

Analisis Fitokimia Ekstrak Bulung Boni (*Caulerpa* spp.) dan Uji Daya Hambatnya terhadap Fungi *Fusarium moniliforme* (Sacc.) Nirenberg

VICKY TANDYA
I GEDE PUTU WIRAWAN*)
I KETUT SUADA

Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar 80231 Bali
*)Email: igpwirawan@yahoo.com

ABSTRACT

Phytochemical Analysis Of Bulung Boni Extract (*Caulerpa* spp.) and Its Inhibiting Ability Against *Fusarium moniliforme* (Sacc.) Nirenberg

Seaweed is a marine biota that produces bioactive compounds which are useful for the development of the pharmaceutical industry. *Caulerpa* spp. is a green algae that is commonly consumed as vegetables or fresh vegetables by tropical communities, but the use of *Caulerpa* spp. in other fields is not optimal. The purpose of this study was to determine the content of antifungal compounds in the extract of *Caulerpa* spp. and antifungal activity against *F. moniliforme*. The research method used was *Gas Chromatography* and the diffusion well method with 14 treatments and 3 replications. The design used was completely randomized with ANOVA analysis followed by Duncan's test with a confidence level of 5%. The results showed that the ethanol is extract of *Caulerpa* spp. has antifungal compounds, namely alkaloids, saponins, and organic acids which indicated fungistatic effect. Ethanol extract of *Caulerpa* spp. had minimal antifungal activity (MIC) against *F. moniliforme* at a concentration of 0.6% with an inhibition zone diameter of 5 mm and was categorized as weak. The best extract concentration in inhibiting *F. moniliforme* in the treated was a concentration of 5% with an inhibition zone diameter of 13.67 mm and a percentage was 54.54% colony inhibition.

Keywords: *Caulerpa* spp., phytochemicals, antifungal activity, *Fusarium moniliforme*

1. Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Rumput laut merupakan tumbuhan makroalga dimana tumbuhnya menempel di bebatuan pesisir pantai (Kılınç *et al.*, 2013). Alga dapat pula digunakan sebagai bahan baku obat. Hal ini berkenaan dengan senyawa aktif biologis yang terdapat di dalamnya, serta berfungsi bagi peningkatan industri kimia seperti antifungi, antikanker, antitumor, herbisida, antibakteri, serta antifeedant (Putri, 2016).

Bulung boni merupakan nama daerah dari *Caulerpa* spp.. Rumput laut ini biasanya digunakan sebagai sayuran oleh masyarakat Bali. *Caulerpa* spp. Diketahui memiliki keaktifan antifungi terhadap fungi *Aspergillus flavus* (Tosiyah *et al.*, 2016), fungi *Candida krusei* dan *Candida albicans* dikarenakan kandungannya berupa senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Senyawa tersebut bekerja sebagai antifungi (Siagian *et al.*, 2018). Antifungi merupakan obat yang berfungsi sebagai penghilang infeksi penyakit yang disebabkan oleh fungi.

Penanganan penyakit tanaman yang berasal dari fungi selalu diberikan fungisida. Penggunaan fungisida kimia secara berkala menyebabkan kukuh pada patogen, rusaknya lingkungan, serta berbahaya bagi manusia. Maka diperlukannya peralihan dari fungisida kimia ke biofungisida. Pemakaian biofungisida dapat menjadi preferensi dikarenakan sifatnya yang ramah lingkungan, terurai, dan tidak adanya efek samping bagi manusia.

Contoh serangan penyakit pasca panen di Indonesia adalah tanaman jagung yang terserang *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus niger* (Slusarenko *et al.*, 2001). Penyakit ini bisa menurunkan hasil tanaman baik pada saat panen. Pemberian ekstrak bulung boni (*Caulerpa* spp.) sebagai biofungisida dapat menjadi preferensi yang aman dan efektif, serta ramah lingkungan.

1.2 Tujuan

1. Untuk mengetahui kandungan senyawa antifungi yang terdapat pada ekstrak bulung boni (*Caulerpa* spp.)
2. Untuk mengetahui aktivitas antifungi ekstrak bulung boni (*Caulerpa* spp.) terhadap fungi *Fusarium moniliforme*.

