

Sintesis dan uji *in vitro* penghambatan nanokitosan-Cu terhadap pertumbuhan *Fusarium oxysporum* dan *Colletotrichum capsici*

Synthesis and in vitro inhibition effect test of nanochitosan-Cu against Fusarium oxysporum and Colletotrichum capsici

Sri WAHYUNI^{1*)}, Muhammad Alfian PRASETYO²⁾, Deden Dewantara ERIS¹⁾, SISWANTO¹⁾, PRIYONO¹⁾

¹⁾Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia, PT. Riset Perkebunan Nusantara, Jl. Taman Kencana No 01, Bogor 16128, Indonesia

²⁾Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Jl. Raya Dramaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima tgl 25 Februari 2020 / disetujui tgl 30 April 2020

Abstract

*Wilt and anthracnose are diseases on chili that cause substantial losses and even crop failure. Control of the diseases is generally carried out using chemical pesticides which are environmentally harmful. Therefore, the development of nanoparticles, such as nanochitosan-Cu, can be an environmentally friendly solution in controlling chili disease. The current technology in developing nanochitosan-Cu is green synthesis, which uses an effective reducing agent but non-toxic for plants and the environment. However, the process requires sonication, which is difficult to be adapted for scale-up production. This research aimed to synthesize and determine the formulation of nanochitosan -Cu using magnetic stirrer method without sonication, and also to evaluate the antifungal ability of nanochitosan-Cu against *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum capsici* causing wilt and anthracnose disease, respectively. Synthesis of nanochitosan-Cu was carried out at 50°C and 400 rpm of speed. Characterizations of nanochitosan-Cu were analyzed using SEM-EDX and PSA. *In vitro* antifungal activity test was carried out by food poisoning method. The results showed that the synthesis of nanochitosan-Cu using ionic gelation method can be carried out without sonication process, and produce round shape nanoparticles with 183.7 nm of diameter. The nanochitosan-Cu was effective against *F. oxysporum* and *C. capsici*, at a concentration of 100 ppm. It inhibited the growth of *F. oxysporum* and *C. capsici* by 100% and 92.38%, respectively.*

[Keywords: sonication, green synthesis, antifungal]

Abstrak

Layu dan antraknosa merupakan penyakit pada tanaman cabai yang menimbulkan kerugian bahkan gagal panen. Pengendalian penyakit tersebut umumnya dilakukan menggunakan pestisida kimia yang tidak ramah lingkungan. Untuk itu perlu dikembangkan biofungisida yang ramah lingkungan, salah satunya adalah nanopartikel kitosan-Cu. Teknologi pengembangan nanopartikel yang saat ini sedang berkembang adalah *green synthesis*, yaitu menggunakan reduktor yang efektif namun tidak toksik terhadap tanaman dan lingkungan. Proses sintesis ini membutuhkan sonikasi yang cukup sulit untuk diadaptasi pada skala produksi masal. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan sintesis nanopartikel kitosan-Cu dengan metode *magnetic stirrer* tanpa sonikasi, serta mengevaluasi kemampuan antifungi terhadap *Fusarium oxysporum* dan *Colletotrichum capsici* penyebab layu dan antraknosa. Sintesis nanokitosan-Cu dilakukan pada suhu 50°C dengan kecepatan 400 rpm. Karakterisasi nanokitosan-Cu dilakukan menggunakan SEM-EDX dan PSA. Uji aktivitas antifungi secara *in vitro* dilakukan menggunakan metode peracunan makanan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sintesis nanokitosan-Cu dengan metode gelasi ionik dapat dilakukan tanpa proses sonikasi dan menghasilkan nanopartikel berdiameter 183,7 nm dan berbentuk bulat. Nanokitosan-Cu yang dihasilkan efektif sebagai antifungi terhadap *F. oxysporum* dan *C. capsici*. Pada konsentrasi 100 ppm, nanokitosan-Cu mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* dan *C. capsici* masing-masing sebesar 100% dan 92,38%.

[Kata kunci: sonikasi, green sintesis, antifungi]

Pendahuluan

Cabai merupakan salah satu tanaman hortikultura penting yang dibudidayakan secara komersial dan tidak dapat terpisahkan dari kebutuhan sehari-hari. Serangan penyakit merupakan hambatan dalam proses budidaya cabai yang berpotensi menyebabkan kegagalan panen. Penyakit cabai yang membahayakan diantaranya layu fusarium dan antraknosa yang masing-masing disebabkan oleh cendawan *Fusarium oxysporum* dan *Colletotrichum capsici* (Ratulangi et al., 2012; Oo & Oh, 2016).

Layu fusarium pada tanaman cabai dapat menimbulkan kerugian dan gagal panen cukup besar bahkan mencapai 50% (Rostini, 2011). Hal tersebut disebabkan cendawan ini dapat menyerang tanaman cabai mulai dari masa perkecambahan hingga fase dewasa. Pada tanaman yang masih sangat muda, penyakit ini dapat menyebabkan kematian secara cepat akibat kerusakan jaringan yang terjadi pada pangkal batang (rebah kecambah). Pada tanaman dewasa yang terinfeksi *F. oxysporum*, bila tidak mengalami kematian maka produktivitas buah mengalami penurunan, infeksi tersebut menyebabkan buah berukuran kecil (Nurzannah et al., 2014). Penyakit antraknosa yang disebabkan oleh cendawan *C. capsici* menyerang tanaman cabai pada buah baik sebelum maupun setelah panen dan dapat menyebabkan kehilangan hasil sebesar 20-100% (Prathibha et al., 2013; Diao et al., 2017). Kejadian penyakit ini semakin meningkat seiring peningkatan curah hujan di lapang. Untuk mengendalikan kedua penyakit tersebut petani pada umumnya masih menggunakan fungisida kimia sebagai tindakan penanganan paling utama, padahal penggunaan fungisida kimia secara terus menerus menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan (Sutarini et al., 2015). Fungisida sintetik selain digunakan oleh petani secara langsung pada tanaman, banyak pula digunakan pada tahap pasca panen. Pada pasca panen, penggunaan fungisida kimia secara terus menerus berdampak buruk pada kesehatan manusia (Ghoname et al., 2010).

