

UJI KEMAMPUAN EKSTRAK DAUN BEBERAPA JENIS SIRIH (*Piper* sp.) UNTUK MENGENDALIKAN JAMUR *ASPERGILLUS* SP. PADA BENIH KACANG TANAH SECARA IN VITRO

Nela Zahara^{1*}, Muhammad Ali², Fifi Puspita²

¹Program Studi Perlindungan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Bengkulu

²Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Riau

*corresponding author: nzahara@unib.ac.id

ABSTRACT

Natural fungicides are fungicides made from natural ingredients that are widely available in nature. One of the plants that can be used as a vegetable fungicide include several species of betel plants such as forest betel (*Piper aduncum* L.), red betel (*Piper crocatum* L.) and green betel (*Piper betle* L.). The use of several betel extracts can be used as an effective and efficient alternative control. This study aims to obtain the type of betel extract which has the potential as a vegetable fungicide that is able to control the fungus *Aspergillus* sp. The stages of this study consisted of the isolation of *Aspergillus* sp., Extraction and inhibition test of several betel extracts against the fungus *Aspergillus* sp., Seed treatment test with extracts of several types of betel. Based on research results giving green betel leaf extract, forest betel and red betel can inhibit the growth of the fungus *Aspergillus* sp. With the percentage of inhibition of 32.08%, 37.53% and 33.03% respectively. Giving betel leaf extract green, betel forest and red betel also can reduce the percentage of *Aspergillus* sp. amounted to 19.60%, 19.20% and 18.80% when compared to controls without administration of betel leaf extract. Application of several types of betel leaf extract and without betel leaf extract both produce a high percentage of normal sprouts (> 80%).

Keywords: *Aspergillus* sp., Betel leaf, vegetable fungicide, red betel, forest betel

ABSTRAK

Fungisida nabati adalah fungisida yang terbuat dari bahan-bahan alami yang banyak tersedia dia alam. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai fungisida nabati antara lain yaitu beberapa spesies dari tanaman sirih seperti sirih hutan (*Piper aduncum* L.), sirih merah (*Piper crocatum* L.) dan sirih hijau (*Piper betle* L.). Penggunaan ekstrak beberapa jenis sirih ini dapat dijadikan alternatif pengendalian yang efektif dan efisien. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan jenis ekstrak sirih yang berpotensi sebagai fungisida nabati yang mampu mengendalikan jamur *Aspergillus* sp. Tahapan penelitian ini terdiri atas isolasi *Aspergillus* sp., ekstraksi dan uji penghambatan ekstrak beberapa jenis sirih terhadap jamur *Aspergillus* sp., uji perlakuan benih dengan ekstrak beberapa jenis sirih. Berdasarkan hasil penelitian pemberian ekstrak daun sirih hijau, sirih hutan dan sirih merah dapat menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp. Dengan persentase penghambatan sebesar 32,08%, 37,53% dan 33,03% secara berurutan. Pemberian ekstrak daun sirih hijau, sirih hutan dan sirih merah juga mampu menurunkan persentase infeksi serangan jamur *Aspergillus* sp. sebesar 19,60%, 19,20% dan 18,80% jika dibandingkan dengan kontrol tanpa pemberian ekstrak daun sirih. Pemberian ekstrak daun beberapa jenis sirih dan tanpa ekstrak daun sirih sama-sama menghasilkan persentase kecambah normal yang tinggi (>80%).

Kata Kunci: *Aspergillus* sp., daun sirih, fungisida nabati, sirih merah, sirih hutan

PENDAHULUAN

Jamur terbawa benih kacang tanah seperti *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. tamari*, *A. terreus*, *A. fumigatus*, *A. nidulans*, *A. culmorum*, *Fusarium moniliforme*, *Aureobasidium pullulans*, *Penicillium chrysogenum*, *P. citrinum* dan *Cladosporium* spp. termasuk kelompok jamur yang memiliki toksin yang berbahaya bagi pencernaan manusia dan hewan ternak (Ibiam dan Egwu, 2011). *Aspergillus* sp. memiliki karakteristik koloni berwarna hijau kekuningan, konidiofor berwarna hialin, kasar dan dapat mencapai panjang 1 mm. Jamur ini memiliki vesikula yang berbentuk bulat hingga semi bulat dan filidnya terbentuk langsung pada vesikula. Konidianya berbentuk bulat atau semi bulat berwarna hijau pucat dan berduri. Sklerotianya sering terbentuk pada koloni baru dengan ukuran bervariasi dan berwarna coklat hingga hitam (Gandjar *et al.*, 2000).

