

**FORMULASI BIOFUNGISIDA KITOSAN ENZIMATIK UNTUK
PENGENDALIAN CENDAWAN PASCA PANEN PADA BUAH TOMAT
SECARA *IN VITRO***

**ENZYMATIC CHITOSAN BIOFUNGICIDE FORMULATION
FOR POST-HARVEST FUNGI CONTROL ON TOMATOES IN VITRO**

Nessa Amelia*, Yadi Suryadi, Tri Saptari Haryani

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Pakuan, Jl. Pakuan, Tegallega, Bogor Tengah, Kota Bogor.

*Corresponding author : amelianessa25@gmail.com

Abstrak

Kitosan dapat digunakan untuk pengendalian serangan antraknosa yang menjadi kendala pasca panen pada buah tomat. Efektivitas kitosan dapat ditingkatkan menjadi Kitosan-Tripolifosfat menggunakan metode gelasi ionik. Tujuan penelitian adalah menguji potensi bakteri endofit dari buah tomat matang dan mentah dalam menghambat *Colletotrichum* sp dan menentukan konsentrasi terbaik dalam formulasi Kitosan-Tripolifosfat. Dalam pembuatan Kitosan-Tripolifosfat digunakan metode gelasi ionik untuk merubah ukuran partikel kitosan pada konsentrasi kitosan bobot molekul rendah (KBMR) 0.2 % dan larutan natrium tripolifosfat (NaTPP) 0.1% dengan rasio (3:1, 1:1 dan 5:2) dalam 50 mL, kontrol positif tidak diberi formula dan kontrol negatif diberi formula. Parameter yang diamati yaitu persen daya hambat antar konsentrasi secara *in vitro*. Analisis data menggunakan program SPSS dengan metode Rancang Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 9 pengulangan. Jika terdapat perbedaan dilanjut dengan uji Duncan. Hasil penelitian menunjukkan isolat bakteri MH-1 yang berasal dari buah tomat mentah memiliki daya hambat paling tinggi yaitu 80,24% sehingga dipilih untuk formulasi Kitosan-Tripolifosfat. Konsentrasi formula Kitosan-Tripolifosfat dalam 50 mL rasio (3:1, 1:1 dan 5:2) tidak berbeda nyata terhadap antar perlakuan, namun berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol. Hal ini disebabkan persamaan ukuran partikel kitosan yang dihasilkan pada konsentrasi formula Kitosan-Tripolifosfat.

Kata kunci : antraknosa, *Colletotrichum* sp, bakteri endofit, gelasi ionik, kitosan-tripolifosfat

Abstract

Chitosan can be used to control anthracnose attacks which are post-harvest constraints on tomatoes. The effectiveness of chitosan can be increased to Chitosan-Tripolyphosphate using the ionic gelation method. The purpose of this study was to test the potential of endophytic bacteria from ripe and unripe tomatoes in inhibiting *Colletotrichum* sp and to determine the best concentration in the Chitosan-Tripolyphosphate formulation. In the manufacture of Chitosan-Tripolyphosphate, the ionic gelation method was used to change the size of chitosan particles at a concentration of 0.2% low molecular weight chitosan (LBW) and 0.1% sodium tripolyphosphate (NaTPP) solution with a ratio of (3: 1, 1: 1 and 5: 2) in 50 mL, positive control was not given a formula and negative control was given a formula. The parameters observed were the percentage of inhibition between concentrations in vitro. Data analysis used the SPSS program with the Completely Randomized Design (CRD) method with 4 treatments and 9 repetitions. If there is a difference, it is continued with

the Duncan test. The results showed that the MH-1 bacterial isolate derived from raw tomatoes had the highest inhibitory power of 80.24%, so it was chosen for the Chitosan-Tripolyphosphate formulation. The concentration of the Chitosan-Tripolyphosphate formula in 50 mL ratios (3:1, 1:1 and 5:2) was not significantly different between treatments, but was significantly different from the control treatment. This is due to the similarity in the size of the chitosan particles produced at the concentration of the Chitosan-Tripolyphosphate formula.