Pengembangan nanopartikel merupakan solusi yang menjanjikan untuk mengurangi ketergantungan pestisida kimia sintetik dalam pengendalian penyakit cabai yang aman dan ramah lingkungan (Purnama et al., 2015). Sintesis nanopartikel dapat dilakukan menggunakan metode fisik dan kimia yang dapat menghasilkan nanopartikel murni, namun metode tersebut mahal karena membutuhkan surfaktan dan pelarut organik dalam jumlah banyak dan tidak ramah lingkungan (Fabiani et al., 2018). Teknologi sintesis nanopartikel yang berkembang beberapa tahun terakhir adalah *green synthesis* menggunakan kitosan sebagai reduktor, stabilisator dan donor elektron yang efektif, ramah lingkungan dan memberikan efek jangka panjang (Choudhary et al., 2017). Dalam pengembangannya, kitosan sebagai reduktor

diformulasi dengan beberapa logam yang memiliki sifat antimikroba, salah satunya adalah logam Cu. Ion Cu^+ dikenal memiliki sifat anti bakteri dan anti cendawan patogen, tetapi tidak toksik terhadap hewan atau manusia. Kitosan sebagai salah satu bahan reduktor juga memiliki kemampuan anti mikroba. Formulasi nanokitosan-Cu merupakan pengembangan baru untuk biopestisida berbasis kitosan (Saharan et al., 2015).

Bionanopestisida yang diaplikasikan pada tanaman memiliki tingkat keefektifan yang tinggi karena ukuran partikel nano dapat memperluas penampang senyawa aktif dalam menghambat serangan penyakit pada tanaman cabai (Martien et al., 2012). Salah satu bionanopestisida organik yang dikembangkan saat ini adalah nanokitosan-Cu. Sanpui et al. (2008) membuktikan bahwa interaksi antara Cu dan kitosan dalam nanopartikel dapat meningkatkan aktifitas antimikroba. Salah satu metode pembuatan nanokitosan-Cu adalah dengan gelasi ionik yang membutuhkan sonikasi dalam proses stabilisasi nanopartikelnya (Saharan et al., 2015; Choudhary et al., 2017; Covarrubias et al., 2018). Eris et al. (2019) melakukan sintesis nanokitosan-Cu dengan metode gelasi ionik menggunakan sonikasi dan menghasilkan nanopartikel dengan ukuran yang masih cukup besar yaitu 489,5 nm. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis dan menentukan formulasi nanopartikel kitosan-Cu dengan metode *magnetic stirring* tanpa sonikasi serta menguji keefektifannya sebagai antifungi cendawan patogen *F. oxysporum* dan *C. capsici* secara *in vitro*.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biokimia Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia (PPBBI). Kegiatan yang dilakukan mencakup pembuatan nanokitosan-Cu melalui proses gelasi ionik dengan *magnetic stirring*, penetapan karakteristik nanopartikel meliputi morfologi dan distribusi ukuran partikel serta pengujian nanokitosan-Cu sebagai antifungi terhadap *F. oxysporum* dan *C. capsici*.

Sintesis nanokitosan-Cu

Kitosan sebanyak 0,2 g dilarutkan dalam 100 mL asam asetat 1,5% kemudian disaring untuk menghilangkan pengotor. Larutan kitosan dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit dan ditambahkan 0,5 mL *Sodium Tripolyphosphate* (STPP) 1% kemudian dilanjutkan homogenisasi selama 1 jam pada suhu 50°C dan kecepatan 400 rpm. Pada tahap selanjutnya campuran NaOH 1 M dan $CuSO_4$ (500 mM) dengan rasio 1:10 (v/v) ditambahkan ke dalam larutan kitosan-STPP dan di homogenisasi selama 1 jam

(suhu 50°C dan kecepatan 400 rpm). Larutan yang telah terbentuk ditunggu hingga dingin dan dilanjutkan dengan penyesuaian pH pada kisaran 8 – 10 untuk pembentukan nanopartikel dan pH dinetralkan kembali melalui pencucian berkali-kali menggunakan akuades hingga pH 6 – 7. Partikel yang terbentuk disentrifus selama 20 menit pada kecepatan 10.000 rpm. Endapan yang terbentuk dikeringkan menggunakan *freeze dryer* pada 3-5°C untuk mem-bentuk serbuk nanokitosan-Cu (Saharan *et al.*, 2015; Choudhary *et al.*, 2017).

Karakterisasi nanokitosan-Cu

Karakterisasi nanokitosan-Cu meliputi analisa morfologi dan komposisi unsur melalui SEM-EDX (*Scanning Electron Microscope and Energy Dispersive X-Ray*) serta analisa distribusi ukuran partikel melalui PSA (*Particle Size Analysis*). Analisa morfologi permukaan nanokitosan-Cu dilakukan dengan terlebih dahulu melapisi sampel dengan logam emas sehingga profil permukaan dapat diamati secara jelas. Pengamatan morfologi permukaan nanokitosan-Cu dilakukan pada perbesaran 20.000x dan dilanjutkan analisa persentase tiap-tiap unsur menggunakan EDX (Sari *et al.*, 2017). Analisis ini dilakukan menggunakan alat *SEM FEI inspect S-50* di laboratorium Material dan Metalurgi, Fakultas Teknik Industri, Institut Teknologi Sepuluh November, Surabaya. Analisis distribusi ukuran partikel diawali dengan menimbang 0,1 g endapan nanokitosan-Cu dan melarutkan dalam 5 mL etanol. Analisis ini dilakukan menggunakan alat *PSA Malvern Zetasizer Nano series* di laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.

