



**PENGUJIAN EFEKTIFITAS KITOSAN TERHADAP PENYAKIT LAYU
FUSARIUM (*Fusarium* sp.) PADA TANAMAN TOMAT (*Solanum
lycopersicum* L.)**

SKRIPSI

Oleh

**ISNA ANNISA PRASTIWI
NIM.131510501109**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**



**PENGUJIAN EFEKTIFITAS KITOSAN TERHADAP PENYAKIT LAYU
FUSARIUM (*Fusarium* sp.) PADA TANAMAN TOMAT (*Solanum
lycopersicum* L.)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh

**ISNA ANNISA PRASTIWI
NIM.131510501109**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2017**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas segala karunia dan limpahan rahmat dalam penyelesaian karya ilmiah ini sehingga dapat terselesaikan dengan lancar.
2. Baginda Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umat manusia dari zaman jahiliah ke dalam zaman yang terang benderang akan akhlak dan ilmu.
3. Ayahanda Sugeng Priyono, Ibunda Puji Lestari, Nenek Sumilah, Kakek Prasetyo serta seluruh keluarga besar karena kasih sayang, dukungan dan motivasinya yang selalu diberikan.
4. Almamaterku tercinta Universitas Jember.

Ucapan terimakasih pula saya sampaikan kepada:

1. Bapak Hardian Susilo Addy, M.P., M.P., Ph.D serta Ibu Prof. Dr. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, M.S., Ph.D., yang telah bersedia menjadi Dosen Pembimbing Utama serta Dosen Pembimbing Anggota.
2. Kawan- kawan mahasiswa Agroteknologi 2013

MOTTO

“Fa inna ma’al ‘usri yusra. Inna ma’al ‘usri yusra” yang artinya

Karena sesungguhnya setelah kesulitan ada kemudahan.

Sesungguhnya setelah kesulitan ada kemudahan.

(QS. Al-Insyrah 5-6)

"Many of life's failures are people who did not realize how close they were to succes when they gave up." Artinya adalah banyak dari kegagalan hidup yang

tidak disadari orang-orang bahwa betapa dekatnya mereka dengan kesuksesan

ketika mereka menyerah

(Thomas Alfa Edison)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Isna Annisa Prastiwi

NIM : 131510501109

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Pengujian efektivitas kitosan terhadap penyakit Layu Fusarium (*Fusarium* sp.) pada tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* L.)”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 November 2017
yang menyatakan.

Isna Annisa Prastiwi
NIM. 131510501109

SKRIPSI

**PENGUJIAN EFEKTIFITAS KITOSAN TERHADAP PENYAKIT LAYU
FUSARIUM (*Fusarium* sp.) PADA TANAMAN TOMAT (*Solanum
lycopersicum* L.)**

Oleh :

Isna Annisa Prastiwi
NIM. 131510501109

Pembimbing :

Pembimbing Utama : Hardian Susilo Addy., SP., MP., Ph.D
NIP. 19801109200501101

Pembimbing Anggota : Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS., Ph.D
NIP. 19521217198003001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Pengujian Efektifitas Kitosan terhadap Penyakit Layu Fusarium (*Fusarium sp.*) pada Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum L.*)**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Kamis
Tanggal : 30 November 2017
Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Hardian Susilo Addy, S.P., MP., Ph.D
NIP. 19801109200501101

Prof. Ir. Wiwiek Sri W., Ph.D
NIP. 19521217198003001

Dosen Penguji 1,

Dosen Penguji II,

Dr. Suhartiningsih Dwi. N, S.P., M.Sc.
NIP. 197303252003122002

Dr. Ir. Rachmi Masnilah, M.Si.
NIP. 196301021988022001

Mengesahkan

Dekan,

Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D
NIP. 196005061987021001

RINGKASAN

Pengujian Efektifitas Kitosan Terhadap Penyakit Layu Fusarium (*Fusarium sp.*) pada Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum L.*) Isna Annisa Prastiwi, 13151050110942 halaman 40; Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyakit layu Fusarium pada tomat disebabkan oleh patogen tular tanah yaitu *Fusarium sp.* dengan gejala klorosis pada daun terutama bagian bawah, diikuti dengan kelayuan daun dan pecoklatan pada batang bagian bawah. Kitosan merupakan polisakarida yang berasal dari limbah kulit atau cangkang *Crustaceae* dan diketahui dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen. Berdasarkan hal tersebut, dicoba untuk mengetahui apakah kitosan dapat menghambat perkembangan Fusarium pada tanaman tomat. Secara *in vitro*, kitosan pada konsentrasi 1 mg/ml dan 2 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan jamur masing-masing 19% dan 54% dengan panjang ruas hifa 42% dan 64%. Selain itu kitosan juga menghambat perkecambah konidia dan ini ditunjukkan dengan tidak adanya konidia yang berkecambah. Secara *in vivo*, Fusarium dapat menyebabkan gejala pencoklatan pada batang yang diinokulasi. Pada umur 45 hsi jumlah tanaman yang bergejala pada -K (Kitosan) -F (Fusarium) ada 0/18. Pada perlakuan -K+F tanaman yang bergejala ada 16/18, pada +K 0,5 mg/ml -F yang bergejala ada 0/18 tanaman, +K (0,1 mg/ml) +F yang bergejala ada 7/18 dan +K (0,2 mg/ml) +F yang bergejala ada 5/18 tanaman dengan panjang batang yg kecokelatan yang berbeda panjangnya. Panjang pencoklatan batang yang terpanjang ada diperlakuan -K+F adalah 10 cm dari permukaan akar, sedang yang terpendek ada diperlakuan K(2mg/ml) +F adalah 5 cm dengan gejala cokelat yang samar atau hanya disebelah batang saja. Kandungan total fenol dicerminkan dari adanya gejala pencoklelatan yg terjadi pada batang. Kandungan fenol total sampel batang yang bergejala pada tiap perlakuan -K-F= 6,126 mg/g, -K+F = 6,637 mg/g, +K (0,5 mg/ml) -F = 5,924 mg/g, +K (1 mg/ml) + F = 6,247 mg/g, K (2 mg/ml) +F = 6,224 mg/g. Hal ini menunjukkan bahwa ada sedikit perbedaan kandungan fenol pada perlakuan +K + F dengan -K +F karena gejala pencokelatan yang terjadi hanya samar atau di

sebelah batang saja. Berdasarkan data ini diketahui bahwa tampaknya kitosan dapat menghambat tersebarnya jamur ke arah horizontal dan vertikal batang tanaman tomat.



