



The Ability of Nano Chitosan and *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn to Suppress the Growth of *Alternaria porri* (Ellis) Ciferri

Muhammad Restu Al Farisy^{1*}, Rika Meliansyah², Agus Susanto², & Hersanti²

¹Agronomy Program Study, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran

²Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, West Java, Indonesia, 45363

*Corresponding Author: muhammad20146@mail.unpad.ac.id

Received October 01, 2024; revised December 02, 2024; accepted December 03, 2024

ABSTRACT

Purple blotch disease, caused by the fungus *Alternaria porri* (Ellis) Ciferri, poses a significant threat to shallot crops. Environmentally friendly control methods, such as applying nano-sized chitosan and *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn, offer promising alternatives. This study aims to determine the effective concentrations of nano chitosan and *B. subtilis*, individually and in combination, to suppress the growth of *A. porri in-vitro*. The research was conducted from March to June 2024 at the Phytopathology Laboratory and Plant Protection Biotechnology Laboratory, Department of Pests and Plant Diseases, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran. A completely randomized design was employed, consisting of nine treatments with three replications each: a control treatment, *B. subtilis* 10⁷ CFU/ml, 50 ppm nano chitosan, 100 ppm nano chitosan, 200 ppm nano chitosan, *B. subtilis* 10⁷ CFU/ml + 50 ppm nano chitosan, *B. subtilis* 10⁷ CFU/ml + 100 ppm nano chitosan, *B. subtilis* 10⁷ CFU/ml + 200 ppm nano chitosan, and 80% mancozeb. The results indicated that nano chitosan at a concentration of 100 ppm was the most effective single treatment which could suppress the growth of *A. porri* colonies by 94% and inhibit conidia germination by 95%. Meanwhile, *B. subtilis* 10⁷ CFU/ml + 100 ppm nano chitosan is the most effective mixed treatment which could suppress the growth of *A. porri* colonies by 84% and inhibit conidia germination by 90%.

Keywords: biocontrol agent, conidia, colonies inhibition, natural pesticides

Uji Kemampuan Kitosan Nano dan *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn untuk Menekan Pertumbuhan *Alternaria porri* (Ellis) Ciferri

ABSTRAK

Penyakit bercak ungu yang disebabkan oleh jamur *Alternaria porri* (Ellis) Ciferri merupakan salah satu penyakit penting pada bawang merah. Pemanfaatan bahan alami seperti kitosan dan agen hayati *Bacillus subtilis* dapat digunakan untuk menekan pertumbuhan *A. porri*. Kemampuan kitosan dapat ditingkatkan dengan menggunakan kitosan berukuran nano. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh konsentrasi kitosan nano dan *B. subtilis* secara tunggal dan kombinasinya dalam menekan pertumbuhan *A. porri* secara *in-vitro*. Percobaan dilaksanakan di Laboratorium Fitopatologi dan Laboratorium Bioteknologi Proteksi Tanaman, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran pada bulan Maret – Juni 2024. Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap yang terdiri atas sembilan perlakuan dan tiga ulangan, yaitu *B. subtilis* 10⁷ CFU/mL, *B. subtilis* 10⁷ CFU/mL + kitosan nano 50 ppm, *B. subtilis* 10⁷ CFU/mL + kitosan nano 100 ppm, *B. subtilis* 10⁷ CFU/mL + kitosan nano 200 ppm, kitosan nano 50 ppm, kitosan nano 100 ppm, kitosan nano 200 ppm, mankozeb 80%, dan kontrol. Hasil penelitian diperoleh kitosan nano konsentrasi 100 ppm merupakan perlakuan tunggal paling efektif yang dapat menekan pertumbuhan koloni *A. porri* sebesar 94% dan menghambat perkecambahan konidia sebesar 95%. *B. subtilis* 10⁷ CFU/mL + kitosan nano 100 ppm merupakan perlakuan kombinasi paling efektif yang dapat menekan pertumbuhan koloni *A. porri* sebesar 84% dan menghambat perkecambahan konidia sebesar 90%.

Kata Kunci: agen biokontrol, konidia, penghambatan koloni, pestisida alami

PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) merupakan komoditas hortikultura bernilai ekonomi tinggi dan memiliki potensi pasar dengan prospek yang menjanjikan (Syawal, 2019). Merujuk Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian (2021) pada tahun 2019,

diketahui konsumsi bawang merah sebesar 2,802 kg/kapita/tahun dan pada tahun 2020 sebesar 2,699 kg/kapita/tahun dengan tingkat konsumsi terbesar, yaitu Provinsi Sumatra Barat (4,076 kg/kap/tahun), Provinsi Bali (3,861 kg/kap/tahun), dan Provinsi Jambi (3,728 kg/kap/tahun). Tingginya permintaan dan

tingkat konsumsi masyarakat Indonesia terhadap bawang merah tersebut membuat upaya peningkatan produksi harus terus dilakukan, tetapi terdapat kendala salah satunya diakibatkan infeksi *Alternaria porri* penyebab penyakit bercak ungu (Rachmatunnisa *et al.*, 2017; Triwidodo & Tanjung, 2020; Ratnawati *et al.*, 2022; Risdiyanti *et al.*, 2023).

Selain menginfeksi bawang merah, *A. porri* mampu menginfeksi anggota genus *Allium* lainnya meliputi bawang bombai (*Allium cepa* var. *cepa* L.), bawang putih (*Allium cepa* L.), bawang daun (*Allium fistulosum* L.), dan bawang perai (*Allium ampeloprasium* var. *porrum* L.) dengan kerusakan terberat salah satunya terjadi pada bawang putih dengan potensi kehilangan hasil mencapai 50 – 57% (Moekasan *et al.*, 2012; Muliani *et al.*, 2023).

