

## EKSTRAKSI, KARAKTERISASI DAN DAYA PENGHAMBATAN KITOSAN ALAMI TERHADAP JAMUR *Colletotrichum musae* SECARA *IN VITRO*

### EXTRACTION, CHARACTERIZATION AND INHIBITION TEST OF NATURAL CHITOSAN TO *Colletotrichum musae* IN VITRO

Tunjung Pamekas\*

Sekolah Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta; Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu, Bengkulu

Christanti Sumardiyono, Nursamsi Pusposendjojo

Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Didik Indradewa

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

\*Penulis untuk korespondensi. E-mail: tpamekas@yahoo.com

#### ABSTRACT

In order to enhance food safety, the use of chemical pesticides on agriculture must be minimized, especially on postharvest processing. One of the alternative ways is the use of natural chitosan. Chitosan has good prospect as an alternative compound to chemical pesticides to be used on postharvest processing for agriculture products which are potential as exported commodity, such as banana cv. Ambon Curup, exotic fruit from Bengkulu.

The aims of this research were to extract and characterize chitosan and to evaluate the inhibition of chitosan to *Colletotrichum musae*.

Methods of experiment were (1) extraction of chitosan, (2) characterization of chitosan, and (3) inhibition test of chitosan to the pathogen *in vitro*. The parameters observed were the growth and colour of colony, the measurement and density of conidia and the dry weight of mycelium.

The result indicated that the texture of chitosan were flake-powder with white-brownish colour, had a little bit odor of fish and pH were 7.5–13. The deacetylated degree of chitosan were around 74.27–75.64%. The *in vitro* test indicated that the kind of chitosan treatments gave no significant effect to the growth and colony colour, the measurement and density of conidia and the dry weight of mycelium. However the concentration of chitosan treatments were significantly effect all parameters. The chitosan on 20 mg/ml could inhibit the colony growth up to 81.20%, the conidial density up to 46.5%, the measurement of conidia up to 19.4%, and the dry weight of mycelium up to 59.46%. Chitosan had no effect to the colour of fungal colony.

Key words: banana cv. Ambon Curup, chitosan, *Colletotrichum musae*

#### INTISARI

Dalam rangka meningkatkan keamanan pangan, penggunaan pestisida kimiawi dalam bidang pertanian, khususnya pada proses penanganan pascapanen, harus diminimalisir. Salah satu alternatifnya adalah penggunaan senyawa alami kitosan yang berasal dari limbah perikanan yang sangat banyak tersedia di Indonesia. Kitosan memiliki prospek yang baik untuk digunakan sebagai pengganti penggunaan pestisida kimiawi dalam proses penanganan pascapanen produk pertanian yang berpotensi ekspor, seperti buah pisang Ambon Curup, yang merupakan buah eksotik dari Bengkulu.

Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi dan mengkarakterisasi kitosan dari limbah perikanan, serta mengevaluasi daya penghambatan kitosan terhadap patogen pascapanen *Colletotrichum musae*.

Metode penelitian yang dilakukan meliputi: (1) ekstraksi kitosan, (2) karakterisasi kitosan, dan (3) uji daya penghambatan kitosan terhadap patogen secara *in vitro*. Parameter yang diamati adalah luas koloni, warna koloni, kerapatan dan ukuran konidia, serta berat kering miselium jamur patogen.

Dari proses ekstraksi diperoleh kitosan dengan tekstur serpihan-tepung dengan warna putih hingga kecoklatan dan sedikit berbau amis, dengan tingkat keasaman kitosan berkisar 7,5–13. Derajat deasetilisasi kitosan berkisar dari 74,27–75,64% yang berarti semua jenis kitosan memiliki tingkat kemurnian yang hampir sama. Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa jenis kitosan tidak berpengaruh nyata terhadap luas dan warna koloni, kerapatan dan ukuran konidia, serta berat kering miselium jamur patogen. Namun perlakuan konsentrasi kitosan berpengaruh nyata terhadap semua parameter pengamatan tersebut. Pemberian kitosan pada konsentrasi 20 mg/ml mampu menghambat luas koloni patogen hingga 81,20%; kerapatan konidia hingga 46,5%; ukuran konidia hingga 19,4%; dan berat kering miselium hingga 59,46%. Warna koloni juga tidak dipengaruhi oleh perlakuan kitosan.