2. Bahan dan Metode

Penelitian ini berlangsung pada bulan Juli 2020 sampai dengan Oktober 2020, di di UPT Lab. Sumber Daya Genetika dan Biologi Molekuler Universitas Udayana beralamat di Jalan Sudirman, Denpasar. Bahan-bahan yang digunakan adalah fungi murni *F. moniliforme* yang berasal dari koleksi Laboratorium Universitas Gajah Mada, media PDA (Potato Dextrosa Agar), larutan etanol 96%, akuades, alkohol 70%, kloramfenikol, larutan Tween 80, fungisida Mankozeb. Digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 14 perlakuan, masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sejumlah 3 kali. Perlakuan konsentrasi ekstrak *Caulerpa* spp. pada fungi *F. moniliforme* adalah 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1; 2; 5%; kontrol positif yaitu Mankozeb 80 konsentrasi 10% dan kontrol negatif yaitu Tween 80 konsentrasi 10% (Wibawa *et al.*, 2018).

2.1 Pelaksanaan Penelitian

2.1.1 Analisis Senyawa Antifungi dalam Ekstrak Bulung Boni (*Caulerpa* Spp.)

Analisis ekstrak *Caulerpa* spp. menggunakan Prosedur GC Laboratorium Forensik Barskrim Polri Cabang Denpasar. Dilakukan analisis menggunakan alat Agilent 7890B MSD 5977B, kolom silika Wakosil ODS/5C18-200 berukuran 4,6 x

200 mm dan memakai gas N₂ sebagai karier. Digunakan temperatur pada injeksi 290°C selama 27 menit dan kecepatan injeksi 1 ml/menit. Dilakukan identifikasi dengan cara dibandingkannya waktu retensi dengan puncak kromatogram dan *database*.

2.1.2 Peremajaan Fungi *Fusarium moniliforme*

Isolat fungi *F. moniliforme* dibiakkan pada media PDA yang sudah ditambahkan antibakteri berupa kloramfenikol. Isolat fungi *F. moniliforme* diambil memakai jarum ose, kemudian diletakkan didalam cawan petri yang berisi media PDA, lalu inokulasikan selama 7 hari di suhu ruang.

2.1.3 Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Ekstrak Bulung Boni (*Caulerpa* spp.) terhadap Fungi *Fusarium moniliforme*

Uji MIC menggunakan metode sumur difusi. Sejumlah 1 g ekstrak murni *Caulerpa* spp. dicampur dengan 9 ml tween 80 konsentrasi 10%, lalu ekstrak *Caulerpa* spp. konsentrasi 10% dicampur dengan akuades sesuai kebutuhan konsentrasi pada uji selanjutnya. Dibuat suspensi fungi *F. moniliforme* dengan cara di blender dan disaring menggunakan kertas saring Whatman. Sejumlah 0,5 ml suspensi dicampur 10 ml PDA cair lalu digoyangkan hingga tercampur dan merata pada cawan petri. Sesudah PDA memadat, dibuat dua lubang sumur difusi menggunakan alat cork borer, lalu isi lubang tersebut masing-masing dengan konsentrasi ekstrak *Caulerpa* spp. sejumlah 20 µl. Diameter zona hambat diukur saat fungi pada kontrol sudah tumbuh merata pada cawan petri (Wibawa *et al.*, 2018).

2.1.4 Uji Pembentukan Zona Hambat Ekstrak Bulung Boni (*Caulerpa* spp.) terhadap Fungi *Fusarium moniliforme*

Uji ini menggunakan ekstrak kasar dengan metode sumur difusi (Berghe & Vlietinck, 1991; Rios *et al.*, 1988). Uji ini bertujuan untuk menentukan daya hambat ekstrak *Caulerpa* spp. dengan diamati terbentuknya zona bening pada sumur ekstrak. Berikut ini merupakan cara untuk mengetahui daya hambat dan pertumbuhan fungi *F. moniliforme*, yaitu :

