

# Isolat Lokal *Saccharomyces cerevisiae* sebagai Biokompetitor *Aspergillus flavus*

ENI KUSUMANINGTYAS

Balai Besar Penelitian Veteriner, PO Box 151, Bogor 16114

(Diterima dewan redaksi 5 Oktober 2005)

## ABSTRACT

KUSUMANINGTYAS, E. 2006. Local isolate of *Saccharomyces cerevisiae* as biocompetitive agent of *Aspergillus flavus*. *JITV* 11(4): 324-330.

*Aspergillus flavus* is a toxigenic fungus that contaminates feed and influences animal health. *Saccharomyces cerevisiae* can be used as a biocompetitive agent to control the contamination. The ability of local isolate of *S. cerevisiae* as a biocompetitive agent for *A. flavus* was evaluated. *A. flavus* (30 $\mu$ l) was swept on Sabouraud dextrose agar (SDA), while *S. cerevisiae* was swept on its left and right. Plates were incubated at 28°C for nine days. Lytic activity of *S. cerevisiae* was detected by pouring its suspension on the centre of the cross streaks of *A. flavus*. Plates were incubated at 28°C for five days. Growth inhibition of *A. flavus* by *S. cerevisiae* was determined by mixing the two fungi on *Potato dextrose broth* and incubated at 28°C for 24 hours. Total colony of *A. flavus* were then observed at incubation time of 2, 4, 6 and 24 hours by pour plates method on the SDA plates and incubated on 28°C for two days. Growth of hyphae of *A. flavus* sweep were inhibited with the swept of *S. cerevisiae*. The width of *A. flavus* colony treated with *S. cerevisiae* is narrower (3,02 cm) than that of control (4,60 cm). The growth of *A. flavus* was also inhibited on the centre of cross streak where the *S. cerevisiae* poured. *S. cerevisiae* gradually reduced the colony number of *A. flavus* in the mixed culture of broth fungi ie.  $14 \times 10^3$  CFU ml<sup>-1</sup> while colony number of control is  $80 \times 10^3$  CFU ml<sup>-1</sup>. Results showed that *S. cerevisiae* could be used as biocompetitive agent of *A. flavus*.

**Key Words:** *Aspergillus flavus*, *Saccharomyces cerevisiae*, Biocompetitive agent

## ABSTRAK

KUSUMANINGTYAS, E. 2006. Isolat lokal *Saccharomyces cerevisiae* sebagai biokompetitor *Aspergillus flavus*. *JITV* 11(4): 324-330.

*Aspergillus flavus* merupakan kapang toksigenik yang mengkontaminasi pakan dan mempengaruhi kesehatan ternak. *Saccharomyces cerevisiae* dapat digunakan sebagai biokompetitor untuk mengontrol kontaminasi tersebut. Pada percobaan ini diuji kemampuan kompetisi isolat lokal *S. cerevisiae* terhadap *A. flavus*. *A. flavus* (30  $\mu$ l) digoreskan di tengah cawan berisi *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) sementara *S. cerevisiae* digoreskan pada sebelah kiri dan kanannya. Cawan diinkubasi pada suhu 28°C selama sembilan hari. Penentuan aktivitas litik *S. cerevisiae* dilakukan dengan menuangkan suspensi selnya pada gesek silang *A. flavus*. Cawan diinkubasi pada suhu 28°C selama lima hari. Hambatan pertumbuhan *A. flavus* oleh *S. cerevisiae* ditentukan dengan mencampurkan kedua cendawan pada *Potato Dextrose Broth* dan diinkubasikan pada suhu 28°C selama 24 jam. Total koloni *A. flavus* diamati pada masa inkubasi 2, 4, 6 dan 24 jam dengan metode cawan tuang pada media SDA yang kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama dua hari. Pertumbuhan hifa *A. flavus* terhambat oleh goresan *S. cerevisiae*. Lebar koloni *A. flavus* pada perlakuan dengan *S. cerevisiae* lebih kecil (3,02 cm) dibandingkan dengan lebar koloni kontrol (4,60 cm). Pertumbuhan *A. flavus* pada daerah pertemuan gores silang tempat *S. cerevisiae* dituangkan juga terhambat. *S. cerevisiae* secara gradual juga mengurangi jumlah koloni *A. flavus* yang tumbuh pada kultur cendawan pada media broth yaitu  $14 \times 10^3$  CFU ml<sup>-1</sup> sedangkan jumlah koloni kontrol  $80 \times 10^3$  CFU/ml. Hasil tersebut menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* dapat digunakan sebagai kandidat biokompetitor *A. flavus*.