Kata kunci : *anthracnose*, *Colletotrichum sp*, *endophytic bacteria*, *ionic gelation*, *chitosan-tripolyphosphate*

Pendahuluan

Faktor biologis yang sering mengganggu perkembangan dan peningkatan produksi buah tomat adalah penyebaran penyakit antraknosa yang disebabkan oleh cendawan *Colletotrichum*. Beberapa spesies cendawan *Colletotrichum* penyebab penyakit antraknosa antara lain *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum capsici*, *Colletotrichum acutatum*, dan *Colletotrichum cocodes* (Reviliya, 2020). Petani telah mempraktikkan pencegahan dan pengendalian penyakit pasca panen, termasuk pemanenan yang hati-hati, menghindari cedera, pengangkutan yang baik, dan pemisahan buah yang sakit dan sehat. Namun, cara-cara tersebut tidak dapat menghilangkan patogen dari permukaan buah secara sempurna (Pamekas, 2002). Petani umumnya menggunakan sejumlah fungisida kimia, mengingat efek negatif fungisida kimia, yang dapat mencemari lingkungan, beracun bagi organisme, tahan patogen, dan dapat mengancam kesehatan manusia, alternatif untuk pengendalian antraknosa yang lebih aman adalah kitosan (Mulyaningtyas, dkk., 2016).

Efektivitas kitosan dalam pengendalian antraknosa dapat ditingkatkan dengan hidrolisis enzimatis kitosan menjadi Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR). Salah satu enzim yang terlibat dalam proses hidrolisis kitosan komersial adalah enzim kitinase, yang dapat dihasilkan oleh bakteri endofit dari kelompok bakteri kitinolitik seperti *Bacillus firmus* E65 karena dapat menghasilkan enzim kitinase yang dapat mendegradasi dinding sel cendawan (Mulyaningtyas, dkk., 2016). Pada penelitian Pradana (2018) melaporkan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman yaitu *Coleus amboinicus*, *Mimosa pudica*, *Impatiens balsamina*, *Lycopersicon esculentum*, *Talinum triangulare*, *Strobilanthes crispus* dan *Oryza sativa* menghasilkan aktivitas kitinolitik. Selain itu, Aji Utami (2017) melaporkan bahwa terdapat 8 isolat bakteri endofit yang dihasilkan dari isolasi tomat ceri.

Upaya pengendalian penyakit pasca panen yang disebabkan oleh serangan antraknosa menggunakan kitosan antara lain telah dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Pada buah cabai, penggunaan hidrolisis kitosan secara enzimatis oleh bakteri kitinolitik, serta aplikasi rasio (5:2) konsentrasi Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) 0.2% : Natrium Tripolifosfat (NaTPP) 0.1% dilaporkan cenderung dapat menekan laju perkembangan penyakit dengan daya hambat 65-68% (Suryadi, 2019). Selain pada buah cabai, pengendalian antraknosa menggunakan hidrolisis kitosan secara enzimatis oleh bakteri *B. firmus* E65 telah dilakukan pada buah mangga. Persentase daya hambat cendawan paling baik dilaporkan pada perbandingan rasio (3:1) antara Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) 0.2 % : Natrium Tripolifosfat (NaTPP) 0.1% dengan tingkat daya hambat sebesar 91% pada suhu ruang (Mulyaningtyas, dkk., 2016).

Berdasarkan hal tersebut, masih perlu dilakukan optimasi kitosan hidrolisis secara enzimatis oleh enzim kitinase yang dihasilkan berbagai kelompok bakteri kitinolitik yang berbeda. Bakteri yang akan diuji pada penelitian ini diperoleh dari

bakteri endofit pada bagian asal buah tomat matang dan mentah kemudian diaplikasikan untuk pengendalian penyakit antraknosa secara *in vitro*. Dalam pembuatan kitosan enzimatis perlu dioptimasi berbagai konsentrasi Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) dan Natrium Tripolifosfat (NaTPP), agar didapatkan formula yang memiliki kemampuan daya hambat paling baik. Penelitian ini selanjutnya menjadi dasar untuk pengembangan penelitian *in vivo* pada pasca panen tanaman tomat untuk mengendalikan penyakit antraknosa.