1. Dilakukan *plating* Potato Dextrose Agar (PDA) ke dalam cawan petri sejumlah 20 ml
2. Sejumlah 2 ml suspensi spora fungi *F. moniliforme* dimasukkan ke dalam cawan petri lalu dituangi PDA 20 ml cair, digoyangkan sampai konidia tercampur merata. Setelah membeku buat lubang menggunakan cork borer berdiameter 7 mm.
3. Setiap lubang sumur diisi 20 µl ekstrak *Caulerpa* spp. dengan beberapa perlakuan konsentrasi yaitu 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1; 2; 5%.
4. Inkubasikan selama 5 x 24 jam, amati dan ukur diameter zona bening yang terbentuk.

Tabel 1. Kategori hambatan berdasarkan kategori Davis Stout (Ardiansyah, 2005)

Zona hambat	Daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
6 – 10 mm	Sedang
11 – 20 mm	Kuat
> 20 mm	Sangat Kuat

Keterangan : Kategori daya hambat ditentukan berdasarkan nilai Minimum Inhibitory Concentration

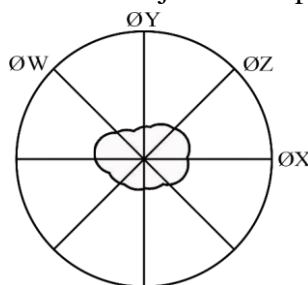
2.1.5 Uji Hambatan terhadap Pertumbuhan Koloni Fungi *Fusarium moniliforme*

PDA 30 ml cair dituang ke dalam cawan petri berisi ekstrak *Caulerpa* spp. dengan perlakuan konsentrasi 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1; 2; 5%. Cawan petri digoyangkan hingga semuanya tercampur dan merata, lalu dibiarkan hingga padat. Sesudah padat buat lubang berdiameter 5 mm, selanjutnya lubang diisikan koloni fungi *F. moniliforme* yang ditumbuhkan sebelumnya kemudian amati diameter koloni fungi. Berdasarkan Hutasoit (2013), daya hambat ekstrak dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\text{Daya hambat ekstrak} = \frac{\text{Diameter koloni kontrol} - \text{diameter koloni perlakuan}}{\text{Diameter Koloni Kontrol}} \times 100\%$$

2.1.6 Pengukuran Diameter Pengujian

Diameter pengujian dihitung menggunakan metode Risdianto *et al.*, (2007), yaitu dengan mengukur diameter searah radial sejumlah empat garis lurus (Gambar 1).



Gambar 1. Skema diameter pengujian

Rumus perhitungannya yaitu:

$$\text{Diameter koloni fungi} = \frac{\text{Ø}_W + \text{Ø}_Y + \text{Ø}_Z + \text{Ø}_X}{4}$$

