

**Isolasi dan Identifikasi Molekuler Yeast Antagonis  
terhadap Fungi Penyebab Kerusakan Buah  
*Citrus sinensis***

**SKRIPSI**



**Livia Teja Laksana**

**31170096**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2021**

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI**  
**SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Livia Teja Laksmiana  
NIM : 31170096  
Program studi : Biologi  
Fakultas : Bioteknologi  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER YEAST ANTAGONIS  
TERHADAP FUNGI PENYEBAB KERUSAKAN BUAH *Citrus sinensis*”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta  
Pada Tanggal : 02 November 2021

Yang menyatakan



(Livia Teja Laksmiana)  
NIM.31170096

**Isolasi dan Identifikasi Molekuler Yeast Antagonis  
terhadap Fungi Penyebab Kerusakan Buah  
*Citrus sinensis***

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Sains (S.Si.)  
pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana



**Livia Teja Laksana**

**31170096**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana**

**Yogyakarta**

**2021**

**Lembar Pengesahan**

**Skripsi dengan judul:**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI MOLEKULER YEAST ANTAGONIS  
TERHADAP FUNGI PENYEBAB KERUSAKAN BUAH *Citrus sinensis***

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

**LIVIA TEJA LAKSMANA**

**31170096**

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

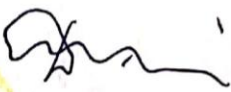


Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Sains pada tanggal 30 Oktober 2021

**Nama Dosen**


**Tanda Tangan**

1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc.  
(Dosen Pembimbing I/Dosen Penguji I) : 
2. Catarina Aprilia Ariestanti, S.T.P., M.Sc.  
(Dosen Pembimbing II/Dosen Penguji II) : 
3. Prof. Dr. Kris Herawan Timotius  
(Dosen Penguji/Ketua Tim Penguji) : 

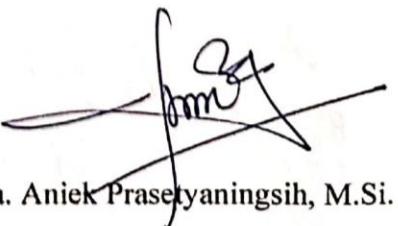
**Yogyakarta, 30 Oktober 2021**

**Disahkan oleh:**

**Dekan,**

  
Drs. Kisworo, M.Sc.

**Ketua Program Studi,**

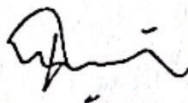
  
Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.

**LEMBAR PENGESAHAN NASKAH  
SKRIPSI**

Judul : Isolasi dan Identifikasi Molekuler Yeast Antagonis  
terhadap Fungi Penyebab Kerusakan Buah *Citrus sinensis*  
Nama Mahasiswa : Livia Teja Laksana  
NIM : 31170096  
Hari/Tgl Ujian : Sabtu, 30 Oktober 2021

Disetujui oleh :

Pembimbing I,



(Dr. Dhira Satwika, M.Sc.)

NIK : 904 E 146

Pembimbing II,



(Catarina Aprilia Ariestanti, S.T.P., M.Sc.)

NIK : 194 KE 422

Ketua Program Studi,



(Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.)

NIK : 884 E 075

## LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Livia Teja Laksana

NIM : 31170096

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

**“Isolasi dan Identifikasi Molekuler Yeast Antagonis terhadap Fungi  
Penyebab Kerusakan Buah *Citrus sinensis*”**

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 30 Oktober 2021



Livia Teja Laksana

31170096

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yesus Kristus, atas berkat, kasih karunia, serta kekuatan yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Molekuler Yeast Antagonis terhadap Fungi Penyebab Kerusakan Buah *Citrus sinensis*”. Selama proses penelitian hingga penulisan naskah skripsi ini tidak dapat lepas dari dukungan berbagai pihak. Oleh sebab itu, penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc., selaku dosen pembimbing pertama atas ilmu, dukungan, saran, serta nasihat yang diberikan dari awal skripsi hingga selesai.
2. Catarina Aprilia Ariestanti, S.T.P., M.Sc., selaku dosen pembimbing kedua atas saran, bimbingan, dan arahnya selama proses penyelesaian skripsi.
3. Prof. Dr. Kris Herawan Timotius, selaku dosen penguji atas saran dan masukan yang diberikan untuk membuat skripsi ini menjadi lebih baik.
4. Seluruh dosen, laboran, dan staff administrasi Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana atas ilmu, bantuan, dan bimbingannya selama proses perkuliahan hingga penelitian skripsi.
5. Kedua orang tua, Johny Teja Laksmana dan Harjanti yang selalu mendoakan, memberikan kekuatan, serta dukungan di setiap waktu. Kakak satu-satunya, William Teja Laksmana yang selalu memotivasi dan memberikan semangat sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
6. Vina Evianti Ririassa sebagai *partner* dalam segala kondisi yang selalu memberikan bantuan dan semangat selama proses berjalannya skripsi.
7. Heralius Dwiki Anggoro, Jessica Ilham, Bryan Dicky Marcendo serta sahabat-sahabat lainnya yang selalu memberikan dukungan kepada peneliti.
8. Teman-teman Fakultas Bioteknologi angkatan 2017 atas kebersamaan dan segala pengalaman yang diberikan selama menuntut ilmu di Universitas Kristen Duta Wacana.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu atas dukungan semangat, doa, dan bantuan yang diberikan.