**Kata Kunci:** *Aspergillus flavus*, *Saccharomyces cerevisiae*, Biokompetitor

## PENDAHULUAN

*Aspergillus flavus* merupakan kapang toksigenik penghasil aflatoksin yang biasa tumbuh pada berbagai produk pertanian (COTTY *et al.*, 1990; SCUDAMORE, 1994). Indonesia sebagai negara tropis sangat potensial bagi pertumbuhan kapang termasuk kapang-kapang penghasil mikotoksin. Pada kondisi yang ekstrim *A.*

*flavus* dapat menginfeksi biji-bijian secara langsung (PAYNE *et al.*, 1988; SMART *et al.*, 1990; HORN *et al.*, 1994). Infeksi *A. flavus* menyebabkan akumulasi aflatoksin pada komoditas yang dipanen dan konsumsi terhadap produk tercemar tersebut dapat menimbulkan masalah kesehatan bagi manusia dan hewan. Aflatoksin diketahui dapat menyebabkan hepatotoksik dan hepatokarsinogenik pada manusia (RAZZAGHI-

ABYANEH *et al.*, 2005). Di bidang peternakan, kerugian akibat aflatoxin adalah menurunnya kualitas dan kuantitas produksi telur, terganggunya fungsi metabolisme, menurunkan absorpsi lemak, kalsium, besi dan fosfor serta memperlemah sistem kekebalan tubuh (SUTIKNO *et al.*, 1993). Akumulasi dapat berlangsung semakin cepat pada iklim tropis dengan temperatur yang hangat dan kelembaban tinggi.

Beberapa strategi telah dilakukan untuk menanggulangi pencemaran *A. flavus* maupun aflatoxin yang dihasilkan seperti secara fisik, radiasi dan perlakuan dengan berbagai bahan kimia (KUBENA *et al.*, 1993). Walaupun demikian, beberapa metode fisika dan kimia yang dikembangkan belum sepenuhnya diterima secara internasional untuk penanggulangan *A. flavus* maupun aflatoxin (CAST, 1989; PARK dan LEE, 1990; PEMBERTON dan SIMPSON, 1991).

Pendekatan lain yang juga sedang dikembangkan adalah penggunaan mikroorganisme sebagai biokompetitor (SARDJONO *et al.*, 1992; FARAJ *et al.*, 1993). Telah dilaporkan beberapa mikroorganisme yang dapat berfungsi sebagai biokompetitor dari *A. flavus* toksigenik diantaranya adalah strain non-toksigenik dari *A. flavus* dan *A. parasiticus*, bakteri asam laktat dan khamir (TAYLOR dan DRAUGHON, 2001). Kemampuan sebagai biokompetitor tersebut dapat disebabkan oleh kompetisi ruang dan nutrisi serta sintesis antifungi oleh mikroorganisme kompetitor.

*Saccharomyces cerevisiae* yang mempunyai kemampuan fermentasi telah lama dimanfaatkan untuk pembuatan berbagai produk makanan dan sudah banyak digunakan sebagai probiotik (AGAWANE dan LONKAR, 2004). YIANNIKOURIS *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa  $\beta$ -D-glucans pada dinding sel *S. cerevisiae* dapat mengikat aflatoxin yang diproduksi oleh *A. flavus* melalui pembentukan ikatan hidrogen dan van der Waals. Walaupun demikian, kemampuan *S. cerevisiae* untuk menekan pertumbuhan *A. flavus* belum banyak diketahui sehingga pada penelitian ini akan diuji kemampuan *S. cerevisiae* sebagai biokompetitor *A. flavus* dengan melihat pengaruh *S. cerevisiae* terhadap kemampuan hidup dan pertumbuhan *A. flavus* secara *in vitro*.

## MATERI DAN METODE

### Mikroorganisme

*Saccharomyces cerevisiae* (F0206) dan *Aspergillus flavus* (F0213) diperoleh dari Balitvet Culture Collection (BCC) Bogor. *S. cerevisiae* ditumbuhkan dalam media agar miring *Sabouraud dextrose agar* (SDA) dan diinkubasikan pada suhu 28°C selama tiga hari. Dengan perlakuan yang sama *A. flavus* ditumbuhkan selama lima hari. *S. cerevisiae* dan spora *A. flavus* dipanen dengan melarutkan sel dalam air

suling steril dan dipindahkan ke dalam tabung yang baru. Suspensi sel spora<sup>-1</sup> diencerkan sampai mencapai konsentrasi 10<sup>6</sup> sel spora<sup>-1</sup> per ml untuk aktivitas antifungi dan aktivitas litik, serta 10<sup>4</sup> sel/spora per ml untuk hambatan pertumbuhan koloni.