Peremajaan isolat cendawan patogen

Isolat cendawan *F. oxysporum* dan *C. capsici* koleksi PPBBI diremajakan terlebih dahulu pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) sebelum digunakan untuk pengujian. Penanaman kultur cendawan dilakukan secara aseptik dan kultur diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang (25±2°C).

Uji aktivitas antifungi terhadap *F. oxysporum* dan *C. capsici* dengan metode *food poisoned*

Media PDA cair steril sebanyak 9 mL dituangkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan larutan nanokitosan-Cu sebanyak 1 mL dengan variasi konsentrasi (25, 50, 75, dan 100 ppm) sambil digoyangkan secara orbital hingga homogen. Aquades steril digunakan sebagai kontrol negatif dan larutan *dithane* 0,3% (b/v) sebagai kontrol positif (Putri *et al.*, 2019). Pada tahap selanjutnya setelah media memadat, 1 ose cendawan patogen berukuran diameter 6 mm yang diambil masing-masing dari

kultur *F. oxysporum* dan *C. capsici* yang telah berusia tujuh hari diinkubasikan secara aseptik pada media PDA yang sudah mengandung larutan uji dan diinkubasi pada suhu ruang (25±2°C) (Mishra *et al.*, 2014). Pengamatan dilakukan pada hari ke-7 dengan mengukur diameter koloni cendawan patogen. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Persentase penghambatan (% inhibisi) dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Skidmore & Dickinson, 1976):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{C-T}{C} \times 100\%$$

C = diameter koloni cendawan yang tumbuh pada kontrol negatif (cm)

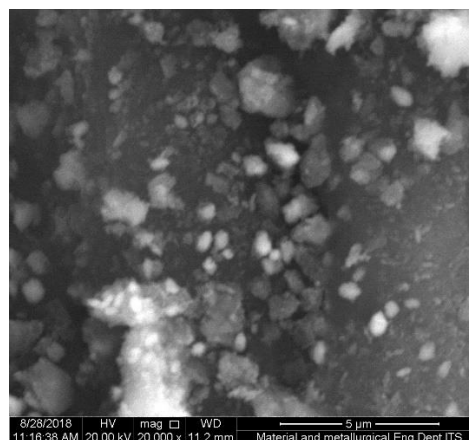
T = diameter koloni cendawan yang tumbuh pada sampel yang diberi nanokitosan-Cu (cm)

Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik menggunakan metode ANOVA (Uji F) pada taraf uji 5%. Bila terdapat hasil yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Tukey HSD pada $\alpha = 5\%$.

Hasil dan Pembahasan

Karakterisasi nanokitosan-Cu

Hasil analisa morfologi nanokitosan-Cu dengan perbesaran 20.000x dapat dilihat pada Gambar 1. Hal ini sesuai dengan penelitian Manikandan dan Sathiyabama (2015) yang memperlihatkan Cu-kitosan NPs memiliki bentuk bulat berdasarkan hasil analisa dari HRTEM (*high-resolution electron microscope*). Hasil pengukuran distribusi ukuran SEM-EDX lebih besar dibandingkan dengan pengukuran PSA, hal ini dikarenakan proses pengkristalan yang kurang sempurna pada *freeze dryer* sehingga terjadi aglomerasi pada nanopartikel yang terbentuk dan membentuk partikel yang lebih



Gambar 1. Morfologi nanokitosan-Cu
Figure 1. Morphology of nanochitosan-Cu

besar sehingga perlu dilakukan metode lain dalam pembentukan kristal nanopartikel. Selain morfologi dan ukuran partikel, analisa SEM-EDX dilakukan juga untuk mengetahui unsur-unsur kimia dalam komposit nanokitosan-Cu. Hasil analisis menunjukkan terdapat unsur C, O, N, dan Cu dalam komposit nanokitosan-Cu hasil reduksi dari kitosan (Gambar 2). Dari hasil analisis tersebut diketahui bahwa persentase unsur C, O, N, dan Cu dalam komposit nanokitosan-Cu masing-masing sebesar 55,64%; 26,80%; 8,91%; dan 8,65% dimana unsur C, O, dan N berasal dari kitosan. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi dari komposit didominasi oleh kitosan, sedangkan kandungan logam Cu dalam komposit nanopartikel sangat kecil yaitu sebesar 8,65%.