Peneliti menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dan jauh dari sempurna. Oleh sebab itu, dibutuhkan kritik dan saran yang membangun. Peneliti berharap tulisan ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak.

Yogyakarta, 30 Oktober 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
ABSTRAK.....	xi
ABSTRACT.....	xii
BAB I.....	1
PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	2
1.3. Tujuan Penelitian .....	2
1.4. Manfaat Penelitian .....	2
BAB II.....	3
TINJAUAN PUSTAKA .....	3
2.1. Antagonisme .....	3
2.2. Yeast Antagonis sebagai Biokontrol Fungi Patogen.....	4
2.3. Analisis Molekuler.....	6
BAB III .....	7
METODOLOGI.....	7
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian .....	7
3.2. Cara Kerja .....	7
3.2.1. Koleksi sampel.....	7
3.2.2. Isolasi fungi dan yeast.....	7
3.2.3. Karakterisasi morfologis .....	8
3.2.4. Uji antagonistik .....	8
3.2.5. Analisis molekuler .....	9
BAB IV .....	12



HASIL DAN PEMBAHASAN.....	12
4.1. Isolasi dan Karakterisasi .....	12
4.1.1. Isolasi dan karakterisasi fungi secara makroskopis dan mikroskopis.....	14
4.1.2. Isolasi dan karakterisasi yeast secara makroskopis dan mikroskopis .....	16
4.2. Uji Antagonistik.....	18
4.2.1. <i>Eclipse assay</i> .....	18
4.2.2. Uji antibiosis .....	20
4.3. Analisis Molekuler.....	23
KESIMPULAN.....	40
DAFTAR PUSTAKA .....	41
LAMPIRAN.....	48

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komponen PCR .....	10
Tabel 2. Kondisi PCR .....	11
Tabel 3. Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis isolat fungi.....	14
Tabel 4. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis isolat yeast.....	15
Tabel 5. Hasil <i>eclipse assay</i> isolat yeast terhadap isolat fungi .....	17
Tabel 6. Sekuen DNA isolat F1, F2, Y1, dan Y2.....	25
Tabel 7. Perwakilan 10 <i>hits</i> yang dipilih untuk konstruksi <i>phylogenetic tree</i> isolat F1 .....	27
Tabel 8. Perwakilan 10 <i>hits</i> yang dipilih untuk konstruksi <i>phylogenetic tree</i> isolat F2 .....	30
Tabel 9. Perwakilan 10 <i>hits</i> yang dipilih untuk konstruksi <i>phylogenetic tree</i> isolat Y1.....	33
Tabel 10. Perwakilan 10 <i>hits</i> yang dipilih untuk konstruksi <i>phylogenetic tree</i> isolat Y2.....	35

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Interaksi antagonistik yeast terhadap fungi patogen .....	4
Gambar 2. Sampel buah jeruk manis pacitan segar dan rusak .....	13
Gambar 3. Penampakan makroskopis isolat F1, F2, dan F3 .....	14
Gambar 4. Bentuk dan struktur isolat F1 dan F2 secara mikroskopis .....	15
Gambar 5. Penampakan koloni Y1 dan Y2 secara makroskopis .....	17
Gambar 6. Penampakan mikroskopis isolat Y1 dan isolat Y2 .....	17
Gambar 7. Hasil uji <i>eclipse assay</i> .....	19
Gambar 8. Koloni isolat F1 dan F2 tanpa adanya interaksi dengan koloni yeast .	20
Gambar 9. Uji antibiosis isolat F1 terhadap isolat Y1 dan Y2 .....	21
Gambar 10. Uji antibiosis isolat F2 terhadap isolat Y1 dan Y2 .....	22
Gambar 11. Hasil isolasi DNA fungi dan yeast .....	23
Gambar 12. Hasil PCR isolat F1, F2, Y1, dan Y2. ....	24
Gambar 13. <i>Phylogenetic tree</i> isolat F1 dengan <i>hits</i> dari hasil BLAST .....	28
Gambar 14. <i>Phylogenetic tree</i> isolat F2 dengan <i>hits</i> dari hasil BLAST .....	31
Gambar 15. <i>Phylogenetic tree</i> isolat Y1 dengan <i>hits</i> dari hasil BLAST .....	34
Gambar 16. <i>Phylogenetic tree</i> isolat Y2 dengan <i>hits</i> dari hasil BLAST .....	36

