

## Fraksinasi Komponen Aktif Ekstrak Kasar Rimpang Jeringau Sebagai Fungisida Terhadap Jamur *Sclerotium rolfsii* Sacc Penyebab Penyakit Busuk Batang pada Tanaman Kacang Tanah dengan Kromatografi Kolom dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ni Luh Gede Ambaradewi\*, I Wayan Dika

Universitas PGRI Mahadewa Indonesia  
\*Pos-el: ambaradewi@mahadewa.ac.id

Tanggal Terbit: 30-09-2022

**Abstrak.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui fraksi komponen aktif pada ekstrak kasar rimpang jeringau, yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit busuk batang pada kacang tanah. Pengendalian yang dilakukan selama ini dengan pestisida sintesis berdampak negatif terhadap lingkungan maupun manusia. Hal ini tentu membutuhkan alternatif pengendalian lain yang lebih ramah lingkungan. Pestisida nabati bisa menjadi salah satu alternatif. Jeringau (*Acorus calamus*) bisa dimanfaatkan sebagai pestisida nabati. Rimpang jeringau menurut Shenvi *et al.*, (2011), mampu menghambat jamur *Phytophthora capsici* penyebab penyakit busuk pangkal batang pada tanaman lada. Pengujian fraksinasi dilakukan untuk mengetahui senyawa yang diduga bersifat antijamur. Hasil analisa menunjukkan ekstrak rimpang jeringau mengandung Triterpenoid/Steroid, Flavonoid, Alkaloid, Fenolat, dan Tannin. Hasil analisis KG-SM menunjukkan senyawa yang diduga bersifat antijamur terhadap *S. rolfsii* adalah Asarone. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang jeringau mampu menghambat *S. rolfsii* dengan sangat kuat. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dipakai sebagai dasar untuk penerapan rimpang jeringau dilapangan

**Kata-Kata Kunci:** *Acorus calamus* L; Asarone; Pestisida Nabati; Fraksinasi; *Sclerotium rolfsii*.

### PENDAHULUAN

*Sclerotium rolfsii* Sacc. merupakan patogen penyebab penyakit busuk batang pada tanaman kacang tanah. Penyakit busuk batang merupakan salah satu penyakit penting dan sering kali menyebabkan kehilangan hasil yang tinggi pada pertanaman kacang tanah. *S. rolfsii* lebih sulit dikendalikan karena rentang inang yang lebar, pertumbuhan yang cepat, dan kemampuan untuk menghasilkan sclerotia yang mampu bertahan sebagai saprofit di dalam tanah ataupun pada sisa tanaman. Patogen ini juga bersifat tular tanah (*soil borne*) dimana pengendalian pada tanah yang terkontaminasi sulit dilakukan. Gejala yang dapat diamati adalah batang mati dan dilapisi miselium putih seperti bulu halus hingga munculnya sclerotia cendawan pada tanaman yang terserang

Pengendalian yang selama ini dilakukan adalah dengan pemanfaatan pestisida sintesis. Banyaknya dampak negatif dari pestisida sintesis tentu memerlukan alternatif

pengendalian yang lebih ramah lingkungan. Penggunaan pestisida nabati merupakan salah satu alternatif pengendalian yang bisa dilakukan.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan potensi keanekaragaman hayati. Berdasarkan penelitian terhadap keanekaragaman hayati dari hutan tropis Indonesia, dapat disimpulkan bahwa hampir 17% dari spesies yang ada dipermukaan bumi terdapat di Indonesia. Senyawa aktif dalam berbagai ekstrak tumbuhan yang berasal dari bagian tumbuhan seperti biji, buah, rimpang, batang, daun, dan umbi dapat menghambat beberapa mikroba patogen. Penanggulangan berbagai penyakit tanaman dengan menggunakan bahan alami terus dilakukan, salah satunya adalah pemanfaatan jeringau yang ramah lingkungan. Jeringau merupakan salah satu contoh tanaman yang juga dapat dimanfaatkan sebagai pestisida nabati.

Selain mampu menghambat bakteri, rimpang jeringau juga mampu menghambat pertumbuhan jamur. Untuk memperkaya informasi tentang manfaat rimpang jeringau diteliti keefektifannya dalam menghambat pertumbuhan jamur *S. Rolfzii*, dan senyawa apa yang berperan sebagai fungisida.