Penyakit terbawa benih memiliki arti penting karena merugikan secara kualitas maupun kuantitas terhadap produksi tanaman ataupun industri makanan berbahan baku biji dan Infeksi dari jamur terbawa benih dapat menyebabkan terjadinya perubahan biokimia dari benih, pembusukan benih, penurunan daya kecambah dan kecambah tumbuh tidak normal sehingga pertumbuhan dan produksi tanaman selanjutnya menjadi tidak baik (Rahayu, 2016). Oleh karena itu, perlu adanya tindakan pengendalian yang tepat agar benih terbebas dari infeksi jamur terbawa

benih dan tanaman dapat tumbuh dengan baik dan memberikan hasil yang maksimal.

Pengendalian yang selama ini dilakukan terhadap jamur terbawa benih adalah menggunakan fungisida sintesis karena dianggap memberikan pengaruh yang lebih efektif dan lebih cepat. Berdasarkan hasil penelitian Suhartono (2014) penggunaan pestisida sintetik secara terus menerus dalam jangka waktu yang lama, dapat memberikan dampak negatif terhadap lingkungan dan menimbulkan gangguan kesehatan bagi manusia, terutama petani. Oleh karena itu, diperlukan suatu alternatif pengendalian yang lebih ramah lingkungan yaitu dengan penggunaan fungisida nabati.

Fungisida nabati berasal dari tumbuh-tumbuhan yang diproses dalam bentuk ekstrak atau dibuat menjadi konsentrat namun tidak mengubah struktur kimia, sehingga residu fungisida nabati lebih cepat terurai. Tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai fungisida nabati antara lain yaitu beberapa spesies dari tanaman sirih seperti sirih hutan (*Piper aduncum* L.), sirih merah (*Piper crocatum* L.) dan sirih hijau (*Piper betle* L.). Daun sirih mengandung beberapa senyawa seperti minyak atsiri yang terdiri dari alilcatekol, kadinen, karvakrol, kariofile, kavibetol, sineol, estragol, eugenol, eugenol metileter dan pirokatekin. Senyawa-senyawa tersebut bersifat antijamur karena dapat menghambat

pertumbuhan jamur dan menyebabkan spora jamur gagal berkecambah (Suliantari, 2009).

Nazmul *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa ekstrak daun *P. betle* dan *P. aduncum* dapat menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dengan daya hambat sebesar 83,33% dan 50%. Zainal (2010) melaporkan bahwa dari beberapa ekstrak tumbuhan yang telah diuji sebagai fungisida nabati, daun sirih hutan memiliki daya hambat yang cukup tinggi untuk mengendalikan penyakit tanaman.

METODE

Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dan disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 5 ulangan, sehingga diperoleh 20 unit penelitian. Perlakuan yang diberikan adalah ekstrak daun dari beberapa jenis sirih (S) pada konsentrasi 30% sebagai berikut :

S₀ = tanpa ekstrak daun sirih

S₁ = ekstrak daun sirih hijau

S₂ = ekstrak daun sirih hutan

S₃ = ekstrak daun sirih merah

Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam dan diuji lanjut dengan Uji berganda Duncan (DNMRT) pada taraf 5%. Model linier dari analisis ragam yang digunakan adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Hasil pengamatan pada satu unit percobaan pada perlakuan ekstrak daun sirih ke-i ulangan ke-j

μ = Nilai tengah umum

α_i = Pengaruh perlakuan ekstrak daun beberapa jenis sirih

ε_{ij} = Galat percobaan pada perlakuan ekstrak daun sirih ke-i dan ulangan ke-j

Isolasi dan identifikasi jamur patogen terbawa benih

Isolasi jamur *Aspergillus* sp. dilakukan dengan metode penanaman benih pada medium Potato Dextrose Agar (PDA), sebanyak 5 benih kacang tanah disusun dalam cawan Petri yang berisi 20 ml medium PDA steril. dan diinkubasi pada suhu ± 27°C selama 3 hari. Pengamatan dan identifikasi dilakukan terhadap jamur *Aspergillus* sp. yang tumbuh secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi terhadap jamur tular benih kacang tanah didasarkan pada Barnett dan Hunter. (1972) dan Gandjar *et al.* (2000)

Pembuatan ekstrak daun sirih

Ekstrak daun dari masing-masing jenis sirih dengan konsentrasi 100 % dibuat dari 600 g daun sirih segar, yang telah dicuci dengan air mengalir dan dipotong-potong, lalu ditambahkan 600 ml aquades dan dihaluskan dengan *blender*. Ekstrak kasar ini disaring dengan menggunakan dua lapis kain kasa dan kemudian dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* lalu ditutup dengan *aluminium foil*.