Kata kunci: *Colletotrichum musae*, kitosan, pisang Ambon Curup

## PENGANTAR

Jamur *Colletotrichum musae* adalah patogen utama pada buah pisang yang menyebabkan penyakit antraknosa (Semangun, 2000; Peres *et al.*, 2002). Penyakit antraknosa ini terdapat pada semua negara produsen pisang (Ploetz *et al.*, 1994). Patogen yang menginfeksi sejak tanaman di lapangan akan bersifat laten di dalam kulit buah. Patogen akan aktif setelah buah memasuki proses pematangan. Perkembangan gejala penyakit antraknosa terjadi pada saat senyawa penghambat sudah rendah dan senyawa dalam cairan sel buah pisang sudah siap untuk dimanfaatkan oleh patogen (Baroroh *et al.*, 1998). Sebagai akibatnya, buah pisang yang terserang penyakit antraknosa daya simpannya menurun sehingga sulit untuk dipasarkan jarak jauh (Murtiningsih *et al.*, 1991).

Provinsi Bengkulu memiliki hasil produksi perikanan laut yang cukup besar, di antaranya kelompok kepiting, udang dan cumi-cumi dengan produksi berturut-turut 934 ton, 2056 ton, dan 778 ton pada tahun 2005 (Anonim, 2005). Dari proses pengolahan hasil perikanan di atas diperoleh limbah 25–75%. Dilaporkan bahwa dari limbah tulang cumi-cumi dapat diperoleh 8–10% kitosan (Takai *et al.*, 1989), dari kulit udang dapat diperoleh 15–30% kitosan (Rilda, 1995) dan dari cangkang kepiting dapat diperoleh 20–30% kitosan (Hirano, 1989). Wilson *et al.* (1994) menyatakan bahwa kitosan memiliki potensi yang besar sebagai pengawet yang bersifat anti jamur untuk buah dan sayuran. Aktivitas anti jamur dari khitosan berpotensi baik dalam perlindungan tanaman.

Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi dan mengkaraktisasi kitosan serta mengevaluasi potensi kitosan dalam menghambat pertumbuhan patogen antraknosa dari buah pisang.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikologi, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada. Penelitian dibagi dalam 3 tahap, yaitu ekstraksi kitosan, karakterisasi kitosan dan pengujian daya hambat kitosan terhadap patogen *C. musae* secara *in vitro*.

### Ekstraksi Kitosan

Cangkang kepiting, kulit udang dan tulang cumi-cumi dicuci bersih dan selanjutnya dikeringkan, kemudian limbah tersebut dihaluskan dan diayak. Selanjutnya tepung limbah diekstraksi dengan menggunakan metode Bastaman (1989 *cit. Adriana et al.*, 2001). Proses deproteinisasi dilakukan

dengan mencampurkan serbuk limbah ke dalam NaOH 3% dengan perbandingan 1:6 (b/v) dan dipanaskan dalam penangas air pada suhu 80–85°C selama 30 menit. Setelah itu, campuran didinginkan dan dipisahkan antara padatan dan cairannya dengan menggunakan saringan berukuran 90 mesh. Padatan kemudian dibilas dengan akuades dengan cara menyemprotkan akuades sebanyak 1 l. Demineralisasi dilakukan dengan mencampurkan serbuk limbah yang telah dideproteinisasi ke dalam HCl 1,25 N dengan perbandingan 1:10 (b/v) dan dipanaskan dalam penangas air pada suhu 70–75°C selama 1 jam. Setelah dingin, dipisahkan padatan dan cairannya dengan saringan 90 mesh. Padatan dibilas dengan akuades dengan cara sama seperti di atas. Dari proses ini diperoleh kitin. Selanjutnya pada kitin dilakukan proses deasetilasi, yaitu dengan mencampur kitin dengan NaOH 50% dengan perbandingan 1:10 (b/v) dan dipanaskan dalam penangas air pada suhu 95–100°C selama 30 menit. Setelah dingin, padatan dipisahkan dengan saringan 90 mesh dan dibilas dengan akuades. Selanjutnya padatan dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 24 jam.