Pengendalian patogen tanaman sering mengandalkan penggunaan fungisida sintetik. Tetapi, penggunaan yang berlebihan dapat menimbulkan resistensi patogen, permasalahan kesehatan, dan kerusakan lingkungan (Sari *et al.*, 2016). Dewasa ini, kitosan telah menjadi alternatif untuk pengendalian patogen tanaman. Kitosan adalah turunan senyawa kitin yang merupakan komponen eksoskeleton krustasea seperti kepiting dan udang, mempunyai sifat antijamur, dan nontoksik (Agustina *et al.*, 2015; Malerba & Cerana, 2020; Suwignyo *et al.*, 2021). Penggunaan kitosan dalam bidang perlindungan tanaman sudah mengalami perkembangan, salah satunya dengan menerapkan teknologi nano. Menurut Suwignyo *et al.* (2021) bahwa kitosan nano memiliki

aktivitas antijamur dan tingkat kelarutan yang lebih tinggi dibandingkan kitosan berukuran tidak nano.

Bakteri *B. subtilis* juga dapat digunakan sebagai alternatif fungisida sintetik dalam mengendalikan *A. porri*. Hal ini dikarenakan genus *Bacillus* merupakan salah satu jenis bakteri endofit yang berpotensi merangsang pertumbuhan dan ketahanan tanaman serta menghasilkan senyawa antijamur yang berspektrum luas sehingga dapat digunakan dalam kegiatan perlindungan tanaman (Dalal & Kulkarni, 2014; Li *et al.*, 2014; Ahmad *et al.*, 2019).

Berdasarkan sifatnya, kitosan nano dan *B. subtilis* dapat digunakan sebagai pengganti fungisida sintetik dan pengendali patogen tanaman yang ramah lingkungan. Paper ini membahas penelitian yang menguji kemampuan kitosan nano secara tunggal dan kombinasinya dengan *B. subtilis* dalam menekan pertumbuhan *A. porri* serta untuk mendapatkan konsentrasi kitosan nano secara tunggal dan kombinasinya dengan *B. subtilis* yang baik dalam menekan pertumbuhan *A. porri*.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitopatologi dan Bioteknologi Proteksi Tanaman, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran dari bulan Maret hingga Juni 2024. Percobaan dilakukan secara *in-vitro* menggunakan rancangan acak lengkap terdiri atas sembilan perlakuan dan tiga ulangan (Tabel 1).

Tabel 1. Perlakuan uji kemampuan kitosan nano secara tunggal dan kombinasinya dengan *B. subtilis* dalam menekan pertumbuhan koloni dan perkecambahan konidia *A. porri*

Kode	Perlakuan
A	Kontrol
B	<i>B. subtilis</i> 10 ⁷ CFU/ml
C	Kitosan nano 50 ppm
D	Kitosan nano 100 ppm
E	Kitosan nano 200 ppm
F	<i>B. subtilis</i> 10 ⁷ CFU/ml + kitosan nano 50 ppm
G	<i>B. subtilis</i> 10 ⁷ CFU/ml + kitosan nano 100 ppm
H	<i>B. subtilis</i> 10 ⁷ CFU/ml + kitosan nano 200 ppm
I	Fungisida mankozeb 80%

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu petridish, *Laminar Air Flow* (LAF), bunsen, *handcounter*, *cork borer*, autoklaf, *plastic wrap*, gunting, aluminium foil, penggaris, pemantik api, botol scotch, kamera, mikroskop stereo, mikroskop compound, *shaker incubator*, *vortex mixer*, oven, batang L, gelas ukur, gelas arloji, labu erlenmeyer, tabung reaksi, timbangan, mikropipet, *cover glass*, jarum ose, dan kaca preparat.

Adapun bahan-bahan yang digunakan, yaitu isolat *Alternaria porri*, isolat *Bacillus subtilis*, daun bawang bergejala penyakit bercak ungu, media *Potato*

Dextrose Agar (PDA), *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), aquadest steril, alkohol 70%, fungisida berbahan aktif mankozeb 80%, dan suspensi kitosan nano dengan masing-masing konsentrasi yang diperoleh dari FiNder U-CoE (Functional Nano Powder University Center of Excellence).

Penyiapan Isolat *A. porri*

Isolat *A. porri* yang digunakan berasal dari Badan Standardisasi Instrumen Pertanian (BSIP) Tanaman Sayuran yang diisolasi dari permukaan daun tanaman bawang merah. Untuk pengujian kemampuan penekanan pertumbuhan koloni jamur, *A. porri* ditumbuhkan pada media *Potato Dextrose Agar*

(PDA). Penyiapan isolat dilakukan dengan menempatkan sebanyak satu potong biakan *A. porri* dengan *cork borer* berukuran ± 5 mm pada bagian tengah media PDA kemudian disimpan hingga seluruh permukaan media terkolonisasi jamur.

Adapun untuk pengujian penekanan perkecambahan konidia, *A. porri* yang digunakan diperoleh dari daun bawang bergejala penyakit bercak ungu yang berasal dari Desa Panundaan, Kecamatan Ciwidey, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Daun bawang yang bergejala kemudian dipotong menjadi lima dengan ukuran sekitar 1 cm dan digojlok menggunakan *vortex mixer* hingga konidia terlepas.

