

AKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN PICUNG TERHADAP CENDAWAN *Botryodiplodia theobromae* PENYEBAB MATI PUCUK BIBIT JABON MERAH

Antifungal Activity of Picung Leaf Extracts Against Botryodiplodia theobromae A Dieback Fungus of Jabon Merah Seedling

L.M. Alfin Agushara Bena¹, Achmad², dan Syamsul Falah³

¹⁾ Mahasiswa pascasarjana Program Studi Silvikultur Tropika, Fakultas Kehutanan IPB,

²⁾ Staf Pengajar pada Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan IPB,

³⁾ Staf Pengajar pada Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Kampus Dramaga, Bogor-16680.

ABSTRACT

*Invasion of Botryodiplodia theobromae as a dieback fungus on jabon merah (*Anthocephalus macrophyllus*) seedlings is a crucial issues. This pathogenic fungus needs to be controlled precisely. Phytochemical compounds of plant material is one alternative fungicides. Crude extracts of picung (*Pangium edule*) leaf in water and methanol solvent known to have antifungal potential. However, its activity against B. theobromae need to be revealed. In vitro assay aimed to measuring antifungal activity of water and methanol extracts of picung leaf on controlling growth of B. theobromae pathogenic fungus. Hot water extraction and maceration in methanol was conducted to obtain crude extract materials. In-vitro antifungal assay of water and methanol extracts of picung leaf was conducted by food poisoning method on Potato Dextrose Agar media. The results showed that water and methanol extracts of panggi leaf be able to suppress the growth of B. theobromae on the first day of observation, with the highest antifungal index reached 100% at concentration of 25mg/mL and 50mg/mL, respectively. This indicates that water and methanol extracts of picung leaf have antifungal activity. Generally, there was a trend of decrease in antifungal index over time.*

Key words: antifungal activity, *Botryodiplodia theobromae*, *jabon merah*, *picung*

PENDAHULUAN

Serangan cendawan patogen penyakit mati pucuk (*dieback*) pada bibit tanaman jabon merah (*Anthocephalus macrophyllus*) menjadi masalah krusial yang perlu dikendalikan. Kondisi bibit yang masih sukulen rentan terhadap gangguan penyakit sehingga berpotensi menjadi inang bagi patogen (Aisah *et al.* 2015). Cendawan patogen penyebab mati pucuk pada bibit Jabon merah adalah *Botryodiplodia theobromae*. Yanti *et al.* (2015) melaporkan kejadian penyakit mati pucuk pada bibit jabon merah yang terinfeksi *B. theobromae* mencapai 100% dengan tingkat keparahan 38%.

B. theobromae (sinonim: *Lasiodiplodia theobromae*) merupakan anamorf dari *Botryosphaeria rhodina*, konidia berbentuk elipsoidal bersel dua (Watanabe 2002). Cendawan ini diketahui sebagai patogen tanaman berkayu khususnya di daerah tropis (Ellis *et al.* 2007). *B. theobromae* menyebabkan busuk jaringan pada yam putih (*Dioscorea rotundata*) di Nigeria (Markson *et al.* 2012), patogen *intercrops* di Ghana menyebabkan busuk jaringan pada buah coklat, mangga, pisang dan yam (Twumasi *et al.* 2014), patogen mati pucuk pada *Pouteria sapota* di Meksiko (Pedraza *et al.* (2013), dan merupakan patogen primer penyakit mati pucuk pada bibit jabon putih (*A. cadamba*) dengan tingkat

patogenisitas yang tinggi hingga menimbulkan kematian bibit (Aisah 2014).

Salah satu cara pengendalian *B. theobromae* yang potensial untuk dikembangkan adalah pemanfaatan biopestisida yang berasal dari ekstrak tumbuhan, cara pengendalian tersebut lebih ramah lingkungan. Menurut Chye dan Sim (2009) metabolit sekunder tumbuhan merupakan sumber terbaik senyawa fitokimia sebagai antimikroba. Eksplorasi dan studi efektifitasnya terus dilakukan saat ini untuk memberikan informasi alternatif bahan aktif pestisida. Picung (*Pangium edule*) adalah salah satu spesies tumbuhan yang telah dilaporkan memiliki potensi antimikroba.