### Aktifitas antifungi

Tigapuluh  $\mu$ l suspensi *A. flavus* digoreskan dengan cara *streak-plate* pada bagian tengah petri yang berisi *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dengan lebar satu cm. Tigapuluh  $\mu$ l *S. cerevisiae* digoreskan pada sisi kanan dan kiri *A. flavus* dengan lebar satu cm dengan jarak dua cm dari *A. flavus*. Sebagai kontrol, *A. flavus* dan *S. cerevisiae* digoreskan di tengah petri dengan lebar satu cm secara terpisah. Petri diinkubasikan pada suhu 28°C selama sembilan hari. Lebar koloni *A. flavus* yang tumbuh diukur dan dibandingkan dengan kontrol. Perubahan morfologi yang terjadi pada *A. flavus* juga diamati. Rancangan yang digunakan adalah acak lengkap dengan lima kali ulangan.

### Aktivitas litik

Uji ini digunakan untuk menentukan kemampuan *S. cerevisiae* untuk melisis *A. flavus*. Suspensi *A. flavus* sebanyak lima puluh  $\mu$ l ditumbuhkan dengan cara gores silang pada petri. Dua puluh  $\mu$ l suspensi *S. cerevisiae* diteteskan di tengah persilangan *A. flavus*. Petri diinkubasikan pada suhu 28°C selama lima hari. Pertumbuhan *A. flavus* terutama pada tempat yang ditetesi dengan *S. cerevisiae* diamati secara makroskopik maupun mikroskopik. Perlakuan diulang sebanyak tiga kali ulangan.

### Hambatan pertumbuhan koloni *A. flavus*

Satu ml suspensi *A. flavus* dan satu ml suspensi *S. cerevisiae* dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi lima puluh ml *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan digoyang agar suspensi tercampur secara merata. Erlenmeyer diinkubasikan pada suhu 28°C. Sampel suspensi campuran sebanyak satu ml diambil pada jam ke-0, 2, 4, 6 dan 24 kemudian diinokulasikan ke dalam petri dengan metode cawan tuang pada media SDA dan diinkubasikan pada suhu 28°C selama dua hari. Sebagai kontrol, *A. flavus* dan *S. cerevisiae* masing-masing ditumbuhkan secara terpisah pada media PDB. Koloni *S. cerevisiae*, *A. flavus* kontrol dan perlakuan yang tumbuh dihitung. Perlakuan diulang dengan tiga kali ulangan.

### Analisis statistik

Untuk mengetahui adanya hubungan antara keberadaan *S. cerevisiae* terhadap pertumbuhan koloni

*A. flavus* pada aktifitas antifungi, maka data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam dan perbedaan antar perlakuan diuji dengan uji beda nyata terkecil menurut Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas antifungi

*Screening* untuk aktivitas antifungi dilakukan untuk menentukan bahwa *S. cerevisiae* menghasilkan metabolit yang dapat meresap dalam medium dan metabolit tersebut mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus*. Inkubasi dilakukan selama sembilan hari untuk mengoptimalkan pertumbuhan sehingga perbedaan kontrol dan perlakuan terlihat nyata. *A. flavus* (Af) pada kontrol tumbuh lebih lebar dibandingkan dengan perlakuan menggunakan *S. cerevisiae* (Sc) (Gambar 1), sedangkan perkembangan lebar koloni *A. flavus* dan *S. cerevisiae* seperti terlihat pada Tabel 1. *A. flavus* pada Gambar 1b tidak mampu tumbuh dengan baik meskipun masih ada ruang antara *A. flavus* dan *S. cerevisiae*. Zona hambat pada Gambar 1b juga terbentuk antara *A. flavus* dan *S. cerevisiae* yang terlihat sebagai daerah yang terang pada masa inkubasi sembilan hari. Hal tersebut sesuai dengan kriteria antagonisme oleh JOHNSON *et al.* (1959) bahwa sifat antagonisme ditandai dengan terbentuknya zona hambat antara dua mikroorganisme yang saling berinteraksi.