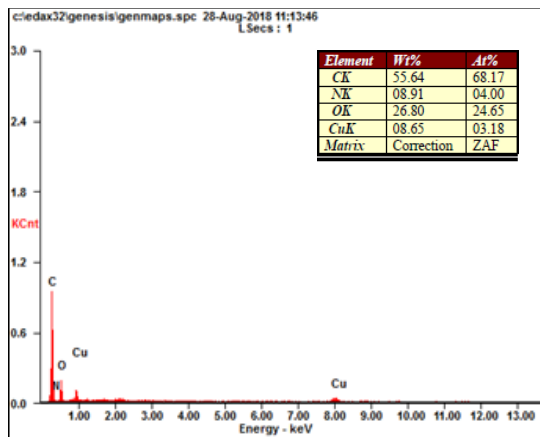
Hasil analisa PSA menunjukkan bahwa nilai rata-rata diameter nanokitosan-Cu yaitu 183,7 nm (Gambar 3). Mohanraj (2006) mengemukakan bahwa nanopartikel merupakan partikel yang berbentuk padat dengan kisaran ukuran 10-1000 nm. Nanokitosan-Cu yang telah dibuat melalui metode gelasi ionik dengan *magnetic stirring* sebagai pengganti proses sonikasi dalam penelitian ini memiliki distribusi partikel yang lebih kecil dibandingkan dengan penelitian Putri *et al.* (2016) yang menghasilkan nanopartikel kitosan dengan ukuran sebesar 302,6 nm. Eris *et al.* (2019) juga melakukan sintesis nanokitosan-Cu dengan gelasi ionik menggunakan sonikasi dan menghasilkan nanopartikel berukuran 489,5 nm. Hal ini membuktikan bahwa nanokitosan-Cu dapat disintesis dengan metode gelasi ionik menggunakan *magnetic stirrer* tanpa proses sonikasi pada 50°C dan 400 rpm. Mayyas dan Al-Remawi (2012) dalam penelitiannya mengemukakan bahwa metode sintesis sangat berpengaruh dalam teknologi pembuatan nanopartikel. Pengecilan ukuran dengan metode

magnetic stirring dapat menghasilkan partikel yang lebih stabil dan ukuran yang lebih merata di bawah 1.000 nm (Mayyas & Al-Remawi 2012). Pengaruh pengecilan ukuran partikel dengan *magnetic stirring* pada kecepatan tinggi dapat menyamaratakan energi yang diterima oleh seluruh bagian larutan, sehingga ukuran partikel semakin homogen.

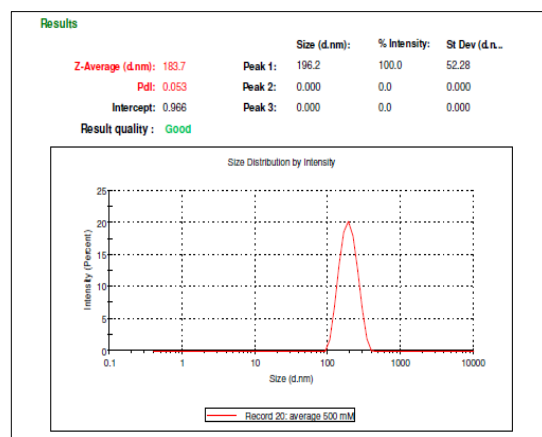
Distribusi ukuran partikel nanokitosan-Cu yang terlihat pada grafik PSA (Gambar 3) menunjukkan stabilitas yang tinggi dilihat dari *peak* yang muncul didukung dengan nilai *intercept* sebesar 0,966. Hal ini diduga berkaitan dengan ketepatan konsentrasi STPP dalam komposit yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 1%. Putri *et al.* (2018) menyatakan bahwa muatan positif pada gugus amin dalam kitosan akan bertaut silang dengan gugus negatif dari polianion STPP dan membentuk ikatan kompleks antar muatan sehingga nanopartikel yang terbentuk lebih stabil. Penambahan STPP pada konsentrasi yang tepat akan membentuk ukuran nanopartikel dan meningkatkan kekuatan matriks kitosan sehingga nanopartikel semakin kuat dan sulit terpecah (Nesalin *et al.* 2009). Selain itu, penambahan STPP yang tepat juga berfungsi untuk mencegah timbulnya aglomerasi antar partikel dalam pembentukan flok-flok halus yang lebih besar (Ningsih *et al.*, 2017; Putri *et al.*, 2018).

Uji Penghambatan pertumbuhan F. oxysporum

Fusarium oxysporum merupakan cendawan yang menyebabkan penyakit layu pada tanaman cabai (Ratulangi *et al.*, 2012). Pertumbuhan cendawan ditandai dengan adanya hifa berwarna putih seperti kapas dengan bentuk makrokonidia panjang dan ujung meruncing dalam media PDA pada cawan Petri (Nugraheni, 2010). Tabel 1 menunjukkan data pertumbuhan *F. oxysporum* pada pengamatan hari



Gambar 2. Hasil analisis komposisi unsur kimia nanokitosan-Cu
 Figure 2. Chemical composition analysis result of nanochitosan-Cu



Gambar 3. Distribusi ukuran partikel nanokitosan-Cu
 Figure 3. Distribution of nanochitosan-Cu particle size