SUMMARY

The Effectiveness of Chitosan Against Fusarium wilt disease (*Fusarium sp.*) on tomato plants (*Solanum lycopersicum L.*) Isna Annisa Prastiwi, 131510501109; 2017; 40 pages; Study Program of Agrotechnology; Faculty of Agriculture; University of Jember.

Fusarium wilt disease in tomato caused by soil pathogens *Fusarium sp.* with symptoms of chlorosis and wilt on the leaves, and brownish on the lower stem. Chitosan is a polysaccharide derived from crustaceae shells and is known to induce plant resistance to pathogen infection. Based on this, we try to find out whether chitosan can inhibit the development of *Fusarium* in tomato plants. In vitro test, chitosan at concentrations of 1 mg / ml and 2 mg / ml inhibit at the growth of fungi 19% and 54% with mean length of hyphae segment 42% and 64%, respectively. Besides of this, chitosan also inhibited conidia germination and this was indicated by no germination of conidia in all treatments. In vivo test, *Fusarium* caused browning symptoms in the inoculated stem. At 45 hsi, the number of symptomatic plants at -K (Chitosan), -F (*Fusarium*) was 0/18. In the symptomatic -K + F treatment were 18/18, at + 0.5 mg / ml -F were 0/18 plants, + K (0.1 mg / ml) + F were 7 / 18 and + K (0.2 mg / ml) + F were 5/18 plants with different length of brown stem. The longest browning length was at -K + F is 10 cm from soil surface, while the shortest was at K (2 mg / ml) + F is 5 cm with a faint brown symptom occurred in one side of the stem. The total content of phenol was showed in the presence of the browning symptoms on the stem. Total phenol content of the stem samples were -K- F = 6.126 mg / g, -K + F = 6.637 mg / g, + K (0.5 mg / g) -F = 5.924 mg / g, + K (1 mg / ml) + F = 6.247 mg / g, K (2 mg / ml) + F = 6.224 mg / g. There was little difference in the content of phenol in the treatment of + K + F with -K + F because a faint brown symptom or symptoms occurred in one side of the stem. Based on these data it was known that chitosan seems to inhibit the spread of fungi in the direction of horizontal and vertical growth on the stem tomato plant.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengujian Efektivitas Kitosan Terhadap Penyakit Layu *Fusarium* (*Fusarium* sp.) pada Tanaman Tomat (*Solanum lycopersicum* L.)”** dengan baik.

Penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih atas semua dukungan dan bantuan kepada :

1. Hardian Susilo Addy, SP., MP., Ph.D dan Ibu Prof. Dr. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, M.S., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan arahan dan motivasi dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.
2. Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti, SP., MSc. Dan Ir. Rachmi Masnilah, M.Si. selaku Dosen Penguji Utama dan Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu dan arahan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.
3. Sugeng Priyono dan Puji Lestari selaku kedua orang tua yang sudah memberikan motivasi dan doa demi kelancaran penyusunan karya tulis ilmiah ini.
4. Fandy Zulfikar, Erna, Aulia, Ales Cucu, Novrida, Arina, Fajar, Agrosera, Agroteknologi 13, *Phage Team* dan *CDAST team* yang telah membantu penyusunan karya tulis ini.
5. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang turut serta membantu dalam penyelesaian karya tulis ini.

Penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga diharapkan adanya kritik dan saran untuk perbaikan selanjutnya. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, 30 November 2017

Penulis

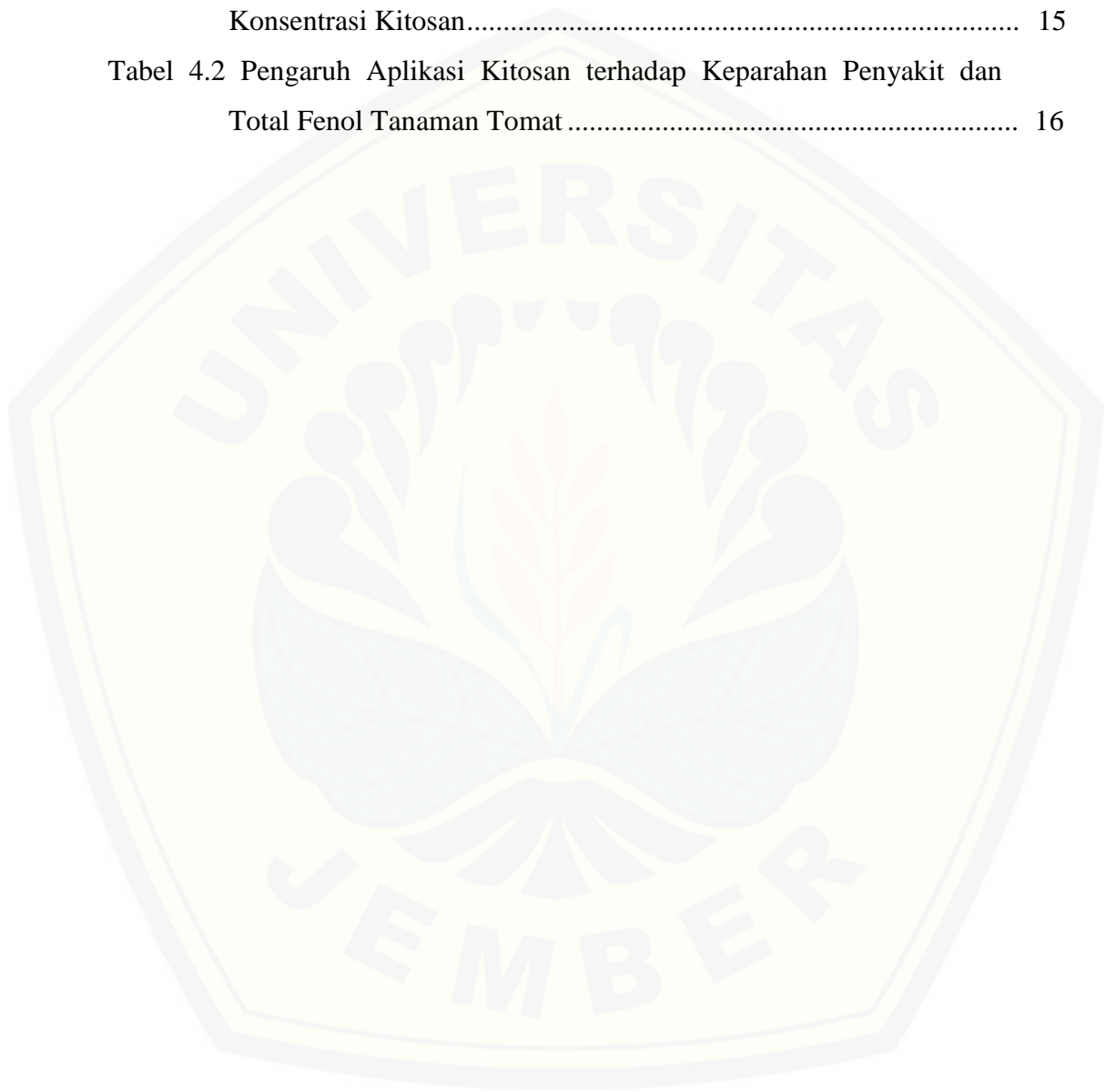
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	2
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Patogen dan Penyakit Layu Fusarium	3
2.2 Pemanfaatan Kitosan pada Pengendalian Tanaman	5
2.2.1 Material Kitosan.....	5
2.2.2 Respon Tanaman Terinduksi terhadap Infeksi Patogen.....	6
2.3 Hipotesis	6
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	7
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	7
3.2 Alat dan Bahan	7
3.2.1 Alat	7
3.2.2 Bahan.....	7
3.3 Persiapan Penelitian.....	7