Penyiapan Kitosan Nano

Kitosan nano diperoleh dari FiNder U-CoE (Functional Nano Powder University Center of Excellence) yang diproduksi dengan metode gelasi ionik menggunakan pelarut asam asetat 1%. Penggunaan metode gelasi ionik dalam pembuatan kitosan nano dipilih karena prosesnya sederhana dan mudah dikontrol serta telah banyak diterapkan dalam sintesis partikel nano untuk mengendalikan penyakit tanaman dan meningkatkan pertumbuhan tanaman (Qonintannisa dkk., 2020; Hoang *et al.*, 2022).

Penyiapan Isolat *B. Subtilis*

Isolat *B. subtilis* yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Tanah, Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran yang diisolasi dari rizosfer tanaman selada, diperbanyak kembali pada media *Nutrient Agar* (NA) dalam petridish dengan cara menggores media secara zig-zag menggunakan ose berisi *B. subtilis*. Setelah disimpan selama 48 jam pada suhu kamar, bakteri dapat dipanen dengan menggosok biakan secara perlahan dengan ose lalu dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang telah berisi 100 ml *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasikan dengan *shaker incubator* selama 13 jam. Selanjutnya suspensi *B. subtilis* dapat dihitung kerapatannya dengan metode *Total Plate Count* (TPC) (Fakhrudin & Nurcahyanti, 2020; Rosmania & Yuniar, 2021).

Uji Kemampuan Kitosan Nano Secara Tunggal dan Kombinasinya dengan *B. subtilis* dalam Menekan Pertumbuhan Koloni *A. porri*

Percobaan dilakukan dengan menggunakan metode *poisoned food technique*. Setelah menyiapkan suspensi perlakuan sesuai dengan masing-masing perbandingannya, suspensi kemudian dituangkan secara perlahan ke dalam labu erlenmeyer yang telah berisi media PDA bersuhu hangat (± 70 °C) dengan posisi miring. Setelah itu, media PDA dalam labu erlenmeyer digoyangkan secara perlahan hingga tercampur dengan suspensi kemudian media PDA dituangkan ke petridish berdiameter 10 cm dan dibiarkan menjadi padat. Isolat *A. porri* dari biakan murni diambil menggunakan *cork borer* dengan ukuran ± 5 mm kemudian diletakkan di bagian tengah

petridish. Petridish lalu ditutup rapat dengan *plastic wrap*. Percobaan dilakukan dalam kondisi aseptik pada *laminar air flow* (Suganda *et al.*, 2022).

Diameter koloni *A. porri* diamati setiap hari hingga perlakuan kontrol penuh. Pengukuran diameter koloni dilakukan dengan membuat garis vertikal dan horizontal yang saling bersinggungan di titik tengah koloni jamur pada petridish. Menurut Suganda *et al.* (2023) bahwa pengukuran diameter koloni jamur *A. porri* dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$D = \frac{d1 + d2}{2} \quad \dots (1)$$

Keterangan:

D = Diameter jamur *A. porri*

d1 = Diameter vertikal koloni *A. porri*

d2 = Diameter horizontal koloni *A. Porri*

Adapun persentase penghambatan koloni jamur *A. porri* dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Daya hambat} = \frac{(dk - dp)}{dk} \times 100\% \quad \dots (2)$$

Keterangan:

dk = Diameter koloni pada kontrol

dp = Diameter koloni yang diberikan perlakuan

Uji Kemampuan Kitosan Nano Secara Tunggal dan Kombinasinya dengan *B. subtilis* dalam Menghambat Perkecambahan Konidia *A. porri*

Konidia *A. porri* diperoleh dengan cara memotong daun bawang yang memiliki gejala penyakit bercak ungu berukuran relatif sama sebanyak lima potong berukuran sekitar 1 cm kemudian digojlok dalam tabung reaksi yang telah diisi larutan masing-masing perlakuan sebanyak 5 ml selama tiga menit. Potongan daun bawang bergejala penyakit bercak ungu digojlok menggunakan *vortex mixer* agar konidia terlepas, kemudian diambil sebanyak 1 ml setiap suspensi perlakuan dan disimpan ke dalam gelas arloji. Gelas arloji setiap perlakuan lalu disimpan dalam wadah plastik yang dialasi tisu lembap selama 24 jam. Setelah masa simpan, konidia dapat diamati di bawah mikroskop pada perbesaran 100x (Suganda *et al.*, 2022). Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah konidia *A. porri* yang berkecambah menggunakan *handcounter*. Menurut Suganda *et al.* (2022) bahwa persentase penghambatan perkecambahan konidia *A. porri* dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$K = \frac{\Sigma \text{Kontrol} - \Sigma \text{Perlakuan}}{\Sigma \text{Kontrol}} \times 100\% \quad \dots (3)$$

Keterangan:

K = Penghambatan pada perkecambahan konidia (%)

Σ Kontrol = Jumlah konidia yang berkecambah pada perlakuan kontrol

Σ Perlakuan = Jumlah konidia yang berkecambah di setiap perlakuan

Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA) menggunakan program SPSS 23. Jika terdapat perlakuan dengan pengaruh berbeda nyata, maka akan dilaksanakan uji lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada selang kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Particle Size Analyzer (PSA) Kitosan Nano

Pengujian menggunakan Particle Size Analyzer (PSA) bertujuan untuk mengukur ukuran partikel dalam larutan kitosan nano melalui metode *dynamic light scattering*. Diperoleh bahwa larutan kitosan nano mempunyai ukuran partikel sebesar 107,8 nm. Menurut

Mekuye & Abera (2023) partikel nano memiliki rentang ukuran 1 – 100 nm. Menurut Raju *et al.* (2022) partikel nano dapat digolongkan menjadi tiga kategori, yaitu mikropartikel dengan rentang ukuran 1 – 1.000 μm , partikel halus dengan rentang ukuran 100 – 2.500 nm, dan partikel kasar dengan rentang ukuran 2.500 – 10.000 nm.

