

Potensi Kombinasi Ekstrak Bawang Putih dan Polifenol sebagai Metode Kuratif Pengendalian *Ganoderma boninense*

*Potential of Combination of Garlic Extract and Polyphenols as a Curative Method for Controlling *Ganoderma boninense**

Ciptadi Achmad Yusup*, Deden Dewantara Eris, Agustin Sri Mulyatni, Mahardika Gama Pradana, Happy Widiastuti, dan Djoko Santoso

Abstrak Pengendalian penyakit busuk pangkal batang (BPB) hingga saat ini berfokus kepada kegiatan preventif, sehingga diperlukan teknik pengendalian secara kuratif untuk melengkapi teknik pengendalian yang sudah ada. Penggunaan fungisida organik merupakan salah satu solusi yang ramah lingkungan. Ekstrak bawang putih (GE) dan polifenol (P) memiliki aktivitas antifungal terhadap berbagai jenis cendawan. Kombinasi kedua senyawa ini diharapkan mampu membentuk interaksi sinergistik yang efektif mengendalikan *G. boninense* secara kuratif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi aktivitas antifungal kombinasi GE dan P (GE+P) terhadap *G. boninense*, menentukan konsentrasi optimum yang dapat mematikan *G. boninense* secara *in vitro*, serta membuat formulasi fungisida organik dari GE+P. Pengujian *in vitro* menggunakan teknik peracunan media, sedangkan untuk uji kompatibilitas menggunakan metode *checkerboard assay*. Evaluasi kapasitas pertumbuhan inokulum *G. boninense* yang diuji dilakukan dengan Bavendamm test. Sedangkan untuk evaluasi efek kuratif kombinasi GE+P dilakukan dengan uji tetes dan semprot pada koloni *G. boninense*. Pengamatan kerusakan miselium akibat pengujian kontak dilakukan dengan *scanning electron microscope* (SEM). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi GE+P memiliki interaksi sinergistik dan mampu merusak jaringan miselium *G. boninense* pada konsentrasi minimum 0,4%. Pengamatan SEM menunjukkan kerusakan parah jaringan miselium *G. boninense* pada aplikasi dengan konsentrasi 1,6%.

Formulasi fungisida organik kombinasi GE+P berhasil membentuk larutan yang homogen dan stabil dengan penambahan surfaktan sodium lauryl sulfate (SLS). Pengujian daya simpan formulasi fungisida organik menunjukkan kestabilan dan tidak adanya penurunan efektivitas setelah disimpan selama enam bulan.

Kata Kunci: Bavendamm test, busuk pangkal batang, checkerboard assay, formulasi, sinergistik.

Abstract Basal stem rot (BSR) disease control is currently focused on preventive activities, and curative control techniques are needed to complement existing preventive methods. The use of organic fungicides is an environmentally friendly solution. Garlic extract (GE) and polyphenols (P) have antifungal activities against various types of fungi. Combining these two mixtures was expected to create a synergistic interaction that effectively controls *G. boninense* curatively. This research aimed to evaluate the antifungal activity of the combination of GE and P (GE+P) against *G. boninense*, determine the optimum concentration for killing *G. boninense* *in vitro*, and formulate an organic fungicide from GE+P. *In vitro* assay was conducted using a poisoned food technique, and the compatibility test was done using a checkerboard assay method. Evaluation of growth capacity of treated *G. boninense* inoculum was evaluated through the Bavendamm test. The curative effect of GE+P combination was assessed by droplet and spraying assay on the colony of *G. boninense*. The destruction of *G. boninense* mycelium was observed with a scanning electron microscope (SEM). The research results indicate that the combination of GE+P exhibits a synergistic interaction and can damage *G. boninense* mycelium tissue at a minimum concentration of 0.4%. SEM observations reveal severe damage to *G. boninense* mycelium tissue

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

Ciptadi Achmad Yusup* (✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan 20158 Indonesia
Email: ciptadi.a.yusup@gmail.com



at a concentration of 1.6%. The formulation of organic fungicide combination of GE+P successfully produces a homogenous and stable solution with the addition of sodium lauryl sulfate (SLS) surfactant. Shelf-life testing of the organic fungicide formulation shows stability and no reduction of effectiveness after being stored for six months.

Keywords: Basal stem rot, Bavendamm test, checkerboard assay, formulation, poisoned food technique, synergistic.

PENDAHULUAN

Ganoderma boninense merupakan patogen yang menyebabkan penyakit busuk pangkal batang (BPB) pada tanaman kelapa sawit. Penyakit ini merupakan salah satu penyakit utama pada kelapa sawit yang dapat menyebabkan kerugian hingga 43% (Assis *et al.*, 2016; Corley & Tinker, 2016). Penyakit ini dapat menyerang berbagai stadia tanaman kelapa sawit, mulai dari tanaman belum menghasilkan (Priwiratama & Susanto, 2020), tanaman muda (Priwiratama *et al.*, 2020), hingga tanaman menghasilkan (Flood *et al.*, 2022; Jazuli *et al.*, 2022). Generasi dan umur tanaman kelapa sawit berpengaruh terhadap kejadian dan keparahan penyakit BPB, kejadian serangan penyakit BPB akan meningkat seiring dengan bertambahnya umur tanaman kelapa sawit (Flood *et al.*, 2022; Lisnawita *et al.*, 2016).