3.3.1 Isolasi Fusarium sp.....	7
3.3.2 Pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis	7
3.3.3 Uji Virulensi Fusarium sp. ke Tanaman tomat	8
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	8
3.4.1 Rancangan Percobaan	8
3.4.2 Prosedur penelitian	9
3.4.3 Variabel pengamatan	10
3.4.4 Analisis Data	11
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
4.1 Hasil.....	12
4.1.1 Patogen Layu Fusarium sp.....	12
4.1.2 Uji Penghambatan In Vitro	13
4.1.3 Uji In Vivo pada Tanaman Tomat	14
4.2 Pembahasan	16
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	19
5.1 Kesimpulan	19
5.2 Saran	19
DAFTAR PUSTAKA	20
LAMPIRAN	23

DAFTAR TABEL

Judul Tabel	Halaman
Tabel 4.1 Karakter Pertumbuhan Jamur <i>Fusarium</i> sp. terhadap Berbagai Konsentrasi Kitosan.....	15
Tabel 4.2 Pengaruh Aplikasi Kitosan terhadap Keparahan Penyakit dan Total Fenol Tanaman Tomat	16



DAFTAR GAMBAR

Judul Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Sporokodia dan makrokonidia dari sporokodia <i>Fusarium</i> sp	4
Gambar 2.2 Tanaman dan batang tanaman tomat yang bergejala layu fusarium.....	4
Gambar 4.1 Isolasi patogen dari tanaman sakit di lapang.....	12
Gambar 4.2 Tanaman tomat yang tidak diinokulasi <i>Fusarium</i> dan diinokulasi <i>Fusarium</i>	13
Gambar 4.3 Kultur <i>Fusarium</i> pada media PDA yang mengandung kitosan setelah 7 hari diinkubasi.	13
Gambar 4.4 Hifa <i>Fusarium</i> pada media PDA yang mengandung kitosan setelah 7 hari inkubasi pada perbesaran 100x	14
Gambar 4.5 Konidia <i>Fusarium</i> (106 konidia/ ml) yang telah diberi kitosan (konsentrasi) pada pengamatan mikroskopis perbesaran 400x setelah 4 jam inkubasi pada suhu ruang	14
Gambar 4.6 Batang tanaman tomat yang terserang <i>Fusarium</i> setelah 45 HSI....	15

BAB 1.PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tomat merupakan salah satu tanaman hortikultura yang potensial dibudidayakan dan dikembangkan karena memiliki nilai ekonomi tinggi dan berpotensi untuk diekspor. Namun produktivitas tomat di Jawa Timur mengalami penurunan yang cukup signifikan. Produksi tomat pada tahun 2011 mencapai 67.646 ton, pada tahun 2012 mencapai 62.018, pada tahun 2013 mencapai 63.430 ton, pada tahun 2014 mencapai 64.851 dan pada tahun 2015 mencapai 58.874 ton. Pada tahun 2012 dan 2015, produksi tomat mengalami penurunan sebesar 5.628 ton dan 5.977 ton. Penurunan produksi tomat dapat disebabkan berbagai faktor, yaitu faktor biotik dan faktor abiotik (BPS dan DJH, 2015).

Faktor biotik dapat disebabkan oleh serangan hama dan penyakit yang menyerang tanaman. Penyakit yang biasa menyerang tanaman tomat adalah penyakit layu fusarium. Penyakit layu fusarium disebabkan oleh serangan jamur patogen tular tanah yaitu *Fusarium* sp. Menurut Maharta *et al.*, (2013), penyakit ini dapat menyebabkan kerugian dan gagal panen hingga mencapai 50%. Gejala awal yang ditimbulkan adalah tulang daun pucat terutama daun bagian atas, kemudian diikuti merunduknya batang dan akhirnya keseluruhan tanaman menjadi layu. Kelayuan yang terjadi diikuti klorosis daun, terutama daun bagian bawah. Gejala yang terjadi pada tanaman muda yaitu tanaman dapat mati secara mendadak karena bagian pangkal batang tanaman mengalami kerusakan. Jamur *Fusarium* sp. menginfeksi melalui luka yang terjadi pada tanaman kemudian masuk dan berkembang di berkas pembuluh (Sari *et al.*, 2012).

Hingga saat ini telah digunakan banyak teknik untuk mengendalikan penyakit ini, untuk melengkapi pengendalian maka digunakan kitosan sebagai anti jamur yang ramah lingkungan. Kitosan merupakan polisakarida yang berasal dari limbah kulit atau cangkang *Crustaceae*. Kitosan diketahui dapat meningkatkan respon ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen. Kitosan dapat meningkatkan senyawa ketahanan tanaman dan dapat mengikat gugus (OH⁻) pada permukaan

dinding sel jamur dengan asam amino (NH_2^+) yang terkandung pada kitosan (Hamdayanti *et al.*, 2012).

Contoh pengendalian penyakit tanaman dengan menggunakan kitosan adalah pengendalian penyakit antraknosa pada buah pepaya yang disebabkan oleh *Collectotrichum gloesporioide* yang hasilnya efektif menekan serangan patogen dan menghambat kematangan buah (Hamdayanti, 2012). *Bean Common Mosaic Virus* (BCMV) pada tanaman kacang panjang juga efektif menekan tingkat kejadian dan keparahan penyakit (Damayanti *et al.*, 2013).