Metode Penelitian

Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian di laboratorium Pusat Riset Hortikultura dan Perkebunan (BRIN), berlangsung selama 3 bulan, pada bulan Juli sampai September 2022.

Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap. Terdapat 4 perlakuan, setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 9 kali. Perlakuan yang diberikan yaitu berupa kontrol dan formula Kitosan Tripolifosfat (KTTP) dengan rasio (5:2, 1:1, 3:1). Digunakan analisis menggunakan ANOVA satu arah, dilanjutkan dengan uji lanjut DUNCAN taraf signifikansi 5%.

Peremajaan Isolat Cendawan *Colletotrichum* sp.

Peremajaan dilakukan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) menggunakan metode sumuran didalam LAF dalam keadaan aseptik. Isolat cendawan *Colletotrichum* sp. diperoleh dari laboratorium Pusat Riset Hortikultura dan Perkebunan (BRIN).

Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi bakteri endofit dilakukan terhadap sampel buah tomat varietas permata, dengan tingkat kematangan mentah (*mature green*) dan matang (*light red*). Penumbuhan bakteri dilakukan duplo dan diratakan sampai kering pada permukaan media agar membentuk koloni. Setelah itu diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Dipilih 10 isolat bakteri, lalu dimurnikan satu persatu menggunakan metode *streak plate* goresan T kuadran 3 pada media NA. Setelah itu dipilih 10 isolat bakteri lalu dilakukan pemurnian pada media agar miring.

Uji Daya Hambat Isolat Bakteri Terhadap Cendawan *Colletotrichum* sp.

10 isolat bakteri yang telah dimurnikan pada media agar miring diambil untuk dilakukan uji daya hambat bakteri terhadap cendawan *Colletotrichum* sp. menggunakan metode biakan ganda/*dual culture*. Pengamatan dilakukan sampai hari ke 6. Dipilih isolat bakteri yang memiliki daya hambat paling tinggi.

Pembuatan Kitosan Tripolifosfat (KTTP) Metode Gelasi Ionik Ekstraksi Enzim Kitinase

Isolat bakteri ditumbuhkan pada media *Nutrient Broth* sebanyak 10 mL. Lalu di shaker selama 24 jam. Setelah itu diambil 1 mL biakan dari media *Nutrient Broth* dan dipindahkan ke media kitin cair sebanyak 10 mL lalu di shaker selama 72 jam. Hasil shaker dimasukkan kedalam eppendorf 1,5 mL dan di sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit dengan suhu 4°C. Supernatan hasil sentrifugasi diambil sebanyak 2,5 mL dan dicampur dengan ammonium sulfat 70% sebanyak 2,5 mL dan dihomogenkan dengan vorteks. Campuran tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Pelet yang diperoleh dipisahkan dan dilarutkan dalam PBS pH 6,8 dalam jumlah yang minimal di dalam eppendorf 2 mL. Setelah itu enzim disimpan dalam suhu -21°C sebelum digunakan

Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR)

2 g kitosan dilarutkan dalam 100 mL larutan asam asetat 1%. Larutan tersebut diukur pHnya menjadi pH 3.5. Campuran tersebut diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 24 jam agar kitosan larut. Kitosan yang sudah larut diatur pHnya menjadi 5.3 dengan ditambahkan NaOH. Diambil larutan kitosan sebanyak 20 mL kemudian dihidrolisis menggunakan 0.2 mL enzim kitinase yang telah diekstraksi dari biakan isolat bakteri kitinolitik kemudian di *shaker* selama 24 jam. Proses hidrolisis dihentikan dengan dididihkan pada *waterbath* suhu 100°C selama 5 menit. Kitosan hasil hidrolisis dipresipitasi dengan sentrifugasi 10.000 rpm selama 10 menit, kemudian pelet dicuci beberapa kali dengan air destilasi hingga pH netral. Pellet tersebut merupakan Kitosan Berat Molekul Rendah (KBMR). Kemudian pelet disimpan pada suhu 4°C.