## **METODE PENELITIAN**

Rimpang jeringau yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari desa Beng Gianyar, diambil zat aktifnya dengan ekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan mencincang kecil-kecil rimpang jeringau yang telah bersih. Hasil cincangan dikeringanginkan selama 2-3 hari. Rimpang jeringau yang telah kering dimaserasi di dalam metanol dengan perbandingan 1:10 (berat/volume) selama 48 jam dengan tujuan untuk menarik zat aktif pada bahan yang akan digunakan sebagai pestisida nabati. Filtrat diperoleh dengan penyaringan melalui kain kasa kemudian diuapkan dengan menggunakan *vaccum rotary evaporator* pada suhu 40<sup>0</sup>C, sehingga diperoleh ekstrak kasar.

Ekstrak kasar ditimbang, dicatat beratnya dan dikalibrasi dengan berat metanol dalam volume yang sama dengan ekstrak kasar rimpang jeringau untuk mengetahui konsentrasi awal. Pengenceran ekstrak dilakukan dengan menambahkan air tween-80 10% sebagai pelarutnya.

Ekstrak kasar yang telah menunjukkan aktivitas fungisida terhadap *S. rolfsii* difraksinasi dengan kolom kromatografi. Ekstrak kasar sebanyak 10 gram dilarutkan dalam 40 ml heksan. Setelah benar-benar larut, ditambahkan 10 gram silika gel (wako gel, partikel *size* 75-150  $\mu$ m). Campuran tersebut kemudian diuapkan hingga remah menggunakan *vaccum rotary evaporator*.

Remahan ekstrak dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang panjangnya 59 cm dan diameter 3,2 cm. Kolom tersebut sebelumnya telah diisi dengan 115 gram silika gel ( Wako gel, particle *size* 75 – 150  $\mu$ m) yang dicampur dalam 350 ml heksan. Untuk mendapatkan fraksi dari ekstrak kasar, kolom dilewati eluen (pelarut) dengan tingkat kepolaran yang berbeda, dari yang bersifat non-polar (heksan) dilanjutkan dengan solven yang bersifat lebih polar. Fase diam yang digunakan pada kromatografi kolom adalah silika gel (wako gel, partikel *size* 75 – 150  $\mu$ m). Pemilihan fase gerak yang dipakai didasarkan dengan prinsip *like dissolves like* (larut berdasarkan kemiripan sifat).

Eluen yang dimasukkan ke dalam kolom sesuai urutan kepolarannya, dari yang non-polar ke polar, dengan urutan sebagai berikut: (1) heksan = 200 ml, (2) heksan:diklorometan = 1 : 1 = 200 ml, (3) diklorometan = 200 ml, (4) diklorometan:etil asetat = 1 : 1 = 200 ml, (5) etil asetat = 200 ml, (6) etil asetat:aseton = 1 : 1 = 200 ml, (7) aseton = 200 ml, (8) aseton:metanol = 1 : 1 = 200 ml, (9) metanol = 200 ml. Eluen yang melewati kolom ditampung masing-masing sebanyak 50 ml. Tampungan pertama sebagai fraksi satu, tampungan berikutnya sebagai fraksi kedua dan seterusnya. Masing-masing fraksi dievaporasi dan dilarutkan dengan 2 ml aseton. Fraksi hasil kolom kromatografi kemudian diujikan pada *S. rolfsii* di media PDA. Fraksi yang memiliki daya hambat terhadap jamur *S. rolfsii*, kemudian di Kromatografi Lapis Tipis untuk mengetahui pengembang yang cocok untuk memisahkan senyawa aktif pada fraksi tersebut. Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan dengan cara meneteskan masing-masing fraksi pada plat KLT berukuran 10 X 10 cm (Keisal Gel 60 F<sub>254</sub>) menggunakan pipa kapiler sehingga berbentuk spot. Plat dimasukkan kedalam KLT *chamber* yang telah diisi eluen. Eluen yang digunakan sebagai pengembang adalah Heksan : Diklorometan = 3 : 2. Eluen dibiarkan bergerak ke atas dan diakhiri setelah ujung eluen pada plat mencapai kira-kira  $\frac{3}{4}$  tinggi plat. Plat KLT diambil dan dikeringkan, kemudian spot diidentifikasi dengan menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Cahaya UV membuat spot-spot pada plat menjadi berwarna sehingga akan nampak spot-spot hasil KLT (Sastrohamidjojo, 1991). Spot-spot pada plat KLT dibandingkan dengan menggunakan nilai satuan tertentu yaitu *Retention factor* (Rf). Nilai Rf adalah perbandingan jarak dari titik awal spot hingga sejauh spot itu berada dibandingkan dengan jarak pelarut hingga mencapai titik tertinggi yang dihitung dari titik awal yang sama (titik spot sebelum pengembangan). Spot yang bergerak mencapai bagian atas plat kromatografi mempunyai nilai Rf yang lebih besar dibanding spot-spot yang bergerak hanya mencapai bagian tengah plat kromatografi. Karena spot biasanya cukup besar, maka pengukuran spot tersebut dilakukan mulai dari titik awal hingga titik tengah spot (Sastrohamidjojo, 1985). Rumus Rf adalah