Kemampuan Kitosan Nano Secara Tunggal dan Kombinasinya dengan *B. subtilis* dalam Menekan Pertumbuhan Koloni *A. porri*

Diameter koloni *A. porri* pada semua perlakuan berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 2). Diketahui bahwa perlakuan kitosan nano 100 ppm mempunyai persentase penghambatan tertinggi, yaitu sebesar 94% yang berbeda tidak nyata dengan perlakuan kitosan nano 200 ppm, *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 200 ppm, dan mankozeb 80%. Persentase penghambatan perlakuan kitosan nano 50 ppm berbeda tidak nyata dengan perlakuan *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 50 ppm, dan perlakuan *B. subtilis* 10^7 CFU/ml secara tunggal mempunyai persentase penghambatan terendah sebesar 23% setelah kontrol.

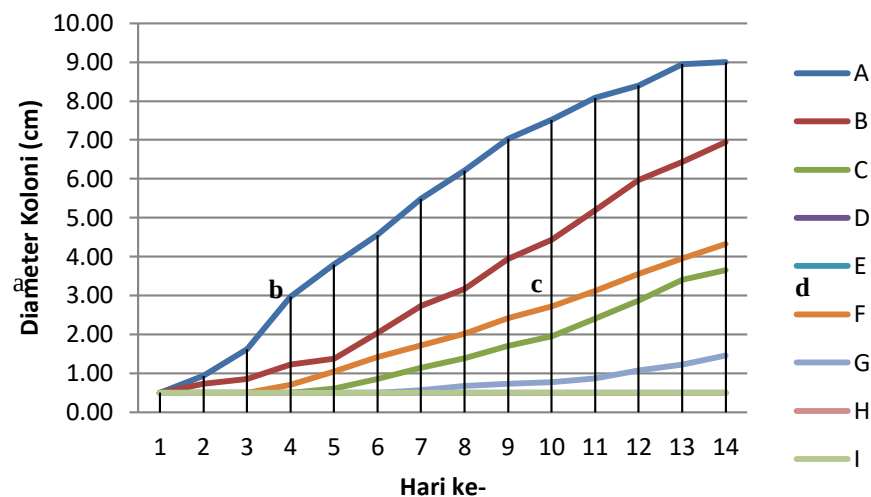
Tabel 2. Diameter koloni *A. porri* dan persentase penghambatan pertumbuhannya pada berbagai perlakuan (pada 14 HSI)

Kode	Perlakuan	Rata-rata Diameter (cm)	Persentase Penghambatan (%)	Aktivitas Antijamur (Halimursyadah <i>et al.</i> , 2017)
A	Kontrol	9 e	0 e	Tidak ada aktivitas (0%)
B	<i>B. subtilis</i> 10^7 CFU/ml	6,95 d	23 d	Rendah (<50%)
C	Kitosan nano 50 ppm	3,65 c	59 c	Sedang (51% - 60%)
D	Kitosan nano 100 ppm	0,5 a	94 a	Sangat tinggi (>75%)
E	Kitosan nano 200 ppm	0,5 a	94 a	Sangat tinggi (>75%)
F	<i>B. subtilis</i> 10^7 CFU/ml + kitosan nano 50 ppm	4,32 c	52 c	Sedang (51% - 60%)
G	<i>B. subtilis</i> 10^7 CFU/ml + kitosan nano 100 ppm	1,45 b	84 b	Sangat tinggi (>75%)
H	<i>B. subtilis</i> 10^7 CFU/ml + kitosan nano 200 ppm	0,5 a	94 a	Sangat tinggi (>75%)
I	Mankozebe 80%	0,5 a	94 a	Sangat tinggi (>75%)

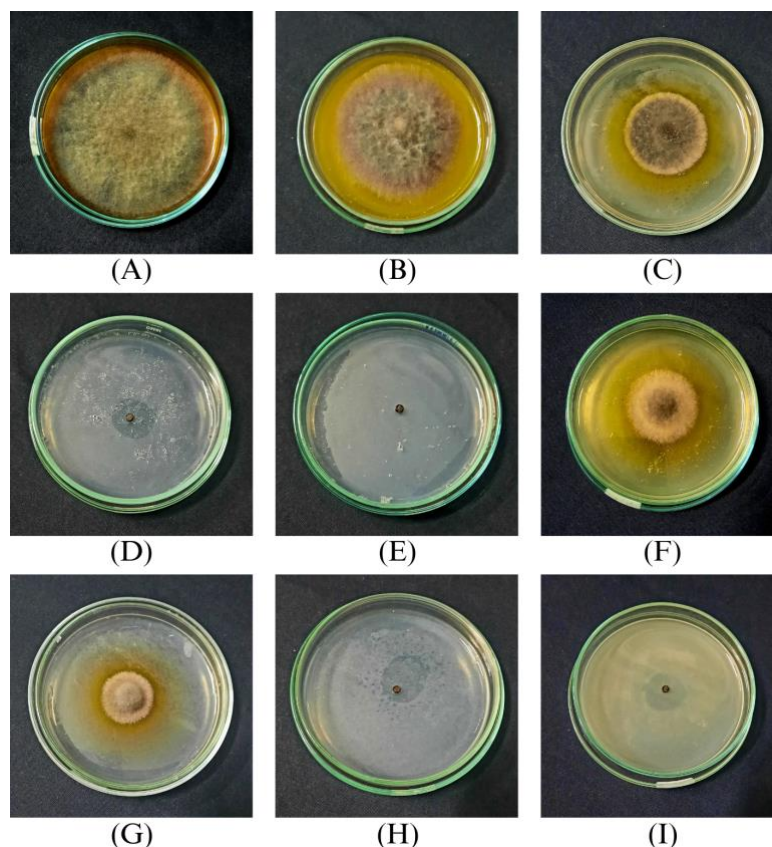
Keterangan: Huruf yang sama pada satu kolom dalam tabel menunjukkan data yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%.