Hingga saat ini, mayoritas teknik pengendalian penyakit BPB kelapa sawit berfokus kepada kegiatan preventif melalui pengendalian secara biologi, pengembangan varietas resisten, pengendalian secara kultur teknis (Flood *et al.*, 2022; Supramani *et al.*, 2022). Pengendalian penyakit BPB secara kimiawi dengan menggunakan fungisida sudah banyak dilakukan, salah satunya adalah aplikasi hexaconazole yang dilaporkan efektif menurunkan jumlah tanaman mati akibat penyakit busuk pangkal atas hingga 48.76% (Nur-Rashyeda *et al.*, 2022). Meskipun hasil studi tersebut menunjukkan hasil yang potensial, namun belum ada yang terbukti efektif mengatasi infeksi *G. boninense* pada kelapa sawit (Supramani *et al.*, 2022).

Penggunaan fungisida dan pestisida sintetik secara keseluruhan menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan dan lingkungan (Decourtye *et al.*, 2013; Sulaiman *et al.*, 2019). Penelitian yang dilakukan

Sulaiman *et al.* (2019) melaporkan sebagian besar pekerja di perkebunan kelapa sawit di Papar, Malaysia terpapar pestisida sehingga menyebabkan gangguan kesehatan yang bervariasi dari iritasi kulit sedang hingga kanker paru-paru. Salah satu alternatif pengendalian secara kuratif yang ramah lingkungan adalah dengan penggunaan senyawa organik yang mampu menekan atau bahkan merusak *G. boninense*. Penggunaan pestisida organik sejalan dengan konsep pengendalian hama penyakit terpadu yang lebih aman baik terhadap manusia maupun terhadap lingkungan (Martínez *et al.*, 2013).

Senyawa organik yang memiliki aktivitas antifungal yang baik adalah golongan organosulfur yang banyak ditemukan pada ekstrak bawang putih. Organosulfur ini memiliki aktivitas antimikroba dengan menghambat pertumbuhan membran sel cendawan (Borlinghaus *et al.*, 2014; Leontiev *et al.*, 2018; Sarfraz *et al.*, 2020). Penghambatan pertumbuhan membran sel ini menyebabkan kerusakan pada membran dan sitoplasma, juga menyebabkan malformasi pada miselium (Aala *et al.*, 2014; Leontiev *et al.*, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Widiastuti *et al.* (2016) melaporkan aplikasi secara simultan fungisida organik berbahan aktif alisin yang dikombinasi dengan biostimulan setiap 1 dan 2 minggu sekali selama 3 bulan menghasilkan respons perubahan kesehatan tanaman kelapa sawit terserang penyakit BPB yang ditandai dengan munculnya perakaran baru, terbukanya daun tombak, dan hasil TBS serta peningkatan rendemen minyak. Selain ekstrak bawang putih, senyawa lain yang memiliki aktivitas antimikroba yang baik adalah polifenol. Polifenol banyak terkandung dalam asap cair dan dapat menghambat pertumbuhan cendawan pasca panen (Sulhatun, 2017), *Rigidiporus* spp. (Shiny *et al.*, 2018), *Ganoderma* sp. dan *Curvularia* sp. (Hadanu & Apituley, 2016; Mahmud *et al.*, 2021). Polifenol mengganggu sintesis ergosterol, glucan, kitin, protein dan glukosamin pada cendawan (Ansari *et al.*, 2013). Ergosterol berkorelasi positif dengan peningkatan biomassa dan periode inokulasi dari *G. boninense* (Muniroh *et al.*, 2020).

Baik ekstrak bawang putih maupun polifenol memiliki aktivitas antifungal yang berbeda, sehingga dengan menggabungkan kedua senyawa ini diharapkan dapat meningkatkan efektivitas sekaligus menurunkan kemungkinan terjadinya resistensi.

Potensi resistensi cendawan terhadap fungisida yang *site-specific* lebih tinggi dibandingkan dengan fungisida yang bersifat *multisite* (Reis et al., 2021). Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antifungal kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol terhadap *G. boninense*, menentukan konsentrasi optimum yang dapat mematikan *G. boninense* secara *in vitro*, serta membuat formulasi fungisida organik dari ekstrak bawang putih dan polifenol.

BAHAN DAN METODE

Penyiapan bahan

Ekstrak bawang putih (GE) diperoleh dari bawang putih varietas Honan. Bawang putih yang telah dikupas bersih, dicampurkan dengan air steril (1:1) dan dihaluskan menggunakan blender dengan kecepatan 3.000-4.000 rpm selama 10 menit. Larutan bawang putih yang sudah halus kemudian disaring dan diperas menggunakan kain kasa hingga tidak ada cairan yang menetes. Sedangkan polifenol (P) diperoleh dari hasil pembakaran tempurung kelapa melalui proses pirolisis (Demirbaş & Arin, 2010).