Picung merupakan anggota famili Silicaceae (sebelumnya ditempatkan pada Flacourtiaceae) yang dikenal dengan nama lokal kluwak, pucung, pucong, pakem (Jawa), kepayang, kapenceung, kapecong, kepayang, simuang, kayu tuba buwah (Sumatera), picung, pucung, pacung (Sunda) (Lim 2013). Daun picung dimanfaatkan sebagai obat anti-jamur pada kulit manusia atau sebagai pembunuh kuman (Partomihardjo dan Rugayah 1989). Ekstrak air daun atau buah segar picung digunakan sebagai obat luar untuk meredakan proses pembusukan jaringan (*putrefaksi*) dan mengeliminasi parasit pada manusia (Wiart 2006). Ekstrak kasar metanol daun picung bersifat antibakteri *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Pseudomonas*

aeruginosa (Suhardi 2009) serta menunjukkan aktivitas antifungi terhadap cendawan patogen antraknosa *Colletotrichum gloeosporioides* pada mangga (*Mangifera indica*) dan *C. capsici* pada cabai (*Capsicum annum*) (Johnny et al. 2010; 2011).

Potensi antimikroba khususnya antifungi dari ekstrak air dan metanol daun picung dalam mengendalikan cendawan *B. theobromae*, patogen mati pucuk bibit jabon merah belum pernah dilaporkan. Oleh sebab itu, studi aktivitas antifungi dari ekstrak air dan metanol daun picung perlu dilakukan.

TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap aktivitas antifungi dari ekstrak air dan ekstrak metanol daun picung dalam mengendalikan pertumbuhan cendawan *B. theobromae* penyebab mati pucuk bibit jabon merah secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penyiapan isolat cendawan patogen *B. theobromae* serta uji aktivitas antifungi dari ekstrak air dan ekstrak metanol daun picung dilakukan di Laboratorium Penyakit Hutan Institut Pertanian Bogor (IPB). Ekstraksi daun picung dilakukan di Laboratorium Kimia Kayu IPB. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Juli 2016.

Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah cawan petri kaca diameter 9 cm, *cork borer* diameter 6mm, mikropipet, inkubator, mikroskop cahaya, *laminar air flow*, *autoclave*, *water bath*, *rotary vacuum evaporator*, *beaker glass*, toples kaca, erlenmeyer, tabung reaksi, dan kamera digital.

Bahan yang digunakan adalah daun picung yang diperoleh dari pohon yang tumbuh di hutan kampus IPB Darmaga, isolat *B. theobromae* koleksi Laboratorium Penyakit Hutan IPB, media biakan *Potato Dextrose Agar* (PDA), *chloramphenicol*, alkohol 70%, aquades steril, metanol 98%, dan kertas saring Whatman no.1 (diameter 150 mm).

Studi pendahuluan

Isolat cendawan patogen *B. theobromae* diperoleh dari koleksi Laboratorium Penyakit Hutan IPB. Isolat kemudian diremajakan dan dipelihara pada media kultur PDA selektif dengan tambahan antibiotik *chloramphenicol* 50 mg/L. Penambahan *chloramphenicol* pada media PDA merujuk pada Twumasi et al. (2014) untuk menghindari kontaminasi bakteri.

Bahan ekstraksi daun picung berupa simplisia kering dari daun picung tua. Daun tua yang dipilih memiliki ciri helaihan daun berbentuk jantung melebar di pangkal dan ujung daun meruncing, permukaan atas daun

berwarna hijau mengkilap, permukaan bawahnya berbulu rapat warna coklat (Sari dan Suhartati 2015). Daun dikering-anginkan selama sepuluh hari kemudian digiling hingga halus (Johnny et al. 2011; Mora et al. 2014). Simplisia kering kemudian ditetapkan kadar air yang mengacu pada Suhardi (2009), sehingga diperoleh kadar air simplisia kering 8.16%.

Ekstraksi dilakukan menggunakan dua jenis pelarut polar, yaitu air (aquades) dan metanol teknis 98%. Kedua pelarut dipilih berdasarkan pertimbangan ekonomis dan kemudahan aplikasi. Metode ekstraksi air panas dan metanol merujuk pada Falah et al. (2010) dan Suhardi (2009) dengan modifikasi. Perbandingan bobot simplisia dengan volume pelarut untuk ekstraksi air panas dan maserasi, masing-masing 1:4 dan 1:3. Ekstraksi dengan air panas dilakukan pada *waterbath* suhu 100°C selama 4 jam, sedangkan ekstraksi dengan pelarut metanol dilakukan pada suhu ruangan selama 3 hari dan dimaserasi kembali sebanyak 3 kali. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatman no.1 dan dikeringkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°C. Rendemen ekstrak air dan metanol yang diperoleh masing-masing sebesar 14.91% dan 16.01%.