Ø_W = diameter sumbu W

Ø_Y = diameter sumbu Y

Ø_Z = diameter sumbu Z

Ø_X = diameter sumbu X

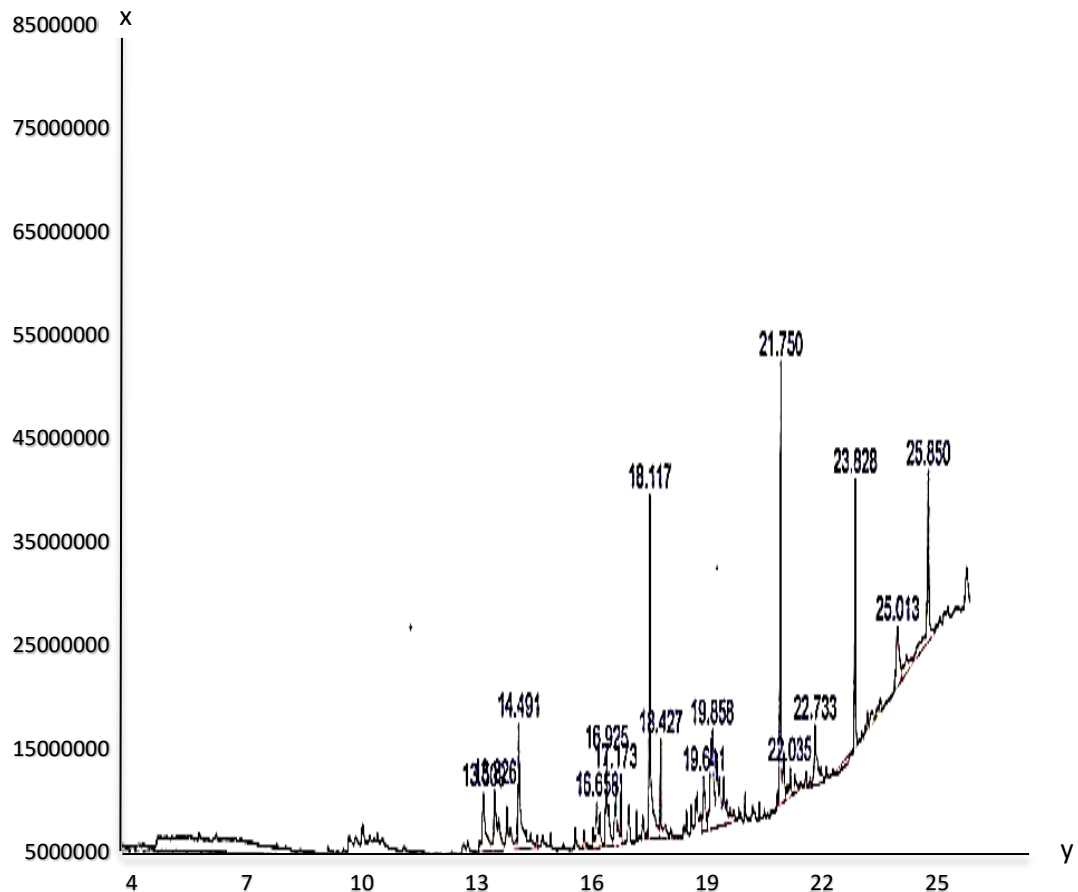
2.1.7 Analisis Data

Data penelitian ini dianalisis secara kuantitatif, digunakan *analysis of varians* (ANOVA) taraf 5%, lalu dilanjutkan uji Duncans Multiple Range Test (DMRT) pada taraf 5% apabila terdapat perbedaan pengaruh yang nyata.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Analisis Senyawa Antifungi dalam Ekstrak Bulung Boni (*Caulerpa Spp.*)

Analisis GC menghasilkan 16 puncak kromatogram (*peak*) dengan waktu retensi 13,509; 13,809; 14,491; 16,658; 16,925; 18,117; 18,427; 19,641; 19,858; 21,750; 22,035; 22,733; 23,828; 25,013; dan 25,850 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram pemisahan kromatografi gas ekstrak bulung boni (*Caulerpa spp.*)

Berdasarkan hasil puncak kromatogram maka didapat *database* dengan studi literatur dan diketahui kandungan serta kegunaan senyawa masing-masing komponen ekstrak *Caulerpa spp.* yang mengandung antifungi dan tertera pada Tabel 4.1 berikut ini :

Tabel 2. Kandungan ekstrak bulung boni (*Caulerpa* spp.) dengan GC

No.	Nama senyawa	Rumus molekul	RT	AUC	Kegunaan senyawa
1	2	3	4	5	6
1	<i>Hexadecanoic acid, ethyl ester</i>	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	18.427	3.27	Sebagai agen antifungi (Tyagi dan Agarwal, 2017)
2	<i>9-Octadecenoic acid, (E)-</i>	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	19.858	15.83	Sebagai agen antifungi (Ali <i>et al.</i> , 2017)
3	<i>Dimethylamine</i>	(CH ₃) ₂ N	22.035	1.85	Sebagai penyerap asam dan surfaktan (PubChem, 2020)
3	<i>Benzenemethanol, 2-(2-aminopropoxy)-3-methyl-</i>	C ₁₁ H ₁₇ NO ₂	22.733	4.36	Sebagai agen antifungi dan antibakteri (Kamal, 2017)
4	<i>Hydromorphone</i>	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	23.828	3.99	Termasuk senyawa alkaloid (Harclerode, 2003)
5	<i>2,5Di(trifluoromethyl)benzoic acid, 7-tridecyl ester</i>	C ₂₂ H ₃₀ F ₆ O ₂	23.828	3.99	Sebagai agen antifungi (Lima <i>et al.</i> , 2017)
6	<i>Hexadecanoic acid, 2-(octadecloxy)ethyl ester</i>	C ₃₆ H ₇₂ O ₂	25.013		Sebagai agen antifungi (Lavermicocca <i>et al.</i> , 2000)

