

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KHAMIR ASAL KAKAO
(*Theobroma cacao*) ANTAGONIS TERHADAP *Aspergillus flavus*
PENGHASIL AFLATOKSIN**

RACHMI YUNISAASTARI



**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



- 



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Khamir asal Kakao (*Theobroma cacao*) Antagonis terhadap *Aspergillus flavus* Penghasil Aflatoksin” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Oktober 2026

Rachmi Yunisaastari
G3501231038



RINGKASAN

RACHMI YUNISAASTARI. Isolasi dan Karakterisasi Khamir asal Kakao (*Theobroma cacao*) Antagonis terhadap *Aspergillus flavus* Penghasil Aflatoksin. Dibimbing oleh RIKI INDRI ASTUTI dan IVAN PERMANA PUTRA.

Indonesia merupakan negara agraris yang termasuk salah satu produsen kakao terbesar di dunia. Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan bahan baku utama produk cokelat yang digemari karena cita rasa dan aroma khasnya. Kualitas biji kakao sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti varietas, lingkungan tumbuh, serta penanganan pascapanen. Namun, kontaminasi aflatoksin yang dihasilkan oleh cendawan *Aspergillus flavus* menjadi salah satu persoalan utama dalam produksi kakao. Permasalahan ini tidak hanya berdampak pada aspek keamanan pangan, tetapi juga pada daya saing produk kakao Indonesia di pasar internasional, sehingga diperlukan upaya pengendalian biologis, salah satunya dengan pemanfaatan khamir.

Saat ini masih sedikit informasi terkait aktivitas khamir asal kakao dalam menghambat pertumbuhan cendawan *A. flavus*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengkarakterisasi khamir dari kakao yang memiliki sifat antagonis terhadap cendawan *A. flavus* penghasil aflatoksin. Penelitian dilakukan melalui beberapa tahapan, meliputi isolasi khamir dari sampel kakao, karakterisasi morfologi secara makroskopik dan mikroskopik, uji hemolisis pada isolat khamir, serta deteksi aflatoksigenisitas isolat *A. flavus* menggunakan media agar kelapa. Selanjutnya, dilakukan uji antagonisme antara khamir dan *A. flavus* menggunakan metode *dual culture*. Isolat khamir yang menunjukkan aktivitas antagonis tertinggi kemudian dianalisis lebih lanjut melalui pengujian pertumbuhan, ekstraksi metabolit, serta identifikasi molekuler menggunakan sekuens gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS). Analisis metabolit menggunakan *Liquid Chromatography-Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry* (LC-QTOF-MS/MS) dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif potensial dari khamir.

Dari sejumlah isolat khamir yang berhasil diperoleh, diseleksi enam isolat (KPY1–KPY6) yang menunjukkan perbedaan morfologi paling signifikan untuk diuji aktivitas antagonismenya terhadap *A. flavus*. Seleksi ini bertujuan untuk menghindari pengujian isolat yang merupakan spesies yang sama. KPY6 memiliki aktivitas penghambatan tertinggi terhadap pertumbuhan *A. flavus* sebesar 27,33% dan mengurangi diameter koloni *A. flavus* menjadi 5,75 cm. Identifikasi molekuler terhadap KPY6 menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan *Wickerhamomyces anomalus*. Berdasarkan uji hemolitik, KPY6 bersifat non-hemolitik. Analisis profil metabolomik menggunakan LC-QTOF-MS/MS berhasil mendeteksi berbagai senyawa metabolit, di antaranya *Phytosphingosine-1-P*, *Ethyl heptanoate*, dan *S-methyl butanethioate*. Ketiga metabolit tersebut diduga bekerja melalui mekanisme gangguan integritas membran sel *A. flavus* serta penghambatan perkembangan miselium. Hasil penelitian ini menunjukkan potensi *W. anomalus* KPY6 sebagai agen pengendalian hayati yang aman dan efektif guna menekan pertumbuhan *A. flavus*.

Kata Kunci: aflatoxin B1, internal transcribed spacer (ITS), LC-QTOF-MS/MS, metabolit sekunder, *Wickerhamomyces anomalus*

SUMMARY

RACHMI YUNISA ASTARI. Isolation And Characterization of Cocoa (*Theobroma cacao*)-derived Yeast Antagonist to Aflatoxin Producing *Aspergillus flavus*. Supervised by RIKA INDRI ASTUTI and IVAN PERMANA PUTRA.