Ekstrak kering berupa padatan digunakan untuk membuat larutan perlakuan. Ekstrak kering dilarutkan dalam aquades steril dengan konsentrasi sesuai perlakuan. Khusus untuk ekstrak metanol, sebelum dilarutkan ke dalam aquades didahului pemberian dua tetes (± 0.1 mL) pelarut untuk melarutkan ekstrak, hal yang sama juga dilakukan pada larutan perlakuan kontrol.

Konsentrasi ekstrak perlakuan yang diujikan adalah: (A) kontrol, aquades tanpa ekstrak; (B) ekstrak 25 mg/mL; (C) ekstrak 50 mg/mL; (D) ekstrak 75 mg/mL; (E) ekstrak 100 mg/mL. Larutan perlakuan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, merujuk pada Achmad et al. (2012) dan Winara (2014).

Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Picung secara *In Vitro*

Pengujian aktivitas antifungi ekstrak daun picung terhadap *B. theobromae* pada media padat dilakukan berdasarkan metode peracuman makanan (*poisoned food technique*) (Vyas 1984). Perlakuan ekstrak air dan ekstrak metanol diuji terpisah, masing-masing ekstrak terdiri atas 5 perlakuan. Sebanyak 2 mL dari masing-masing larutan perlakuan dimasukkan ke dalam cawan pertri steril diameter 9 cm, kemudian ke dalam cawan yang sama dicampurkan 10 mL media PDA, digoyang hingga homogen. Untuk perlakuan kontrol, ditambahkan 2 mL aquades tanpa ekstrak dan 10 mL media PDA. Proporsi larutan ekstrak di dalam PDA merujuk pada Abdel-Monaim et al. (2011). Cawan berisi media uji selanjutnya diinokulasi *B. theobromae* dengan cara meletakkan inokulum diameter 6 mm pada bagian tengah cawan, kemudian diinkubasi selama tiga hari. Pengamatan dilaksanakan setiap hari selama tiga hari. Data yang dikumpulkan adalah rerata pertambahan diameter radial koloni miselia.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) *in time* (Mattjik dan Sumertajaya 2013) dengan tiga ulangan. Variabel yang dianalisis adalah indeks antifungi ekstrak (IA) menggunakan formula Yang dan Zhang (2012):

$$IA (\%) = \left[1 - \frac{Da}{Db} \right] \times 100,$$

Da adalah rerata pertambahan diameter radial koloni miselia pada cawan perlakuan ekstrak (cm), dan *Db* adalah rerata pertambahan diameter radial koloni miselia pada cawan kontrol (cm).

Analisis Data

Analisis yang digunakan untuk menguji pengaruh perlakuan terhadap variabel pengamatan adalah analisis ragam. Apabila perlakuan menunjukkan pengaruh nyata terhadap variabel yang diamati maka dilanjutkan uji jarak berganda Duncan (Mattjik dan Sumertajaya 2013). Analisis dilakukan dengan bantuan *software* SPSS versi 17.

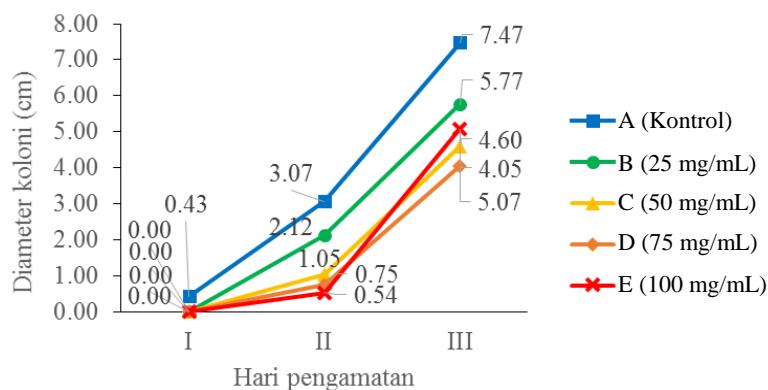
HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Picung secara *In Vitro*