Perlakuan kitosan nano 100 ppm, kitosan nano 200 ppm, *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 100 ppm, dan *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 200 ppm dapat digolongkan sebagai fungisida yang memiliki efektivitas sangat tinggi, perlakuan kitosan nano 50 ppm dan *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 50 ppm berefektivitas sedang, dan perlakuan *B. subtilis* 10^7 CFU/ml memiliki efektivitas rendah (Tabel 2). Laju pertumbuhan koloni *A. porri* dari hari pertama hingga hari ke-14 pengamatan ditunjukkan Gambar 1 dan Gambar 2.

Perlakuan *B. subtilis* 10^7 CFU/ml mampu menekan pertumbuhan koloni *A. porri* dikarenakan terdapat persaingan nutrisi dan ruang yang merupakan salah satu mekanisme agen biokontrol dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen (Suriani & Muis, 2016). Bakteri *B. subtilis* juga mampu menghasilkan enzim ekstraseluler yang bersifat antijamur seperti kitinase, selulase, amilase, glukonase, dan proteinase sehingga dapat menekan pertumbuhan *A. porri* (Schallmey *et al.*, 2004; Cazorla *et al.*, 2007).



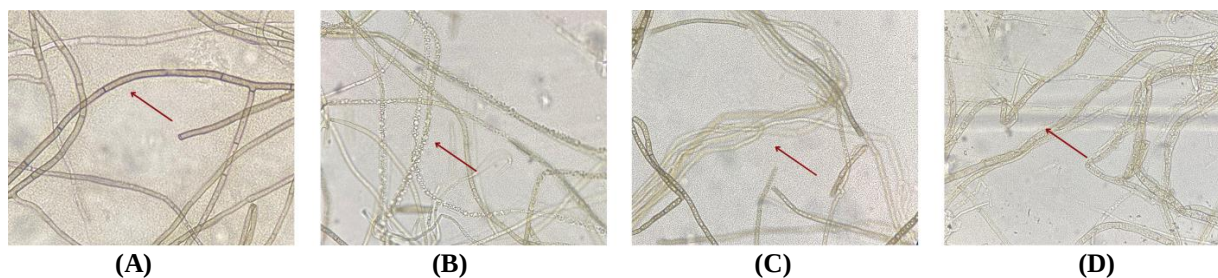
Gambar 1. Laju pertumbuhan *A. porri* pada setiap perlakuan selama 14 hari



Gambar 2. Pertumbuhan koloni *A. porri*. (A) kontrol (B) *B. subtilis* 10^7 CFU/ml (C) kitosan nano 50 ppm (D) kitosan nano 100 ppm (E) kitosan nano 200 ppm (F) *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 50 ppm (G) *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 100 ppm (H) *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 200 ppm (I) mankozeb 80%

Perlakuan kombinasi menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan *B. subtilis*, ditandai dengan tidak terbentuknya koloni bakteri pada media PDA. Adapun beberapa faktor yang mempengaruhi efektivitas perlakuan kombinasi tersebut, yaitu adanya interaksi antagonistik dan perbedaan dalam mekanisme kerja (Xu *et al.*, 2011).

Hal ini sejalan dengan pernyataan Supotngarmkul *et al.* (2020) bahwa kitosan nano mempunyai aktivitas antijamur dan antibakteri baik terhadap bakteri gram positif maupun negatif. Hal tersebut menunjukkan bahwa kitosan nano tidak mendukung pertumbuhan *B. subtilis* sehingga dikatakan tidak kompatibel.



Gambar 3. Kerusakan hifa *A. porri* pada perbesaran 400x (A) hifa normal (B) hifa mengalami lisis (C) hifa menjadi hialin (D) hifa menjadi keriting

Berdasarkan pengamatan mikroskopis, struktur hifa *A. porri* yang diberi perlakuan kitosan nano secara tunggal dan kombinasi dengan *B. subtilis* 10^7 CFU/ml mengalami kerusakan berupa malformasi hifa (Gambar 3). Hifa mengalami lisis, berbentuk abnormal/keriting, dan menjadi hialin. Hal tersebut dikarenakan enzim kitinase yang dihasilkan jamur patogen memecah kitosan nano menjadi senyawa D-glukosamin yang beracun bagi jamur. Saat D-glukosamin terbentuk, senyawa tersebut akan menekan dinding sel jamur yang terbuat dari kitin sehingga dinding sel menjadi rusak dan pertumbuhan jamur terhambat (Rogis *et al.*, 2007).