Identifikasi isolat *Ganoderma boninense*

Isolat *G. boninense* yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil isolasi dari pohon kelapa sawit yang terserang penyakit BPB di kebun Bah Jambi, Simalungun, Sumatera Utara. Isolat *G. boninense* tersebut kemudian dikonfirmasi secara molekuler dengan primer spesifik *Ganoderma* GanB dan ITS menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR) untuk memastikan spesiesnya. Proses isolasi DNA *G. boninense* menggunakan metode Orozco-Castillo *et al.* (1994). Analisis dan konstruksi pohon filogenetik dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA 9. Seluruh kegiatan isolasi DNA, PCR dan analisis hasil dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler Pusat Penelitian Kelapa Sawit Unit Bogor.

Uji antifungal terhadap *G. boninense*

Pengujian antifungal terhadap *G. boninense* dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode peracunan agar (Bussaman *et al.*, 2012; Salas *et al.*, 2011; Schmitz, 1930). Bahan aktif

dicampurkan ke dalam potato dextrose agar (PDA) hingga mencapai konsentrasi pengujian. Larutan PDA kemudian dituang pada cawan petri berdiameter 10 cm. Miselium *G. boninense* berdiameter 10 mm diambil menggunakan *cork borer* dari isolat berumur 14 hari, dan dipindahkan secara aseptik ke permukaan media PDA yang mengandung bahan aktif. Petri kemudian diinkubasi selama 30 hari pada suhu ruang. Pengamatan dan pengukuran diameter koloni dilakukan setiap hari.

Uji kompatibilitas ekstrak bawang putih dan polifenol

Uji kompatibilitas antara GE dan P (GE+P) dilakukan menggunakan metode *checkerboard assay* yang diadaptasi dari Aleixo *et al.* (2015). Masing-masing larutan stok kombinasi GE+P dengan rasio kelipatan konsentrasi yang sama, kemudian dicampurkan untuk mengevaluasi efek antifungal yang dihasilkan terhadap *G. boninense*. Sifat kompatibilitas kombinasi GE+P dievaluasi melalui nilai konsentrasi penghambatan fraksi (FIC). Nilai FIC diperoleh dari rasio antara konsentrasi penghambatan minimum (MIC) GE dan P sebelum dicampurkan dan setelah dikombinasikan. Pada penelitian ini, MIC yang digunakan adalah konsentrasi terendah yang mampu menghambat 100% pertumbuhan *G. boninense*. Nilai FIC yang diperoleh kemudian diinterpretasikan dengan mengacu pada deskripsi Carvalho *et al.* (2018), dimana nilai $FIC \leq 0,5$ berarti kombinasi bersifat sinergis, nilai FIC 0,6-1,0 berarti bersifat aditif, nilai FIC 1,1-4,0 berarti kombinasi bersifat tidak berbeda dan nilai $FIC \geq 4,1$ berarti kombinasi kedua bahan aktif bersifat antagonis.

Penentuan *lethal concentration 50* (Lc50)

Pengujian LC50 dilakukan pada kombinasi GE+P yang memiliki sifat sinergisme atau aditif dengan tingkat penghambatan 100% terhadap *G. boninense*. Pengujian dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode peracunan agar. Konsentrasi yang diuji mulai dari 0% dengan interval 0,2% hingga konsentrasi minimum yang dapat menghambat 100% pertumbuhan *G. boninense*. Penghitungan LC50 dilakukan dengan metode analisis regresi probit menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel 365*[®].



Pengujian efek kuratif terhadap *G. boninense*

Pengujian efek kuratif kombinasi GE+P dilakukan dengan terlebih dahulu memvalidasi daya tumbuh *G. boninense* dengan menggunakan uji Bavendamm dilanjutkan dengan uji kontak dan pengamatan dibawah *scanning electron microscope*.

Uji Bavendamm

Uji Bavendamm dilakukan untuk mengkonfirmasi kapasitas pertumbuhan isolat *G. boninense* yang diberi perlakuan dan memiliki tingkat penghambatan 100% pada pengujian peracunan agar sebelumnya. Inokulum dari pengujian peracunan agar sebelumnya diinokulasikan kembali pada media PDA yang dicampurkan dengan 1% asam tanat dan diinkubasikan selama 7 hari. Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap pertumbuhan miselium dan/atau terbentuknya zona coklat kemerahan disekitar inokulum. Zona coklat kemerahan yang terbentuk merupakan indikator adanya aktivitas enzim ligninolitik dari inokulum *G. boninense*. Aktifnya enzim ligninolitik menunjukkan adanya pertumbuhan inokulum *G. boninense*.