Indonesia is an agrarian country and one of the world's largest cocoa producers. Cocoa (*Theobroma cacao* L.) is the primary raw material for chocolate products, which are popular for their distinctive flavor and aroma. The quality of cocoa beans is greatly influenced by various factors, such as variety, growing environment, and post-harvest handling. However, aflatoxin contamination caused by the fungus *Aspergillus flavus* is one of the major problems in cocoa production. This issue not only impacts food safety but also the competitiveness of Indonesian cocoa products in the international market; therefore, biological control measures are needed, one of which involves the use of yeast.

Currently, there is limited information regarding the ability of cocoa-derived yeasts to inhibit the growth of the *A. flavus* fungus. Therefore, this study aims to isolate and characterize yeasts from cocoa that exhibit antagonistic properties against the aflatoxin-producing *A. flavus* fungus. The study was conducted in several stages, including the isolation of yeast from cocoa samples, macroscopic and microscopic morphological characterization, hemolysis testing of yeast isolates, and detection of aflatoxigenicity in *A. flavus* isolates using coconut agar medium. Subsequently, an antagonism test between the yeast and *A. flavus* was performed using the dual culture method. The yeast isolates exhibiting the highest antagonistic activity were then further analyzed through growth assays, metabolite extraction, and molecular identification using the Internal Transcribed Spacer (ITS) gene sequence. Metabolite analysis using Liquid Chromatography-Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry (LC-QTOF-MS/MS) was performed to identify potential bioactive compounds from the yeast.

From the yeast isolates successfully obtained, six isolates (KPY1–KPY6) exhibiting the most significant morphological differences were selected to test their antagonistic activity against *A. flavus*. This selection aimed to avoid testing isolates belonging to the same species. KPY6 exhibited the highest inhibitory activity against *A. flavus* growth at 27.33% and reduced the *A. flavus* colony diameter to 5.75 cm. Molecular identification of KPY6 revealed that the isolate is *Wickerhamomyces anomalus*. Based on hemolytic testing, KPY6 was found to be non-hemolytic. Metabolomic profiling analysis using LC-QTOF-MS/MS successfully detected various metabolites, including Phytosphingosine-1-P, Ethyl heptanoate, and S-methyl butanethioate. These three metabolites are believed to act by disrupting the cell membrane integrity of *A. flavus* and inhibiting mycelial growth. The results of this study demonstrate the potential of *W. anomalus* KPY6 as a safe and effective biological control agent for suppressing the growth of *A. flavus*.

Keywords: aflatoxin B1, internal transcribed spacer (ITS), LC-QTOF-MS/MS, secondary metabolites, *Wickerhamomyces anomalus*

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.





- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026¹
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KHAMIR ASAL KAKAO
(*Theobroma cacao*) ANTAGONIS TERHADAP *Aspergillus flavus*
PENGHASIL AFLATOKSIN**

RACHMI YUNISAASTARI

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Mikrobiologi

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Tesis : Isolasi dan Karakterisasi Khamir asal Kakao (*Theobroma cacao*)
Antagonis terhadap *Aspergillus flavus* Penghasil Aflatoksin
Nama : Rachmi Yunisaastari
NIM : G3501231038

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Rika Indri Astuti S.Si., M.Si.

Pembimbing 2:
Dr. Ivan Permana Putra, S.Si., M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof.Dr.Dra. Anja Meryandini M.S.
NIP. 19620327 198703 2001

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam:
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.
NIP. 19780723 200701 1001



Tanggal Ujian:
13 Agustus 2026

Tanggal Lulus:



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Maret 2025 sampai bulan November 2025 ini ialah Isolasi Khamir, dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Khamir asal Kakao (*Theobroma cacao*) Antagonis terhadap *Aspergillus flavus* Penghasil Aflatoksin”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Dr. Rika Indri Astuti S.Si., M.Si sebagai pemnimbing pertama, Dr. Ivan Permana Putra, S.Si., M.Si sebagai pembimbing kedua yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Penguji luar komisi pembimbing Prof. Dr. Waras Nurcholis, S.Si., M.Si. serta Ketua Program Studi Prof. Dr. Dra. Anja Meryandini, M.S. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada ibuk Dewi dan bapak Septian Adhi, S.Pd. beserta staf Laboratorium Bioprospeksi mikrob, Biotech Center dan Laboratorium Mikologi Departemen Biologi, IPB. yang telah membantu selama pengumpulan data. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayang.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Oktober 2026