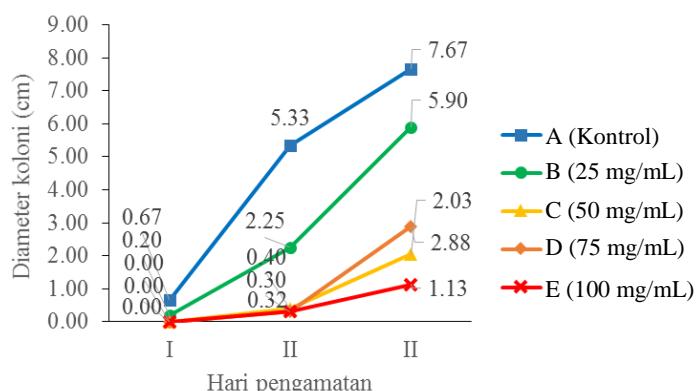
Ekstrak air dan metanol daun picung secara umum menunjukkan aktivitas antifungi terhadap cendawan *B. theobromae*. Hal ini terlihat pada kurva respon pertumbuhan koloni terhadap pemberian ekstrak air dan metanol, masing-masing disajikan pada Gambar 1 dan 2. Penambahan ekstrak air dan metanol berbagai konsentrasi, nyata menekan pertumbuhan *B. theobromae*.

Penambahan ekstrak air daun picung pada media tumbuh PDA mampu menekan pertumbuhan koloni *B. theobromae* secara nyata dibanding kontrol (Gambar 1). Konsentrasi ekstrak air daun picung 50 dan 75 mg/mL merupakan konsentrasi yang paling efektif menekan pertumbuhan koloni *B. theobromae* dibanding terhadap kontrol dan perlakuan ekstrak daun picung pada konsentrasi lain.

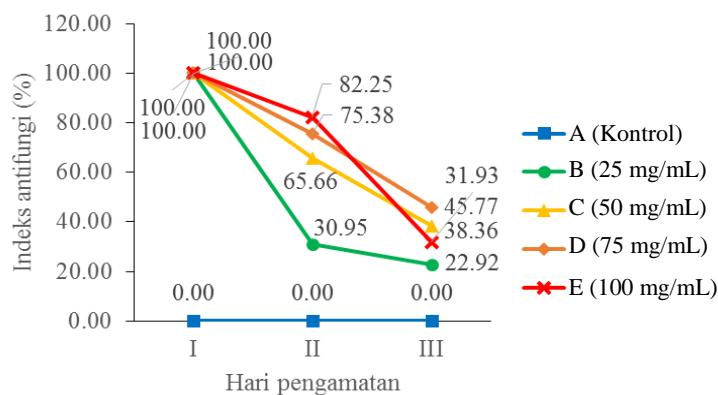
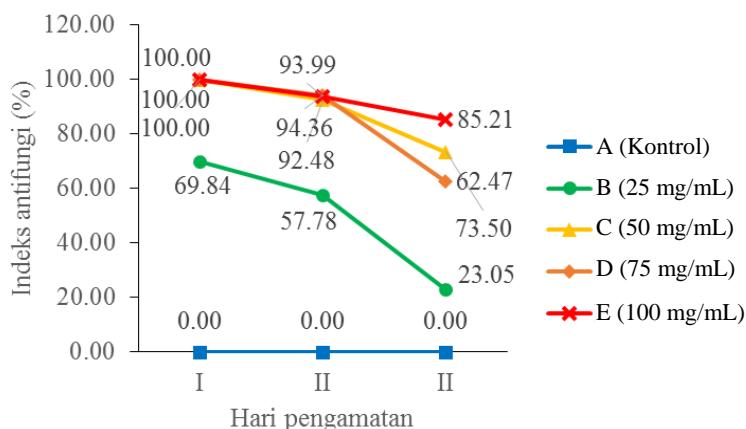
Seperti halnya aplikasi ekstrak air daun picung, penambahan ekstrak metanol daun picung pada media tumbuh PDA mampu menekan pertumbuhan koloni *B. theobromae* dibandingkan terhadap kontrol. Ekstrak metanol daun picung 100 mg/mL merupakan konsentrasi yang mampu menekan paling efektif terhadap pertumbuhan koloni *B. Theobromae* (Gambar 2).