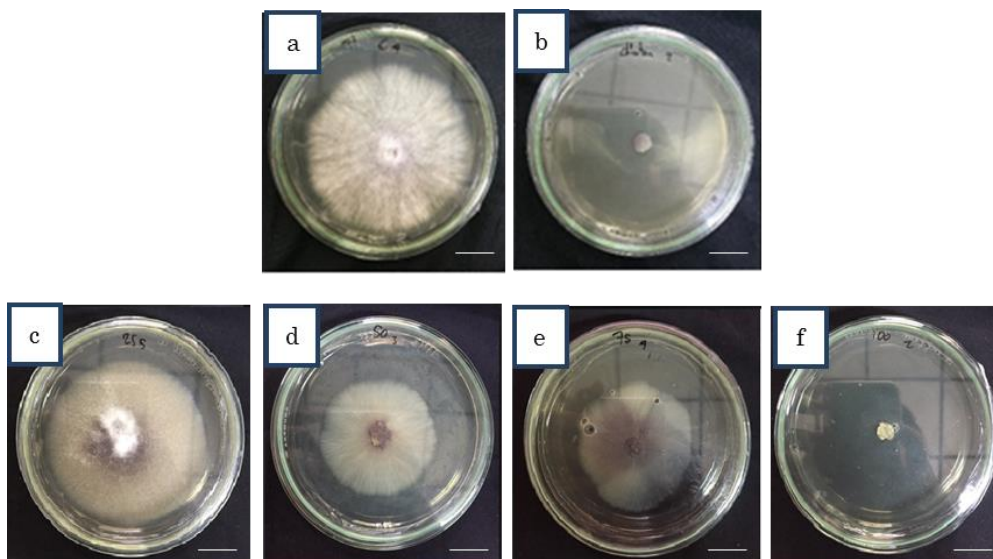
ke-7 untuk semua perlakuan. Kontrol negatif menunjukkan pertumbuhan cendawan dengan diameter 7,43 cm sebagai nilai tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Kontrol positif Dithane menunjukkan tidak terjadi pertumbuhan *F. oxysporum* hingga pengamatan hari ke-7, hasil yang sama ditunjukkan pada perlakuan nanokitosan-Cu 100 ppm yang menunjukkan persen penghambatan terbesar yakni 100% (Gambar 4). Perlakuan nanokitosan-Cu 100 ppm berbeda secara signifikan dibandingkan dengan perlakuan lainnya

(nanokitosan-Cu 25, 50, dan 75 ppm) yakni berturut turut dengan nilai penghambatan sebesar 9,42; 24,66; dan 29,60 %. Secara keseluruhan setiap perlakuan berbeda secara signifikan terhadap kontrol negatif yang tidak menunjukkan adanya penghambatan. Hasil penelitian ini lebih baik dibandingkan penelitian sebelumnya. Saharan *et al.* (2015) melaporkan bahwa nanokitosan-Cu 0,12% (1.200 ppm) dapat menghambat pertumbuhan hifa *F. oxysporum* sebesar 73,5%.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi nanokitosan-Cu terhadap pertumbuhan cendawan *F. oxysporum* (7 hari setelah inkubasi)
 Table 1. Effect of nanochitosan-Cu concentration on growth of *F. oxysporum* (7 days incubation)

Perlakuan <i>Treatment</i>	Rerata diameter koloni cendawan (cm) <i>Average diameters of fungi colony (cm)</i>	Persentase penghambatan pertumbuhan cendawan (%) <i>Inhibition percentage of fungal growth (%)</i>
Kontrol (-) <i>Control (-)</i>	7,43 ^{a*)}	0
Kontrol (+) Dithane 0,3% (b/v) <i>Control (+) Dithane 0.3 % (w/v)</i>	0 ^d	100
Nanokitosan-Cu 25 ppm <i>Nanochitosan-Cu 25 ppm</i>	6,73 ^b	9,42
Nanokitosan-Cu 50 ppm <i>Nanochitosan-Cu 50 ppm</i>	5,60 ^c	24,66
Nanokitosan-Cu 75 ppm <i>Nanochitosan-Cu 75 ppm</i>	5,23 ^c	29,60
Nanokitosan-Cu 100 ppm <i>Nanochitosan-Cu 100 ppm</i>	0 ^d	100

*) Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji Tukey pada $\alpha = 5\%$
 *) Means in the same column followed by same letters are not significantly different according to Tukey's test at $\alpha = 5\%$



Gambar 4. Pertumbuhan *F. oxysporum* pada uji aktivitas antifungi nanokitosan-Cu 7 hari setelah inkubasi. a) Kontrol -, b) Kontrol +, c) Nanokitosan-Cu 25 ppm, d) Nanokitosan-Cu 50 ppm, e) Nanokitosan-Cu 75 ppm dan f) Nanokitosan-Cu 100 ppm. Skala baris = 2 cm

Figure 4. *F. oxysporum* growth in antifungal activity test of nanochitosan-Cu after 7 days incubation. a) Control -, b) Control +, c) Nanochitosan-Cu 25 ppm, d) Nanochitosan-Cu 50 ppm, e) Nanochitosan-Cu 75 ppm and f) Nanochitosan-Cu 100 ppm. Bar = 2 cm

Tabel 1 menunjukkan semakin besar konsentrasi larutan nanokitosan-Cu yang digunakan, semakin besar nilai penghambatan terhadap pertumbuhan *F. oxysporum*. Menurut penelitian yang dilakukan Sitepu et al. (2012), semakin besar konsentrasi nanokitosan-Cu yang terdapat dalam media pertumbuhan cendawan, maka jumlah larutan yang terdifusi ke dalam sel cendawan semakin meningkat sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan cendawan sehingga dapat menyebabkan kematian pada cendawan tersebut. Mekanisme penghambatan pertumbuhan *F. oxysporum* diduga terjadi melalui lisis. El Hassani et al. (2004) melaporkan bahwa penambahan kitosan pada media PDA yg kemudian ditumbuhkan *F. oxysporum* mengalami perusakan pada dinding sel terlihat dari degradasi miselium cendawan *F. oxysporum*. Chaodhary et al. (2017) melaporkan bahwa mekanisme penghambatan pertumbuhan cendawan dan virus oleh nanokitosan-Cu (Cu-chitosan NPs) berkaitan dengan interaksi antara muatan negatif dari cendawan dan virus (protein dan glikoprotein) dengan kitosan melalui perusakan dinding sel.