$$\text{Retention factor (Rf)} = \frac{r_1}{r_2}$$

Keterangan:

r<sub>1</sub>: Jarak yang ditempuh substansi (cm)

r<sub>2</sub>: Jarak yang ditempuh fase gerak (cm)

Semua fraksi yang diperoleh diuji aktivitasnya untuk menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* pada media PDA. Suspensi *S. rolfsii* (1 ml) dicampur ke dalam 10 ml media PDA yang masih encer (suhu  $\pm 40^0$  C) dalam cawan Petri, dan dibiarkan hingga memadat. Setelah padat, difusi sumur dibuat sebanyak dua buah pada tiap cawan Petri dan masing-masing diisi dengan 20  $\mu$ l fraksi. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona hambatan dari masing-masing fraksi terhadap pertumbuhan *S. rolfsii*. Fraksi yang menunjukkan daya hambat merupakan fraksi yang mengandung senyawa antijamur terhadap *S. rolfsii*

Identifikasi senyawa aktif yang memiliki aktivitas fungisida terhadap *S. rolfsii* diidentifikasi menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa (KG-SM). Cuplikan fraksi yang paling aktif dan relatif murni dianalisis dengan kromatografi gas-spektroskopi

massa. Melalui kecocokan bobot molekul dan pola fragmentasi dari senyawa hasil isolasi dengan senyawa pada *library* pada sistem (KG-SM) maka senyawa hasil isolasi dapat diketahui strukturnya

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksinasi ekstrak kasar rimpang jeringau dengan kolom kromatografi menghasilkan 38 fraksi (Fr). Pengujian terhadap *S. rolfsii* dilakukan terhadap ke 38 fraksi tersebut. Hasil pengujian aktivitas antijamur menunjukkan bahwa Fr(10), Fr(11), Fr(12), Fr(13), Fr(14), dan Fr(15), mampu membentuk zona hambatan disekitar sumur difusi, sedangkan fraksi yang lain tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* pada media PDA. Besarnya daya hambat fraksi-fraksi disajikan pada Lampiran 2. Diameter zona hambat terbesar terhadap *S. rolfsii* ditunjukkan oleh fraksi no 14 yaitu sebesar 37 mm. Daya hambat ini lebih besar dibandingkan dengan daya hambat ekstrak kasar rimpang jeringau, kemungkinan hal ini disebabkan karena zat aktif antijamur pada Fr(14) lebih murni.

Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan terhadap enam fraksi tersebut untuk mengetahui pengembang yang baik untuk memisahkan senyawa aktif anti jamur *S. rolfsii*. Hasil KLT menunjukkan bahwa pengembang yang baik adalah campuran heksan : diklorometan = 3 : 2. Spot-spot *Retention Factor* (Rf) dari ke-enam fraksi disajikan pada Tabel 5.4. Spot yang terbentuk dari ekstrak rimpang jeringau disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan nilai Rf, diduga ke-6 fraksi yang menunjukkan daya hambat terhadap *S. rolfsii* ini mengandung senyawa antijamur yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan jamur. Fr(10), Fr(11) dan Fr(13) memiliki nilai Rf yang sama yaitu 0,625 yang menunjukkan bahwa ada senyawa aktif yang sama dalam ketiga fraksi tersebut. Dari tabel juga dapat dilihat bahwa Fr(12), Fr(14), dan Fr(15) membentuk satu spot dengan nilai Rf masing-masing = 0,4375; 0,5; dan 0,4. Hal ini menunjukkan bahwa diduga fraksi-fraksi tersebut mengandung satu senyawa yang memiliki aktivitas menghambat *S. rolfsii* dan nilai Rf terbesar ditunjukkan oleh Fr(14).