Kitosan Tripolifosfat (KTTP) Metode Gelasi Ionik

Untuk membuat larutan Kitosan Tripolifosfat (KTTP) diperlukan Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) 0.2%, Natrium Tripolifosfat (NaTPP) 0.1% dan Tween-80 0.2%. Pembuatan Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) 0.2% yaitu sebanyak 0.2 g Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) dilarutkan dalam 100 mL asam asetat 1% menjadi larutan Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) 0.2%. Asam asetat 1% dibuat dengan komposisi asam asetat 1 mL ditambahkan 100 mL aquadest. Setelah itu Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) 0.2% dicampurkan dengan larutan Natrium Tripolifosfat (NaTPP) 0.1%. Larutan Natrium Tripolifosfat (NaTPP) 0.1% dibuat dengan komposisi 0.1 g NaTPP ditambahkan 100 mL aquadest. Larutan Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) 0.2% dicampurkan dengan larutan Natrium Tripolifosfat (NaTPP) 0.1%. Dibuat perbandingan (5:2, 1:1, 3:1) dalam 50 mL. Setelah dicampurkan dengan perbandingan tertentu, larutan Kitosan Tripolifosfat (KTTP) ditambahkan tween 80 0.2% sebanyak 0.25 mL, kemudian diaduk dengan *shaker* selama 24 jam sebelum digunakan. Tween 80 0.2% dibuat dengan komposisi 0.2 mL tween 80 ditambah aquadest 100 mL.

Tabel 1. Perbandingan Formula Kitosan Tripolisfosfat (KTTP) dalam 50 mL.

Rasio (KBMR 0.2% : NaTPP 0.1%)	KBMR 0.2%	NaTPP 0.1%
3:1	37.5 mL	12.5 mL
1:1	25 mL	25 mL
5:2	36 mL	14 mL

Uji Daya Hambat Cendawan Metode Tuang Secara In Vitro

Uji tersebut dilakukan menggunakan metode *pour plate*. Digunakan media *Potato Dextrose Agar*. Media yang masih hangat dicampur dengan ditambahkan larutan Kitosan Tripolifosfat (KTTP). Untuk perlakuan kontrol, media PDA tidak dicampur dengan larutan Kitosan KTTP. Media PDA dilubangi bagian tengahnya menggunakan *cork borer* steril kemudian isolat cendawan *Colletotrichum* sp. diinokulasikan ke lubang tersebut lalu diinkubasi. Pengamatan dilakukan sampai 7 hari masa inkubasi dengan membandingkan antara luas koloni kontrol dengan perlakuan KTTP.

Analisa Data

Analisa data menggunakan program SPSS dengan metode Rancang Acak Lengkap (RAL) pola sederhana. Kemudian akan dianalisis menggunakan ANOVA satu arah. Terdapat 4 perlakuan, setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 9 kali. Perlakuan yang diberikan yaitu berupa kontrol dan formula Kitosan Tripolifosfat (KTTP)

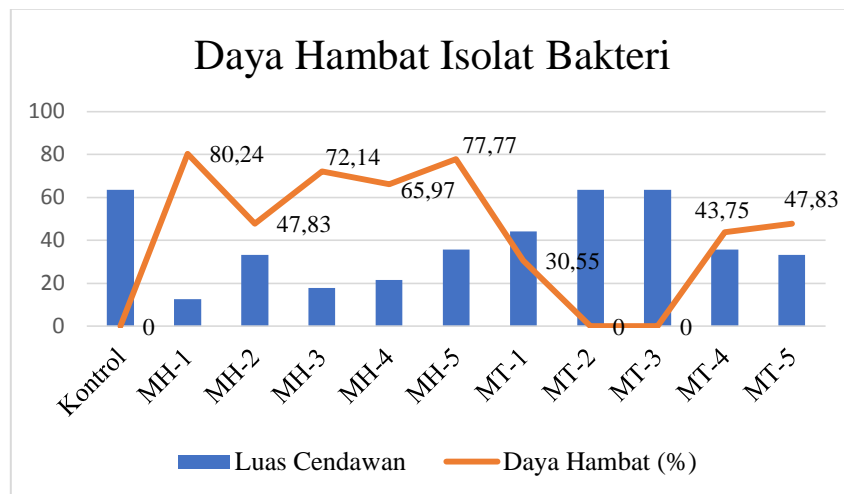
dengan rasio (5:2, 1:1, 3:1). Jika terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan uji lanjut DUNCAN taraf signifikansi 5%.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi Bakteri Endofit