Uji daya hambat ekstrak daun dari beberapa jenis sirih terhadap jamur *Aspergillus* sp. membutuhkan sebanyak 60 ml ekstrak daun sirih, sedangkan uji ekstrak daun beberapa jenis sirih pada benih kacang tanah membutuhkan sebanyak 150 ml. Pengujian pada medium kertas stensil

membutuhkan 300 ml ekstrak daun sirih dan 90 ml masing-masing ekstrak daun sirih sebagai cadangan.

Uji daya hambat ekstrak daun beberapa jenis sirih secara *in-vitro* terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp.

Penelitian ini dilakukan dengan menumbuhkan isolat murni jamur *Aspergillus* sp. pada medium PDA yang telah dicampur dengan ekstrak daun sirih (sesuai dengan perlakuan) pada konsentrasi 30%. Isolat murni jamur *Aspergillus* sp. yang digunakan untuk pengujian, diambil dengan *cork borer* berdiameter 5 mm lalu dikulturkan pada bagian tengah media PDA steril yang telah diberi perlakuan ekstrak daun sirih. Isolat jamur selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar ± 27 °C selama 7 hari. Pertumbuhan koloni jamur diamati setiap hari hingga koloni pada perlakuan tanpa pemberian ekstrak sirih (S0) telah memenuhi cawan petri (Zainal *et al.*, 2010).

Pengujian pada medium PDA

Benih kacang tanah yang sudah diperlakukan dengan beberapa jenis ekstrak daun sirih disusun secara teratur dalam cawan petri berisi medium PDA steril masing-masing sebanyak 5 butir per cawan petri dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu kamar selama 7 hari. Masing-masing ulangan terdiri dari 10 cawan petri. Pengamatan, identifikasi dan perhitungan persentase infeksi jamur patogen pada benih kacang tanah dilakukan pada hari keempat setelah inkubasi.

Pengujian pada medium kertas stensil

Pengujian ini dilakukan dengan mengecambahkan benih kacang tanah yang telah diberi perlakuan pada medium kertas stensil steril dalam baki perkecambahan. Baki perkecambahan yang telah berisi benih dimasukkan ke dalam *germinator* datar dan diinkubasi selama 11 hari. Pengamatan terhadap kecambah normal dan penghitungan persentase daya kecambah benih dilakukan setiap 2 hari sekali, mulai hari ke 2 hingga hari ke-11 setelah benih dikecambahkan.

Pengamatan

Daya hambat ekstrak daun sirih secara *in-vitro* terhadap jamur *Aspergillus* sp. (%)

Daya hambat ekstrak daun sirih secara *in-vitro* terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp. Penghitungan diameter koloni dilakukan dengan cara membuat garis vertikal dan horizontal berpotongan tepat pada titik tengah koloni jamur di bagian atas dari cawan petri. Perhitungan diameter koloni pada cawan petri berdasarkan rumus berikut:

$$D = \frac{d_1 + d_2}{2}$$

Keterangan :

D= diameter jamur

d_1 = diameter vertikal koloni jamur pada cawan petri

d_2 = diameter horizontal koloni jamur pada cawan petri

Hasil penghitungan diameter digunakan untuk penghitungan persentase daya hambat yang dihitung dengan rumus berikut (Aisyah, 2007) :

$$D = \frac{D1-D2}{D1} \times 100\%$$

Keterangan :

D = Daya Hambat (%)

D1 = Diameter koloni jamur pada medium PDA tanpa ekstrak daun sirih (mm)

D2= Diameter koloni jamur pada medium PDA dengan ekstrak daun sirih (mm)

Persentase infeksi jamur patogen pada benih kacang tanah (%) setelah diberi ekstrak daun sirih

Pengamatan dilakukan pada benih kacang tanah setelah diinkubasi selama 3-5 hari.