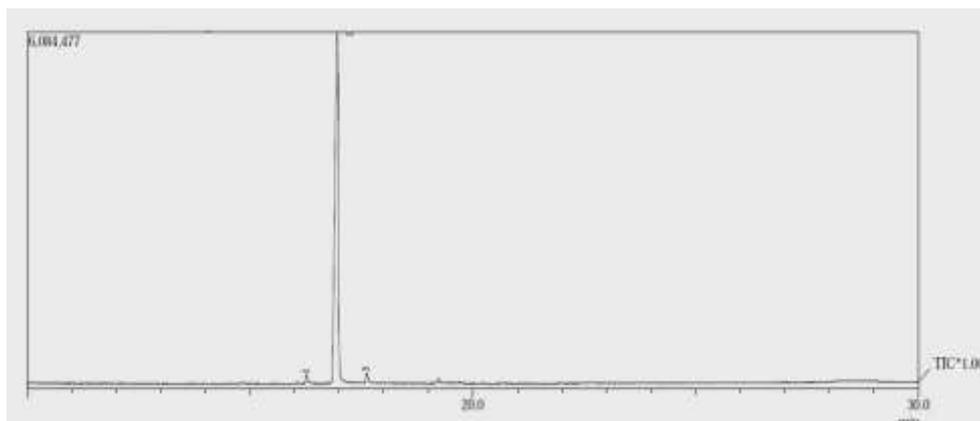
**Tabel 1.** Nilai Rf Fraksi-Fraksi Ekstrak Rimpang Jeringau

Fraksi	Rf
F10	0,625; 0,8125
F11	0,625; 0,75
F12	0,4375
F13	0,475; 0,625
F14	0,5
F15	0,4

### Hasil KG (Kromatografi Gas) Fraksi Rimpang Jeringau

Fraksi yang dianalisis kandungan senyawanya adalah Fr(14) karena fraksi ini menunjukkan daya hambat terbesar terhadap *S. rolfsii*. Kromatografi gas yang diperoleh menunjukkan adanya tiga puncak, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak rimpang cukup murni. Jumlah puncak yang dihasilkan menyatakan jumlah komponen (senyawa) yang

terdapat dalam campuran. Luas puncak bergantung pada kuantitas suatu komponen dalam campuran (Hendayana, 2006). Hasil Kromatografi menunjukkan waktu retensi ( $t_R$ ) dan Kelimpahan (%) berturut-turut sebagai berikut: puncak 1,  $t_R$  16,268 menit (1,26%); puncak 2,  $t_R$  16,963 menit (97,32%); dan puncak 3,  $t_R$  17,620 menit (1,43%). Kromatografi Gas F14 disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Kromatografi Gas Isolat F14

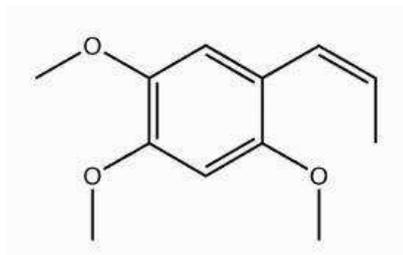
### Hasil SM (Spektroskopi Massa) Fraksi Rimpang Jeringau

Senyawa yang dominan terdapat dalam F14 adalah (1) Benzene, 1,2,4-trimethoxy-5-(1-propenyl), cis-Asarone, cis beta-asarone, Asarone, beta-Asarone, Benzena, rumus molekul  $C_{12}H_{16}O_3$  dengan kelimpahan 97,32%; (2) Alpha-Asarone, rumus molekul  $C_{12}H_{16}O_3$  dengan kelimpahan 1,43%; (3)  $\beta$ -Asarone, rumus molekul  $C_{12}H_{16}O_3$  dengan kelimpahan 1,26%. Dilihat dari rumus molekulnya, bisa dikatakan bahwa ketiga senyawa tersebut adalah senyawa yang hampir sama hanya berbeda dalam strukturnya.