1.2 Rumusan Masalah

Fusarium sp. merupakan jamur yang dapat menurunkan produktivitas tanaman tomat sehingga merugikan petani. Perlu adanya usaha untuk mengendalikan penyakit tersebut, salah satu usahanya adalah pengendalian dengan menggunakan kitosan. Namun pengujian efek kitosan terhadap serangan jamur *Fusarium* sp. pada tanaman tomat belum banyak diteliti. Sehingga perlu dikaji apakah kitosan dapat mengendalikan *Fusarium* sp.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas kitosan dalam mengendalikan penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh jamur *Fusarium* sp. secara *in vitro* dan *in vivo*

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi tentang pengendalian penyakit layu fusarium dengan menggunakan anti jamur yang ramah lingkungan.

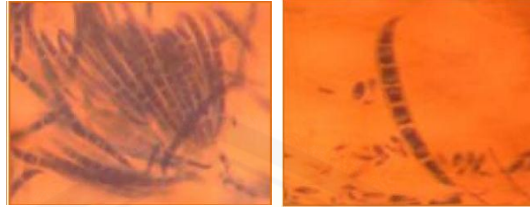
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Patogen dan Penyakit Layu *Fusarium*

Fusarium sp. merupakan jamur yang sangat merugikan bagi tanaman karena menyerang tanaman pada fase perkecambahan sampai fase dewasa. Patogen *Fusarium* sp. dikenal sebagai patogen tular tanah namun jamur ini juga dapat menginfeksi organ lain seperti batang, daun, bunga dan buah. Jamur *Fusarium* sp. membentuk polipeptida yang disebut likomarasmin yaitu toksin yang mengganggu permeabilitas membran plasma tanaman. Selain itu *Fusarium* sp. juga membentuk senyawa yang lebih sederhana, yaitu asam fusarat dan menghasilkan enzim pektolitik, terutama *pektinmetilesterase* (PME) dan *depolimerase* (DP). PME bertugas untuk menghilangkan metil pada rantai pektin menjadi asam pekat, sedangkan DP bertugas memecah rantai asam pekat menjadi poligalakturonida. Enzim-enzim tersebut memecah bahan pektin yang berada di dalam dinding sel xylem. Fragmen asam pekat akan masuk ke dalam pembuluh xylem kemudian membentuk masa kolodial yang mengandung bahan non pektin yang menyumbat pembuluh. Berkas pembuluh akan berwarna coklat karena fenol-fenol yang terlepas masuk ke dalam berkas pembuluh. Enzim fenol tersebut akan mengalami polimerasi menjadi melanin yang berwarna coklat. Pewarna ini akan diserap pembuluh xylem yang ber lignin yang menyebabkan warna coklat yang khas pada penyakit layu *Fusarium* (Mukarlina *et al.*, 2010).

Karakteristik morfologi *Fusarium* dapat diketahui dengan adanya makrokonidia yang dibentuk dari sporodokia. Dengan adanya cahaya akan berpengaruh pada pertambahan panjang dan jumlah septa makrokonidia pada beberapa sepsies *Fusarium*. Karakteristik dapat diamati melalui warna, rata-rata pertumbuhan diameter fungi pada cawan petri, kemudian karakteristik makro dan mikrokonidia, sporodokia dan kladospora (Budi *et al.*, 2010). Miselium yang dihasilkan *Fusarium* mulanya tidak berwarna dan semakin tua warnanya menjadi semakin krem. Makrokonidia mempunyai bentuk khas melengkung seperti bulan sabit, yang terdiri dari 3-5 septa dan mikrokonidia berbentuk bulat telur yang terdiri dari 1-2 septa. Masa inkubasi jamur *Fusarium* sp. adalah 2 sampai 15 hari

setelah inokulasi (Putri *et al.*, 2014). Menurut Tyagi dan Paudel (2014), pH optimum pertumbuhan *Fusarium* sp. adalah 6,5 dan pH minimum adalah 2.



Gambar 0.1 Sporokodia dan makrokonidia dari sporokodia *Fusarium* sp.

Sumber: Budi *et al.*, (2010).

Serangan jamur *Fusarium* sp. menimbulkan gejala permulaan seperti tulang daun yang pucat terutama daun bagian atas, diikuti batang yang merunduk dan akhirnya tanaman mengalami kelayuan secara keseluruhan. Pada daun bagian bawah seringkali mengalami klorosis saat terjadi kelayuan. Pada tanaman yang muda, serangan *Fusarium* sp. akan mengakibatkan tanaman mati secara mendadak karena pada bagian pangkal batang tanaman terjadi kerusakan (Sari *et al.*, 2012). Penularan jamur *Fusarium* sp. terjadi melalui berbagai perantara, diantaranya alat pertanian, binatang, air hujan, air irigasi, tanah dan benih. Biji atau benih tomat dapat terkontaminasi spora jamur *Fusarium* yang melekat pada permukaan benih tomat. Klamidospora terdapat di dalam hilum (pusar) benih, miselium jamur terdapat di dalam lapisan luar benih mikrokonidia yang dihasilkan terbawa dalam pembuluh cairan (Pitojo, 2005).



Gambar 2.2 (A) Tanaman tomat yang bergejala layu *Fusarium* dan (B) batang tomat yang mengalami pencokelatan

Sumber: Anonim, (2010).

2.2 Pemanfaatan Kitosan pada Pengendalian Tanaman

2.2.1 Material Kitosan

Kitin dan kitosan adalah suatu polisakarida yang umum kimia mirip dengan selulosa. Kitosan merupakan bentuk asetil dari kitin, terutama terdiri dari glukosamin, 2 –amino-deoksi-b-D-glukosa. Sumber utama kitosan adalah limbah kulit udang, lobster, dan cangkang kepiting serta dinding sel jamur dan bakteri (Banos *et al.*, 2006). Manfaat kitosan diantaranya adalah sebagai bahan pengawet alami dan bahan kosmetik. Fragmen kitin dan kitosan dikenal memiliki aktifitas yang menginduksi berbagai respon pertahanan didalam tanaman terhadap infeksi mikroba seperti akumulasi fitoaleksin, PR (pathogenesis related) protein (glukonase, proteinase, peroksidase, ribonuclease like protein) dan proteinase inhibitor, sintesa lignin dan pembentukan kalus. Molekul pada kitosan memiliki toksisitas. Manfaat kitosan lainnya adalah untuk menghambat pertumbuhan mikroba (Damayanti *et al.*, 2013).