### Karakterisasi Kitosan

Kitosan hasil ekstraksi diamati sifat-sifatnya sebagai berikut: bentuk, warna, bau, pH dan derajat deasetilasi. Bentuk, warna dan bau kitosan diamati secara visual, pH diamati dengan pH meter dan derajat deasetilasi diamati dengan menggunakan Spektrofotometri Infra Merah (*Fotometer Infra Red/FTIR*). Selanjutnya dari spektra FTIR dihitung tingkat kemurnian kitosan dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Domszy & Robert, 1985 *cit. Khan et al.*, 2002):

$$DD = 100 - [(A1655/A3450) \times 100/1,33]$$

di mana: DD = Derajat deasetilasi

A1655 = Absorbansi pita karbonil amida di sekitar 1655 cm<sup>-1</sup>

A3450 = Absorbansi pita hidroksi di sekitar 3450 cm<sup>-1</sup>

1,33 = Rasio absorpsi untuk kitin yang terdeasetilasi sempurna

### Uji Daya Hambat Kitosan terhadap Patogen *C. musae* secara *In Vitro*

Pengujian dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 2 faktor dan 5 ulangan. Faktor pertama adalah jenis kitosan, yang terdiri dari kitosan cangkang kepiting, kulit udang, tulang cumi-cumi dan kitosan produksi Sigma Chemical Co. sebagai pembanding. Faktor kedua adalah konsentrasi kitosan, yang terdiri dari 0, 5, 10, 15,

dan 20 mg/ml.

Larutan kitosan disiapkan dengan menggunakan metode El Ghaouth *et al.* (1992a). Ke dalam 10 ml medium PDA cair dicampurkan larutan kitosan 400 µl, digojok dan dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah medium padat, diletakkan potongan biakan murni *C. musae* umur 7 hari dengan diameter 6 mm di tengah medium. Selanjutnya cawan petri diinkubasi pada suhu ruangan.

Parameter yang diamati adalah luas koloni (diamati tiap hari hingga memenuhi cawan petri dengan area meter), warna koloni (diamati tiap hari), kerapatan dan ukuran konidia (diamati pada umur 7 hari dengan *haemocytometer* dan mikrometer), serta berat kering miselium (diamati pada umur 10 hari).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### *Kitosan Hasil Ekstraksi*

Kitosan dari cangkang kepiting, kulit udang dan tulang cumi-cumi memiliki warna yang sesuai dengan warna bahan asal limbah. Hal ini berbeda dengan kitosan produksi Sigma Chemical Co. yang berwarna putih, padahal kitosan ini diekstraksi dari cangkang kepiting. Diduga proses ekstraksi kitosan dari Sigma Chemical Co. menggunakan metode yang sedikit berbeda dengan metode Bastaman (1989 *cit. Adriana et al.*, 2001), berupa tahapan penghilangan warna dan penghilangan bau amis.

### *Karakterisasi Kitosan*

Kitosan hasil ekstraksi memiliki tekstur serpihan hingga bubuk halus, tidak berbau hingga berbau sedikit amis, pH berkisar 7,5 hingga 13,0 dan derajat deasetilasi 74,27 hingga 75,64% (Tabel 1).