**Tabel 2.** Hasil KG-SM Fraksi Rimpang Jeringau

Senyawa	Kelimpahan
$\beta$ -Asarone $C_{12}H_{16}O_3$	Puncak 1 (1,26%)
Benzene, 1,2,4-trimethoxy-5-(1-propenyl), cis-Asarone cis, $\beta$ -Asarone, Asarone, $\beta$ -Asarone, Benzena. $C_{12}H_{16}O_3$	Puncak 2 (97,32%)
$\alpha$ -Asarone $C_{12}H_{16}O_3$	Puncak 3 (1,43%)

Asarone memiliki beberapa nama, antara lain: 1,2,4-trimethoxy-5-(1-propenyl)benzena, 2,4,5-trimethoxy-1-propenyl benzena, asarin, asarum kapor dan asabaracca kapor. Struktur kimia asarone disajikan pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Struktur Kimia Asarone

Asarone adalah senyawa aktif yang ditemukan pada jeringau dan diduga sebagai senyawa yang berperan dalam menghambat *S. rolfsii*. Aktivitas senyawa asarone yang terdapat dalam jeringau menurut Shenvi *et al.* (2011), mampu menghambat *Phytophthora capsici* penyebab penyakit busuk pada lada hitam. Menurut Asha *et al.* (2009), asarone pada jeringau berperan dalam menghambat *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. Kandungan asarone pada rimpang jeringau juga diduga berperan dalam menghambat pertumbuhan jamur *Botryodiplodia theobromae* penyebab penyakit busuk buah pisang (Rustini, 2004). Phongpaichit *et al.* (2005) melaporkan bahwa kandungan Asarone pada ekstrak jeringau menunjukkan aktivitas yang tinggi terhadap *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, dan *Penicillium marneffeii*, dengan nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitory Concentration 50*) masing-masing 0,2; 0,2; dan 0,4 mg/ml. Namun menunjukkan aktivitas yang sedang terhadap kapang *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, dan *Saccharomyces* (MIC 0,1-1 mg/ml) dan aktivitas yang rendah terhadap bakteri (MIC 5-10 mg/ml). Padua *et al.* (1999) menyatakan bahwa asarone menunjukkan aktivitas insektisida terhadap banyak jenis serangga. Asarone dilaporkan mempunyai aktivitas antifeedant, sebagai racun kontak dan dapat menyebabkan sterilisasi beberapa serangga.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dikatakan bahwa sebgaaian besar aktivitas biologis dari jeringau dikaitkan dengan kandungan asarone. Senyawa ini juga yang diduga berperan dalam menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii*.

Mekanisme kerja bahan kimia pengendali penyakit tumbuhan adalah: a) mempengaruhi protein dengan enzim. Fungisida efektif karena berpengaruh terhadap protein termasuk kepada enzim. Enzim mempunyai titik yang reaktif pada molekulnya, menyebabkan tertutupnya alur biokimia pada jamur; b) mempengaruhi permeabilitas membran. Kekacauan pada permeabilitas menyebabkan hambatan pada sekresi enzim ekstraseluler; c) mempengaruhi sintesis dinding sel atau pembelahan sel. Fungisida menghambat mitosis dengan mempengaruhi pembentukan benang-benang kumparan; d) mengadakan khelasi dan presipitasi. Berbagai macam konsituen termasuk asam amino, asam organik dan enzim dapat berfungsi sebagai agensia pengkelat dan membentuk kompleks organik dengan ion logam; e) substitusi kompetitif beberapa metabolit primer. Fungisida mengandung senyawa yang analog dengan metabolit sel jamur. jika senyawa-senyawa ini saling mempengaruhi, pengaruh fisiologisnya dapat mematikan jamur; f) pengaruh-pengaruh lain juga mempengaruhi sintesis protein dan sintesis asam nukleat (Semangun, 2006).

**SIMPULAN DAN SARAN****Simpulan**

Kandungan senyawa kimia dalam ekstrak rimpang jeringau adalah triterpenoid/steroid, flavonoid, alkaloid, tannin dan fenolat. Senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak rimpang jeringau dan diduga berperan dalam menghambat pertumbuhan *S. rolfsii* adalah Asarone.

**Saran**

Pemanfaatan rimpang jeringau dapat diuji lebih lanjut di lapangan untuk mengendalikan *S. rolfsii* penyebab busuk batang pada kacang tanah maupun jamur patogen lain yang dapat menyebabkan penyakit pada kacang tanah.