Persentasi infeksi dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Persentase Infeksi} = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

a = jumlah benih yang terinfeksi

b = jumlah benih yang ditanam

Persentase kecambah normal (%)

Persentase kecambah normal dihitung untuk mengetahui kemampuan benih menghasilkan kecambah normal setelah diberi perlakuan ekstrak daun sirih. Pengamatan terhadap kecambah normal dilakukan mulai pada hari ke-4 setelah benih dikecambahkan sampai hari ke-11 dengan interval pengamatan 2 hari sekali. Cara pengamatan yaitu dengan menjumlahkan seluruh benih yang telah berkecambah normal, kemudian ditentukan persentase daya kecambahnya dengan rumus menurut Kamil (1982) sebagai berikut:

$$\text{Daya kecambah normal} = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

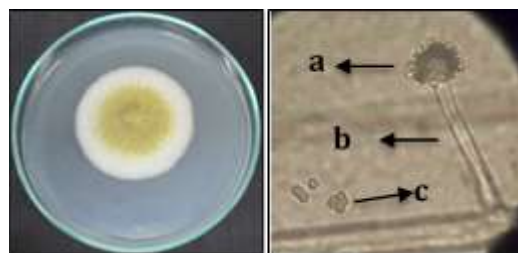
n= jumlah benih berkecambah normal

N= jumlah benih yang dikecambahkan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Jamur *Aspergillus* sp. yang diisolasi dengan metode *blotter test*, memiliki morfologi koloni agak kasar, berwarna kuning kehijauan, arah pertumbuhan kesamping dan keatas. karakteristik mikroskopiknya memiliki konodiofor hialin dan konodia berwarna hitam (Gambar 1).



Gambar 1(A)

Gambar 1(B)

Gambar 1. (A) Jamur *Aspergillus* sp. tampak dari depan; (B) Karakteristik mikroskopis *Aspergillus* sp. (a) konidium; (b) konidiofor; (c) konidia (perbesaran 200x).

Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih secara *in-vitro* Terhadap Pertumbuhan Jamur *Aspergillus* sp. (%)

Pemberian ekstrak beberapa jenis daun sirih memberikan pengaruh nyata terhadap rerata daya hambat pertumbuhan koloni jamur *Aspergillus* sp. setelah dilakukan analisis ragam. Hasil uji lanjut DNMRT pada taraf 5% dapat dilihat pada Tabel berikut :

Tabel 1. Daya hambat ekstrak daun sirih secara *in vitro* terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp. (%)

Jenis Sirih	Rerata Daya Hambat Terhadap Jamur (%) <i>Aspergillus</i> sp.
Tanpa ekstrak daun sirih (S0)	0,00 a

Ekstrak daun sirih hijau (S1)	32,08 b
Ekstrak daun sirih hutan (S2)	37,53 b
Ekstrak daun sirih merah (S3)	33,03b

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama adalah berbeda nyata menurut hasil uji DNMRT pada taraf 5% setelah data ditransformasi $\sqrt{p+1/4}$

Tabel 1 menunjukkan bahwa daya hambat ketiga ekstrak daun sirih terlihat mampu menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus* sp. dibandingkan dengan control. Jamur *Aspergillus* sp. menghasilkan konidia untuk berkembang biaknya. Ekstrak sirih yang diberikan diduga berdifusi kedalam spora *Aspergillus* sp. dan mengganggu aktifitas metabolismenya sehingga menyebabkan konidia gagal bersporulasi yang berdampak pada gagalnya pertumbuhan koloni jamur *Aspergillus* sp. Penelitian ini juga dibuktikan oleh Trisnawati, dkk (2019) bahwa ekstrak sirih dengan konsentrasi 10% mampu menghambat pertumbuhan jamur *Colletotricum acuntatum* pada cabai pascapanen sebesar 46.63%.

Kemampuan daya hambat dari ketiga jenis daun sirih terhadap jamur *Aspergillus* sp. dapat disebabkan karena kandungan daun sirih mengandung minyak atsiri yang terdiri dari senyawa fenol, terutama eugenol yang bersifat antijamur, senyawa antijamur tersebut antara lain Alilkatekol 2,7–4,6%, Kadinen 6,7–9,1 %, Karvakrol 2,2–4,8%, Kariofilen 6,2–11,9%, Kavibetol 0,0–1,2%, Sineol 3,6–6,2%, Estragol 7–14,6%, Eugenol 26,8–42,5%, Eugenol metileter