Berdasarkan hasil spektra FTIR (Gambar 1) maka derajat deasetilasi kitosan dapat dihitung dengan rumus Domszy & Robert (1985 *cit. Khan et al.*, 2002). Hasil perhitungan menunjukkan bahwa semua jenis kitosan memiliki derajat deasetilasi yang hampir sama, yaitu antara 74,27–75,64%. Ini berarti bahwa tingkat kemurnian dari semua jenis kitosan di atas hampir sama, baik antara kitosan hasil ekstraksi sendiri yang berasal dari cangkang kepiting, kulit udang dan tulang cumi-cumi dan yang diproduksi oleh Sigma Chemical Co. Diharapkan dengan tingkat kemurnian yang hampir sama, semua jenis kitosan akan memiliki daya penghambatan yang sama pula terhadap jamur patogen.

Adriana *et al.* (2001) menyatakan bahwa proses deasetilasi menyebabkan kitosan mengandung gugus amina dan hidroksil yang

memiliki reaktivitas kimia tinggi. Gugus amina dapat segera digunakan dalam reaksi-reaksi kimia membentuk garam dan asam, misalnya dengan kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), natrium ( $\text{Na}^+$ ) dan beberapa unsur lainnya (Sanford, 1989).

### *Uji Daya Hambat Kitosan terhadap Patogen C. musae secara In Vitro*

Perlakuan jenis kitosan hanya berpengaruh nyata pada awal pertumbuhan koloni, yaitu pada pertambahan luas koloni hari ke 0–1 dan hari ke 1–2. Selanjutnya jenis kitosan tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur hingga ke pertumbuhan generatifnya (sporulasi). Namun, perlakuan konsentrasi kitosan berpengaruh nyata pada semua parameter pengamatan. Hampir pada semua parameter pengamatan tidak ada interaksi antara jenis dan konsentrasi kitosan (Tabel 2).

Hasil uji lanjut terhadap perlakuan jenis kitosan menunjukkan bahwa kitosan asal cangkang kepiting paling baik dalam menghambat pertambahan luas koloni hari 0–1 dan 1–2, terlihat dari paling kecilnya pertambahan luas koloni pada perlakuan tersebut (Tabel 3). Hal ini berarti kitosan cangkang kepiting paling baik dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. musae*.

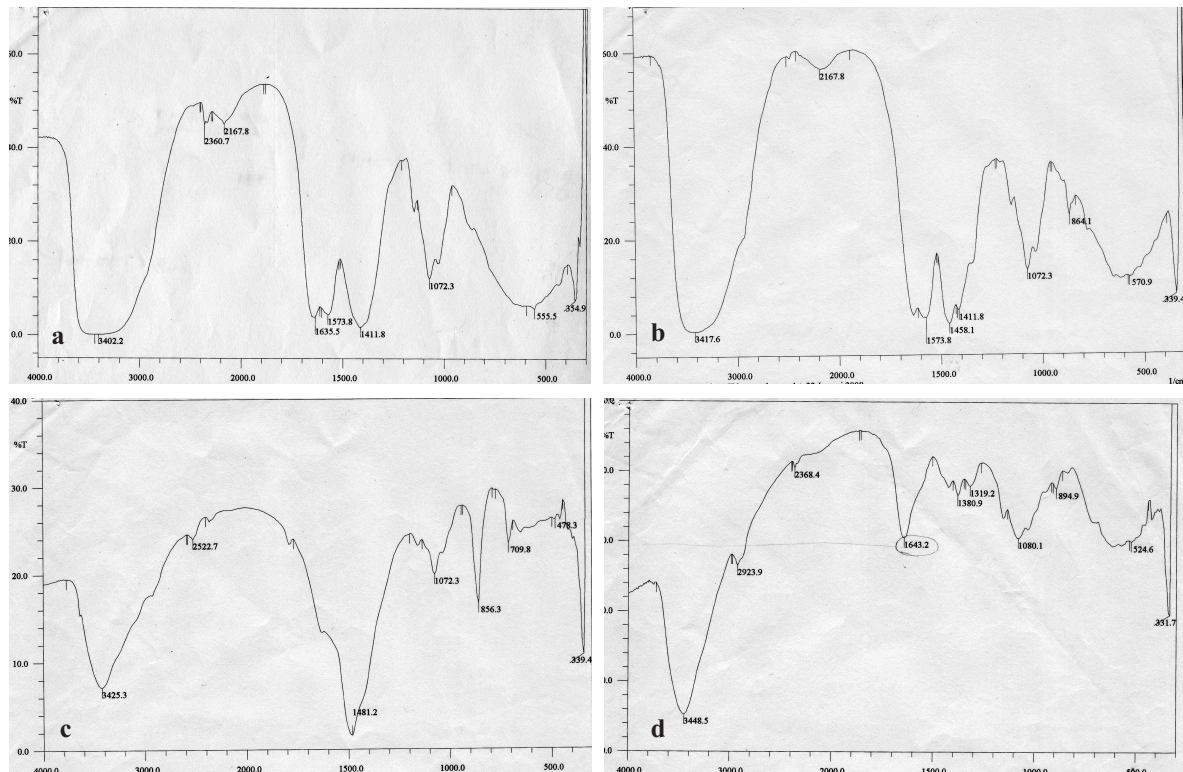
Tabel 4 menunjukkan bahwa pemberian kitosan pada konsentrasi yang berbeda dapat menghambat pertumbuhan vegetatif maupun generatif jamur patogen. Besarnya persentase penghambatan kitosan bervariasi tergantung konsentrasi kitosan yang diberikan. Namun secara umum terlihat bahwa pemberian kitosan 20 mg/ml memberikan efek penghambatan yang terbesar. Penghambatan pertambahan luas koloni terjadi paling besar pada hari ke 2–3 yaitu sebesar 81,20%. Kerapatan konidia, panjang dan ukuran konidia terhambat hingga berturut-turut 46,5%; 10,71%; dan 19,4%. Sementara itu berat kering miselium patogen terhambat hingga 59,46%.