Rachmi Yunisaastari

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang Lingkup	3
1.6 Kebaruan	3
1.7 Hipotesis	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	4
2.2 Fermentasi Biji Kakao	5
2.3 <i>Aspergillus flavus</i>	6
2.4 Aflatoksin	7
2.5 Khamir sebagai Agen Biokontrol	8
III METODE	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2 Kerangka Penelitian	11
3.3 Alat dan Bahan	12
3.4 Prosedur Kerja	12
3.4.1 Pengambilan Sampel Kakao	12
3.4.2 Isolasi Khamir	13
3.4.3 Karakterisasi Morfologi Khamir	13
3.4.4 Uji Hemolitik	14
3.4.5 Uji Isolat Cendawan Penghasil Senyawa Aflatoksin	14
3.4.6 Uji Antagonisme Khamir Terhadap <i>Aspergillus flavus</i>	14
3.4.7 Kurva Pertumbuhan	15
3.4.8 Ekstraksi Metabolit Ekstraseluler Isolat Khamir	15
3.4.9 Identifikasi Molekuler Khamir Berbasis Sekuen Gen ITS	15
3.4.10 Analisis Metabolit Khamir dengan LC-QTOF-MS	16
3.5 Analisis Data	16
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Isolat Khamir	17
4.2 Uji Hemolitik Isolat Khamir	19
4.3 Uji Aflatoksin pada Media <i>Coconut Agar Medium</i> (CAM)	20
4.4 Uji Antagonisme dengan Menggunakan Metode <i>Dual Culture</i>	21
4.5 Identifikasi DNA Khamir menggunakan sekues ITS	24
4.6 Analisis Senyawa Metabolit Khamir dengan LC-QTOF-MS	25
V SIMPULAN DAN SARAN	33
5.1 Simpulan	33

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



5.2	Saran	33
DAFTAR PUSTAKA.....		34
LAMPIRAN		38
RIWAYAT HIDUP		48

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR TABEL

1	Karakteristik morfologi makroskopik dan mikroskopik isolat khamir KPY1–KPY6	18
2	Zona hambat pada uji antagonisme berbasis metode <i>dual culture</i> khamir dan <i>A. flavus</i>	23
3	Identifikasi senyawa <i>untargeted</i> dari ekstrak <i>Wickerhamomyces anomalus</i> KPY6 yang dianalisis menggunakan LC-QTOF-MS/MS	26
4	Identifikasi dan mekanisme antagonis senyawa metabolit sekunder <i>Wickerhamomyces anomalus</i> KPY6 setelah inkubasi 32 jam berdasarkan literatur sebelumnya	30

DAFTAR GAMBAR

1	Struktur morfologi buah dan biji kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	5
2	Morfologi makroskopis dan struktur mikroskopis <i>Aspergillus flavus</i>	7
3	Bagan alir penelitian	11
4	Map lokasi geografis dan kondisi lapangan lokasi pengambilan sampel kakao.	12
5	Morfologi makroskopis koloni isolat khamir KPY1-KPY6	17
6	Morfologi mikroskopis sel isolat khamir KPY1-KPY6	18
7	Aktivitas hemolitik isolat khamir pada agar darah	20
8	Deteksi aflatoksin pada media <i>Coconut Agar Medium</i> (CAM) s	21
9	Aktivitas antagonis isolat khamir terhadap <i>Aspergillus flavus</i> melalui uji antagonisme <i>Dual culture</i>	22
10	Pohon filogenetik untuk isolat KPY6 menunjukkan hubungan yang erat dengan <i>W. anomalus</i> berdasarkan pohon filogenetik gen ITS.	25
11	Profil kromatografi ekstrak <i>W. anomalus</i> KPY6 yang diperoleh melalui analisis LC-QTOF-MS/MS.	29
12	Struktur kimia metabolit sekunder hasil identifikasi LC-QTOF-MS/MS ekstrak <i>W. anomalus</i> KPY6	30

DAFTAR LAMPIRAN

1	Hasil uji antagonis <i>dual culture</i> <i>Wickerhamomyces anomalus</i> KPY6 terhadap <i>Aspergillus flavus</i>	39
2	Hasil perhitungan zona penghambatan <i>A. flavus</i> oleh khamir	41
3	Hasil uji Anova menggunakan excel	41
4	Hasil analisis SPSS dan ANOVA menggunakan uji Tukey	42
5	Pengukuran absorbansi sel khamir KPY6 untuk menghitung kurva pertumbuhan	42
6	Grafik kurva pertumbuhan KPY6 setelah diinkubasi selama 120 jam	43

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.