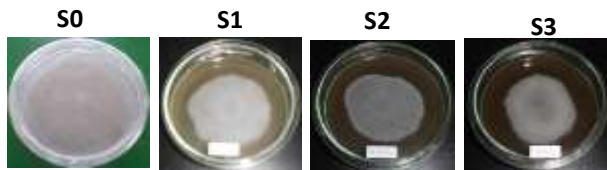
8,2–15,8 %, dan Pirokatekin (Suliantari, 2009). Semangun (2006) menambahkan bahwa terganggunya metabolisme sel akan berdampak pada pertumbuhan koloni suatu jamur. Hal tersebut terlihat pada tabel 2 bahwa pemberian ekstrak daun ketiga jenis sirih dapat memperkecil diameter koloni *Aspergillus* sp. sebagai berikut :

Tabel 2. Rerata diameter koloni jamur *Aspergillus* sp. pada medium PDA dengan perlakuan ekstrak daun beberapa jenis sirih setelah diinkubasi 7 hari.

Jenis Sirih	Rerata Diameter Koloni Jamur <i>Aspergillus</i> sp. (mm)
(S0)	81,00
(S1)	54,80
(S2)	50,70
(S3)	53,80

Kemampuan antimikroba dari minyak atsiri ditunjukkan dari penurunan diameter koloni jamur pada medium yang diberi ekstrak daun sirih dengan rerata diameter koloni jamur yang lebih kecil dibandingkan dengan tanpa perlakuan ekstrak daun sirih. Pelzcar dan Chan (2006) menjelaskan bahwa mekanisme kerja zat antimikroba terhadap pertumbuhan jamur ada beberapa kemungkinan, yaitu (1) merusak dinding sel, (2) denaturasi protein, (3) mengubah permeabilitas membran, dan (4) menghambat sintesis asam nukleat dan protein. Melalui mekanisme tersebut, minyak atsiri yang terkandung dalam daun sirih bekerja melalui perusakan dinding sel yang mengakibatkan lisis, menghambat pembentukan dinding sel, mengganggu permeabilitas membran sitoplasma yang

menyebabkan kebocoran nutrisi dari dalam sel, mendenaturasi protein sel dan merusak sistem metabolisme di dalam sel dengan menghambat kerja enzim intraseluler.



Keterangan : Diameter jamur *Aspergillus* sp. (S0) Tanpa pemberian ekstrak daun sirih; (S1) Pemberian ekstrak daun sirih hijau; (S2) Pemberian ekstrak daun sirih hutan; (S3) Pemberian ekstrak daun sirih merah.

Persentase infeksi jamur *Aspergillus* sp. (%) setelah diberi ekstrak daun sirih

Pemberian ekstrak daun beberapa jenis sirih memberikan pengaruh nyata terhadap rerata persentase infeksi jamur *Aspergillus* sp. pada benih kacang tanah setelah dilakukan analisis ragam. Data uji lanjut DNMRT pada taraf 5% dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase infeksi jamur patogen pada benih kacang tanah (%) setelah diberi ekstrak daun sirih dengan masa inkubasi 7 hari.

Jenis Sirih	Rerata Persentase Infeksi Jamur (%) <i>Aspergillus</i> sp.
(S0)	45,60 a
(S1)	26,00 b
(S2)	26,40 b
(S3)	26,80 b

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama adalah berbeda nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5% setelah data ditransformasi $\text{arc sin } \sqrt{p}$

Tabel 3 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun beberapa jenis sirih berbeda nyata dengan tanpa ekstrak namun berbeda tidak nyata antar sesamanya terhadap persentase infeksi jamur *Aspergillus* sp. pada benih kacang tanah. Hal ini

dapat disebabkan karena kadar minyak atsiri dari ketiga jenis sirih tersebut relatif sama sehingga memiliki kemampuan fungisidal yang relatif sama dalam mengendalikan jamur *Aspergillus* sp. Kemampuan ketiga ekstrak sirih juga didukung oleh daya hambat ketiganya terhadap jamur *Aspergillus* sp. yang terlihat pada Tabel 2, dimana ekstrak daun sirih mampu menghambat jamur *Aspergillus* sp. 32,08-37,53%.

Senyawa antimikroba dalam ketiga ekstrak daun sirih diduga dapat bekerja secara protektan dan sistemik. Hal ini sirih akan bekerja secara protektan dengan menempel pada permukaan benih dan secara sistemik dengan menyerap ke dalam benih. Senyawa antimikroba dari ekstrak sirih yang kontak dengan sel dan spora jamur akan menyebabkan perubahan struktur protein dinding sel dan selanjutnya mengakibatkan terganggunya mekanisme permeabilitas membran sel. Saraswati (2011) menjelaskan bahwa kerusakan dinding sel dan perubahan permeabilitas sel akibat minyak atsiri daun sirih akan menyebabkan sel mikroba menjadi rusak atau lisis.