Isolasi bakteri endofit dilakukan terhadap sampel buah tomat varietas permata, dengan tingkat kematangan *mature green* dan *light red*. Masing-masing sampel diencerkan sampai pangkat 10^{-6} lalu ditumbuhkan pada media NA. Dipilih sebanyak lima koloni. Setelah itu dilakukan pemurnian menggunakan metode *streak plate* goresan T kuadran tiga pada media NA untuk memperoleh kultur murni. Bakteri yang telah dimurnikan menggunakan metode *streak plate* goresan T kuadran tiga dipilih sebanyak lima koloni tunggal secara acak pada sampel tomat MH dan MT lalu ditumbuhkan pada media agar miring untuk mendapatkan kultur murni. Untuk sampel tomat *mature green* diberi kode MH, sedangkan untuk tomat *light red* diberi kode MT.

Uji Daya Hambat Isolat Bakteri terhadap Cendawan *Colletotrichum* sp.



Gambar 1 Diagram Daya Hambat Isolat Bakteri terhadap Cendawan *Colletotrichum* sp.

Pengujian dilakukan menggunakan media *Potato Dekstrose Agar* (PDA) menggunakan metode *dual culture*. Isolat bakteri MH-1 memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan cendawan dengan persentase daya hambat 80,24%. Hal ini disebabkan oleh luas zona bening yang dihasilkan isolat bakteri MH-1 sehingga dapat menghambat pertumbuhan cendawan *Colletotrichum* sp. Isolat bakteri MH-1 berasal dari tomat permata dengan tingkat kematangan *mature green*.



Gambar 2 Uji Daya Hambat Isolat Bakteri MH-1 teradap Cendawan *Colletotrichum* sp.

Hasil pengamatan makroskopis, isolat bakteri MH-1 memiliki pertumbuhan dan bentuk koloni yang menyebar, permukaan halus, bentuk tepian luar rata, elevasi flat-datar dan berwarna putih keruh. Hasil pengamatan mikroskopis menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x, koloni bakteri MH-1 merupakan bakteri gram positif (berwarna ungu) dan berbentuk batang. Bakteri gram positif pada pewarnaan Gram berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium yang tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat yaitu aseton alkohol, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah disebabkan kompleks tersebut larut pada saat pemberian larutan pemucat aseton alkohol sehingga mengambil warna merah safranin.

Pembuatan Kitosan Tripolifosfat (KTTP) Metode Gelasi Ionik Ekstraksi Enzim Kitinase

Tahap awal untuk ekstraksi enzim kitinase yaitu memproduksi enzim kitinase dengan menumbuhkan isolat bakteri MH-1 pada media yang mengandung kitin (Pratiwi, dkk 2015). Kandungan kitin yang terdapat dalam tepung cangkang udang akan menginduksi sel bakteri untuk mensekresikan kitinase yang akan digunakan untuk memecah kitin menjadi monomernya (Muamaroh dkk, 2015). Setelah ditumbuhkan pada media kitin cair, kultur di sentrifugasi untuk memisahkan enzim dan partikel non-enzim. Hasil sentrifugasi berupa ekstrak kasar ezim dan pelet. Ekstrak kasar enzim digunakan lalu ditambahkan larutan amonium sulfat 70%. Penambahan amonium sulfat dilakukan untuk mengendapkan protein. Pengendapan protein menggunakan amonium sulfat 70% didasarkan pada penelitian (Suryadi, dkk 2013) bahwa penggunaan amonium sulfat dengan konsentrasi 50%-80% memiliki kemampuan yang baik dalam mengendapkan protein. Setelah pengendapan protein menggunakan amonium sulfat 70%, dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan enzim dari campuran partikel non-enzim. Hasil dari sentrifugasi berupa supernatan dan pelet. Pelet hasil sentrifugasi merupakan ekstrak enzim dari bakteri. Ekstrak enzim kemudian dilarutkan dalam larutan PBS pH 6.8.