Muatan yang terdapat pada kitosan mengakibatkan sifat fisiologis dan biologis yang unik dengan manfaat yang besar di berbagai industri seperti bioteknologi. Kitosan memiliki gugus aktif yang akan berikatan dengan mikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Kitosan mengandung gugus amino bebas yang bermuatan positif (NH_2^+) yang dapat mengikat muatan negatif pada permukaan dinding sel (kitin) dari mikroba (OH^-). Mekanisme kerja zat antimikroba secara umum adalah dengan merusak struktur-struktur utama dari sel mikroba seperti dinding sel, sitoplasma, ribosom dan membran sitoplasma. Dengan adanya larutan kitosan yang bersifat asam akan menyebabkan denaturasi protein. Keadaan ini akan menyebabkan inaktivasi enzim, sehingga sistem metabolisme terganggu atau rusak dan menjadi tidak ada aktivitas sel mikroba (Hamdayanti *et al.*, 2012). Menurut Trzeinska *et al.*, (2015), kitosan dapat mempengaruhi pertahanan tanaman dalam dua cara yaitu dengan mengaktifkan gen yang bertanggung jawab untuk inisiasi mekanisme resistensi pada tanaman tetapi juga memiliki anti virus, anti bakteri dan sifat anti jamur. Menurut Banos *et al.*, (2006), kitosan merupakan elisitor respon pertahanan tanaman yang dapat menginduksi senyawa fenolik. Pada tanaman tomat produksi fenolik dan

fitoaleksin yang diinduksi oleh kitosan diproduksi bersamaan dengan enzim hidrolitik yang dihasilkan oleh *Fusarium oxysporum*.

2.2.2 Respon Tanaman Terinduksi terhadap Infeksi Patogen

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah sebagai kunci ketahanan tanaman dalam merespon serangan patogen. ROS dapat mempengaruhi ekspresi gen sehingga dapat mengendalikan banyak proses seperti pertumbuhan siklus sel dan stres terhadap lingkungan (Gill dan Tuteja, 2010). Menurut Jajic *et al.*, (2015), selain itu ROS dapat memberikan perlindungan terhadap invasi patogen dan merangsang toleransi terhadap cekaman abiotik. Saat terjadi serangan patogen, tanaman memiliki sistem pertahanan yang kompleks yaitu dengan cara menghasilkan senyawa kimia untuk mencegah infeksi patogen, salah satunya adalah senyawa fenol. Kandungan senyawa fenolik pada tanaman ada yang telah terkandung dalam tanaman sebelum terjadi infeksi patogen sehingga merupakan pertahanan prainfeksi dan ada juga yang pembentukannya dipicu oleh infeksi patogen (fitoaleksin). Menurut Heidari *et al.*, (2012), secara tidak langsung senyawa ketahanan tanaman tersebut bersifat racun bagi patogen dan dapat menyebabkan respon hipersensitif dan kematian sel inang yang mencegah penyebaran patogen. Menurut Hamdayanti *et al.*, (2012) Kitosan diketahui dapat menginduksi senyawa ketahanan tanaman terhadap infeksi patogen. Sehingga pada saat terjadinya infeksi patogen, tanaman akan menjadi lebih respon dan tingkat serangan patogen yang terjadi dapat ditekan dengan meningkatnya kandungan senyawa fenol tersebut.

2.3 Hipotesis

Kitosan yang diaplikasikan efektif dalam mengendalikan penyakit layu *Fusarium* sp. pada tanaman tomat.

BAB 3. BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit dan *Green House* Fakultas Pertanian dan Laboratorium CDAST Universitas Jember pada bulan Januari 2017 sampai dengan selesai.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: gelas ukur, pisau steril, pinset, cawan petri, erlenmeyer, spektrofometer, pipet, mikroskop, pH meter, kamera, alat tulis dan alat lain yang mendukung penelitian.

3.2.2 Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: kitosan dengan merk Aldrich Sigma, tomat varietas Mawar, PDA (*Potato Dextrose Agar*), HCl 0,25 N, NaOH, buffer fosfat, Follin Ciocalteau 50%, H₂O, Na₂CO₃ 75% dan bahan lain yang mendukung penelitian.

3.3 Persiapan Penelitian

3.3.1 Isolasi *Fusarium* sp.

Sampel diambil dari pertanaman tomat di lapang yang menunjukkan gejala pada batang yang mengalami pencokelatan dan daunnya layu. Batang dipotong-potong dengan ukuran ± 1 cm, kemudian di sterilisasi permukaan dengan alkhohol 70% dan dibilas sebanyak 3 kali dengan air steril dan di tanam pada media PDA, diinkubasi pada suhu kamar.

3.3.2 Pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis

Setelah jamur tumbuh, diamati perkembangan koloni dengan mengukur diameter koloni, warna koloni dan bentuk koloni. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk dan ukuran makrokonidia dan mikrokonidia.

3.3.3 Uji Virulensi *Fusarium* sp. ke Tanaman tomat

Uji virulensi dilakukan dengan menyiramkan suspensi spora *Fusarium* sp. pada kerapatan 10^6 konidia /ml sebanyak 20 ml pada bagian perakaran tanaman tomat yang telah dilukai bagian akarnya. Pelukaan dilakukan dengan menusuk tiga sisi media tanam dengan pisau sampai akar terpotong.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Rancangan Percobaan

Penelitian dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan yaitu, -K- F, -K+ F, +K0,5, + K 1, dan + K 2. Setiap perlakuan diulang sebanyak 6 kali dengan jumlah petak 30 unit dan 1 ulangan terdapat 3 tanaman.

-K+ F (2)	+K 0,5 (2)	+ K 2 (1)	+ K 2 (4)	+ K 2 (2)	+ K 2 (3)
-K- F (1)	-K+ F (3)	-K+ F (4)	-K+ F (5)	-K+ F (1)	+K 0,5 (1)
+K 0,5 (3)	-K- F (2)	+K 1 (5)	+K 1 (2)	-K- F (6)	-K+ F (6)
+ K 2 (5)	+ K 2 (6)	+K 0,5 (4)	+K 0,5 (5)	+K 1 (3)	-K- F (4)
+K 1 (6)	+K 1 (4)	-K- F (3)	-K- F (5)	+K 0,5 (6)	+K 1 (1)

Keterangan:

-K- F = Tanaman yang tidak diaplikasikan kitosan dan *Fusarium*

-K+ F = Tanaman yang tidak diaplikasikan kitosan tetapi diinokulasi *Fusarium*

+K0,5 =Tanaman yang diaplikasikan kitosan sebanyak 0,5 mg/ml tanpa diinokulasi *Fusarium*