Penghambatan pertumbuhan jamur patogen oleh kitosan di atas dikarenakan kitosan bersifat fungisidal. El Ghaouth *et al.* (1992a) melaporkan bahwa kitosan menghambat pertumbuhan *in vitro* dari kebanyakan patogen pascapanen. Kitosan juga dilaporkan menghambat proliferasi *Botrytis cinerea*, menyebabkan kerusakan jamur dan merangsang perubahan seluler pada *Rhizopus stolonifer* dan *B. cinerea* (El Ghaouth *et al.*, 1992a; El Ghaouth *et al.*, 1992b). Perlakuan kitosan dilaporkan pula dapat menyebabkan hifa patogen mengalami disorganisasi seluler yang berkisar dari terurainya dinding sel sampai disintegrasi sitoplasma (Wilson *et al.*, 1994). Namun demikian, mekanisme kerja



Tabel 1. Karakterisasi kitosan

Karakter	Asal Kitosan			
	Cangkang Kepiting	Kulit Udang	Tulang Cumi-cumi	Sigma Chemical Co.
Warna	Kuning kecoklatan	Kecoklatan	Putih kecoklatan	Putih kekuningan
Tekstur	Bubuk halus	Bubuk halus	Serpihan	Serpihan
Aroma	Berbau sedikit	Berbau	Tidak berbau	Tidak berbau
pH	13,0	13,0	12,0	7,5
Derajat Deasetilisasi	75,64%	75,64%	74,92%	74,27%



Gambar 1. Spektra FTIR kitosan asal cangkang kepiting (a), kulit udang (b), tulang cumi-cumi (c), dan kitosan Sigma Chemical Co. (d)

Tabel 2. Ringkasan ANOVA pengaruh asal bahan dan konsentrasi kitosan terhadap pertumbuhan *C. musae*

Parameter	Jenis	Konsentrasi	Jenis x Konsentrasi
Pertambahan LK 0-1 hari	**	**	ns
Pertambahan LK 1-2 hari	**	**	**
Pertambahan LK 2-3 hari	ns	**	ns
Kerapatan Konidia	ns	**	ns
Panjang Konidia	ns	**	ns
Lebar Konidia	ns	**	ns
Berat Kering Miselium	ns	**	ns

Keterangan: \*\* = berbeda nyata, ns = tidak berbeda nyata

antifungal kitosan belum diketahui secara lengkap. Leuba & Stossel (1992 *cit.* El Ghaouth *et al.*, 1992a) menyatakan bahwa aktivitas antifungal kitosan terkait erat dengan kemampuannya dalam mengganggu fungsi plasma membran jamur.