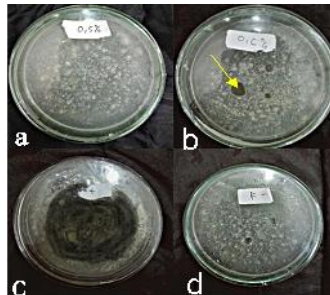
AUC: Area Under the Curve RT: Retention Time

Hasil analisis GC menunjukkan , senyawa pada ekstrak etanol *Caulerpa* spp. yang mengandung aktivitas antifungi ialah *hydromorphone* (turunan alkaloid) , *dimethylamine* (turunan saponin), dan *hexadecenoic acid, octadecanoic acid, benzoic acid, benzenemethanol, 2-(2-aminopropoxy)-3-methyl* (turunan asam organik). Sesuai dengan penelitian Siagian (2018) *Caulerpa* spp. memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* dan *Candida krusei*.

3.2 Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Ekstrak Bulung Boni (*Caulerpa* spp.) terhadap Fungi *Fusarium moniliforme*

Hasil uji MIC ekstrak *Caulerpa* spp. terhadap fungi *F. moniliforme* menunjukkan ekstrak *Caulerpa* spp. konsentrasi 0,6% sudah dapat menghambat pertumbuhan fungi *F. moniliforme*. Hal ini berdasarkan hasil pengamatan zona bening

yang sudah terbentuk disekitar sumur difusi pada hari ke-3 sesudah inokulasi. Dapat dilihat pada Gambar 4.2 (a) di bawah ini.



Gambar 3. Hasil uji MIC ekstrak *Caulerpa* spp. terhadap fungi *Fusarium moniliforme*. a) konsentrasi ekstrak 0,5%; b) konsentrasi ekstrak 0,6%; c) kontrol positif (Mankozeb 10%); d) kontrol negatif (Tween 80 konsentrasi 10%).

Keterangan : Tanda panah menandakan terbentuknya zona bening

3.3 Uji Zona Hambat Ekstrak Bulung Boni (*Caulerpa* spp.) terhadap Fungi *Fusarium moniliforme*

Hasil uji zona hambat ekstrak *Caulerpa* spp. terhadap fungi *F. moniliforme* dapat dilihat pada Tabel 4.2.

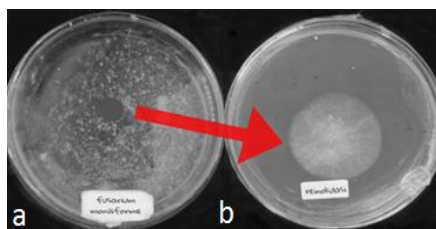
Tabel 3. Zona hambat ekstrak bulung boni (*Caulerpa* spp.) terhadap fungi *F. moniliforme*.

Perlakuan	Zona hambat (mm)			Rata-rata diameter (mm)
	I	II	III	
Kontrol (-)	0	0	0	0,00 ^a
0,5%	0	0	0	0,00 ^a
0,6%	2	5	8	5,00 ^b
0,7%	7	5	8	6,67 ^{bc}
0,8%	9	10	6	8,33 ^{bc}
0,9%	12	8	5	8,33 ^{bc}
1%	7	12	9	9,33 ^c
2%	9	14	7	10,00 ^c
5%	20	9	12	13,67 ^c
Kontrol (+)	24	21	19	21,33 ^d

Keterangan: Data di analisis setelah ditransformasi. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji DMRT 5%