Kemampuan Kitosan Nano Secara Tunggal dan Kombinasinya dengan *B. subtilis* dalam Menghambat Perkecambahan Konidia *A. porri*

Perkecambahan konidia terjadi jika telah terbentuk tabung kecambah yang memiliki panjang setengah dari ukuran konidia (Steinkellner *et al.*, 2005) (Gambar 4A). Berdasarkan pengamatan setelah masa

simpan selama 24 jam (Tabel 3), diketahui bahwa perlakuan kitosan nano 200 ppm mempunyai persentase penghambatan tertinggi, yaitu sebesar 99% yang berbeda tidak nyata dengan perlakuan kitosan nano 100 ppm, *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 100 ppm, dan mankozeb 80%. Persentase penghambatan perlakuan kitosan nano 50 ppm berbeda tidak nyata dengan perlakuan *B. subtilis* 10^7 CFU/ml + kitosan nano 200 ppm, dan perlakuan *B. subtilis* 10^7 CFU/ml secara tunggal mempunyai persentase penghambatan terendah sebesar 2% setelah kontrol.

Menurut El Hadrami *et al.* (2010) dalam menekan patogen berupa jamur, oomycetes, dan bakteri, kitosan akan menghambat pertumbuhan hifa dan perkecambahan spora. Menurut Kumowal *et al.* (2019) bahwa partikel nano memiliki kontak permukaan lebih besar dibandingkan dengan partikel yang sama namun berukuran lebih besar. Hal tersebut membuat partikel nano bersifat lebih reaktif dan mampu meningkatkan aktivitas antijamur.

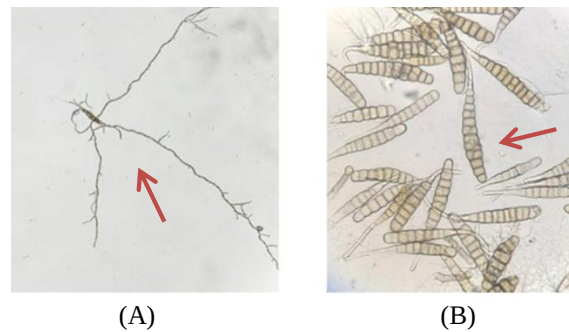
Tabel 3. Rata-rata perkecambahan konidia dan persentase penekanan perkecambahan konidia *A. porri* setelah 24 jam waktu penginkubasian

Kode	Perlakuan	Rata-rata Jumlah Konidia Berkecambah (konidia/ml)	Persentase Penekanan Perkecambahan Konidia (%)
A	Kontrol	56,3 c	0 c
B	<i>B. subtilis</i> 10^7 CFU/ml	55 c	2 c
C	Kitosan nano 50 ppm	45,67 c	19 c
D	Kitosan nano 100 ppm	2,67 a	95 a
E	Kitosan nano 200 ppm	0,3 a	99 a
F	<i>B. subtilis</i> 10^7 CFU/ml + kitosan nano 50 ppm	15,67 ab	72 ab
G	<i>B. subtilis</i> 10^7 CFU/ml + kitosan nano 100 ppm	5,67 a	90 a
H	<i>B. subtilis</i> 10^7 CFU/ml + kitosan nano 200 ppm	39,67 bc	30 bc
I	Mankozeb 80%	0 a	100 a

Keterangan: Huruf yang sama pada satu kolom dalam tabel menunjukkan data yang berbeda tidak nyata berdasarkan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%.

Perlakuan kombinasi mampu menekan perkecambahan konidia *A. porri* karena *B. subtilis* mampu memproduksi enzim kitinase yang dapat dimanfaatkan sebagai agen biokontrol (Senol *et al.*, 2014). Kitinase adalah enzim yang mampu

mendegradasi kitin sehingga dapat menekan jamur patogen, dan meningkatkan resistensi tanaman terhadap penyakit (Karunya *et al.*, 2011; Hamid *et al.*, 2013).



Gambar 4. Konidia *A. porri* (A) konidia yang berkecambah (perbesaran 100 $\times$) (B) konidia yang tidak berkecambah (perbesaran 400 $\times$).

Hasil dari percobaan penekanan pertumbuhan koloni dan perkecambahan konidia *A. porri* sejalan dengan pernyataan Darmadi *et al.* (2017) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak, maka semakin besar daya hambatnya terhadap pertumbuhan koloni dan pembentukan spora jamur. Penelitian ini menunjukkan bahwa aplikasi kitosan nano dan *B. subtilis* secara tunggal lebih efektif dibandingkan dengan aplikasi kombinasi dalam menekan pertumbuhan koloni dan perkecambahan *A. porri*. Namun, kajian lebih lanjut diperlukan untuk menguji konsistensi dan efektivitasnya dalam kondisi lapangan.

KESIMPULAN

Kitosan nano konsentrasi 100 ppm merupakan aplikasi tunggal paling efektif dalam menekan pertumbuhan koloni sebesar 94% dan perkecambahan konidia *A. porri* sebesar 95%. Bakteri *B. subtilis* 10⁷ CFU/ml + kitosan nano 100 ppm merupakan aplikasi kombinasi paling efektif dalam menekan pertumbuhan koloni sebesar 84% dan perkecambahan konidia *A. porri* sebesar 90%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat (DRPM) Universitas Padjadjaran yang telah mendukung penelitian ini melalui pendanaan skema Academic Leadership Grant 2024 dengan nomor kontrak No. 504/UN6.WR3/TU.00/2024.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina SSIMD, & Suartha IN. 2015. Isolasi Kitin, Karakterisasi, dan Sintesis Kitosan dari Kulit Udang. *Jurnal Kimia*, 9(2), 271-278, <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2015.v09.i02.p19>
- Ahmad AGM, Attia AZG, Mohamed MS, & Elsayed HE. 2019. Fermentation, Formulation and Evaluation of PGPR *Bacillus subtilis* Isolate as a Bioagent for Reducing Occurrence of Peanut Soil-Borne Diseases. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(9), 2080-2092, [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62578-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62578-5)
- Cazorla FM, Romero D, Pérez-García A, Lugtenberg BJJ, Vicente AD, & Bloemberg G. 2007. Isolation and Characterization of Antagonistic