Gambar 1 Respon pertumbuhan koloni *B. theobromae* terhadap pemberian ekstrak air daun picung selama tiga hari pengamatan



Gambar 2 Respon pertumbuhan koloni *B. theobromae* terhadap pemberian ekstrak metanol daun picung selama tiga hari pengamatan

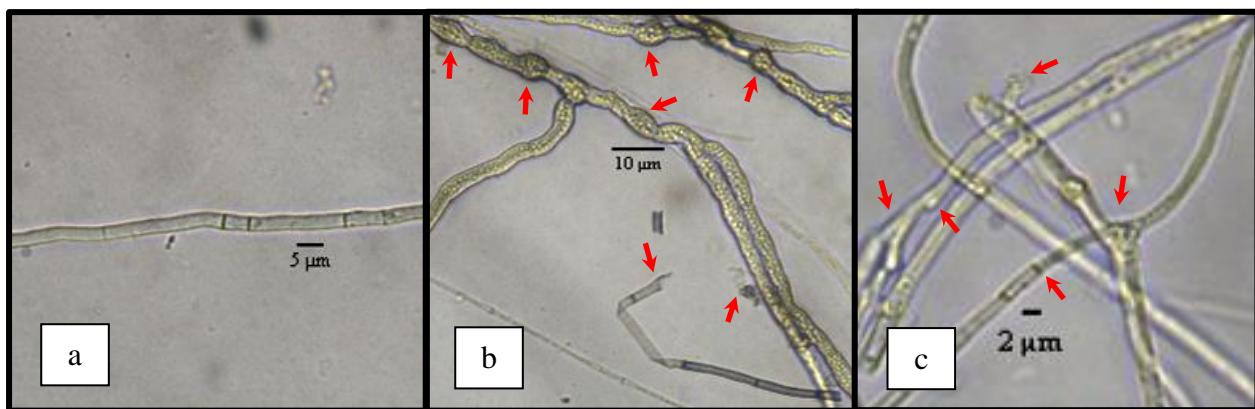
Gambar 3 Indeks antifungi ekstrak air daun picung terhadap *B. theobromae*Gambar 4 Indeks antifungi ekstrak metanol daun picung terhadap *B. theobromae*

Berdasarkan indeks antifungi, ekstrak air dan metanol daun picung mampu menghambat pertumbuhan koloni *B. theobromae* secara nyata (Gambar 3 dan 4). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun picung pada media tumbuh PDA, menunjukkan semakin tinggi indeks antifungi dan semakin tinggi daya hambat terhadap pertumbuhan koloni *B. theobromae*. Aplikasi semua perlakuan konsentrasi baik ekstrak air maupun ekstrak metanol daun picung, indeks antifungi menurun pada hari pertama hingga pengamatan hari ketiga.

Indeks antifungi menunjukkan bahwa ekstrak air maupun metanol daun picung mengandung senyawa yang bersifat antifungi dan mampu menekan pertumbuhan koloni *B. theobromae*. Johnny *et al.* (2010; 2011) menjelaskan aplikasi ekstrak kasar metanol daun picung pada konsentrasi 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ masing-masing mampu menekan pertumbuhan *Colletotrichum capsici* dan *C. gloeosporioides*. Hasil penelitian Syahbirin *et al.* (2005) menunjukan senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak daun picung berupa sianida, alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, saponin dan steroidal.

Menurut Sortino *et al.* (2012) senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin dan steroidal merupakan senyawa antifungi. Selain itu, sianida merupakan senyawa toksik terhadap respirasi seluler (Scott 2008). Mekanisme aktivitas antifungi senyawa fitokimia dijelaskan Sortino *et al.* (2012) sebagai berikut: (1) penghambatan sintesis dinding sel, (2) distrupsi membran sel, dan (3) gangguan metabolisme sel.

Perubahan morfologi hifa *B. theobromae* akibat pemberian ekstrak daun picung yaitu penyimpangan bentuk hifa berupa benjolan (*bulging*), diameter yang lebih kecil dari ukuran normal dengan cabang yang banyak (Gambar 5). Menurut Aderiye dan Oluwole (2015) aktivitas antifungi mengakibatkan penggelembungan sel hingga terbentuk benjolan pada hifa bahkan pecahnya sel, pertumbuhan hifa menjadi kerdil, pendek, dan memiliki percabangan yang banyak. Diduga bahwa senyawa fitokimia ekstrak daun picung berperan sinergis dalam mempengaruhi metabolisme sel *B. theobromae* secara luas.