Uji kontak dan pengamatan dengan *scanning electron microscope* (SEM)

Pengujian kontak dilakukan dengan meneteskan sebanyak 100 µL kombinasi GE+P pada empat titik di atas koloni *G. boninense*. Pengujian kontak juga dilakukan dengan menyemprotkan 1 mL kombinasi GE+P pada koloni *G. boninense* secara merata. Sebagai kontrol, koloni *G. boninense* diaplikasikan air steril yang diteteskan dan disemprotkan pada koloni *G. boninense*. Koloni *G. boninense* yang digunakan pada pengujian ini adalah koloni yang berumur 7 hari setelah inokulasi (HSI). Pengamatan dilakukan setiap hari hingga 7 hari setelah aplikasi (HSA) secara makroskopis dan menggunakan SEM pada 1, 3 dan 7 HSA. Perlakuan yang diamati dengan menggunakan SEM adalah perlakuan dengan tingkat kerusakan tertinggi. Pengamatan dengan menggunakan SEM dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Lanjut, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN).

Formulasi dan uji daya simpan

Kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol tidak menghasilkan larutan yang homogen ketika dicampurkan, sehingga perlu ditambahkan surfaktan untuk membentuk formulasi yang homogen dan stabil. Terdapat beberapa jenis surfaktan yang diuji, yakni alkil aril poliglicol eter, sodium laureth sulfate, polysorbate 20 dan polysorbate 80. Masing-masing surfaktan diuji pada konsentrasi 1-5%, larutan kemudian diaduk hingga merata dan didiamkan selama 48 jam untuk melihat homogenitasnya.

Formulasi yang telah homogen dan stabil kemudian diuji daya simpan dan efektivitasnya. Pengujian efektivitas formulasi terpilih dilakukan secara *in vitro* terhadap inokulum *G. boninense* dengan metode peracunan media dan diulang sebanyak 5 kali. Pengujian efektivitas formulasi dilakukan dengan interval 1 bulan selama 6 bulan masa simpan. Pengamatan pengujian efektivitas dilakukan setiap hari dengan mengamati pertumbuhan miselium dan menghitung diameter koloni hingga umur 14 hari.

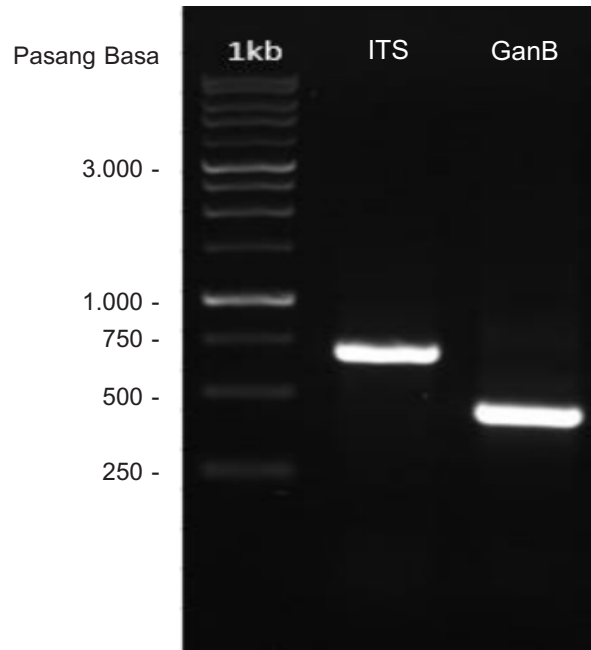
HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi molekuler isolat *Ganoderma*

Isolat *Ganoderma* yang diperoleh dari kebun Bah Jambi, Simalungun, Sumatera Utara teridentifikasi sebagai *G. boninense* berdasarkan hasil PCR menggunakan primer ITS dan GanB (Gambar 1). Setelah di analisis lebih lanjut menggunakan perangkat lunak MEGA 9, isolat Bah Jambi memiliki *percent identity* 82,32% dengan isolat *Ganoderma boninense* isolate UPMLD1806 (MN148580.1) dan *percent identity* 99,72% dengan isolat *Ganoderma boninense* isolate GR376 (FJ154775.1). Konstruksi pohon filogenetik hasil analisis menggunakan metode NJ Bootstrap 1000 tersaji pada Gambar 2. Dengan demikian, dapat dipastikan bahwa isolat *Ganoderma* yang berasal dari Kebun Bah Jambi merupakan spesies *G. boninense*.