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Graphic summary</i> 100 <i>hits</i> tertinggi BLAST dari sekuen isolat F1 .	48
Lampiran 2. <i>Graphic summary</i> 100 <i>hits</i> tertinggi BLAST dari sekuen isolat F2 .	48
Lampiran 3. <i>Graphic summary</i> 100 <i>hits</i> tertinggi BLAST dari sekuen isolat Y1	49
Lampiran 4. <i>Graphic summary</i> 100 <i>hits</i> tertinggi BLAST dari sekuen isolat Y2	49
Lampiran 5. Data <i>hits</i> pembandingan isolat F1 .....	50
Lampiran 6. Data <i>hits</i> pembandingan isolat F2 .....	53
Lampiran 7. Data <i>hits</i> pembandingan isolat Y1 .....	56
Lampiran 8. Data <i>hits</i> pembandingan isolat Y2 .....	59

## ABSTRAK

### Isolasi dan Identifikasi Molekuler Yeast Antagonis terhadap Fungi Penyebab Kerusakan Buah *Citrus sinensis*

LIVIA TEJA LAKSMANA

31170096

Jeruk manis (*Citrus sinensis*) merupakan salah satu komoditas yang banyak ditemukan dan dikonsumsi di Indonesia. Permasalahan utama yang membatasi potensi buah jeruk tersebut berupa kerusakan pascapanen akibat infeksi fungi patogen. Dibandingkan dengan penggunaan bahan-bahan kimia, pengendalian kerusakan pascapanen secara biologis melalui mekanisme antagonisme yakni dengan menggunakan yeast antagonis cenderung lebih aman bagi lingkungan maupun kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat dan mengidentifikasi secara molekuler yeast antagonis dan fungi penyebab kerusakan pada jeruk manis. Diperoleh 12 isolat yeast dan 3 isolat fungi yang selanjutnya dikarakterisasi secara makroskopis, mikroskopis, serta diuji antagonistik. Berdasarkan uji antagonistik, diperoleh 2 isolat yeast (Y1 dan Y2) dengan kemampuan penghambatan tergolong kuat terhadap 2 isolat fungi patogen dominan (F1 dan F2). Isolat yeast maupun fungi tersebut diidentifikasi secara molekuler menggunakan primer ITS. Hasil analisa molekuler menunjukkan bahwa isolat Y1 dan Y2 diidentifikasi sebagai *Meyerozyma caribbica*, isolat F1 diidentifikasi sebagai *Penicillium citrinum*, dan isolat F2 diidentifikasi sebagai *Fusarium solani*. Dalam penelitian ini, pengaruh penghambatan tertinggi isolat *Meyerozyma caribbica* terhadap diameter koloni *Penicillium citrinum* mencapai 52,6%, sedangkan pengaruh penghambatan tertinggi isolat *Meyerozyma caribbica* terhadap diameter koloni *Fusarium solani* mencapai 39,1%.

**Kata kunci:** yeast antagonis, *Citrus sinensis*, ITS, fungi patogen

## ABSTRACT

### **Isolation and Molecular Identification of Antagonist Yeast against Fungal Pathogens that Cause Decay in *Citrus sinensis***

LIVIA TEJA LAKSMANA

31170096

Indonesia as a tropical country become an excellent place for many plants to grow, including orange. Orange has many beneficial nutrition functions for man as well as its economic value. There are many local orange varieties found in Indonesia, one of it is *Citrus sinensis*, which could be found in Pacitan, East Java. One of the main problems in cultivating this orange is post-harvest fungal infection. It has been reported elsewhere the use of biological agent to tackle the problem, *i.e.*, the application of antagonistic interaction exerts by yeasts. It is the aim of this study to isolate pathogenic fungi and antagonistic yeast(s) from the fruit. Rotten fruits obtained from the farmer were used to isolate the fungi and potential antagonistic yeast(s); fresh fruits were also used as a source for yeast(s) isolation. After several isolation efforts, two dominant pathogenic fungi were obtained and based on ITS marker were identified as *Penicillium citrinum* and *Fusarium solani*, respectively. Two yeast strains were also recognised showing up to 52.6% growth inhibition against *P. citrinum*, and both identified as *Meyerozyma caribbica* based on ITS marker. The result gives us promising biological agents to control the growth of pathogenic fungi on orange.

**Keywords:** antagonistic yeast, *Citrus sinensis*, ITS, pathogenic fungi

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis yang dapat mendukung pertumbuhan berbagai jenis tanaman buah. Buah jeruk (*Citrus* sp.) merupakan komoditas buah yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Empat varietas utama produk jeruk yang dikomersialkan di Indonesia meliputi jeruk manis, jeruk mandarin, *grapefruit* dan pomelo, serta jeruk nipis dan lemon (Spreen, *et al.*, 2020).

