokulasi; b.) Buah dilukai dan diinokulasi 20µm tetes suspensi *C. gloeosporioides*; c.) Buah dilukai dan diinokulasi dengan *Cryptococcus magnus* dengan menyemprotkan ke seluruh permukaan buah; d.) Buah dilukai dan diinokulasi dengan *Cryptococcus magnus* dan *C. gloeosporioides*.
- Aplikasi pathogen dilakukan pada empat waktu yang berbeda yaitu 0, 24, 48, 72 jam setelah perlakuan dilakukan. Setiap perlakuan diulang 3 kali. Buah

ditempatkan dalam nampan plastik dan disimpan dalam ruangan dengan suhu 25°C dengan kelembaban relatif 80%.

- Studi *Scanning Electron Microscopy* dilakukan dengan membedah bagian jaringan dengan diameter 3 cm di sekitar luka kemudian direndam dalam glutaraldehid 2,5% dalam buffer natrium cacodylate 0,1 M pada pH 6,8 selama 30 menit pada suhu kamar dan dipotong menjadi dua bagian. Sampel dipindahkan ke larutan baru dari fiksatif yang sama selama 30 menit pada suhu kamar dan 90 menit pada 40°C. Sampel dibilas dengan buffer yang sama dan difiksasi ulang selama 2 jam pada suhu kamar pada 2% v/v osmium tetroksida dalam 0,1 M natrium *cacodylate* pada pH 6,8.
- Sampel didehidrasi dalam seri etanol bertingkat dan dikeringkan dengan menggunakan pengering BAL-TECH 030 *CPD critical point dryer*. Sampel kering dipasang pada stub aluminium dan dilapisi dengan paladium emas menggunakan *sputter coater* BAL-TECH 050 kemudian diperiksa dengan *Scanning Electron Microscopy*.

Hasil dan Pembahasan:

Berdasarkan hasil penelitian, pada perlakuan dimana buah dilukai tetapi tidak diinokulasi tidak terdapat patogen pada permukaan luka bahkan dalam waktu 24 dan 48 jam. Berdasarkan analisis mikrograf pada perlakuan buah dilukai dan diinokulasi patogen menunjukkan bahwa spora jamur tidak memulai perkecambahan sebelum 24 jam inokulasi. Sementara itu, pada 48 jam setelah inokulasi, spora telah berkecambah dan apresoria terbentuk di banyak titik penetrasi. Pada perlakuan buah dilukai dan diinokulasikan dengan *C. magnus* diperoleh hasil bahwa sel-sel *C. magnus* menyebar dan menutupi luka sejak awal inokulasi. Setelah 24 jam inokulasi dengan *C. magnus*, permukaan luka hampir seluruhnya tertutup sel *C. magnus* dan pada 48 dan 72 jam setelah inokulasi, matriks flokulan mulai menutupi *C. magnus* dan menutupi permukaan luka sepenuhnya. Adapun pada perlakuan buah dilukai dan diinokulasi dengan *C. magnus* dan *C. gloeosporioides*, spora *C. gloeosporioides* dapat dilihat diantara spora *C. magnus* namun pada 24 jam setelah inokulasi permukaan luka telah tertutup oleh spora *C. magnus* dan matriks flokulan sepenuhnya sehingga tidak terdapat spora *C. gloeosporioides*. Hal ini karena *C. magnus* menghasilkan

matriks flokulan yang mempengaruhi integritas hifa. Setiap kali hifa *C. gloeosporioides* ditutupi atau bersentuhan dengan matriks flokulan maka akan terjadi plasmolisis, menunjukkan bahwa bahan ini mempengaruhi integritas hifa.

Kesimpulan:

Pemanfaatan *C. magnus* merupakan metode biocontrol yang efektif dalam pengendalian penyakit antraknosa akibat *C. gloeosporioides* pada pascapanen pepaya. *Cryptococcus magnus* menekan pertumbuhan patogen *C. gloeosporioides* melalui kompetisi ruang tumbuh, dimana, *C. magnus* menghasilkan matriks flokulan yang dapat mempengaruhi integritas hifa *C. gloeosporioides*.