Bacillus subtilis Strains from the Avocado Rhizosphere Displaying Biocontrol Activity. *Journal of Applied Microbiology*, 103(5), 1950-1959, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03433.x>

- Dalal JM, & Kulkarni NS. 2014. Antagonistic and Plant Growth Promoting Potentials of Indigenous Endophytic Actinomycetes of Soybean (*Glycine max* (L) Merril). *CIBTech J. Microbiol*, 3, 1-12, <http://www.cibtech.org/cjm.htm>
- Darmadi AAK, Ginantra IK, & Joni M. 2017. Uji Efektivitas Ekstrak Aseton Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* blume) Terhadap Jamur *Fusarium solani* Penyebab Penyakit Busuk Batang pada Buah Naga (*Hylocereus* Sp.) Secara *In-vitro*. *Jurnal Metamorfosa*, 4(1), 79-86, <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2017.v04.i01.p13>
- El Hadrami A, Adam LR, El Hadrami I, & Daayf F. 2010. Chitosan in Plant Protection. *Marine drugs*, 8(4), 968-987, <https://doi.org/10.3390/md8040968>
- Fakhrudin DK, & Nurcahyanti SD. 2020. Viabilitas *Bacillus* sp. sebagai Agen Antagonis Patogen Tanaman dalam Formulasi Berbahan Dasar Tepung. *Jurnal Pengendalian Hayati*, 3(1), 29-37, <https://doi.org/10.19184/jph.v3i1.17151>
- Halimursyadah, Syamsudin, & Putri. 2017. Efektivitas Fungisida Nabati dalam Menghambat Aktivitas *Seed Born Pathogen* pada Benih Tomat secara *In-vitro*. *Prosiding Seminar Nasional Pascasarjana (SNP) Unsyiah*. <https://jurnal.usk.ac.id/SNP-Unsyiah/article/view/7267>
- Hamid R, Khan MA, Ahmad M, Ahmad MM, Abidin MZ, Musarrat J, & Javed S. 2013. Chitinases: An Update. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 5(1), 21-29, DOI: 10.4103/0975-7406.106559
- Hoang NH, Le Thanh T, Sangpueak R, Treekoon J, Saengchan C, Thepbandit W, Papatthoti NK, Kamkaew A, & Buensanteai N. 2022. Chitosan Nanoparticles-Based Ionic Gelation Method: A Promising Candidate for Plant Disease Management. *Polymers*, 14(4), 662, <https://doi.org/10.3390/polym14040662>

- Karunya SK, Reetha D, Saranraj P, & Milton DJ. 2011. Optimization and Purification of Chitinase Produced by *Bacillus subtilis* and its Antifungal Activity Against Plant Pathogens. *Int J Pharm Biol Arch*, 2(6), 1680-1685, <http://www.ijpba.info/>
- Kumowal S, Fatimawali F, & Jayanto I. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Nanopartikel Ekstrak Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* (L.) Willd) terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *PHARMACON*, 8(4), 781-790, <https://doi.org/10.35799/pha.8.2019.29354>
- Li XY, Yang JJ, Mao ZC, Ho HH, Wu YX, & He YQ. 2014. Enhancement of Biocontrol Activities and Cyclic Lipopeptides Production by Chemical Mutagenesis of *Bacillus subtilis* XF-1, a Biocontrol Agent of *Plasmidiophora brassicae* and *Fusarium solani*. *Indian Journal of Microbiology*, 54, 476-479, <https://doi.org/10.1007/s12088-014-0471-y>
- Malerba M & Cerana R. 2020. Chitin-and Chitosan-Based Derivatives in Plant Protection Against Biotic and Abiotic Stresses and in Recovery of Contaminated Soil and Water. *Polysaccharides*, 1(1), 21-30, <https://doi.org/10.3390/polysaccharides1010003>
- Mekuye B & Abera B. 2023. Nanomaterials: An Overview of Synthesis, Classification, Characterization, and Applications. *Nano Select*, 4(8), 486-501, <https://doi.org/10.1002/nano.202300038>
- Moekasan TK, Basuki RS, & Prabaningrum L. 2012. Penerapan Ambang Pengendalian Organisme Pengganggu Tumbuhan pada Budidaya Bawang Merah dalam Upaya Mengurangi Penggunaan Pestisida. *Jurnal Hortikultura*, 22(1), 47-56, <https://dx.doi.org/10.21082/jhort.v22n1.2012.p47-56>
- Muliani Y, Krestini EH, Junengsih, & Milani MN. 2023. Intensity of Purple Spot Disease Due to Attack *Alternaria porri* (Ellis) Cif. in 5 Varieties of Garlic (*Allium Sativum* L.). *AIP Conference Proceedings*, 2583, <https://doi.org/10.1063/5.0116420>
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2021. Buletin Konsumsi Pangan. Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian, 12(1), 56 – 58.
- Qonintannisa S, Fadli A, & Sunarno S. 2020. Sintesis Nanokitosan dengan Metode Gelasi Ionik Menggunakan Pelarut Asam Asetat dengan Variasi Konsentrasi Kitosan. *J. Maha-siswa Fakultas Teknik*, 7, 1-4, <http://ojs.unm.ac.id/index.php/sainsmat>
- Rachmatunnisa R, Rukmi MI, & Pujiyanto S. 2017. Aktivitas Antagonistik Kapang Endofit Duwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) terhadap *Alternaria porri* Penyebab Bercak Ungu pada Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) secara *In-Vitro*. *Jurnal Akademika Biologi*, 6(1), 71-78, <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/biologi/article/view/19525/18517>
- Raju SS, Vidyamani U, & Gatchakayala NB. 2022. Green Synthesis of Nano Particles from Mulberry Leaves and Studies of Anti Oxidant & Pollutant Removal Activated by Spectrophotometry. *International Journal of Research Publication and Reviews*, 3(3), 1606 – 1608, <http://www.ijrpr.com/>
- Ratnawati R, Jaya K, Idris I, & Sudewi S. 2022. Antagonisme dan Potensi Isolat Jamur Endofit Asal Rizosfer Tanaman Bawang Merah terhadap Patogen *Alternaria porri*. *Jurnal Galung Tropika*, 11(3), 234-241, <https://doi.org/10.31850/jgt.v11i3.860>
- Risdiyanti RL, Rahmadhini N, Suryaminarsih P, & Mujoko T. 2023. Study of *Streptomyces* spp. to Control Purple Blotch Disease Caused by *Alternaria porri* in Shallot Plant. *CROPSAVER-Journal of Plant Protection*, 6(1), 56-61, <https://doi.org/10.24198/cropsaver.v6i1.43647>
- Rogis A, Pamekas T, & Mucharromah. 2007. Karakteristik dan Uji Efikasi Senyawa Bahan Alami Chitosan Terhadap Patogen Pasca Panen Antraknosa *Colletotrichum musae*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 9(1): 58-63, <https://repository.unib.ac.id/23/1/58JIPI-2007.pdf>
- Rosmania R. & Yuniar Y. 2021. Pengaruh Waktu Penyimpanan Inokulum *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada Suhu Dingin terhadap Jumlah Sel Bakteri di Laboratorium Mikrobiologi. *Jurnal Penelitian Sains*, 23(3), 117-124, <https://doi.org/10.56064/jps.v23i3.624>
- Sari MP, Hadisutrisno B, & Suryanti S. 2016. Penekanan Perkembangan Penyakit Bercak Ungu pada Bawang Merah oleh Jamur Mikoriza Arbuskula. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 12(5), 159-159, <https://doi.org/10.14692/jfi.12.5.159>
- Schallmeyer M., Singh A., & Ward OP. 2004. Developments in the Use of *Bacillus* Species for Industrial Production. *Canadian Journal of Microbiology*, 50(1), 1-17, <https://doi.org/10.1139/w03-076>
- Senol M, Nadaroglu H, Dikbas N, & Kotan R. 2014. Purification of Chitinase Enzymes from *Bacillus subtilis* Bacteria TV-125, Investigation of Kinetic Properties and Antifungal Activity Against *Fusarium culmorum*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13(1), 1-7, <https://doi.org/10.1186/s12941-014-0035-3>
- Steinkellner S, Mammerler R, & Vierheilig H. 2005. Microconidia Germination of the Tomato Pathogen *Fusarium oxysporum* in the Presence of Root Exudates. *Journal of Plant Interactions*.