Salah satu jeruk manis lokal Indonesia adalah jeruk manis pacitan atau biasa disebut dengan jeruk *baby*. Jeruk manis mengandung vitamin C, vitamin A, folat, serta serat pangan yang dapat meningkatkan sistem kekebalan, pembentukan tulang, kesehatan mata, produksi DNA maupun pengurangan risiko penyakit kardiovaskular (Akinde, *et al.*, 2017). Jeruk ini memiliki rasa yang manis sehingga dapat dikonsumsi oleh berbagai macam golongan usia (Spreen, *et al.*, 2020).

Permasalahan utama yang membatasi potensi buah jeruk berupa kerusakan pascapanen (*postharvest diseases*) akibat infeksi mikrobia patogen. Buah jeruk umumnya memiliki rentang nilai pH 2-4 (Talibi, *et al.*, 2014). Sifat intrinsik buah jeruk manis yang juga cenderung memiliki pH rendah serta kandungan gula dan nutrisi yang tinggi membuat buah jeruk manis rentan terhadap serangan fungi. Buah jeruk manis di negara berkembang dapat mengalami penurunan kualitas hingga 25% dari total buah yang dipanen dan mayoritas kerusakan disebabkan oleh fungi patogen. Hal ini dapat memberikan dampak kerugian ekonomi yang besar (Urbaneja, *et al.*, 2020; Akinde, *et al.*, 2017).

Pencegahan kerusakan yang terjadi pada buah saat ini masih banyak dilakukan dengan bahan-bahan kimia. Upaya memenuhi kualitas jeruk yang tahan lama mendorong penggunaan berbagai jenis pestisida. Penggunaan bahan kimia berlebihan diketahui dapat mengganggu sistem biologi, menyebabkan resistensi hama dan mikroorganisme patogen, menimbulkan masalah lingkungan maupun kesehatan pada manusia (Urbaneja, *et al.*, 2020).

Melihat efek negatif yang mungkin disebabkan oleh penggunaan bahan kimia berbahaya, maka dibutuhkan alternatif pencegahan kerusakan pascapanen jeruk yang relatif lebih aman bagi lingkungan maupun kesehatan. Pengendalian mikroorganisme patogen penyebab kerusakan pada jeruk secara biologis dengan memanfaatkan yeast antagonis merupakan cara yang menjanjikan. Berbagai laporan penelitian menyampaikan bahwa yeast antagonis mampu berperan menekan dan mengontrol pertumbuhan fungi patogen penyebab kerusakan pada buah. Perez, *et al.* (2016) menemukan beberapa jenis *killer yeast* yakni *Pichia*, *Saccharomyces*, *Kazachstania*, *Wickerhamomyces*, *Clavispora*, dan *Candida* pada buah lemon yang mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen yakni *Penicillium digitatum* dan *Penicillium italicum*. Penelitian mengenai yeast antagonis sebagai agen biokontrol juga telah dilakukan di Indonesia. Yeast yang diisolasi dari buah lemon lokal di Indonesia ditemukan mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen pada buah (Kariodimedjo & Satwika, 2018).

Berdasarkan potensi tersebut, isolasi dan identifikasi molekuler yeast antagonis terhadap fungi penyebab kerusakan buah *Citrus sinensis* dapat menambah informasi terkait potensi agen biokontrol terhadap fungi patogen penyebab kerusakan pada buah. Sampel jeruk manis yang digunakan pada penelitian ini adalah jeruk manis pacitan. Jeruk ini berasal dari daerah Pacitan, namun saat ini dapat ditemukan di berbagai daerah di Indonesia (Kusuma, *et al.*, 2007).

## **1.2. Rumusan Masalah**

Buah jeruk manis rentan mengalami kerusakan pascapanen akibat fungi patogen. Yeast antagonis yang secara alami dapat ditemukan pada buah merupakan salah satu alternatif pencegahan kerusakan pascapanen buah jeruk.

## **1.3. Tujuan Penelitian**

Memperoleh isolat dan mengidentifikasi secara molekuler yeast antagonis dan fungi penyebab kerusakan pada jeruk manis.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

Mengetahui bentuk interaksi diantara yeast antagonis sebagai agen biokontrol fungi penyebab kerusakan pada jeruk manis.