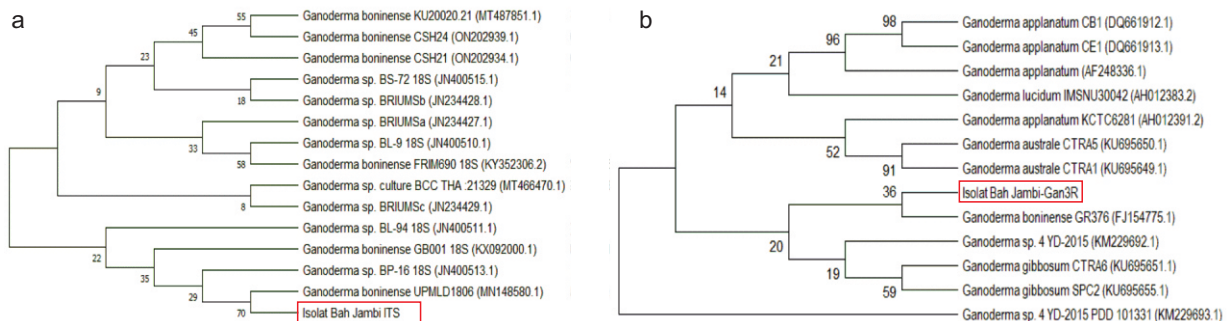
Uji kompatibilitas ekstrak bawang putih dan polifenol

Hasil pengujian secara *in vitro* menunjukkan bahwa konsentrasi minimum (MIC) ekstrak bawang putih (GE) untuk menghasilkan penghambatan terhadap *G.*



Gambar 1. Hasil elektroforesis isolat *Ganoderma* Bah Jambi setelah PCR dengan primer ITS (500-750 bp) dan GanB (300-500 bp).

Figure 1. Electrophoresis result of Bah Jambi *Ganoderma* isolate after PCR with ITS (500-750 bp) and GanB primer (300-500 bp).



Gambar 2. Konstruksi pohon filogenetik isolat *Ganoderma* asal Bah Jambi, Simalungun, Sumatera Utara dengan primer ITS (a) dan GanB (b).

Figure 2. Phylogenetic tree construction of *Ganoderma* isolate from Bah Jambi, Simalungun, North Sumatra with ITS (a) and GanB (b) primer.

boninense adalah 0,8% dengan tingkat penghambatan 66,7%. Namun diperlukan minimal konsentrasi 1,6% GE untuk mematikan inokulum *G. boninense* (Tabel 1). Konsentrasi ini lebih tinggi dibandingkan dengan MIC ekstrak bawang putih terhadap *Fusarium* spp. (0,25%) dan *Rhizopus* spp. (0,5%) (Kutawa *et al.*, 2018). Namun, konsentrasi ini jauh lebih rendah dibandingkan dengan MIC ekstrak bawang putih

terhadap *Botrytis cinerea* (60%) (Daniel *et al.*, 2015). Sedangkan MIC untuk polifenol (P) dengan 100% penghambatan koloni *G. boninense* adalah 0,5%. Konsentrasi ini lebih rendah dibandingkan MIC polifenol terhadap *Phytophthora citrophthora* sebesar 1% (Oramahi *et al.*, 2021) dan terhadap *Colletotrichum* sp. sebesar 0,52% (Wardoyo *et al.*, 2020). Setelah dicampurkan, hasil uji kompatibilitas antara GE dan P

menunjukkan bahwa kombinasi keduanya yang memiliki jenis interaksi sinergistik dengan tingkat penghambatan *G. boninense* 100% adalah 0,4% GE dan 0,125% P (Tabel 1). Kombinasi dengan konsentrasi ini yang kemudian akan digunakan dalam pengujian selanjutnya.

Kombinasi tersebut dipilih dikarenakan kombinasi dengan interaksi sinergistik mampu menurunkan konsentrasi bahan aktif tanpa memengaruhi efektivitasnya terhadap *G. boninense*. Carvalho *et al.* (2018) mendeskripsikan bahwa kombinasi dua

senyawa yang memiliki jenis interaksi sinergistik memiliki keunggulan dalam hal efikasi dan keamanan. Interaksi sinergistik dapat diartikan bahwa kombinasi yang terbentuk memiliki efikasi yang sama atau lebih baik dengan konsentrasi masing-masing senyawa yang lebih rendah sehingga relatif lebih aman (Hong *et al.*, 2016; Ncube *et al.*, 2012). Pencampuran GE dan P mengurangi konsentrasi GE yang dibutuhkan untuk menghambat 100% pertumbuhan *G. boninense* dari 1,6% (MIC GE) menjadi 0,4% dan konsentrasi P dari 0,5% (MIC P) menjadi 0,125%.

Tabel 1. Hasil uji kompatibilitas kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol terhadap *G. boninense* 30 hari setelah inokulasi (HSI).

Table 1. Compatibility test results of the combination of garlic extract and polyphenols against *G. boninense* 30 days after inoculation (DAI).