+ K 1 =Tanaman yang diaplikasikan kitosan sebanyak 1 mg/ml dan diinokulasi *Fusarium*

+ K 2 =Tanaman yang diaplikasikan kitosan sebanyak 2 mg/ml dan diinokulasikan *Fusarium*

3.4.2 Prosedur penelitian

1. Uji In Vitro

1.1 Uji Penghambatan Kitosan terhadap Pertumbuhan *Fusarium*

Larutan kitosan induk pada konsentrasi 10 mg/ml dibuat dengan menimbang 0,5 g kitosan kemudian dicampur dengan 50 ml HCl 0,25 N, kemudian ditambahkan NaOH untuk menaikkan pH menjadi 5,5-5,6 dan diautoklaf (Guerero *et al.*, 2007). Larutan induk ini kemudian diencerkan lagi sesuai dengan perlakuan. Menurut Padma dan Deepika (2013), pengujian secara in vitro ini dilakukan dengan *poisonous technique*. Media PDA yang masih hangat ditambah kitosan pada konsentrasi 1 dan 2 mg/ml dari larutan induk dan dikocok pelan supaya tercampur merata, dengan 3 ulangan. Setelah tercampur baru dituang ke dalam cawan petri. Setelah memadat, media diinokulasi dengan menempatkan ± 3 mm miselium ditengah cawan petri dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari kemudian diamati pertumbuhan miselium *Fusarium* sp.

1.2 Uji Perkecambahan Konidia

Dua cawan petri masing-masing diisi dengan 1 gelas preparat yang diberi dua potongan media PDA, kemudian ditetesi 10 μ l suspensi *Fusarium* dengan kerapatan spora 10^6 konidia/ ml yang telah dicampur dengan kitosan pada konsentrasi 1 dan 2 mg/ml. Cawan ditutup dan diinkubasi selama 4 jam (Amadi *et al.*, 2013).

2. Uji In Vivo

Kultivar benih yang digunakan adalah Mawar. Benih direndam dalam air hangat ($\pm 50^\circ$ C) selama 20 menit kemudian disemai. Bibit berumur 20 hari dipindahkan ke media tanam dalam *polybag*. Masing-masing 20 ml kitosan pada konsentrasi 1 mg/ml dan 2 mg/ml /polibag pada disiramkan di sekitar perakaran bibit pada saat tanaman berumur 7 hari setelah tanam (hst, Algan *et al.*, 2015). Inokulasi spora *Fusarium* sp. pada kerapatan 10^6 konidia/ ml, dilakukan pada 7 hari setelah aplikasi kitosan dengan menyiramkan pada bagian perakaran tanaman tomat yang telah dilukai sebanyak 20 ml.

3. Penentuan Kandungan Fenol Total secara Kuantitatif

Penetapan kandungan total fenol dilakukan mengikuti metode Folin-Ciocalteu yang absorbansinya diukur pada panjang gelombang 765 nm. Standar asam galat dibuat pada konsentrasi yang bervariasi 5-125 ppm dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Pembuatan Sampel dilakukan dengan menimbang 1 g batang yang mengalami pencokelatan, dilumatkan dan ditambah 0,5 ml buffer fosfat, 2,5 ml H₂O dan 2,5 ml reagent Folin-Ciocalteu 50%. Semua bahan dicampur dan didiamkan selama 5 menit, ditambah 2 ml Na₂CO₃ 75% dan divorteks lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 45 °C. Absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 765 nm (Pourmorad, 2006).

3.4.3 Variabel pengamatan

1. Persentase Penghambatan

Miselium *Fusarium* sp. yang telah diinkubasi kemudian dihitung persentase daya hambat dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Menurut Padma dan Deepika, 2013):

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{diameter kontrol} - \text{diameter perlakuan}}{\text{diameter kontrol}} \times 100\%$$

2. Presentase Perkecambahan Konidia

Perkecambahan konidia *Fusarium* sp. dilakukan setelah 4 jam inkubasi dan dihitung dengan rumus (Amadi *et al.*, 2013):

$$\% \text{ Perkecambahan} = \frac{\text{jumlah spora berkecambah}}{\text{total jumlah spora}} \times 100\%$$

3. Kejadian Penyakit Layu (*Fusarium* sp.)

Menurut Putri dkk., (2014), kejadian penyakit yang dihitung berdasarkan persentase tanaman layu setelah inokulasi jamur *Fusarium* sp. pada tanaman tomat dengan rumus:

$$P = \frac{a}{N} \times 100\%$$

P = persentase kejadian penyakit, a = jumlah tanaman yang terserang, N= total tanaman yang diamati

4. Kearifan Penyakit Layu (*Fusarium* sp.)

Tingkat keparahan penyakit dapat diukur berdasarkan kerusakan pembuluh batang yang dialami tanaman tomat pada akhir penelitian. Pengamatan dilakukan dengan mengamati gejala pencokelatan yang terjadi pada bagian pembuluh kemudian menghitung dengan rumus (Khaeruni *et al.*, 2013):

$$KP = \frac{\sum(n_1 \times v_1)}{N \times V} \times 100\%$$

KP = keparahan penyakit , n_1 = jumlah pembuluh yang terserang pada setiap kategori serangan, v_1 = nilai numerik masing-masing kategori serangan, V = nilai numerik kategori serangan tertinggi, N = jumlah pembuluh yang diamati. Kategori penilaian dilakukan dengan menggunakan skoring pada batang tanaman tomat yaitu, 0= tidak ada pencokelatan pada batang tanaman tomat, 1= $\leq 1/4$ pencokelatan pada batang tanaman tomat, 2 = $\geq 1/4 - 1/3$ pencokelatan pada batang tanaman tomat, 3 = pencokelatan pada sebelah batang atau seluruh batang $\geq 1/3 - 1/2$ batang tanaman tomat, 4 = pencokelatan pada sebelah batang atau seluruh batang $\geq 1/2 - 2/3$ batang tanaman tomat, 5 =pencokelatan pada sebelah batang atau seluruh batang $\geq 2/3$ sampai seluruh batang tanaman tomat.

3.4.4 Analisis data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan Analisis Ragam (ANOVA) dan apabila data berbeda nyata (F hitung lebih besar dari F tabel), diuji lanjut dengan Duncan Multiple Range Test (DMRT) dengan taraf kepercayaan sebesar 5 persen.