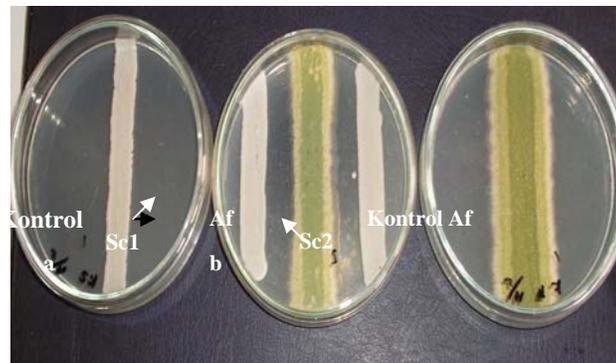
Pada penelitian aktifitas antifungi, kecepatan pertumbuhan koloni *A. flavus* lebih lambat dibandingkan pada kontrol. Terhambatnya pertumbuhan *A. flavus* kemungkinan juga mempengaruhi total produksi aflatoxin. LEE dan MAGAN (1999) melaporkan bahwa pertumbuhan *A. ochraceus* menurun dengan kehadiran *A. alternata* atau *Eurotium spp* dan mengakibatkan menurunnya produksi *ochratoxin*. Mekanisme yang sama diduga juga terjadi pada *A. flavus*. Namun masih perlu dilakukan penelitian lebih

lanjut untuk mengetahui pengaruh *S. cerevisiae* terhadap pembentukan aflatoxin.

Untuk mengetahui bahwa pengaruh tersebut bersifat sementara atau permanen maka dilakukan inokulasi ulang pada *A. flavus*. *A. flavus* yang pertumbuhannya terhambat diambil kemudian digores kembali pada media SDA yang baru. Setelah inkubasi sampai 3 hari ternyata *A. flavus* yang diinokulasikan kembali tumbuh lebih cepat. Dari hasil ini dapat diketahui bahwa hambatan pertumbuhan *A. flavus* oleh *S. cerevisiae* hanya terjadi ketika ditumbuhkan bersama-sama dengan *S. cerevisiae*.

Pada penelitian aktifitas antifungi sebelumnya (KUSUMANINGTYAS, tidak dipublikasi), *A. flavus* yang diperlakukan dengan *S. cerevisiae* mengalami perubahan warna koloni dari hijau menjadi putih dan pertumbuhannya terhambat sampai 60% dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan. Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan bahwa *A. flavus* hanya mampu menghasilkan miselium steril tanpa spora. Ada kemungkinan *S. cerevisiae* menghasilkan metabolit yang dapat menghambat pembentukan spora pada *A. flavus*. KALE *et al.* (1996) melaporkan bahwa perubahan morfologi pada *A. parasiticus* menyebabkan hilangnya kemampuan untuk menghasilkan aflatoxin. Diduga mekanisme yang sama juga terjadi pada *A. flavus*.

Lebar koloni *A. flavus* setelah masa inkubasi sembilan hari pada perlakuan lebih kecil sekitar 35% dibandingkan dengan lebar koloni *A. flavus* kontrol. Lebar koloni kontrol rata-rata 4,6 cm sedangkan lebar koloni perlakuan rata-rata 3,02 cm. Pada kontrol, *A. flavus* dapat tumbuh lebih cepat karena tidak ada kompetisi nutrisi dan tidak ada unsur yang dapat menghambat pertumbuhannya sedangkan pada *A. flavus* perlakuan kemungkinan ada metabolit yang dilepaskan oleh *S. cerevisiae* yang mampu menghambat pertumbuhan *A. flavus*.



**Gambar 1.** Perbandingan pertumbuhan *A. flavus* kontrol dan perlakuan dengan *S. cerevisiae*

Hasil uji statistik untuk Tabel 1 menunjukkan bahwa lebar koloni pada kontrol Af dan lebar koloni pada Af perlakuan pada hari ke-3, 5, 7 dan 9 berbeda nyata ( $P < 0,05$ ). Dari hasil tersebut menandakan bahwa perlakuan dengan *S. cerevisiae* mempengaruhi pertumbuhan *A. flavus*. Sebaliknya, lebar koloni pada kontrol Sc apabila dibandingkan dengan lebar koloni pada Sc1 dan Sc2 pada perlakuan pada hari ke-3, 5, 7 dan 9 tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ ). Dari hasil analisis tersebut sepertinya lebar koloni *S. cerevisiae* tidak begitu terpengaruh oleh kehadiran *A. flavus* dan kemungkinan kompetisi nutrisi tidak terjadi. Walaupun demikian, profil pertumbuhan pada kontrol Af maupun Sc dan perlakuan pada Af dan Sc berbeda sehingga belum dapat ditentukan hambatan pertumbuhan pada *A. flavus* perlakuan disebabkan oleh metabolit *S. cerevisiae* atau kompetisi nutrisi. Selain itu untuk