Sementara itu, Hadwiger & Locchke (1992 *cit.* El Ghaouth *et al.*, 1992a) menyatakan bahwa interaksi antara kitosan dengan DNA dan mRNA jamur merupakan dasar dari aktivitas antifungal (El Ghaouth *et al.*, 1992a).



Tabel 3. Pengaruh jenis kitosan terhadap pertumbuhan *C. musae*

Jenis Kitosan	Pertambahan LK 0-1 (cm <sup>2</sup> )	Pertambahan LK 1-2 (cm <sup>2</sup> )
Kepiting	3,35 a	2,78 a
Kulit Udang	3,46 a	3,58 b
Tulang cumi	4,49 b	4,36 c
Sigma	4,11 b	4,31 c

Tabel 4. Pengaruh konsentrasi kitosan terhadap pertumbuhan *C. musae*

Konsentrasi (mg/ml)	LK0-1 (cm <sup>2</sup> )	LK1-2 (cm <sup>2</sup> )	LK2-3 (cm <sup>2</sup> )	KK (x10 <sup>7</sup> /ml)	PK (µm)	LK (µm)	BK (g)
0	5,44a	5,56a	9,58 a	5,10 a	13,00 ab	3,99 a	0,30 a
5	3,31b	3,36bc	2,53 c	4,34 ab	13,17 a	3,72 b	0,23 b
10	3,36b	2,83c	2,06 bc	3,66 bc	12,66 b	3,59 b	0,20 b
15	3,48b	3,85b	2,10 bc	3,28 cd	11,92 c	3,37 c	0,19 b
20	3,69b	3,22bc	1,80 b	2,73 d	11,61 c	3,22 d	0,12 c

Keterangan: LK = luas koloni, KK = kerapatan konidia, PK = panjang konidia, LK = lebar konidia, BK = berat kering miselium

Berdasarkan pada hasil penelitian ini, maka perlu dilakukan pengamatan tentang mekanisme kerja kitosan terhadap jamur *C. musae*. Selain itu, perlu dilakukan uji daya penghambatan kitosan terhadap jamur patogen pada buah pisang. Diharapkan pemberian kitosan akan mampu menghambat masa inkubasi dan menurunkan keparahan penyakit antraknosa pada buah pisang. Hal ini sesuai dengan pendapat Wilson *et al.* (1994) yang menyatakan bahwa kitosan memiliki potensi yang besar sebagai pengawet yang bersifat anti jamur untuk buah dan sayuran. Aktivitas anti jamur dari kitosan berpotensi baik dalam perlindungan tanaman.