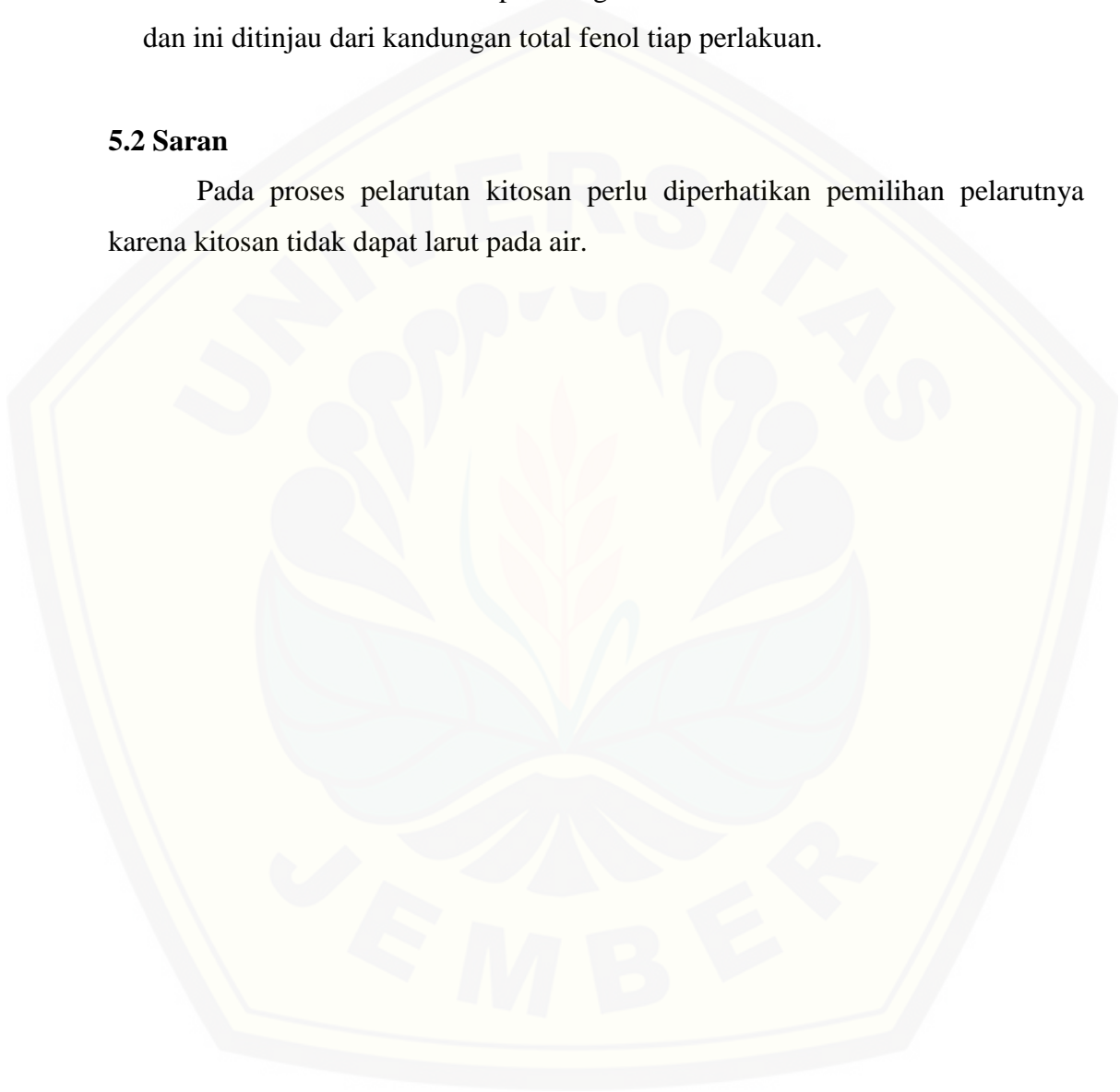
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Secara *in vitro* kitosan dapat menghambat perkembangan dan perkecambahan konidia *Fusarium*
2. Secara *in vivo* kitosan tidak dapat menginduksi ketahanan tomat varietas mawar dan ini ditinjau dari kandungan total fenol tiap perlakuan.

5.2 Saran

Pada proses pelarutan kitosan perlu diperhatikan pemilihan pelarutnya karena kitosan tidak dapat larut pada air.



DAFTAR PUSTAKA

- Algan. S. A. E., dan Elwagia. M E. A. 2015. Evaluation of chitosan efficacy on tomato growth and control of early blight disease. *Jordan J. Agr. Scie* 11(1): 27-37.
- Anonim.2010.http://lifetoscienciadventure.blogspot.co.id/2010_12_01_archive.html. [Diakses tanggal 18 Oktober 2016].
- Amadi, J.E., Adeleke. E. E. Olan, G., dan Adebola M.O. 2014. Effect of plant extracts on sporulation and spore germination of stored melon seed fungi. *International J. Res. Grannthaalayah* 1(1): 21-29.
- Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jenderal Hortikultura. 2015. *Produksi Tomat Menurut Provinsi 2011-2015*. Januari. Jakarta. BPS Jawa Timur.
- Banos, S. B. B., A.N. H. Lazuardo. M.G.V. Valle. M. H. Lopez. E. A. Barka. E. B. Molina., dan C.L Wilson. 2006. Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection* 25: 108-118
- Bastas, K. K. 2014. Importance of reactive oxygen species in plants dan pathogens interactions. *Selcuk J. Agr. and Food Scie.* 28 (1): 11-21.
- Battacharya, A. 2013. Fungicidal potential of chitosan against phytopathogenic. *J. Experimental Biology and Agr. Scie.* 1(4): 260-265.
- Budi, S. W. R., E. Santoso., dan A. Wahyudi. 2010. Identifikasi jenis-jenis fungi yang potensial terhadap pembentukan gaharu dari batang *Aquilaria* spp. *Silvkultur Tropika* 1(1): 1-5.
- Damayanti, T A., Haryanto., dan S Wiyono. 2013. Pemanfaatan kitosan untuk pengendalian *Bean Common Mosaic Virus* (BCMV) pada kacang panjang. *HPT Tropika IPB* 13(2): 110-116.
- Guerrero, J. P., H. B. Jansson. J. Salinas., dan L. V. L. Llorca. 2007. Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *J. of Applied Microbiology* 104 (2008): 541-553.
- Gill, S. S., dan N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.
- Goy. R. C., D. D. Britto. dan., O. B. G. Assis. 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros Science a Tecnologia* 19 (3) : 241-247.