Kitosan Bobot Molekul Rendah

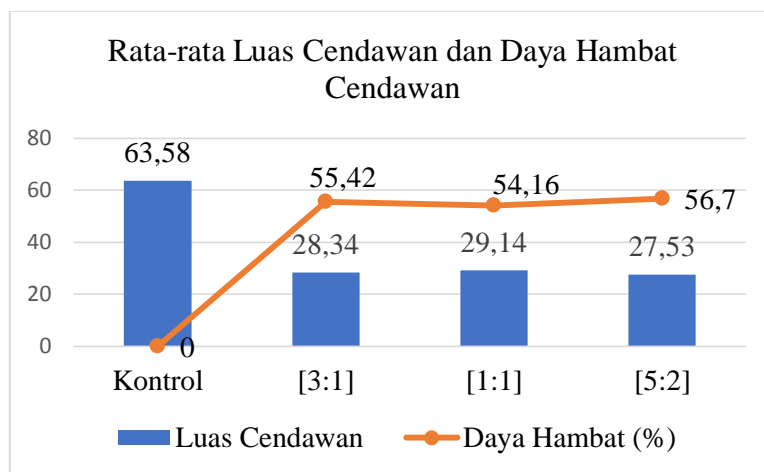
Tahap awal dalam pembuatan kitosan bobot molekul rendah (KBMR) yaitu melarutkan kitosan dalam asam asetat 1%. Kitosan tidak larut dalam air namun larut dalam asam (Heriyanto dkk, 2012). Nisa (2005) menjelaskan bahwa konsentrasi asam asetat 1-2% merupakan pelarut yang baik untuk kitosan. Enzim kitinase hasil ekstraksi dari isolat bakteri MH-1 ditambahkan kedalam kitosan yang telah larut dalam asam asetat 1%. Enzim kitinase merupakan alternatif yang bisa digunakan untuk degradasi kitosan (Goncalves dkk, 2020). Enzim kitinase akan mendegradasi kitosan menjadi kitosan bobot molekul rendah (KBMR). Penurunan berat molekul kitosan setelah

hidrolisis secara enzimatis ini terjadi karena adanya pemutusan ikatan $\beta(1,4)$ -glikosidik pada rantai polimer kitosan sehingga menjadi lebih pendek dan berat molekul kitosan menjadi lebih rendah (Suryadi, 2020). Proses hidrolisis oleh enzim kitinase dilakukan selama 24 jam lalu dipanaskan pada *waterbath* suhu 100°C untuk menonaktifkan enzim. KBMR berupa pelet (Gambar 19) diperoleh setelah kitosan disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit.

Pembuatan Kitosan Tripolifosfat (KTTP) Metode Gelasi Ionik

Kitosan tripolifosfat (KTTP) adalah senyawa turunan dari kitosan yang dihasilkan dari proses taut silang ionik kitosan dengan senyawa tripolifosfat. Gelasi ionik merupakan salah satu metode yang digunakan dalam pembuatan kitosan tripolifosfat (KTTP) dengan hasil akhir berupa nanopartikel atau nano kitosan (Suryadi dkk, 2016). Ukuran nano kitosan memiliki beberapa kelebihan antara lain tidak toksik, daya adsorpsi kitosan meningkat, kemampuan penghantaran meningkat, dan stabilitas molekul lebih konstan sehingga untuk mengatasi patogen cendawan akan lebih efektif (Suryadi dkk, 2017). Pemilihan metode gelasi ionik dalam pembuatan kitosan tripolifosfat (KTTP) karena prosesnya yang sederhana, tidak menggunakan pelarut organik berbahaya, tidak menggunakan pemanasan yang dapat merusak bahan aktif dan prosesnya dapat dikontrol dengan mudah (Mardliyadi dkk, 2012).