## BAB V

### KESIMPULAN

Yeast antagonis yang diisolasi dari buah jeruk manis pacitan diidentifikasi sebagai *Meyerozyma caribbica*, sedangkan fungi patogen penyebab kerusakan pada buah jeruk manis pacitan diidentifikasi sebagai *Penicillium citrinum* dan *Fusarium solani*. *Meyerozyma caribbica* mampu menghambat pertumbuhan *Penicillium citrinum* dan *Fusarium solani* ditandai dengan terbentuknya zona hambat, penurunan diameter koloni fungi, serta perubahan penampakan morfologis koloni fungi ketika terjadi interaksi antara yeast dengan fungi patogen.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Sater, M.A., Moubasher, A.H., Soliman, Z.S.M. (2016). Diversity of filamentous and yeast fungi in soil of citrus and grapevine plantations in the assiut region, Egypt. *Czech Mycology* 68(2), 183–214
- Adesemoya, A., Eskalen, A., Faber, B., Bender, G., O'Connell, N., Kallsen, C., Shea, T. (2013). Current knowledge on *Fusarium* dry rot of citrus. *Citrograph* 2, 29-33
- Aguirre-Gultron, L., Calderon-Santoyo, M., Ortiz-Basurto, R.I., Bautista-Rosales, P.U., Ragazzo-Sanchez, J.A. (2018). Optimisation of the spray drying process of formulating the post-harvest biocontrol agent *Meyerozyma caribbica*. *Biocontrol Science and Technology* 28, 574-590. DOI: 10.1080/09583157.2018.1468997
- Akinde, S.B., Adeniyi, M.A., Adebunmi, A.A., Oluwajide, O.O., Ogunnaike, O.O. (2017). Comparative effectiveness of chemical biocides and *Acalypha wilkesiana* leaf extract against postharvest fungal deteriorogens of sweet orange (*Citrus sinensis*) fruits. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1-9. DOI: 10.1016/j.ejbas.2017.03.001
- Aladdin, A., Dib, J.R., Malek, R.A., Enshasy, H.A.E. (2018). Killer yeast, a novel biological control of soilborne diseases for good agriculture practice. *Sustainable Technologies for the Management of Agricultural Wastes*, 71-86. DOI: 10.1007/978-981-10-5062-6\_6
- Alasmar, R., Ul-Hassan, Z., Zeidan, R., Al-Thani, R., Al-Shamary, N., Alnaimi, H., Migheli, Q., Jaoua, S. (2020). Isolation of a novel *Kluyveromyces marxianus* strain QKM-4 and evidence of its volatilome production and binding potentialities in the biocontrol of toxigenic fungi and their mycotoxins. *American Chemical Society Omega* 5, 17637-17645. DOI: 10.1021/acsomega.0c02124
- Al-Sheikh, H., Yehia, R. S. (2016). *In vitro* antifungal efficacy of *Aspergillus niger* ATCC 9642 chitosan-AgNPs composite against post-harvest disease of citrus fruits. *Applied Biochemistry and Microbiology* 52(4), 413–420. DOI: 10.1134/S0003683816040177
- Bai, F., Liang, H., Jia, J. (2000). Taxonomic relationships among the taxa in the *Candida guilliermondii* complex, as revealed by comparative electrophoretic karyotyping. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50, 417-422. DOI: 10.1099/00207713-50-1-417
- Bautista-Rosales, P.U., Calderon-Santoyo, M., Servin-Villegas, R., Ochoa-Alvarez, N.A., Ragazzo-Sanchez, J.A. (2013). Action mechanisms of the yeast *Meyerozyma caribbica* for the control of the phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides* in mangoes. *Biological Control* 65, 293-301. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2013.03.010

- Beeck, M.O.D., Lievens, B., Busschaert, P., Declerck, S., Vangronsveld, J., Colpaert, J.V. (2014). Comparison and validation of some ITS primer pairs useful for fungal metabarcoding studies. *PLoS ONE* 9(6): e97629. DOI: 10.1371/journal.pone.0097629
- Buehler, A. J., Evanowski, R. L., Martin, N. H., Boor, K. J., Wiedmann, M. (2017). Internal transcribed spacer (ITS) sequencing reveals considerable fungal diversity in dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8814–8825. DOI :10.3168/jds.2017-12635
- Chang, H.C., Leaw, S.N., Huang, A.H., Wu, T.L., Chang, T.C. (2001). Rapid identification of yeasts in positive blood cultures by a multiplex PCR method. *Journal of Clinical Microbiology* 39(10), 3466-3471. DOI: 10.1128/JCM.39.10.3466–3471.2001
- Chen, P., Chen, Y., Chou, J. (2018). Screening and evaluation of yeast antagonists for biological control of *Botrytis cinerea* on strawberry fruits. *Mycobiology* 46(1), 33-46. DOI: 10.1080/12298093.2018.1454013
- Coda, R., Rizzello, C.G., Cagno, R.D., Trani, A., Cardinali, G., Gobbetti, M. (2013). Antifungal activity of *Meyerozyma guilliermondii*: identification of active compounds synthesized during dough fermentation and their effect on long-term storage of wheat bread. *Food Microbiology* 33, 243-251. DOI: 10.1016/j.fm.2012.09.023
- Coleman, J.J. (2016). The *Fusarium solani* Species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. *Molecular Plant Pathology* 17(2), 146-158. DOI: 10.1111/mpp.12289
- Coutinho, T.C., Ferreira, M.C., Rosa, L.H., de Oliveira, A.M., Junior, E.N.D. (2020). *Penicillium citrinum* and *Penicillium mallochii*: new phytopathogens of orange fruit and their control using chitosan. *Carbohydrate Polymers*. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.115918
- Da Cunha, T., Ferraz, L.P., Wehr, P.P., Kupper, K.C. (2018). Antifungal activity and action mechanisms of yeasts isolates from citrus against *Penicillium italicum*. *International Journal of Food Microbiology* 276, 20-27. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.03.019
- De Lima J.R., Goncalves L.R., Brandao L.R., Rosa C.R., Viana F.M. (2012). Isolation, Identification and activity *in vitro* of killer yeasts against *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from tropical fruits. *Journal of Basic Microbiology* 52, 1-10. DOI: 10.1002/jobm.201200049
- De Ullivarri, M., Mendoza, L., Raya, R. (2014). Killer yeasts as biocontrol agents of spoilage yeasts and bacteria isolated from wine. *BIO Web of Conferences* 3, 02001. DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20140302001>
- Diaz, M.A., Pereyra, M.M., Picon-Montenegro, E., Meinhardt, F., Dib, J.R. (2020). Killer yeasts for the biological control of postharvest fungal crop diseases. *Microorganism* 8, 1680. DOI: 10.3390/microorganisms8111680