- 1(1): 23-30, <https://doi.org/10.1080/17429140500134334>
- Suganda T, Fahmi RB, & Hidayat Y. 2022. Uji Keefektifan Ekstrak Air Biji Adas dalam Menekan Pertumbuhan Koloni, Produksi, dan Perkecambahan Konidia Jamur *Alternaria solani*, Penyebab Penyakit Bercak Coklat pada Tanaman Tomat. Jurnal Agrikultura, 33(2), 170-177, <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v33i2.38940>
- Suganda T, Rizqullah AF, & Widiyanti F. 2023. Ekstrak Air Biji Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Efektif Menekan Jamur *Colletotrichum* sp., Penyebab Penyakit Antraknosa Cabai dalam Uji In-Vitro. Agrikultura, 34(2), 228-236, <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v34i2.48575>
- Supotngarmkul A, Panichuttra A, Ratisoontorn C, Nawachinda M, & Matangkasombut O. 2020. Antibacterial Property of Chitosan Against *E. faecalis* Standard Strain and Clinical Isolates. Dental Materials Journal, 39(3), 456-463, <https://doi.org/10.4012/dmj.2018-343>
- Suriani S & Muis A. 2016. Prospek *Bacillus subtilis* sebagai Agen Pengendali Hayati Patogen Tular Tanah pada Tanaman Jagung. Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 35(1), 37-45, <https://dx.doi.org/10.21082/jp3.v35n1.2016.p37-45>
- Suwignyo S, Hersanti H, & Widiyanti F. 2021. Pengaruh Kitosan Nano Terhadap Penyakit Bercak Coklat (*Alternaria solani* Sor.) pada Tanaman Tomat. Agrikultura, 32(3), 239-247, <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v32i3.34954>
- Syawal Y. 2019. Budidaya Tanaman Bawang Merah (*Allium Cepa* L.) dalam Polybag dengan Memanfaatkan Kompos Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) pada Tanaman Bawang Merah. Jurnal Pengabdian Sriwijaya, 7(1), 671-677, <https://doi.org/10.37061/jps.v7i1.7530>
- Triwidodo H & Tanjung MH. 2020. Hama Penyakit Utama Tanaman Bawang Merah (*Allium Ascalonicum*) dan Tindakan Pengendalian di Brebes, Jawa Tengah. Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi, 13(2), 149-154, <https://doi.org/10.21107/agrovigor.v13i2.7131>
- Xu XM, Jeffries P, Pautasso M, & Jeger MJ. 2011. Combined Use of Biocontrol Agents to Manage Plant Diseases in Theory and Practice. Phytopathology, 101(9), 1024-1031, <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-10-0216>