Konsentrasi (%) / Concentration (%)		Diameter Koloni / Colony Diameter	Tingkat Penghambatan / Inhibition Rate (%)*	Nilai FIC / FIC Index**	Interaksi / Interaction**
GE**	P**	(cm)*			
0	0	10 c	0 c	-	Kontrol / Control
0	0,125	10 c	0 c	-	-
0	0,25	10 c	0 c	-	-
0	0,5	0 a	100 a	-	MIC P
0	1	0 a	100 a	-	-
0	2	0 a	100 a	-	-
0,05	0	10 c	0 c	-	-
0,1	0	10 c	0 c	-	-
0,2	0	10 c	0 c	-	-
0,4	0	10 c	0 c	-	-
0,8	0	3,33 b	66,7 b	-	-
1,6	0	0 a	100 a	-	MIC GE
0,05	0,125	10 c	0 c	0,28	Sinergistik / Synergistic
0,05	0,25	10 c	0 c	0,53	Aditif / Additive
0,05	0,5	0 a	100 a	1,03	Tidak Berbeda / Indifferent
0,05	1	0 a	100 a	2,03	Tidak Berbeda / Indifferent
0,05	2	0 a	100 a	4,03	Antagonistik / Antagonistic

(continued)

Konsentrasi (%) / Concentration (%)		Diameter Koloni / Colony Diameter	Tingkat Penghambatan / Inhibition Rate (%)*	Nilai FIC / FIC Index**	Interaksi / Interaction**
GE**	P**	(cm)*			
0,1	0,125	10 c	0 c	0,31	Sinergistik / <i>Synergistic</i>
0,1	0,25	10 c	0 c	0,56	Aditif / <i>Additive</i>
0,1	0,5	0 a	100 a	1,06	Tidak Berbeda / <i>Indifferent</i>
0,1	1	0 a	100 a	2,06	Tidak Berbeda / <i>Indifferent</i>
0,1	2	0 a	100 a	4,06	Antagonistik / <i>Antagonistic</i>
0,2	0,125	10 c	0 c	0,38	Sinergistik / <i>Synergistic</i>
0,2	0,25	0 a	100 a	0,63	Aditif / <i>Additive</i>
0,2	0,5	0 a	100 a	1,13	Tidak Berbeda / <i>Indifferent</i>
0,2	1	0 a	100 a	2,13	Tidak Berbeda / <i>Indifferent</i>
0,2	2	0 a	100 a	4,13	Antagonistik / <i>Antagonistic</i>
0,4	0,125	0 a	100 a	0,50	Sinergistik / <i>Synergistic</i>
0,4	0,25	0 a	100 a	0,75	Aditif / <i>Additive</i>
0,4	0,5	0 a	100 a	1,25	Tidak Berbeda / <i>Indifferent</i>
0,4	1	0 a	100 a	2,25	Tidak Berbeda / <i>Indifferent</i>
0,4	2	0 a	100 a	4,25	Antagonistik / <i>Antagonistic</i>
0,8	0,125	0 a	100 a	0,75	Aditif / <i>Additive</i>
0,8	0,25	0 a	100 a	1,00	Aditif / <i>Additive</i>
0,8	0,5	0 a	100 a	1,50	Tidak Berbeda / <i>Indifferent</i>
0,8	1	0 a	100 a	2,50	Tidak Berbeda / <i>Indifferent</i>

(continued)

Konsentrasi (%) / Concentration (%)		Diameter Koloni / Colony Diameter	Tingkat Penghambatan / Inhibition Rate (%)*	Nilai FIC / FIC Index**	Interaksi / Interaction**
GE**	P**	(cm)*			
0,8	2	0 a	100 a	4,50	Antagonistik / Antagonistic
1,6	0,125	0 a	100 a	1,25	Tidak Berbeda / Indifferent
1,6	0,25	0 a	100 a	1,50	Tidak Berbeda / Indifferent
1,6	0,5	0 a	100 a	2,00	Tidak Berbeda / Indifferent
1,6	1	0 a	100 a	3,00	Tidak Berbeda / Indifferent
1,6	2	0 a	100 a	5,00	Antagonistik / Antagonistic

*Angka dalam kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan menurut uji Tukey pada taraf 95%.

*Number followed by different letters in the same column are significantly different according to Tukey test at 95% confidence level.

**GE: ekstrak bawang putih; P: polifenol; FIC: konsentrasi penghambatan fraksi; MIC: konsentrasi minimum penghambatan.

**GE: garlic extract; P: polyphenols; FIC: fractional inhibitory concentration; MIC: minimum inhibitory concentration.

Penentuan lethal concentration 50 (LC50) kombinasi GE+P terhadap *G. boninense*

Penentuan LC50 kombinasi GE+P dilakukan untuk mengevaluasi konsentrasi subletal yang menghasilkan penghambatan 50% koloni *G. boninense*. Hasil pengujian *in vitro* menunjukkan bahwa konsentrasi minimum kombinasi GE+P yang menghambat 100% pertumbuhan koloni *G. boninense* adalah 0,4%, sedangkan pada konsentrasi 0,2% koloni *G. boninense* masih tumbuh.