## KESIMPULAN

Kitosan memiliki tekstur serpihan hingga tepung dengan warna putih hingga kecoklatan, dan sedikit berbau amis dengan tingkat keasaman kitosan berkisar 7,5–13. Semua jenis kitosan memiliki tingkat kemurnian (DD) yang hampir sama, yaitu 74,27–75,64%. Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa jenis kitosan hanya berpengaruh nyata pada awal pertumbuhan, tetapi tidak berpengaruh nyata pada kerapatan dan ukuran konidia, serta berat kering miselium jamur patogen. Kitosan cangkang kepiting paling baik dalam menghambat pertumbuhan awal patogen. Perlakuan konsentrasi kitosan berpengaruh sangat nyata terhadap semua parameter di atas. Pemberian kitosan pada konsentrasi 20 mg/ml mampu menghambat luas koloni patogen hingga 81,20%; kerapatan konidia hingga 46,5%; ukuran konidia hingga 19,4%; dan berat kering miselium hingga 59,46%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Narsito dari FMIPA UGM yang telah membantu identifikasi kitosan dengan sinar inframerah. Artikel ini dipersiapkan untuk disampaikan pada Kongres PFI tahun 2009 di Makassar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adriana A., Mudjiajati, E. Selvy, & V. Setijawati. 2001. Adsorbs Cr (IV) dengan Adsorben Kitosan. *Kimia Lingkungan 3*: 31–36.
- Anonim. 2005. *Laporan Statistik Perikanan Tangkap Tahun 2005*. p. 8–9. Dinas Kelautan dan Perikanan Bengkulu, Bengkulu.
- Bastaman, S. 1989. *Studies on Degradation and Extraction of Chitin and Chitosan from Prawn Shell*. The Queen's University of Belfast, England. 460 p.
- Baroroh, I., T. Martoredjo, & Y.M.S. Maryudani. 1998. Kajian Ekstrak Tanaman untuk Pengendalian Penyakit Antraknos pada Pisang, p. 64–70. Seminar Nasional IV PFI, Surakarta, 5 Desember 1998.
- El Ghaouth, A., J. Arul, J. Grainer, & A. Asselin. 1992a. Antifungal Activity of Chitosan on Two Postharvest Pathogens on Strawberry Fruits. *Phytopathology 82*: 398–402.
- El Ghaouth, A., J. Arul, & A. Asselin. 1992b. Potential Use of Chitosan in Postharvest Preservation of Fruit and Vegetable, p. 440–452. In J.B. Brines, P.A. Sandford, & J.P. Zikakis (eds.), *Advances in Chitin and Chitosan*. Elsevier Applied Science, London.

- Hirano, S. 1989. Production and Application of Chitin and Chitosan in Japan, p. 37–43. In G. Skjak-braek, T. Antoren, & P. Sanford (eds), *Chitin and Chitosan*. Elsevier Applied Science, London.
- Khan, T.A., K.P. Kok & S.C. Hung. 2002. Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan: the Influence of Analytical Methods. *Journal Pharmacy Pharmaceutical Sciences* 5: 205–212.
- Murtiningsih, W., Yulianingsih, & I. Muhajir. 1991. Penyakit Pasca Panen pada Buah Pisang Raja Sere, Emas, dan Lampung serta Pengendaliannya. *Hortikultura* 3: 35–38.
- Ploetz, R.C., G.A. Zentmyer, W.T. Nishijima, K.G. Rohrbach, & H.D. Ohr. 1994. *Compendium of Tropical Fruit Diseases*. APS Press, Minnesota, USA. 88 p.
- Peres, N.A.R., E.K. Eiko, S.C.D. Mario, & L.D. Nilton. 2002. Identification and Characterization of *Colletotrichum* spp. Affecting Fruit after Harvest in Brazil. *Journal of Phytopathology* 150: 128–134.
- Rilda, Y. 1995. Karakteristik Khitin dan Khitosan dari Limbah Udang. *Penelitian I* (14): 50–55.
- Sanford, P.A. 1989. Chitosan Commercial Uses and Potential Application, p. 51–69. In G. Skjak-braek, T. Antoren, & P. Sanford (eds.), *Chitin and Chitosan*. Elsevier Applied Science, London.
- Semangun, H. 2000. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 850 p
- Takai, M., Y. Shimizu, & J. Hayashi. 1989. Physical Properties of Chitin Sheet From Loligo Pen. p. 475–477. In G. Skjak-braek, T. Antoren, & P. Sanford (eds.), *Chitin and Chitosan*. Elsevier Applied Science, London.
- Wilson, C.L., A. El Ghaouth, E. Chalutz, S. Droby, C. Stevens, Y. Lu, V. Khan, & J. Arul. 1994. Potential of Induced Resistance to Control Post-harvest Diseases of Fruit and Vegetables. *Plant Disease* 78: 837–844.