**DAFTAR RUJUKAN**

- Abadi, L. 2003. Ilmu Penyakit Tumbuhan. Jilid 2. Bayumedia Publishing. Malang.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology-Fifth Edition. Departemen of Plant Pathology. University of Florida. United States of Amerika. Academic Press. Florida.
- Alexopoulos, C.J. and C.W. Mims. 1979. Introductory Mycology. Third edition. John Wiley & Sons. New York.
- Antara, N.S., N.W. Nursini, dan IB.J.U. Dauh. 2008. Aktivitas Penghambatan Ekstrak Jangu (*Accorus calamus L.*) terhadap Pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Vibrio cholerae*. Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia 2008 (PIT-PERMI 2008). 21 – 23 Agustus 2008. Purwokerto.
- Ardiansyah. 2005. Antimikroba dari Tumbuhan. (Bagian Pertama). <http://www.berita iptek.com>. Tanggal akses 10 Juli 2011.
- Asha, D.S. and G. Deepak. 2009. Antimicrobial Activity of *Acorus calamus (L.)* Rhizome and Leaf Extract. *Acta Biol. Szegediensis* 53 (1): 45-49.
- Astiko,W., I. Muthanhanas, dan Y. Fitrianti. 2009. Uji Ketahanan Beberapa Varietas Kacang Tanah Lokal Bima terhadap Penyakit *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Crop Agro* 2 (1): 44-47.
- Edelstein, L., Y. Hadar, I. Chet, Y. Henis, and L.A. Segal. 1983. A Model for Fungal Colony Growth Applied to *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Genetic Microbiology* 129: 1873-1881.
- Ferreira, S.A. and R.A. Boley. 2006. *Sclerotium rolfsii*. <http://www.extento.edu>. Tanggal akses 10 Oktober 2010.

- Hanani, E., A. Mun'im, dan R. Sekarini. 2005. Identifikasi Senyawa Antoksidan Dalam Spons *Callyspongia* sp. Dari Kepulauan Seribu. <http://jurnal.farmasi.ui.ac.id/vo2no3>. Tanggal akses 10 Oktober 2010.
- Hardaningsih, S. dan M. Hadi. 2007. Penyebab Penyakit Bercak Polong dan Hawar Batang pada Tanaman Kacang Tanah di Kabupaten Banjarnegara. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. [http://balitkabi.litbang.deptan.go.id/images/PDF/Prosiding/seminar2007/proteksi/42\\_sri%20hardaningsih.pdf](http://balitkabi.litbang.deptan.go.id/images/PDF/Prosiding/seminar2007/proteksi/42_sri%20hardaningsih.pdf). Tanggal akses 5 Mei 2011.
- Kardinan, A. 1998. Prospek Penggunaan Pestisida Nabati di Indonesia, *Jurnal Litbang Pertanian XVII*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat 17: 1-8.
- Kardinan, A. 2004. *Pestisida Nabati Ramuan & Aplikasi*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Phongpaichit, S., P. Nongyao, R. Vatcharin and O. Metta. 2005. Antimicrobial Activities of the Crude Methanol Extract of *Acorus calamus* Linn. *Songklanokarin J. Sci. Technol* 27 (1): 517-523.
- Suprpta, D.N., M. Sudana and N. Arya. 2001. Application of plant extracts to control Ceratocystis rot in Snake fruit (*Salacca edulis*). *Journal of ISSAAS* 7: 10-16.
- Suprpta, D.N., I.G.A.A. Swari, M. Sudana, N. Arya and K. Ohsawa. 2002. Application of leaves extract of *Pometia pinnata* to control the late blight disease on potato. *Journal of ISSAAS* 8: 25-29.
- Suprpta, D.N. 2003. Pemanfatan Tumbuhan Lokal sebagai Pestisida Nabati Guna Meningkatkan Kemandirian Petani. *Orasi Ilmiah*. Universitas Udayana.
- Suprpta, D.N., M. Sudana, N.G. Alit, and P. Sudiarta. 2008. Plant Extract to Control Cocoa Black Pod Disease Caused by *Phytophthora palmivora*. *Journal of ISSAAS* 13 (3): 22-30.
- Suprpta, D.N. and K. Khalimi. 2009. Efficacy of Plant Extract Formulation to Suppress Stem Rot Disease on Vanilla Seedlings. *Journal of ISSAAS* 15 (2): 34-41.
- Sudana, I.M. 2004. Identifikasi Patogen Penyebab Penyakit Layu Pisang dan Tingkat Patogenitasnya pada Beberapa Jenis Pisang Lokal Bali. *Agritrop* 23: 82-87.