- El-Banna, A.A., El-Sahn, Malak, A.E., Shehata, M.G. (2011). Yeasts producing killer toxins: an overview. *Alexandria Journal of Food Science and Technology* 8(2), 41-53. DOI: 10.21608/AJFS.2011.20210
- Eric, S. (2007). Chloramphenicol. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, 1–7. DOI: 10.1016/b978-008055232-3.61439-4
- Estrada, R.R.G., Valle, F.D.A., Sanchez, J.A.R., Santoyo, M.C. (2017). Use of a Marine Yeast as a Biocontrol agent of the novel pathogen *Penicillium citrinum* on persian lime. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 29(2), 114-122. DOI: 10.9755/ejfa.2016-09-1273
- Gil-Serna, J. Vazquez, C. Gonzalez-Jaen, M.T., Patino, B. (2014). Toxicology, mycotoxins. *Encyclopedia of Food Microbiology* (2), 1539-1547. DOI: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00234-2
- Giobbe, S., Marceddu, S., Scherm, B., Zara, G., Mazzarello, V.L., Budroni, M., Migheli, Q. (2007). The strange case of a biofilm-forming strain of *Pichia fermentans*, which controls *Monilinia* brown rot on apple but is pathogenic on peach fruit. *Federation of European Microbiological Societies* 7, 1389-1398. DOI: 10.1111/j.1567-1364.2007.00301.x
- Golubev W. (2006) Antagonistic Interactions Among Yeasts. In: Péter G., Rosa C. (eds) *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. The Yeast Handbook. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/3-540-30985-3\_10
- Gonzalez-Gutierrez, K.N., Ragazzo-Sanchez, J.A., Calderon-Santoyo, M. (2021). Application of stressed and microencapsulated *Meyerozyma caribbica* for the control of *Colletotrichum gloeosporioides* in avocado (*Persea americana* Mill. cv. Hass). *Journal of Plant Diseases and Protection* 128, 1243–1251. DOI: 10.1007/s41348-021-00487-2
- Houbraken, J.A.M.P., Frisvad, J.C., Samson, R.A. (2010). Taxonomy of *Penicillium citrinum* and related species. *Fungal Diversity* 44, 117-133. DOI: 10.1007/s13225-010-0047-z
- Janisiewicz, W. (1987) Postharvest biological control of blue mold on apples. *Phytopathology* 77, 481–485. DOI: 10.1094/Phyto-77-481
- Kariodimedjo, P.P., Satwika, D. (2018). Isolation and identification of antagonistic yeast from lemon. *Proceeding 2nd International Seminar on Natural Resources Biotechnology: From Local to Global*. Yogyakarta: 2018, 85-92.
- Khunnamwong, P., Lertwattanasakul, N., Jindamorakot, S. Suwannarach, N., Matsui, K., Limtong, S. (2019). Evaluation of antagonistic activity and mechanisms of endophytic yeasts against pathogenic fungi causing economic crop diseases. *Folia Microbiol* 65, 573–590. DOI: 10.1007/s12223-019-00764-6