- Guilli, M. E., A. Hamza. C. Clement. M. Ibriz., dan E. A. Barka. 2016. Effectiveness of postharvest treatment with chitosan to control citrus mold. *Agr.* 6(12): 1-15.
- Hamdayanti. R. Yunita. N. S. Amin., dan T.A. Damayanti. 2012. Pemanfaatan kitosan untuk mengendalikan antraknosa pada pepaya (*Colletotrichum gleosporioides*) dan meningkatkan daya simpan buah. *Fitopatologi* 8(4): 97-102.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Penerbit ITB. Bandung.
- Hidayati N dan R Dermawan. 2012. *Tomat Unggul*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Heidari, B., M. Perssarakli. A. Dadhkhodaie., dan N. Daneshnia. 2012. Reactive oxygen species-mediated funtions in plants under enviromental stresses. *J. Agr. Scie. and Technologi* 159-168.
- Jajic, I., T. Sarna., K. Strzalka. 2015. Senescence, stress dan reactive oxygen species. *Plants* 4: 393-411.
- Khaeruni, A., Wahab, A Taufik, M., dan Sutariati, G. A. K. 2013. Keefektifan waktu aplikasi formulasi rizobakteri indigenus untuk mengendalikan layu fusarium dan meningkatkan hasil tanaman tomat di tanah ultisol. *Hort.* 23(4): 365-371.
- Maharta, K. A., K. Khalimi., dan G. N. A. S. Wirya. 2013. Uji efektifitas rhizobakteri sebagai agen antagonis terhadap *Fusarium oxysoprum* f.sp *capsici* penyebab penyakit layu fusarium pada tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.). *Agrotekno. Tropika* 2(3): 145-155.
- Mukarlina., S. Khotimah., dan R. Rianti. 2010. Uji antagonis *Trichoderma harzianum* terhadap *Fusarium* spp. penyebab penyakit layu pada tanaman cabai (*Capsicum annum*) secara *in vitro*. *Fitomedika* 7(2): 80-85.
- Padma, S., dan S. Deepika. 2013. Phytochemical screening and in-vitro antifungal infestigation of paethenium hysterothorus extracts *Altenaria alternata*. *International Res. J. Pharmacy* 4(7): 190-194.
- Pitojo, S. 2005. *Benih Tomat*. Yogyakarta. Kanisius.
- Putri, O S D., I R Sastrahidayat., dan S Djauhari. 2014. Pengaruh metode inokulasi jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc.) terhadap kejadian penyakit layu fusarium pada tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* mill.). *HPT Universitas Brawijaya* 2(3): 74-82.
- Pourmorad F, SJ Hossenimehr dan N Shahabimajd. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African J. Biotech* 5(11):1142-1145.

- Rommahdi, M., A. Soegianto., dan N. Basuki. 2015. Keragaman fenotip generasi f2 empat cabai hibrida pada organik (*Capsicum annum* L.). *Produksi Tanaman* 3(4): 259-268.
- Sari, N. M., R. Kawuri, R., dan K, Khalimi. 2012. *Streptomyces* sp. sebagai biofungisida patogen *Fusarium oxysporum* (schlecht.) f.sp. *lycopersici* (Sacc.) snyd. et hans. penyebab penyakit layu tanaman tomat (*Solanum lycopersicum* l.). *Agrotrop* 2(2): 161-169.
- Soesanto, L., E. Mugastutu, R. F. Rahayuniati., dan A. Manan. 2011. Uji Lapangan Formula Cair *Pseudomonas fluorescens* P60 Terhadap Layu Fusarium Pada Tanaman Tomat. *Perlindungan Tanaman Indonesia* 17(2): 82-90.
- Suryanti, L D., Y. Ramona., dan M W Proborini. 2013. Isolasi dan identifikasi jamur penyebab penyakit layu dan anatgonisnua pada tanaman kentang yang dibudidayakan di bedugul, Bali. *J. Biologi* 21(2): 37-41.
- Trzeinska, M. A., A. Bogusiewicz. M. Szkop., dan S. Drozdowski. 2015. Effect of citosan on disease control and grwoth of scots pine (*Pinus sylvestris* l.) in a forest nursery. *Forest* 6: 3165-3176.
- Tyagi, S., dan R. Paudel. 2013. Effect of different ph on the growth and sporulation of *Fusarium oxysporum* the causal organism of wilt disease of tomato. *International J. Basic and Applied Biology* 2(1): 103-106.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Perhitungan Diameter Miselium *Fusarium* sp.

Ulangan	Perlakuan		
	Kontrol	1 mg/ml	2 mg/ml %
1	4,3	3,6	1,8
2	4,4	3,2	2,1
3	4,4	3,6	2,1
4	4,3	3,5	2,2
5	4,3	3,6	2,2
6	4,6	3,7	2
7	4,5	3,7	2
8	4,7	3,7	1,9
Jumlah	35,50	28,60	16,30
Rata-Rata	4,44	3,58	2,04

Lampiran 2. Hasil Perhitungan Panjang Ruas antar Hifa

Ulangan	Perlakuan		
	Kontrol	1 mg/ml	2 mg/ml
1	73,01	102,42	36,06
2	103,39	82,10	70,58
3	167,69	91,08	77,20
4	187,48	99,02	33,05
5	233,21	81,39	77,08
6	176,29	91,27	30,91
7	164,58	94,01	69,32
8	140,43	82,00	50,07
Jumlah	1246,07	723,29	444,26
Rata-Rata	155,76	90,41	55,53

Lampiran 3. Hasil Perhitungan Persentase Kejadian Penyakit

Ulangan	Perlakuan				
	Sehat	Sakit	K 5 mg/ml	K1 mg/ml	K2 mg/ml
1	0,00	100,00	0,00	66,67	0,00
2	0,00	66,67	0,00	0,00	33,33
3	0,00	100,00	0,00	100,00	33,33
4	0,00	66,67	0,00	0,00	33,33
5	0,00	100,00	0,00	33,33	0,00
6	0,00	100,00	0,00	33,33	66,67
jumlah	0	533	0	233	167
rata-rata	0,00	88,89	0,00	38,89	27,78

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Persentase Keparahan Penyakit

Ulangan	Perlakuan				
	Sehat	Sakit	K 5 mg/ml	K1 mg/ml	K2 mg/ml
1	0,00	26,66	0,00	20,00	0,00
2	0,00	20,00	0,00	0,00	6,67
3	0,00	26,66	0,00	20,00	6,67
4	0,00	33,00	0,00	0,00	6,67
5	0,00	20,00	0,00	6,67	0,00
6	0,00	26,66	0,00	6,67	6,67
jumlah	0	153	0	53	27
rata-rata	0,00	25,50	0,00	8,89	4,45