Uji Penghambatan pertumbuhan C. capsici

Cendawan *C. capsici* merupakan patogen penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai (Oo & Oh, 2016). Pertumbuhan cendawan ditandai dengan adanya hifa berwarna putih seperti kapas dengan bentuk konidia silindris, ujung tumpul, tidak bersepta, dan berinti satu (Kim et al., 2008). Tabel 2 menunjukkan data pertumbuhan *C. capsici* pada pengamatan hari ke-7 untuk semua perlakuan.

Kontrol negatif menunjukkan pertumbuhan cendawan dengan diameter 6,77 cm sebagai nilai tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Perlakuan nanokitosan-Cu dengan konsentrasi 75 dan 100 ppm menghasilkan penghambatan sebesar 87,89 dan 92,38 % yang keduanya tidak berbeda nyata, namun berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan 25 dan 50 ppm yang menghasilkan penghambatan masing-masing sebesar 50,67 dan 83,41%. Kontrol positif Dithane menghasilkan persentase penghambatan terbesar yaitu sebesar 100% (Gambar 5). Nanokitosan Cu yang dihasilkan dalam penelitian lebih efektif menghambat pertumbuhan *C. capsici* dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilaporkan Eris et al. (2019) dimana nanokitosan-Cu dapat menghambat pertumbuhan hifa *C. capsici* sebesar 42,32% pada dosis 1000 ppm.

Kemampuan nanokitosan-Cu dalam menghambat pertumbuhan *C. capsici* dikarenakan kandungan kitosan yang dapat menyebabkan gangguan permeabilitas sel yang memicu kematian sel dengan penyusutan utamanya adalah kitin (Hernandez-Lauzardo et al. 2011). Mekanisme penghambatan pertumbuhan *C. capsici* melibatkan interaksi kitosan dengan membran sel dari patogen (Supriyadi et al., 2017). Polikation kitosan mengikat muatan negatif dari membran sel melalui interaksi elektrostatis sehingga mempengaruhi permeabilitas membran sel dan menyebabkan kebocoran antarselular (enzim, protein, materi genetik, dll).

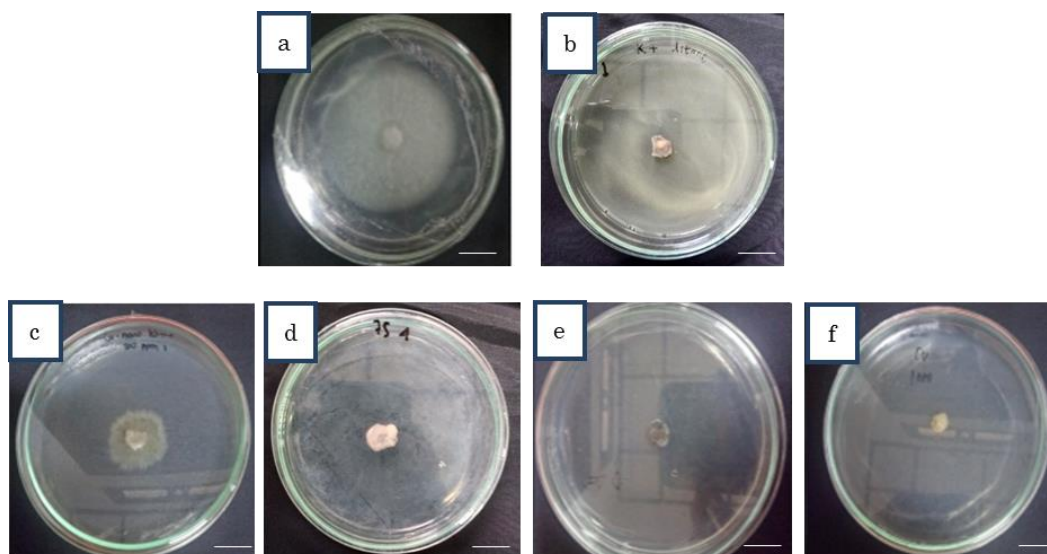
Tabel 2. Pengaruh konsentrasi nanokitosan-Cu terhadap pertumbuhan cendawan *C. capsici* (7 hari setelah inkubasi)

Table 2. Effect of nanochitosan-Cu concentration on growth of *C. capsici* (7 days incubation)

Perlakuan <i>Treatment</i>	Rerata diameter koloni cendawan (cm) <i>Average diameters of fungi colony (cm)</i>	Persentase penghambatan pertumbuhan (%) <i>Inhibition percentage of fungal growth (%)</i>
Kontrol (-) <i>Control (-)</i>	6,77 a	0
Kontrol (+) Dithane 0,3 % (b/v) <i>Control (+) Dithane 0,3 % (w/v)</i>	0 f	100,00
Nanokitosan-Cu 25 ppm <i>Nanochitosan-Cu 25 ppm</i>	3,67 b	50,67
Nanokitosan-Cu 50 ppm <i>Nanochitosan-Cu 50 ppm</i>	1,23 c	83,41
Nanokitosan-Cu 75 ppm <i>Nanochitosan-Cu 75 ppm</i>	0,90 de	87,89
Nanokitosan-Cu 100 ppm <i>Nanochitosan-Cu 100 ppm</i>	0,57 e	92,38

*) Angka dalam kolom yang sama diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata menurut uji Tukey pada $\alpha = 5\%$

*) Means in the same column followed by same letters are not significantly different according to Tukey's test at $\alpha = 5\%$



Gambar 5. Pertumbuhan *C. capsici* pada uji aktivitas antifungi nanokitosan-Cu 7 hari setelah inkubasi. a) Kontrol -, b) Kontrol +, c) Nanokitosan-Cu 25 ppm, d) Nanokitosan-Cu 50 ppm, e) Nanokitosan-Cu 75 ppm dan f) Nanokitosan-Cu 100 ppm. Skala baris = 2 cm