Uji Daya Hambat Cendawan Metode Tuang Secara In Vitro



Gambar 3 Hasil Rata-rata Luas Cendawan dan Daya Hambat Cendawan

Pengujian persentase daya hambat pertumbuhan *Colletotrichum* sp. secara *in vitro* dilakukan menggunakan media *Potato Dekstrose Agar* (PDA). Media PDA yang masih hangat ditambah kitosan bobot molekul rendah (KBMR) 0.2 % dan natrium tripolifosfat (NaTPP) 0.1% dengan rasio (3:1, 1:1 dan 5:2) sebanyak 1 mL dengan pengulangan sebanyak 9 kali. Perlakuan kontrol menunjukkan luas cendawan paling tinggi dengan rata-rata yaitu 63.58 cm². Pada hari ke tujuh, luas cendawan perlakuan kontrol telah menyebar penuh. Hal tersebut mengindikasikan pengamatan diberhentikan pada hari ke tujuh. Berdasarkan perhitungan, persentase daya hambat untuk menekan pertumbuhan cendawan *Colletotrichum* sp. tertinggi yaitu pada perlakuan kitosan tripolifosfat (KTTP) rasio 5:2 sebesar 56.7% sedangkan persentase terendah yaitu pada perlakuan kitosan tripolifosfat (KTTP) rasio 1:1 sebesar 54.16%.

Tabel 2. Daya Hambat Cendawan Paling Paling Tinggi

Perlakuan	Daya Hambat
Kontrol	0.0000 ^a
1:1	54.1622 ^b
3:1	55.4267 ^b
5:2	56.7011 ^b

Sumber: Data olahan peneliti, 2024

Setelah dilakukan analisis terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan kontrol dan perlakuan media yang diberi formula. Hal ini berdasarkan pengamatan parameter pertumbuhan cendawan yang berbeda. Berdasarkan hasil analisis uji Duncan, penambahan formula kitosan bobot molekul rendah (KBMR) 0.2 % dan natrium tripolifosfat (NaTPP) 0.1% rasio (3:1, 1:1 dan 5:2) pada media PDA berpengaruh nyata terhadap perlakuan kontrol, namun tidak berpengaruh nyata antar perlakuan yang diberi formula. Hal ini berdasarkan ukuran partikel kitosan yang dihasilkan. Pada penelitian sebelumnya yaitu pada buah cabai menggunakan hidrolisis kitosan secara enzimatik oleh bakteri kitinolitik, pada konsentrasi Kitosan Bobot Molekul Rendah (KBMR) 0.2% : Natrium Tripolifosfat (NaTPP) 0.1% (5:2) menghasilkan daya hambat pertumbuhan cendawan sebesar 65-68% (Suryadi, 2019). Selain itu pada buah cabai, KBMR 0.2 % : Natrium Tripolifosfat (NaTPP) 0.1% (3:1) menghasilkan daya hambat sebesar 91% (Mulyaningtyas, 2016).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut: 1) diperoleh sepuluh isolat bakteri endofit yang berasal dari buah tomat mentah (MH) dan buah tomat matang (MT). Bakteri endofit MH-1, MH-2, MH-3, MH-4, MH-5, MT-1, MT-4 dan MT-5 memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan cendawan. Isolat bakteri MH-1 memiliki daya hambat paling tinggi dengan persentase daya hambat 80,24% sehingga dipilih untuk formulasi Kitosan-Tripolifosfat; 2) Konsentrasi formula kitosan bobot molekul rendah (KBMR) 0.2 % dan natrium tripolifosfat (NaTPP) 0.1% dalam 50 mL rasio (3:1, 1:1 dan 5:2) tidak berbeda nyata terhadap antar perlakuan, namun berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan Terima Kasih peneliti sampaikan kepada Universitas Pakuan dan Laboratorium Pusat Riset Holtikultura dan Perkebunan (BRIN) atas penggunaan sarana prasarana yang telah diberikan, Bapak Ir. Yadi Suryadi, M.Sc dan Ibu atas dukungan, motivasi, bimbingan serta arahan selama proses penelitian yang dilakukan.