Berdasarkan hasil tersebut, untuk mendapatkan nilai LC50 diperlukan pengujian lanjutan dengan mengurangi interval konsentrasi diantara 0,2% dan 0,4%. Hasil pengujian lanjutan menunjukkan bahwa konsentrasi minimum kombinasi GE+P yang mampu menghambat 100% pertumbuhan *G. boninense* adalah 0,325% (Tabel 2). Persamaan regresi hubungan antara konsentrasi kombinasi GE+P

terhadap tingkat penghambatan koloni *G. boninense* adalah $y = 23,018x - 72,772$; $R^2 = 0,8916$. Persamaan regresi ini menggambarkan keakuratan hubungan kedua variabel sebesar 89,16% (Gambar 4). Berdasarkan persamaan linier tersebut, untuk menghambat 50% pertumbuhan koloni *G. boninense* ($y=5$) diperlukan konsentrasi kombinasi GE+P sebanyak 2.391,92 ppm atau sebesar 0,239%. Penentuan LC50 penting dilakukan untuk menentukan dosis subletal dari kombinasi GE+P. Aplikasi fungsida dengan dosis subletal dapat memicu terjadinya resistensi patogen terhadap bahan aktif yang digunakan (Andersson & Hughes, 2014; Z. Wang *et al.*, 2015), meningkatkan laju mutasi dan variasi genomik (Amaradasa & Everhart, 2016). Selain itu, dosis subletal juga dapat menginduksi pertumbuhan cendawan patogen lebih cepat. Penelitian yang dilakukan Cong *et al.* (2019) melaporkan aplikasi dosis subletal fungsida

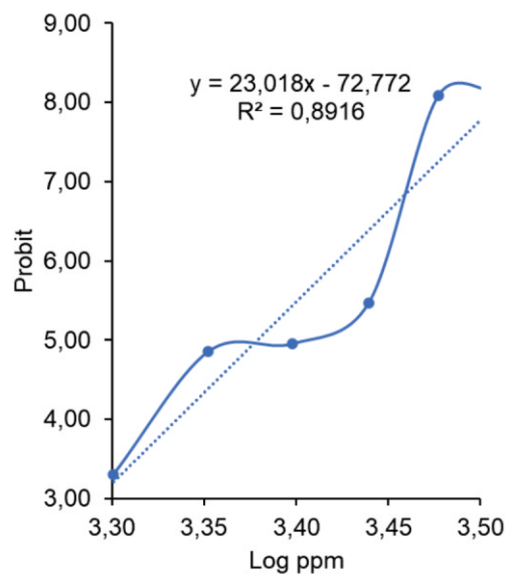
carbendazim menginduksi produksi sklerotia dan perkecambahan *Botrytis cinerea*. Penelitian lainnya juga melaporkan adanya stimulasi pertumbuhan

miselium akibat aplikasi dosis subletal fungisida pada *Pythium* sp. (Garzón *et al.*, 2011) dan *Sclerotinia sclerotiorum* (Zhou *et al.*, 2014).

Tabel 2. Hasil uji *in vitro* beberapa konsentrasi kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol terhadap isolat *G. boninense* 30 hari setelah inokulasi.

Table 2. *In vitro* assay results of several concentrations of the combination of garlic extract and polyphenols against *G. boninense* 30 days after inoculation.

Konsentrasi / Concentration (%)	Diameter Koloni / Colony Diameter (cm)	Tingkat Penghambatan / Inhibition Rate (%)
0	10	0
0,200	10	0
0,225	6,7	33
0,250	6,1	39
0,275	6,0	40
0,300	3,9	61
0,325	0	100
0,350	0	100
0,375	0	100
0,400	0	100



Gambar 3. Visualisasi dan persamaan linier hasil analisis probit kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol.

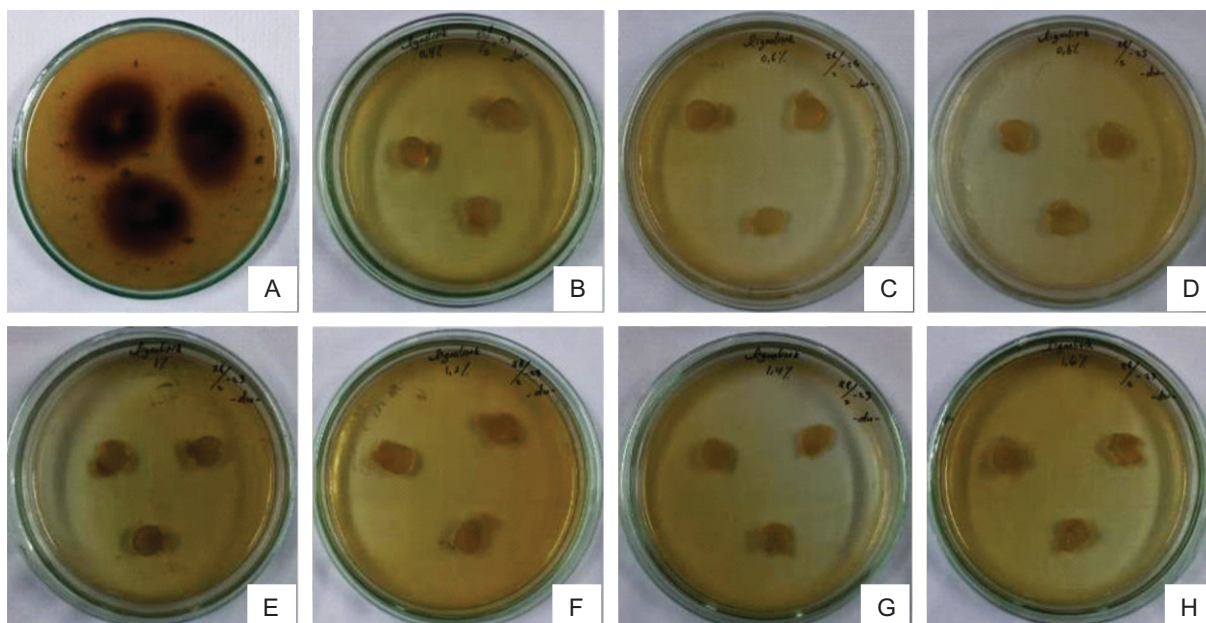
Figure 3. Visualization and linear equations of probit analysis of the combination of garlic extract and polyphenols.