Hasil pengamatan uji aktivitas antifungi ekstrak *Caulerpa* spp. terhadap *F. moniliforme* setelah inkubasi 3x24 jam yaitu daya hambat terendah pada konsentrasi 0,6% memiliki rata-rata diameter 5mm, dan daya hambat tertinggi pada konsentrasi

5% memiliki rata-rata diameter 13,67mm. Hal ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang terbentuk meningkat seiring dengan adanya penambahan konsentrasi ekstrak, hal ini dikarenakan tingginya kandungan zat aktif di dalam ekstrak *Caulerpa* spp. sehingga aktivitas antifungi semakin besar. Akan tetapi dibutuhkan reinokulasi yang bertujuan untuk mengetahui mekanisme antifungi ekstrak *Caulerpa* spp.



Gambar 4. Reinokulasi fungi *Fusarium moniliforme* dari zona bening yang terbentuk a) zona bening yang akan direinokulasi; b) fungi *Fusarium moniliforme* setelah 3 hari reinokulasi.

Hal ini membuktikan bahwa mekanisme penghambatan dari ekstrak *Caulerpa* spp. adalah bersifat fungistatis.

3.4 Uji Daya Hambat Ekstrak Bulung Boni (*Caulerpa* spp.) terhadap Pertumbuhan Koloni Fungi *Fusarium moniliforme*

Hasil uji daya hambat ekstrak *Caulerpa* spp. terhadap koloni fungi *Fusarium moniliforme* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Daya hambat ekstrak *Caulerpa* spp. terhadap pertumbuhan koloni fungi *Fusarium moniliforme*.

Perlakuan	Diameter koloni fungi (mm)			Rata-rata (mm)	Diameter hambatan (%)
	I	II	III		
Kontrol (-)	21	17	15	17,67 ^c	0
0,5%	13	24	16	17,67 ^c	0
0,6%	20	18	12	16,67 ^{bc}	5,66
0,7%	13	16	20	16,33 ^{bc}	7,54
0,8%	18	13	12	14,33 ^{bc}	18,86
0,9%	10	15	18	14,33 ^{bc}	18,86
1%	14	13	11	12,67 ^{bc}	28,30
2%	7	11	13	10,33 ^{bc}	41,50
5%	10	8	5	7,67 ^{bc}	54,54
Kontrol (+)	0	0	0	0,00 ^a	100

Keterangan: Data di analisis setelah ditransformasi. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji DMRT 5%

Hasil uji daya hambat ekstrak *Caulerpa* spp. terhadap pertumbuhan koloni *F. moniliforme* menunjukkan konsentrasi ekstrak 0,6% mulai menghambat pertumbuhan

fungi *F. moniliforme* dengan persentase diameter hambatan 5,66%. Diameter yang terbentuk meningkat seiring dengan adanya penambahan konsentrasi ekstrak *Caulerpa* spp.. Persentase diameter hambatan terbesar pada fungi *F. moniliforme* ialah 54,54% pada konsentrasi 5% dengan inkubasi 3 x 24 jam pada suhu kamar.

4. Kesimpulan

Senyawa dalam ekstrak *Caulerpa* spp. yang berpotensi sebagai antifungi terhadap fungi *F. moniliforme* adalah senyawa turunan alkaloid yaitu: *hydromorphone*, senyawa asam organik yaitu: *hexadecenoic acid*, *octadecanoic acid*, *benzoic acid*, *benzenemethanol*, *2-(2-aminopropoxy)-3-methyl*, dan senyawa turunan saponin yaitu *dimethylamine*. Ekstrak *Caulerpa* spp. juga mampu menghambat pertumbuhan fungi *F. moniliforme* dengan nilai hambat minimum (MIC) sebesar 0,6% dengan kategori daya hambat lemah, daya hambat tertinggi dalam penelitian ini adalah konsentrasi 5% dengan persentase hambatan pertumbuhan koloni 54,54%.