mengetahui bahwa hambatan pertumbuhan *A. flavus* disebabkan oleh metabolit *S. cerevisiae* atau kompetisi nutrisi diperlukan pengukuran dan pengujian metabolit *S. cerevisiae* terhadap *A. flavus* terutama pengaruhnya terhadap pertumbuhan *A. flavus* secara lebih mendalam.

Hambatan pertumbuhan *A. flavus* oleh *S. cerevisiae* yang terjadi hampir sama dengan pada perlakuan *A. flavus* dengan bakteri asam laktat (XU *et al.*, 2002). Pertumbuhan aktif *Lactobacillus plantarum* secara total menghambat germinasi spora *A. flavus*. Pada hambatan pertumbuhan *A. flavus* oleh *L. plantarum*, bukan disebabkan oleh pelepasan asam laktat tetapi lebih cenderung pada pH rendah akibat fermentasi media dan kompetisi mikroba (XU *et al.*, 2002). Untuk mengetahui *S. cerevisiae* melepaskan zat anti-mikroba perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang hal tersebut.

**Table 1.** Pengaruh *S. cerevisiae* terhadap pertumbuhan koloni *A. flavus*

Perlakuan	Lebar koloni (cm) ± SD*			
	Hari			
	3	5	7	9
Kontrol Sc	1,2 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,38 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,38 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,38 ± 0,04 <sup>a</sup>
Kontrol Af	3,15 ± 0,35 <sup>c</sup>	4,35 ± 0,49 <sup>c</sup>	4,60 ± 0,28 <sup>c</sup>	4,60 ± 0,28 <sup>c</sup>
Af perlakuan	2,44 ± 0,09 <sup>b</sup>	3,02 ± 0,04 <sup>b</sup>	3,02 ± 0,04 <sup>b</sup>	3,02 ± 0,04 <sup>b</sup>
Sc1 (kiri Af)	1,12 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,28 ± 0,08 <sup>a</sup>	1,30 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,30 ± 0,01 <sup>a</sup>
Sc2 (kanan Af)	1,16 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,24 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,26 ± 0,05 <sup>a</sup>	1,26 ± 0,05 <sup>a</sup>

\*SD = Standar deviasi; Sc = *S. cerevisiae*; Af = *A. flavus*

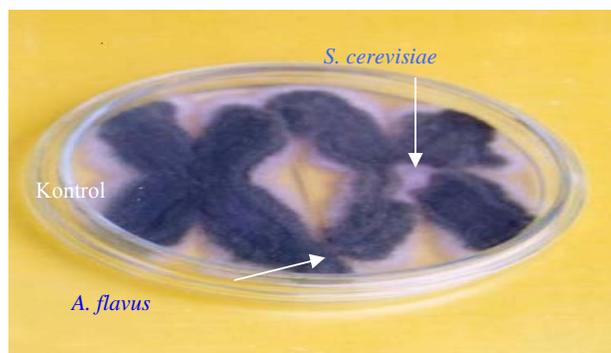
Perlakuan dilakukan dengan lima kali ulangan

Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata antar perlakuan ( $P > 0,05$ )

### Aktivitas litik

Aktivitas litik *S. cerevisiae* terhadap *A. flavus* ditunjukkan pada Gambar 2. Pada daerah persilangan gores silang *A. flavus* yang ditetesi dengan suspensi *S.*

*cerevisiae* tidak terlihat pertumbuhan *A. flavus*. Warna putih di tengah persilangan *A. flavus* pada Gambar 2 adalah koloni *S. cerevisiae*. *A. flavus* tidak dapat tumbuh pada daerah tersebut dan diduga *A. flavus* terhambat karena aktivitas *S. cerevisiae*.