- Kurtzman, C. P. Fell, J.W. Boekhout, T. (2011). The yeasts: a taxonomic study, *Meyerozyma* Kurtzman & M. Suzuki (2010). Amsterdam: Elsevier. DOI: 10.1016/B978-0-444-52149-1.00047-1
- Kusuma, H.R., Ingewati, T., Indraswati, N., Martina. (2007). Pengaruh pasteurisasi terhadap kualitas jus jeruk pacitan. *Widya teknik* 6(2), 142-151
- Li, C., Zuo, C., Deng, G., Kuang, R., Yang, Q., Hu, C., Sheng, O., Zhang, S., Ma, L., Wei, Y., Yang, J., Liu, S., Biswas, M.K., Vijoan, A., Yi, G. (2013). Contamination of bananas with beauvericin and fusaric acid produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *PLoS ONE* 8(7). DOI: 10.1371/journal.pone.0070226
- Madden, T. (2013). *The NCBI Handbook Chapter 16, The BLAST Sequence Analysis Tool*. Bethesda, Maryland, US: National Center for Biotechnology Information
- Mannazzu, I., Domizio, P., Carboni, G., Zara, S., Zara, G., Comitini, F., Budroni, M., Ciani, M. (2019). Yeast killer toxins: from ecological significance to application. *Critical Reviews in Biotechnology* 39(2), 258-271. DOI: 10.1080/07388551.2019.1601679
- Martini, C., Mari, M. (2014). *Monilinia fructicola, Monilinia laxa* (Monilinia Rot, Brown Rot). *Postharvest Decay* Chapter 7, 233–265. DOI: 10.1016/b978-0-12-411552-1.00007-7
- Mezzomo, R., Rolim, J.M., dos-Santos, A.F., Poletto, T., Walker, C., Maciel, C.G., Muniz, M.F.B. (2019). Aggressiveness of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* isolates to yerba-mate and production of extracellular enzymes. *Summa Phytopathologica* 45(2), 141-145. DOI: 10.1590/0100-5405/198057
- Mokhtari M., Etebarian, H.R., Razavi, M., Heydari, A., Mirhendi, H. (2012). Identification of yeasts isolated from varieties of apples and citrus using PCR-fragment size polymorphism and sequencing of ITS1-5.8S-ITS2 region. *Food Biotechnology* 16 (3), 252-265. DOI: 10.1080/08905436.2012.698771
- Montes de Oca, R., Salem, A.Z.M., Kholif, A.E., Monroy, H., Perez, L.S., Zamora, J.L., Gutierrez, A. (2016). Yeast: description and structure. yeast additive and animal production, 4-13. India: PubBioMed Central Research Publishing Services.
- Mucilli, S., Restuccia, C. (2015). Bioprotective role of yeasts. *Microorganisms* 3, 588-611. DOI: 10.3390/microorganisms3040588
- Muthukrishnan, S. (2017). Optimization and production of industrial important cellulase enzyme from *Penicillium citrinum* in western ghats of sathuragiri hills soil sample isolate. *Universal Journal of Microbiology Research* 5 (1), 7-16. DOI: 10.13189/ujmr.2017.050102

- Ocampo-Suarez, I. B., Sanchez-Salas, J. L., Ragazzo-Sanchez, J. A., Calderon-Santoyo, M. (2017). Evaluation of the toxicity and pathogenicity of biocontrol agents in murine models, chicken embryos and dermal irritation in rabbits. *Toxicological Research* 6(2), 188–198. DOI: 10.1039/c6tx00275g
- O'Donnell, K., Rooney, A.P., Proctor, R.H., Brown, D.W., McCormick, S.P., Ward, T.J., Frandsen, R.J.M., Lysøe, E., Rehner, S.A., Aoki, T., Robert, V.A.R.G., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., Kang, S., Geiser, D.M. (2013). Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. *Fungal Genetics and Biology* 52, 20-31. DOI: 10.1016/j.fgb.2012.12.004
- Pal, K.K., Gardener, B.M. (2006). Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*, 1-15. DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02
- Pelser, P.T., Eckert, J.W. (1977). Constituents of orange juice that stimulate the germination of conidia of *Penicillium digitatum*. *Phytopathology* 67, 747-754
- Perez, M. F., Isas, A. S., Aladdin, A., El Enshasy, H. A., Dib, J. R. (2017). Killer yeasts as biocontrol agents of postharvest fungal diseases in lemons. *Sustainable Technologies for the Management of Agricultural Wastes*, 87–98. DOI: 10.1007/978-981-10-5062-6\_7
- Rabaaoui, A., Dall'Asta, C., Righetti, L., Susca, A., Logrieco, A.F., Namsi, A., Gdoura, R., Werbrouck, S.P.P, Moretti, A., Masiello, M. (2021). Phylogeny and mycotoxin profile of pathogenic *fusarium* species isolated from sudden decline syndrome and leaf wilt symptoms on date palms (*Phoenix dactylifera*) in Tunisia. *Toxins* 13, 463. DOI: 10.3390/toxins13070463
- Rita, W.S., Suprapta, D.N., Sudana, I.M., Swantara, I.M.d. (2013). First report on *Fusarium solani*, a pathogenic fungus causing stem rot disease on dragon fruits (*Hylocereus* sp.) in Bali. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 3(17), 93-99.
- Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C., Filtenborg, O. (1996). Introduction to food-borne fungi, fifth edition. Baarn, Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures
- Sarkar, S., Girisham, S., Reddy, S.M. (2011). Cellulase activity in fungal infected banana fruits-effect of different synthetic media on cellulase production. *Journal of Recent Advances in Applied Sciences* 26, 12-17.
- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A. (2012). Nuclear ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (16), 6241-6246. DOI: 10.1073/pnas.1117018109