Figure 5. *C. capsici* growth in antifungal activity test of nanochitosan-Cu after 7 days incubation. a) Control -, b) Control +, c) Nanochitosan-Cu 25 ppm, d) Nanochitosan-Cu 50 ppm, e) Nanochitosan-Cu 75 ppm and f) Nanochitosan-Cu 100 ppm. Bar = 2 cm

Selain itu, kitosan juga mengikat DNA dan menghambat mRNA dalam sintesis protein (Ing *et al.*, 2012; Vellingiri *et al.*, 2013; Younes *et al.*, 2014). Penambahan logam Cu dalam komposit nanopartikel akan semakin meningkatkan aktivitas antimikroba dan antifungi (Chowdappa *et al.* 2014; Choudhary *et al.* 2017). Eris *et al.*, (2019) menyatakan bahwa aktivitas antifungi nanokitosan-Cu juga menyebabkan perubahan morfologis dan ultra struktur *C. capsici* ditandai dengan hifa yang mengembung/menggada pada pengamatan dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 400x.

Kesimpulan

Sintesis nanokitosan-Cu dengan metode gelasi ionik menggunakan *magnetic stirring* pada kecepatan 400 rpm dan modifikasi suhu pada 50°C menghasilkan nanopartikel berbentuk bulat dengan diameter 183,7 nm. Nanokitosan-Cu yang dihasilkan efektif sebagai antifungi terhadap *F. oxysporum* dan *C. capsici*. Pada konsentrasi 100 ppm, nanokitosan-Cu mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* dan *C. capsici* masing-masing sebesar 100% dan 92,38%. Hal ini menunjukkan bahwa metode gelasi ionik dengan *magnetic stirring* berpotensi diterapkan dalam sintesis nanopartikel sebagai pengganti proses sonikasi.

Ucapan Terimakasih

Penelitian ini dibiayai oleh APBN Kementerian Pertanian melalui program kerjasama Penelitian, Pengkajian dan Pengembangan Pertanian Strategis (KP4S) tahun 2018 dengan nomer kontrak

31.44/PL.040/H.1/02/2018.K tanggal 12 Februari 2018.

Daftar Pustaka

- Choudhary RC, RV Kumaraswamy, S Kumari, A Pal, R Raliya, P Biswas & V Saharan (2017). Synthesis, characterization, and application of chitosan nanomaterials loaded with zinc and copper for plant growth and protection. *Nanotechnology*, 10: 227-247.
- Chowdappa P, S Gowda, CS Chethana & S Madhura (2014). Antifungal activity of chitosan-silver nanoparticle composite against *Colletotrichum gloeosporioides* associated with mango anthracnose. *African Journal of Microbiology Research*. 8 (17) : 1803 – 1812.
- Covarrubias C, D Trepiana & C Corral (2018). Synthesis of hybrid copper-chitosan nanoparticles with antibacterial activity against cariogenic *Streptococcus mutans*. *Dental Materials Journal*, 1-6.
- Diao YZ, C Zhang, F Liu, WZ Wang, L Liu, L Cai & XL Liu (2017). *Colletotrichum* species causing anthracnose disease of chili in China. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*. 38: 20-37.
- El Hassani M, A El Hadrani, F Daayf, EA Barka, I El Hadrani (2004). Chitosan, antifungal product against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albendinis* and