**Gambar 2.** Pengaruh pemberian suspensi *S. cerevisiae* terhadap pertumbuhan *A. flavus* pada daerah persilangan streak *A. flavus*

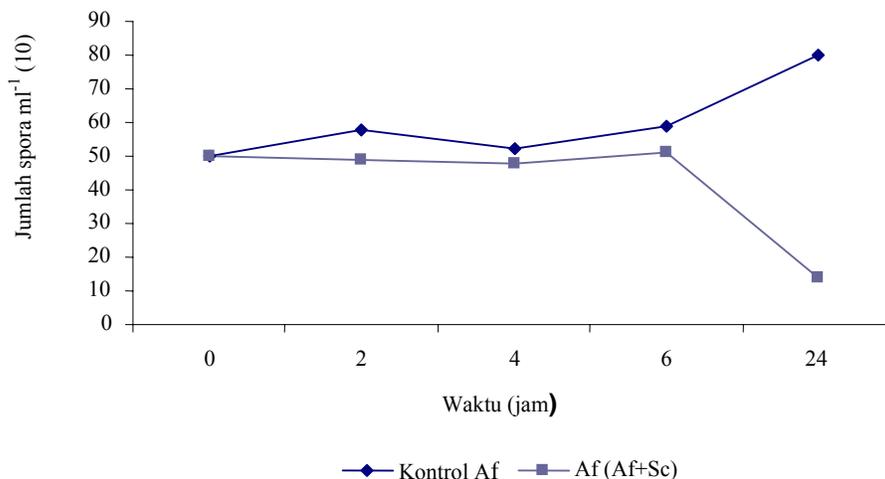
Untuk mengetahui tipe hambatan pertumbuhan, pada bagian tersebut diambil contoh untuk diperiksa dengan mikroskop. Pada pengamatan dengan mikroskop pembentukan hifa *A. flavus* terhambat dan mengecil tetapi tidak terlihat tanda-tanda lisis. Data tersebut berbeda dengan *Nannocystis exedens* yang mempunyai aktivitas lisis terhadap *A. flavus*. Pada lisis *A. flavus* oleh *N. exedens*, sclerotia *A. flavus* tidak mengalami germinasi dan *germ tube* yang terbentuk mengalami lisis (JOHNSON *et al.*, 1959; COTTY, 1990; TAYLOR dan DRAUGHON, 2001). Karena pada germinasi *A. flavus* yang diperlakukan dengan *S. cerevisiae* tidak terlihat lisis maka kemungkinan hambatan pertumbuhan hifa *A. flavus* terjadi karena kompetisi dan bukan aktivitas lisis. Pengamatan secara mikroskopik juga menunjukkan bahwa kemampuan *A. flavus* untuk menghasilkan spora juga sangat kurang. Selain kompetisi nutrisi, kemungkinan *S. cerevisiae* melepaskan metabolit tertentu yang dapat menghambat produksi spora oleh *A. flavus*. Lebih lanjut, pengamatan mikroskopik pada sel *S. cerevisiae* menunjukkan bahwa ukuran dan bentuk sel *S. cerevisiae* tidak terpengaruh dengan kehadiran *A. flavus*. Hal tersebut berbeda dengan sel *L. plantarum* (ATCC8014) yang membesar karena kehadiran *A. flavus* (XU *et al.*, 2003).

### Hambatan pertumbuhan koloni

Pada suspensi campuran *A. flavus* dan *S. cerevisiae* dari media PDB yang ditumbuhkan pada media SDA, koloni *A. flavus* yang tumbuh dengan perlakuan *S. cerevisiae* lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol tanpa *S. cerevisiae* (Gambar 3). Hambatan pertumbuhan

tersebut mungkin disebabkan oleh pelepasan zat tertentu oleh *S. cerevisiae*. Zat tersebut akan mengubah kondisi lingkungan mikro yang dapat menyebabkan gangguan fisiologis, homeostatis dan metabolik *A. flavus* yang pada akhirnya dapat menurunkan viabilitas *A. flavus* (OGIEHOR dan IKENBOMEH, 2004). Penurunan viabilitas ditandai dengan semakin sedikitnya koloni *A. flavus* yang tumbuh sampai masa inkubasi 24 jam (Gambar 3). Kemungkinan konsentrasi zat yang dilepaskan oleh *S. cerevisiae* ke dalam media semakin besar dan menghambat germinasi spora. Spora yang sudah mampu berkecambah dan membentuk miselia pada masa inkubasi sebelumnya juga tidak mampu hidup lebih lama dengan kehadiran *S. cerevisiae*. Karena pada penelitian sebelumnya, *S. cerevisiae* tidak menunjukkan aktivitas lisis terhadap miselia *A. flavus*, kemungkinan ada mekanisme perusakan lain yang belum diketahui.