- Scott, A.D., Baum, D.A. (2016). Encyclopedia of Evolutionary Biology, Phylogenetic Tree. Madison, WI, USA: University of Wisconsin. DOI: 10.1016/b978-0-12-800049-6.00203-1
- Sharma, R., Singh, D. Singh, R. (2009) Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: a review. *Biological Control* 50, 205–221. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2009.05.001
- Sharon, C. (2007). Ampicillin. *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Referenc*, 1–6. DOI: 10.1016/b978-008055232-3.61227-9
- Spreen, T.H., Gao, Z., Jr, W.F., Zansler, M.L. (2020). Global economics and marketing of citrus products. *The Genus of Citrus* Chapter 23, 471-493. DOI: 10.1016/B978-0-12-812163-4.00023-1
- Stielow, J. B., C. A. Lévesque, K. A. Seifert, W. Meyer, L. Iriny, D. Smits, R. Renfurm, G. J. M. Verkley, M. Groenewald, D. Chaduli, A. Lomascolo, S. Welti, L. Lesage-Meessen, A. Favel, A. M. S. Al-Hatmi, U. Damm, N. Yilmaz, J. Houbraken, L. Lombard, W. Quaedvlieg, M. Binder, L. A. I. Vaas, D. Vu, A. Yurkov, D. Begerow, O. Roehl, M. Guerreiro, A. Fonseca, K. Samerpitak, A. D. van Diepeningen, S. Dolatabadi, L. F. Moreno, S. Casaregola, S. Mallet, N. Jacques, L. Roscini, E. Egidi, C. Bizet, D. GarciaHermoso, M. P. Martín, S. Deng, J. Z. Groenewald, T. Boekhout, Z. W. de Beer, I. Barnes, T. A. Duong, M. J. Wingfield, G. S. de Hoog, P. W. Crous, C. T. Lewis, S. Hambleton, T. A. A. Moussa, H. S. Al-Zahrani, O. A. Almaghrabi, G. Louis-Seize, R. Assabgui, W. McCormick, G. Omer, K. Dukik, G. Cardinali, U. Eberhardt, M. de Vries, and V. Robert. (2015). One fungus, which genes? development and assessment of universal primers for potential secondary fungal dna barcodes. *Persoonia* 35, 242–263. DOI: 10.3767/003158515x689135
- Sun, L., Nasrullah, Ke, F., Nie, Z., Wang, P., Xu, J. (2019). Citrus genetic engineering for disease resistance: past, present and future. *International Journal of Molecular Sciences* 20(21), 5256. DOI: doi.org/10.3390/ijms20215256
- Talibi, I., Boubaker, H., Boudyach, E.H., Aoumar, A.A.B. (2014). Alternative methods for the control of postharvest citrus diseases. *Journal of Applied Microbiology* 117, 1-17. DOI: 10.1111/jam.12495
- Urbaneja, A., Grout, T.G., Gravena, S., Wu, F., Cen, Y., Stansly, P.A. (2020). Citrus pests in a global world. *The Genus Citrus* Chapter 16, 333-348. DOI: 10.1016/B978-0-12-812163-4.00016-4
- Vejarano, R. (2020). Non-*Saccharomyces* in winemaking: source of mannoproteins, nitrogen, enzymes, and antimicrobial compounds. *Fermentation* 6, 76. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation6030076>

- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. New York: Academic Press.
- Xu, B., Zhang, H., Chen, K., Xu, Q., Yao, Y., Gao, H. (2013). biocontrol of postharvest *Rhizopus* decay of peaches with *Pichia caribbica*. *Curr Microbiol* 67, 255-261. DOI: 10.1007/s00284-013-0359-9
- Yan, Y., Zhang, X., Zheng, X., Apaliya, M.T., Yang, Q., Zhao, L., Gu, X., Zhang, H. (2018). Control of postharvest blue mold decay in pears by *Meyerozyma guilliermondii* and its effects on the protein expression profile of pears. *Postharvest Biology and Technology* 136, 124-131. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2017.10.016
- Yulieth, Y., Navarro-Herrera, Ortiz-Moreno, M.L. (2020). Yeast strains with antagonist activity against *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. and their phenotypic characterization. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30, 29. DOI: 10.1186/s41938-020-00231-2
- Zakaria, L. (2017). Mycotoxigenic *Fusarium* species from agricultural crops in Malaysia. *JSM Mycotoxins* 67(2), 67-75. DOI: 10.2520/myco.67-2-2