Gambar 5 Morfologi hifa *B. theobromae*, (a) normal, (b) terbentuk benjolan, (c) ukuran diameter lebih kecil dan bercabang banyak

Pada percobaan yang telah dilakukan, aktivitas antifungi dari ekstrak air maupun metanol daun picung terhadap pertumbuhan *B. theobromae* menurun dari pengamatan pertama sampai pengamatan ketiga. Hal ini disebabkan senyawa fitokimia dari bahan tanaman mudah terdegradasi secara alami sehingga keefektifan segera menurun. Selain itu, diduga cendawan patogen mempunyai resistensi terhadap senyawa fitokimia. Henry dan Nyns (1975) dalam Salisbury dan Ross (1995) menjelaskan beberapa spesies cendawan resisten terhadap sianida yang merupakan senyawa fitokimia.

KESIMPULAN

Ekstrak air dan ekstrak metanol daun picung memiliki aktivitas antifungi terhadap pertumbuhan *B. theobromae* secara *in vitro* pada media tumbuh PDA. Aplikasi ekstrak air dan metanol pada konsentrasi 25 mg/mL dan 50 mg/mL mampu menekan pertumbuhan *B. theobromae* dengan indeks antifungi 100%.

SARAN

Perlu dilakukan studi lanjutan untuk mengungkap jenis senyawa antifungi dan efektifitasnya dalam mengendalikan pertumbuhan cendawan patogen *B. theobromae*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Monaim MF, Abo-Elyousr KAM, Morsy KM. 2011. Effectiveness of plant extracts on suppression of damping-off and wilt diseases of lupine (*Lupinus* *ternis* Forsik). *Crop Protection*. 30:185-191.doi:10.1016/j.cropro.2010.09.016.
- Achmad, Anggraeni I, Herliyana EN, Ansori A, Rijal S. 2012. Keefektifan penghambatan ekstrak daging biji picung terhadap pertumbuhan *Rhizoctonia* sp. dan *Cylindrocladium* sp. secara *in vitro*. *J Hort*. 22(3):268-275.
- Aderiye BI, Oluwole OA. 2015. Antifungal agents that target fungal cell wall components: a review. *Agric and Biol Sci Journal*. 1(05): 206-216.
- Aisah AR. 2014. Identifikasi dan patogenisitas cendawan penyebab primer penyakit mati pucuk pada bibit jabon [*Anthocephalus cadamba* (Roxb). Miq] [tesis]. Bogor (ID):Institut Pertanian Bogor.
- Aisah AR, Soekarno BPW, Achmad. 2015. Isolasi dan identifikasi cendawan yang berdasasasi dengan penyakit penyakit mati pucuk pada bibit jabon (*Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miq. *J Penelitian Hutan Tanaman*. 12(3):153-163.
- Chye FY, Sim KY. 2009. Antioxidative and antibacterial activities of *Pangium edule* seed extracts. *Int J Pharmacol*. 5(5):285-297.doi:10.3923/ijp.2009.285.297.
- Ellis D, Davis S, Alexiou H, Handke R, Bartley R. 2007. *Description of Medical Fungi* Ed ke-2. Adelaide (AU): School of Molecular and Biomedical Science University of Adelaide.
- Falah S, Safithri M, Katayama T, Suzuki T. 2010. Hypoglycemic effect of mahogany (*Swietenia macrophylla* King) bark extracts in alloxan-induced diabetic rats. *Wood Research Journal*. 1(2):89-94.
- Johnny L, Yusuf UK, Nulit R. 2010. The effect of herbal plant extracts on the growth and sporulation of *Colletotrichum gloeosporioides*. *J Applied Biosci*. 34:2218-2224.
- Johnny L, Yusuf UK, Nulit R. 2011. Antifungal activity of selected plant leaves crude extracts against a pepper anthracnose fungus, *Colletotrichum capsici* (Sydow) butler and bisby (Ascomycota: Phyllachorales). *African J Biotechnol*. 10(20):4157-4165.doi:10.5897/AJB10.2085.
- Lim TK. 2013. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*. Volume 5. *Fruits*. Dordrecht (NL): Springer Science Business Media. hlm 780-781.doi: 10.1007/978-94-007-5653-3_42.
- Markson AA, Amadioha AC, Omosun G, Madunagu BE, Udo SE, Umana EJ. 2012. Control of *Botryodiplodia theobromae* causing tissue rot of white yam (*Dioscorea rotundata* Poir). *Scholarly J Agric Sci*. 2(1):1-7.
- Mattjik AA, Sumertajaya IM. 2013. *Perancangan Percobaan dengan Aplikasi SAS dan Minitab*. Jilid I. Bogor (ID): IPB Pr.
- Mora E, Emrizal, Mulyantika E. 2014. Isolasi senyawa dari ekstrak etil asetat daun kepayang (*Pangium edule* (Lam.) Merr).