Selain penyebab di atas, hambatan pertumbuhan juga bisa terjadi karena kompetisi ruang dan nutrisi antara *A. flavus* dan *S. cerevisiae*. Seperti diketahui, *S. cerevisiae* mempunyai waktu generasi yang lebih cepat yaitu 36 jam (CAMPBELL dan DUFFUS, 1988) daripada *A. flavus* yang lebih kurang 72 jam. Koloni *A. flavus* yang tumbuh juga berwarna putih dan pertumbuhan koloni spora terhambat. Untuk menghindari kemungkinan bahwa *A. flavus* belum tumbuh sempurna karena masa inkubasi hanya 48 jam maka inkubasi diteruskan sampai 72 jam. Pertambahan ukuran koloni dan perubahan warna koloni juga tidak terjadi. Hasil pemeriksaan mikroskopik menunjukkan bahwa *A. flavus* hanya mampu menghasilkan miselia steril yang menyebabkan warna koloni menjadi putih.



**Gambar 3.** Jumlah koloni *A. flavus* yang tumbuh pada kontrol dan perlakuan dengan *S. cerevisiae*

Pada Gambar 3 terlihat bahwa koloni *A. flavus* yang tumbuh pada perlakuan dengan *S. cerevisiae* selalu lebih rendah dibandingkan kontrol tanpa *S. cerevisiae*. Pada inkubasi 0 jam koloni *A. flavus* kontrol masih sama dengan *A. flavus* yang diperlakukan dengan *S. cerevisiae*. Kemungkinan *S. cerevisiae* belum berpengaruh terhadap pertumbuhan *A. flavus* pada waktu kedua cendawan dicampur. Pada masa inkubasi 24 jam, koloni kontrol *A. flavus* terhitung  $80 \times 10^3$  CFU ml<sup>-1</sup>, jauh lebih banyak dibandingkan dengan koloni *A. flavus* pada perlakuan yang hanya  $14 \times 10^3$  CFU ml<sup>-1</sup> ( $P < 0,05$ ). Sedangkan perhitungan koloni kontrol *S. cerevisiae* dan *S. cerevisiae* dalam perlakuan dengan metode pengenceran adalah  $5 \times 10^5$  CFU ml<sup>-1</sup>. Hasil tersebut menunjukkan bahwa *S. cerevisiae* tidak terpengaruh dengan kehadiran *A. flavus* ( $P > 0,05$ ) dan sesuai dengan hasil pada pengukuran lebar koloni *S. cerevisiae* perlakuan yang mempunyai lebar koloni yang hampir sama dengan lebar koloni kontrol.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa *S. cerevisiae* dapat digunakan sebagai kandidat biokompetitor *A. flavus*. Aktivitas biokompetitif ditunjukkan dengan hambatan pertumbuhan koloni *A. flavus* oleh *S. cerevisiae*. *S. cerevisiae* juga tumbuh lebih cepat daripada *A. flavus* dalam rentang waktu yang sama sehingga *A. flavus* tidak dapat bersaing dengan *S. cerevisiae* dalam penyerapan nutrisi.