- elicitor of defence reactions in date palm roots. *Phytopathol Mediterr*, (43): 195-204.
- Eris DD, S Wahyuni, SM Putra, CA Yusup, AS Mulyatni, Siswanto, EH Krestini & C Winarti (2019). Pengaruh Nanokitosan-Ag/Cu pada Perkembangan Penyakit Antraknosa pada Cabai. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 24(3): 201-208.
- Fabiani VA, F Sutanti, D Silvia & MA Putri (2018). Green synthesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak daun pucuk idat (*Cratogeomys glaucum*) sebagai bioreduktor. *Indo. J. Pure App. Chem*, 1(2): 68-76.
- Ghoname AA, MA El-Nemr, AM RAbdel-Mawgoudand & WA El-Tohamy (2010). Enhancement of sweet pepper crop growth and production by application of biological, organic and nutritional solutions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 6(3): 349-355.
- Hernandez-Lauzardo AN, GV Miguel & GG Maria (2011). Current status of action mode and effect of chitosan against phytopathogens fungi. *African Journal of Microbiology Research*. 5(25): 4243-4247.
- Ing LY, Noraziah MZ., Atif S. & Haliza, K. (2012). Antifungal activity of chitosan nano particle and correlation with their physical properties. *International Journal of Biomaterials*, Article ID 632698. doi:10.1155/2012/632698.
- Kim Joon-Tae, SY Park, WB Choi, YH Lee & HT Kim (2008). Characterization of colletotrichum isolates causing anthracnose of pepper in Korea. *The plant pathology journal*, 24(1): 17-23.
- Manikandan A & M Sathiyabama (2016). Preparation of chitosan nanoparticles and its effect on detached rice leaves infected with *Pyricularia grisea*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84:58-61.
- Martien R, Adhyatmika, IDK Irianto, V Farida & DP Sari (2012). Perkembangan teknologi nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. *Majalah Farmaseutik*. 8 (1): 133-144.
- Mayyas MA & Al-Remawi (2012). Properties of chitosan nanoparticles formed using sulfate anions as crosslinking bridges. *American J Applied Science*, 9(7): 1091-1100.
- Mishra P, P Singh & NN Tripathi (2014). Evaluation of plant extracts against *Fusarium oxysporum* F. SP. *Lycopersici*, wilt pathogen of tomato. *Int J Food, Agr Vet Sci*. 4 (2): 163-167.
- Mohanraj VJ & Y Chen (2006). Nanoparticles a review. *Tropical Journal Pharmaceutical Ressearch* 5(1): 561-573.
- Nesalin AJ, K Gowthamarajan & CN Somashekhara (2009). Formulation and Evaluation of Nanoparticles Containing Flutamide. *Int J ChemTech Res*, 4(1): 1331-1334.
- Ningsih N, S Yasni & S Yuliani (2017). Sintesis nanopartikel ekstrak kulit manggis merah dan kajian sifat fungsional produk enkapsulasinya. *J. Teknol. dan Industri Pangan*, 26(1): 27-35.
- Nugraheni ES (2010). Karakterisasi biologi isolat-isolat *Fusarium sp.* pada cabai merah (*Capsicum annum L.*) asal Boyolali. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Nurzannah SE, Lisnawati & D Bakti (2014). Potensi jamur endofit asal cabai sebagai agens hayati untuk mengendalikan layu fusarium (*Fusarium oxysporum*) pada cabai dan interaksinya. *J Online Agroekoteknol*. 2(3): 1230-1238.
- Oo MM & SK Oh (2016). Chilli anthracnose (*Colletotrichum spp.*) disease and its management approach. *Korean Journal of Agricultural Science*, 43(2): 153-162.
- Pangesti PA (2017). Mempelajari pengaruh ultrasonifikasi dalam "green syntesis" nanopartikel tembaga dan seng oksida dengan ekstrak bunga pinus Merkusii Jungh. & De Vriese dan pengujian aktifitas antibakteri. *Tesis*. Kimia-FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang.
- Prathibha VH, AM Rao, R Ramesh & C Nanda (2013). Estimation of fruit quality parameters in anthracnose infected chilli fruits. *International Journal of Agriculture and Food Science Technology*. 4(2): 57-60.
- Purnama H, N Hidayati & E Setyowati (2015). Pengembangan produksi pestisida alami dari *Beauveria bassiana* dan *Trichoderma sp.* menuju pertanian organik. *Warta*. 18 (1): 1-9.
- Putri AI, A Sundaryono & IN Candra (2018). Karakteristik nanopartikel kitosan ekstrak daun ubi jalar (*Ipomoea batatas L.*) menggunakan metode gelasi ionik. *J Pendidikan & Ilmu Kimia*, 2(2): 203:207.
- Putri DR, MT Asri & E Ratnasari (2019). Antivitas antifungi ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum*. *Lenterabio*, 8(2): 156-161.
- Ratulangi MM, DT Sembel, CS Rante, MF Dien, ERM Meray, M Hammig, M Shepard, G Camer & E Benson (2012). Diagnosis dan insidensi

- penyakit antraknosa pada beberapa varietas tanaman cabai di kota Bitung dan kabupaten Minahasa. *Eugenia*. 18 (2): 81 – 90.
- Rostini N (2011). *6 Jurus Bertanam Cabai Bebas Hama dan Penyakit*. Jakarta (ID): PT AgroMedia Pustaka.
- Saharan V, G Sharma, M Yadav, MK Choudhary, SS Sharma, A Pal, R Raliya & P Biswas (2015). Synthesis and *in vitro* antifungal efficacy of Cu-chitosan nanoparticles against pathogenic fungi of tomato. *International Journal of Biological Macromolecules*. 75: 346 -353.
- Sanpui P, A Murugadoss, PVD Prasad, SS Ghosh & A Chattopadhyay (2008). The antibacterial properties of a novel chitosan-Ag nanoparticle composite. *International Journal of Food Microbiology*. 124: 142-146.
- Sari RN, Nurhasni & MA Yaqin (2017). Sintesis nanopartikel ZnO ekstrak *Sargassum* sp. dan karakterisasi produknya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20 (2): 238-254.
- Sitepu I, L Ignatia, A Franz, D Wong, S Faulina, M Tsui, A Kanti & K Boundy (2012). An improved high-throughput Nile red fluorescence assay for estimating intracellular lipids in a variety of yeast species. *J Microbiol Methods*. 91(2): 321–328.
- Skidmore AM & CH Dickinson (1976). Colony interaction and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 66 (1): 57-64.
- Suryadi Y, TP Priyatno, IM Samudra, D Susilowati, TS Sriharyani & Syaefudin (2017). Control of anthracnose disease (*Colletotrichum gloeosporioides*) using nano chitosan hydrolyzed by chitinase derived from *Burkholderia cepacia* isolate e76. *Jurnal AgriBiogen*, 13(2): 111-122.
- Sutarini NLW, IK Sumiartha, NW Suniti, IP Sudiarta, GNAS Wirya & MS Utama (2015). Pengendalian penyakit layu fusarium pada tanaman cabai besar (*Capsicum annum* L.) dengan kompo dan pupuk kandang yang dikombinasikan dengan *Trichoderma* sp. di rumah kaca. *E-Jurnal Agroekoteknologi Trop*, 4 (2): 135 – 144.
- Vellingiri K, Ramachandran T. & M Senthilkumar (2013). Eco-friendly application of nano chitosan in antimicrobial coatings in the textile industry. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, 3 (4), 75-89.
- Younes I, Sellimi S, Rinaudo M, Jellouli K & N Moncef (2014). Influence of acetylation degree and molecular weight of homogenous chitosans on antibacterial and antifungal activities. *International Journal of Food Microbiology*, 185: 57-63.