- edule* Reinw.) dan uji aktivitas anti bakteri. *Farmasains.* 2(3).
- Partomihardjo T, Rugayah. 1989. Pangi (*Pangium edule* Reinw.) dan potensinya yang mulai dilupakan. *Media Konservasi.* 2(2):45-50.
- Pedraza JMT, Aguilera JAM, Diaz CN, Ortiz DT, Monter AV, Mir SGL. 2013. Control of *Lasiodiplodia theobromae* the causal agent of dieback of sapote mamey [*Pouteria sapote* (Jacq) HE Moore y Stearn] in Mexico. *Rev Fitotec Mex.* 36(3):233-238.
- Salisbury FB, Ross CW. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid II*. Diah RL, Sumaryono, penerjemah. Bandung (ID): ITB Pr. Terjemahan dari: *Plant Physiology*. Ed ke-4.
- Sari R, Suhartati. 2015. Pangi (*Pangium edule* Reinw.) sebagai tanaman serbaguna dan sumber pangan. *Info Teknis EBONI* [Internet]. [diunduh 2016 Feb 25]; 12(1):23-37. Tersedia pada: http://balithutmakassar.org/wp-content/uploads/2014/11/3_Pangium-edule_Info-Teknis-Eb oni-Vol-12-No-1-2015.pdf.
- Scott P. 2008. *Physiology and Behaviour of Plant*. Chichester (UK): J Wiley.
- Sortino M, Derita M, Svetaz L, Raimondi M, Di Liberto M, Petenatti M, Gupta M, Zaccino S. 2012. The role of natural products in discovery of new anti-infective agents with emphasis on antifungal compounds. Di dalam: Valdir Cechinel-Filho V, editor. *Plant Bioactives and Drug Discovery Principles, Practice and Perspectives*. Brazil (BR): J Wiley. hlm 205-239.
- Suhardi. 2009. Isolasi dan karakterisasi ekstrak kasar daun pakem (*Pangium edule* Reinw.) sebagai penghambat bakteri patogen dan pembusuk daging. *J Teknol Pert.* 4(2):84-95.
- Syahbirin G, Batubara I, Setiawati T, Nulhakim L. 2005. Senyawaaktif daun picung (*Pangium edule* Reinw.) sebagai insektisida botani terhadap ulat gerayak (*Spodoptera litura* F.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Prosiding Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XV* [internet]. 2005 Sep13-14; Bogor, Indonesia. Bogor (ID): Departemen FMIPA IPB. Hlm 56-66. [diunduh 2016 Mar 02]. Tersedia pada: http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/51057/gustini%20syahbirin_.pdf?sequence=2&isAllowed=y.
- Twumasi P, Ohene-Mensah G, Moses E. 2014. The rot fungus *Botryodiplodia theobromae* strains cross infect cocoa, mango, banana, and yam with significant tissue damage and economic losses. *African J of Agric.* 9(6):613-619.doi:10.5897/AJAR2013.7528.
- Vyas SC. 1984. *Systemic Fungicides*. New Delhi (IN): Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited.
- Watanabe T. 2002. *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species*. Ed ke-2. Boca Raton (US): CCR Pr.
- Wiart C. 2006. *Medicinal Plants of The Asia-Pacific: Drugs for The Future?*. Toh Tuck Link (SN): World Scientific Publishing. hlm 177.
- Winara A. 2014. Bioaktivitas ekstrak mahoni dan identifikasi jenis isolat *Botryodiplodia* sp. penyebab mati pucuk pada bibit jabon [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Yang H, Zhang H. 2012. Synergistic interaction of tea saponin with mancozeb against *Pestalotiopsis theae*. *Crop Protection.* 40:126-131.doi:10.1016/j.cropro.2012.04.013.
- Yanti LA, Achmad, Khumaida N. 2015. Uji resistensi bibit jabon putih dan merah (*Anthocephalus* spp.) terhadap *Botryodiplodia theobromae* (Pat.) penyebab penyakit mati pucuk. *J Silvikultur Tropika.* 06(2):83-92.