### DAFTAR PUSTAKA

- AGAWANE, S.B. and P.S. LONKAR. 2004. Effect of probiotic containing *Saccharomyces boulardii* on experimental ochratoxigenesis in broilers: Hematobiochemical studies. *J. Vet. Sci.* 5: 359-367.
- CAST. 1989. Mycotoxins: Economic and health risks. Report No 116. Council for Agricultural science and Technology. Ames, Iowa.
- CAMPBELL, I. and J.H. DUFFUS. 1988. Yeast. A Practical Approach. IRL Press Limited. pp. 3.
- COTTY, P.J. 1990. Effect of atoxigenic strains of *Aspergillus flavus* on aflatoxin contamination of developing cottonseed. *Plant Dis.* 74: 233-235.
- FARAJ, K., J.E. SMITH dan G. HARRAN. 1993. Aflatoxin biodegradation: Effect of temperature and microbes. *Mycol. Res.* 98: 1388-1392.
- HORN, B.W., J.W. DORNER. R.L. GREEN, P.D. BLANKENSHIP and R. COLE. 1994. Effect of *Aspergillus parasiticus* soil inoculum on invasion of peanut seeds. *Mycopathologia* 125: 179-191.
- JOHNSON, L.F., E.A. CURL, J.H. BOND and H.A. FRIBOURG. 1959. Methods for Studying Soil Microflora-Plant Disease Relationship. Burgess Publishing Co., Minneapolis.
- KALE, S.P., J.W. CARY, D. BHATNAGAR and J.W. BENNETT. 1996. Characterization of experimentally induced, nonaflatoxigenic variant strains of *Aspergillus parasiticus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 3399-404.
- KUBENA, L.F., R.B HARVEY, W.E. HUFF, M.H. ELISSALDE, A.G. YERSIN, T.D. PHILIPS and G.E. ROTTINGHAUS. 1993. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol. *Poult. Sci.* 72: 51-59.
- LEE, H.B. and N. MAGAN. 1999. Environment factors influence *in vitro* interspecific interaction between *A. ochraceus* and other maize spoilage fungi, growth and ochratoxin production. *Mycopathologia* 146: 43-47.
- OGEIHOR, I.S. and M.J. IKENBOMEH. 2004. Antimicrobial effects of sodium benzoate on the growth, survival and aflatoxin production potential of some species of *Aspergillus* in Garri during storage. *Pakistan. J. Nutr.* 3: 300-303.
- PARK, D.L. and L.S. LEE. 1990. New perspectives on the ammonia treatment for decontaminations of aflatoxins. In: A perspective on aflatoxins in field crops and animal products in United states. ROBENS JF (Ed). A Symposium US Department of Agriculture. Agricultural Research Service, AR-83 Beltsville, MD. pp 127-137.
- PAYNE, G.A., D.L. THOMPSON, E.B. LILLEHOJ, M.S. ZUBER and C.R. ADKINS. 1988. Effect of temperature on the preharvest infection of maize kernels by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology.* 78: 1376-1380.
- PEMBERTON, A.D. and T.J. SIMPSON. 1991. The chemical degradation of mycotoxins. In: Mycotoxins and animal foods. J.E. SMITH and R.S. HENDERSON (Eds). CRC Press Inc. Boca Raton, Florida. pp: 797-814.
- RAZZAGHI-ABYANEH, M., A. ALLAMEH, T. TIRAIHI, M. SHAMS-GHAHFAROKHI and M. GHORBANIAN. 2005. Morphological alteration in toxigenic *Aspergillus parasiticus* exposed to neem (*Azadirachta indica*) leaf and seed aqueous extract. *Mycopathologia* 159: 565-570.
- SARJONO, K. RAHAYU dan S. SUDARMADJI. 1992. Growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in mixed culture with *Aspergillus oryzae*. *ASEAN Food J.* 7: 30-33.
- SCUDAMORE, K.A. 1994. *Aspergillus* Toxin in Food and Animal Feeding Stuff. In: The genus *Aspergillus*. K.A POWELL, A. RENWICK and J.F. PEBERDY (Eds). Plenum Press. New York. NY. pp. 59-71.
- SMART, M.G., D.T. WICKLOW and R.W. CALDWELL. 1990. Pathogenesis in *Aspergillus* ear rot of maize: Light microscopy of fungal spread from wounds. *Phytopathology.* 80: 1287-1294.

- SUTIKNO, A.J., T. HARYATI dan D. SUHERMAN. 1993. Kontaminasi aflatoksin pada ransum itik. *Ilmu dan Peternakan* 6 (1): 37-41.
- TAYLOR, W.J. and F.A. DRAUGHON. 2001. *Nannocystis exedens*: A potential biocompetitive agent against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *J. Food Prot.* 64: 1030-1034.
- XU, J., L. RAN, B. YANG and Z. LI. 2002. Inhibition of *Lactobacillus* species on the germination of *Aspergillus flavus* spore. *Wei Sheng Yan Jiu* 31: 47-49.
- XU, J., H. WANG, R. JI and X. LUO. 2003. Study on the effect of the growth and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* parasiticus NRRL 2999 in presence of *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. *Wei Sheng Yan Jiu* 32: 334-8.
- YIANNIKOURIS, A., G. ANDRE, L. POUGHON, J. FRANCOIS, C.G. DUSSAP, G. JEMINET, G. BERTIN and J.P. JOUANY. 2006. Chemical and conformational study of the interactions involved in *Mycotoxin complexation* with beta-D-glucans. *Biomacromolecules* 7: 1147-1155.