Persentase Daya Kecambah Benih Kacang Tanah pada Kertas Stensil (%) setelah Aplikasi Ekstrak Beberapa Jenis Daun Sirih

Pemberian ekstrak daun beberapa jenis sirih memberikan pengaruh tidak nyata terhadap rerata persentase daya kecambah

benih kacang tanah pada kertas tensil dapat dilihat pada Tabel.

Tabel 4. Persentase daya kecambah benih kacang tanah pada kertas stensil setelah aplikasi ekstrak beberapa jenis daun sirih dengan masa inkubasi 11 hari.

Jenis Sirih	Rerata Daya Kecambah Benih Kacang Tanah (%)
(S0)	91,20
(S1)	90.20
(S2)	91.80
(S3)	83.00

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang tidak sama adalah berbeda nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5% setelah data ditransformasi $\text{arc sin } \sqrt{p}$

Tabel 4 menunjukkan bahwa pemberian beberapa jenis ekstrak daun sirih berbeda tidak nyata sesamanya terhadap daya kecambah benih kacang tanah. Hal ini diduga karena benih kacang tanah yang digunakan adalah benih yang memiliki daya kecambah yang baik yang tampak pada daya kecambah benih tanpa pemberian ekstrak daun sirih maupun dengan pemberian ekstrak daun beberapa jenis sirih yang tinggi yakni berkisar antara 83,00-91,80%.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak daun sirih hijau, sirih hutan dan sirih merah dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen secara *in vitro* terhadap jamur *Aspergillus* sp. (masing-masingnya sebesar 32,08%, 37,53% dan 33,03%), serta dapat menurunkan persentase infeksi (masing-masingnya sebesar 19,60%, 19,20% dan 18,80%) dan Pemberian ekstrak daun beberapa jenis sirih sama-sama menghasilkan persentase kecambah normal yang tinggi (>80%).

SARAN

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi yang lebih tepat untuk masing-masing ekstrak daun beberapa jenis sirih dalam mengendalikan jamur *Aspergillus* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Aisyah, S. 2007. *Pengujian Aktivitas Ekstrak Daun Sirih (Piper betle Linn.) terhadap *Ptyhium* sp. Penyebab Penyakit Lodoh Pada Persemaian Pinus (*Pinus merkusii* Jungh et de Vriese) secara in-vitro.* Skripsi Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Gandjar, I., R.A. Samson, K.V.D. Tweel-Vermeulen, A. Oetari dan I. Santoso. 2000. *Pengenalan Kapang Tropik Umum.* Edisi Pertama. Yayasan Pustaka Obor Indonesia. Depok.
- Horn, W.B., R. B. Sorensen, M. C. Lamb, V. S. Sobolev, R.A. Olarte, C. J. Worthington, and L. Carbone. 2014. Sexual Reproduction in *Aspergillus flafus* Sclerotia Naturally Produced in Corn. *The American Phytopathological Society.* 104.(1): 75-85.
- Nazmul, M.H., M. Salmah, Syahid dan Mahmood. 2011. In-vitro Screening Of Antifungal Activity of Plants in Malaysia. *Biomedical Research* 22.(1): 28-30.
- Rahayu, M., 2016. Patologi dan Teknis Pengujian Kesehatan Benih Tanaman Aneka Kacang. *Buletin Palawija* 14.(2): 78-88.
- Saraswati,D. 2011. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih Terhadap Daya Hambat *Eschrichia coli*. *Jurnal Health dan Sport* 3.(2): 285-362.

- Suhartono. 2014. Dampak Pestisida Terhadap Kesehatan. *Prosiding nasional pertanian organik*. Bogor.
- Trisnawati, D. Lilik, P, E, N. dan Efi, T.T. 2019. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih dan Metode Ekstraksinya dalam Menghambat Penyakit Antraknosa pada Cabai Pascapanen. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 15.(6): 213-227.
- Pelzcar. M.J dan Chan. E.C.S. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Edisi Pertama. UI PRESS. Jakarta.
- Zainal, A. Aswaldi. A., Satrias. I., Sudarsono, Dangiyo. 2010. Efektivitas Ekstrak Tumbuhan untuk Mengeliminasi *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* pada Benih Tomat. *Jurnal Agron. Indonesia* 38.(1):52-59.