Daftar Pustaka

- Aji, O., R., Utami, L., B. 2017. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Endofit Tanaman Tomat Cherry (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) Dalam Kemampuannya Menghasilkan Hormon Indol Asetat (AIA). *Gontor AGOTECH Science Journal*. 3(1): 55-69.
- Goncalves, B., S., Temidayo, B., R., Oyinkansade, B., Y., Busayo, E., I., Temitope, O., M., Folake, A., B. 2018. Biological Control of Anthracnose Disease of Tomato Using Ethanolic Extracts of *Azadirachta Indica* and *Nicotiana Tabacum*. *International Annals of Science*. 4(1): 20-26.

- Heriyanto, S.S. dan H. Sunarjono. 2012. Budidaya tomat, hal 1-26. Dalam S.S. Harjadi (Ed). Dasar-Dasar Hortikultura. Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Mahagiani I, 2008. Isolasi Enzim Kitinase dari Bakteri Perakaran Tanaman Cabai dan Aplikasi Nya pada Kutu Kebul. Skripsi tidak dipublikasikan. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Mardiyadi, I., A., I., Khalimi, K., Suniti, N., W. 2012. Uji Daya Hambat Bakteri *Paenibacillus polymyxa* Terhadap Pertumbuhan Jamur *Colletotrichum* sp. Secara In Vitro. *Jurnal Agoekoteknologi Tropika*. 9(4): 229-237.
- Muamaroh, I., Buzaita, O., Baniulis, D., Stanys, V. 2015. Bacterial Endophytes In Agricultural Crops And Their Role In Stress Tolerance: A Review. *Zemdirbyste-Agriculture*. 102(4): 465-478.
- Mulyaningtyas, D., Purwantisari, S., Kusdiyantini, E., dan Suryadi, Y. 2016. Produksi Kitosan Secara Enzimatik Oleh *Bacillus Firmus* E65 Untuk Pengendalian Penyakit Antraknosa Pada Buah Mangga (*Mangifera Indica* L.). *Jurnal Biologi*.5(4): 8-17
- Nisa, F., Manurung, M., Laksmiwati, M. 2005. Penggunaan Kitosan Dari Limbah Udang Pamekas, F., J. Bachtiar, T. Arsyad, I. Lele, O., K. Indriyani, W. 2002. Karakterisasi Mikroskopis Dan Uji Biokimia Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) Dari Rhizosfer Tanaman Jagung Fase Vegetatif. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Lingkungan*. 1(1):9-16.
- Pradana, Ankardiansyah & Munif, Abdul & Mulyadisastara, Supramana. 2016. Bakteri Endofit Asal Berbagai Akar Tanaman sebagai Agens Pengendali Nematoda Puru Akar *Meloidogyne incognita* pada Tomat. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 12(3). 75-82.
- Pratiwi, U., M., S., Pasaribu, F., H., Bintang, M. 2015. Isolasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dan Potensinya Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Current Biochemistry*. 1(1): 51-57.
- Revilia, A., Yulianty., Lande, M., L., Wahyuningsih, S. 2020. Ketahanan Kultivar Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L.) Terhadap Jamur *Colletotrichum acutatum* J. H. *Simmonds Penyebab Penyakit Antraknosa*. *Jurnal Medika Malahayati*. 4(3): 210-216.
- Suryadi, Y., Susilowati, D., dan Samudra, I., M., Priyatno, P., P. 2019. Pengaruh Aplikasi Kitosan Antifungi Untuk Pengendalian Penyakit Antraknosa Pada Cabai. *Jurnal Pertanian Tropik*. 6(1): 108-118.
- Suryadi, Y., Susilowati, D., dan Samudra, I. M. 2020. Pengaruh Rasio Kitosan-Sodium Tripolifosfat Terhadap Pengendalian Antraknosa (*Colletotrichum gleosporioides*) Pada Mangga Kultivar Manalagi. *Jurnal Penelitian Sains*. 22(3): 133-143.
- Suryadi, Y., Susilowati, D., dan Samudra, I. M., 2019. Aktivitas Antifungi Kitosan Hasil Hidrolisis Enzimatik Terhadap Penyakit Antraknosa. *Sainmatika*. 16(2):88.