Daftar Pustaka

- Ali, A. A. Javaid dan A. Shoaib. 2017. GC-MS analysis and antifungal activity of methanolic root extract of *Chenopodium album* against *Sclerotium rolfsii*. https://www.researchgate.net/publication/304675301_GC-MS_analysis_and_antifungal_activity_of_methanolic_root_extract_of_Chenopodium_album_against_Sclerotium_rolfsii. (diakses tanggal 15 November 2020)
- Ardiansyah. 2005. Daun Beluntas sebagai Antibakteri dan Antioksidan. Berita IPTEK. <http://www.beritaiptek.com/cetak-berita.php?kat=berita&id=60>. (diakses tanggal 4 Maret 2020).
- Berghe, D. A. Vanden dan A. J. Vlietinck. 1991. Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agent from Higher Plant In Dey, P.M. and J.B. Harborne (Eds.): *Methods in Plant Biochemistry* Vol. 7. London: Academic Press.
- Harclerode, W. H. R. Gault, M. D. Sandison. 2003. *Hydromorphone And Hydrocodone Compositions And Methods For Their Synthesis*. United States Patent
- Hutasoit, Sanggul, I K. Suada, dan I G. K. Susrama. 2013. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Beberapa Jenis Biota Laut terhadap *Aspergillus flavus* LINK dan *Penicillium* sp. LINK. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika* (2)1: 27-38.
- Kamal, S. A. 2017. In Vitro Antifungal Potential of *Morganella morganii* and Determination of its Chemical Composition by Gas ChromatographyMass Spectrometry. *International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research*; 8(2); 99-113
- Kiliç B, Cirik S, Turan G et al. 2013. Seaweeds for food and industrial applications. Food Industry. In: Muzzalupo I (ed). InTech. Doi: <http://dx.doi.org/10.5772/53172>. (diakses pada tanggal 12 Oktober 2020)
- Lavermicocca, P. F. Valerio, A. Evidente. 2000. Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds from the Sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B. Tersedia online di https://www.researchgate.net/publication/12356520_Purification_and_Characterization_of_Novel_Antifungal_Compounds_from_the_Sourdough_Lactobacillus_plantarum_Strain_21B. (diakses pada tanggal 12 Oktober 2020)

- Lima, T. C. A. R. Ferreira, D. S. Silva, E. O. Lima and D. P. de Sousa. 2017. Antifungal activity of cinnamic acid and benzoic acid esters against *Candida albicans* strains. *Journal Natural Product Research*; 32(5); 572-575
- PubChem, 2020. *Dimethylamine*. Tersedia online di <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dimethylamine> (diakses pada tanggal 13 Oktober 2020)
- Pubmed, 2020. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. Tersedia online di <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10966432/> (diakses pada tanggal 12 Oktober 2020)
- Risdianto, Hendro, T. Setiadi, S. H. Suhardi, W. Nipoperbowo. 2007. Pemilihan Spesies Fungi dan Media Imobilisasi Untuk Produksi Enzim Lignolitik. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses* (1)6: 132-135.
- Siagian, K. D. D. Lantang, S. Dirgantara, dan E. S. Simaremare. 2018. Uji Aktivitas Antifungi Anggur Laut (*Caulerpa* Sp.) Asal Pulau Ambai Serui Terhadap Fungi *Candida Krusei* Dan *Candida Albicans*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia* (15): 22
- Slusarenko, A.J, R. S. S. Fraser and L. C. van Loon. 2001. Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Jaya Book: London.
- Tosiyah, K. S. M. Julyasih dan A. Purnawati 2016. Kemampuan Ekstrak Bulung Boni *Bulung Boni* (*Caulerpa* sp.) dalam Menghambat Pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada Biji Jagung. *Berkala Ilmiah Agroteknologi PLUMULA* (5)2: 168-178.
- Tyagi, T. M. Agarwal. 2017. Phytochemical screening and GC-MS analysis of bioactive constituents in the ethanolic extract of *Pistia stratiotes* L. and *Eichhornia crassipes* (Mart.) solms. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(1): 195-206.
- Wibawa, I G. K. Satria, D. N. Suprpta, dan K. Khalimi. 2018. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Biji Keben (*Barringtonia asiatica* L. Kurz) terhadap *Curvularia verruculosa* Penyebab Penyakit Bercak *Culvularia* pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.). *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika* (7)3: 414-42