Pengujian efek kuratif terhadap *G. boninense*

Uji Bavendamm

Hasil pengujian menunjukkan bahwa inokulum *G. boninense* yang sebelumnya diberi perlakuan kombinasi GE+P dengan konsentrasi minimum 0,4% tidak menunjukkan adanya pertumbuhan miselium ataupun terbentuknya area coklat kemerahan (Gambar 5). Area coklat yang terbentuk merupakan

tanda adanya aktivitas enzim ligninolitik yang dihasilkan cendawan Filum Basidiomycota (Sepwin *et al.*, 2019). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi GE+P mampu menghilangkan daya tumbuh atau membunuh isolat *G. boninense*. Hasil ini juga mengindikasikan bahwa fungisida organik kombinasi GE+P berpotensi untuk digunakan sebagai metode pengendalian *G. boninense* secara kuratif.



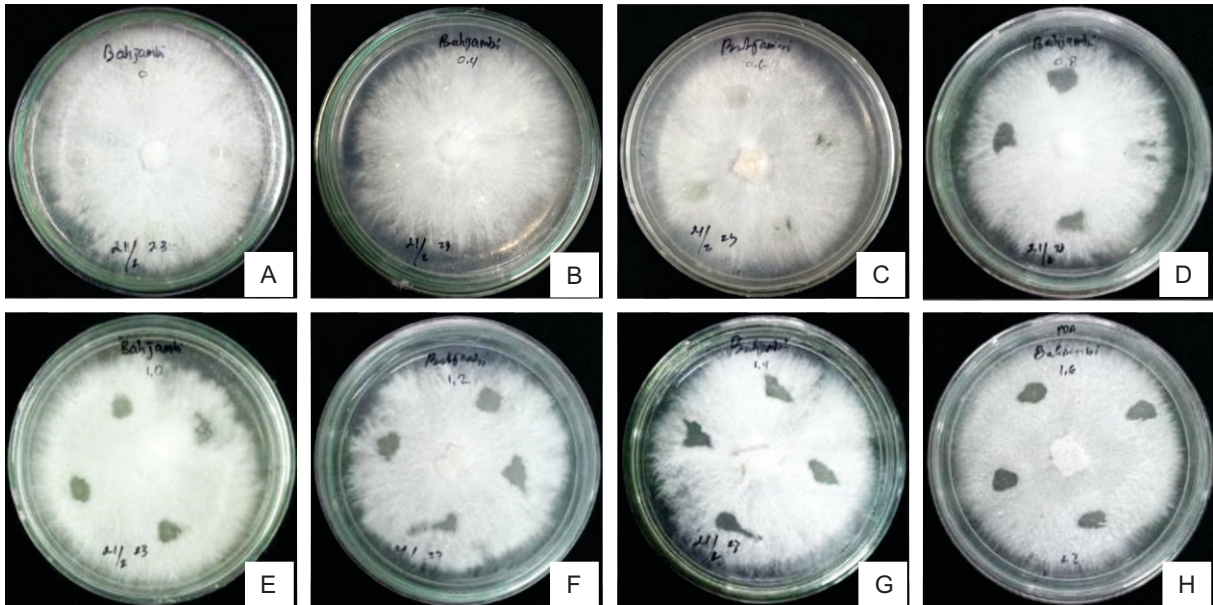
Gambar 5. Hasil pengujian Bavendamm test *G. boninense* yang diberi perlakuan kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol pada beberapa konsentrasi 7 hari setelah reinokulasi: A. kontrol; B. 0,4%; C. 0,6%; D. 0,8%; E. 1%; F. 1,2%; G. 1,4%; H. 1,6%.

Figure 5. Bavendamm test of *G. boninense* treated by the combination of garlic extract and polyphenols on several concentrations 7 day after reinoculation: A. control; B. 0.4%; C. 0.6%; D. 0.8%; E. 1.0%; F. 1.2%; G. 1.4%; H. 1.6%.

Uji kontak dan pengamatan dengan scanning electron microscope (SEM)

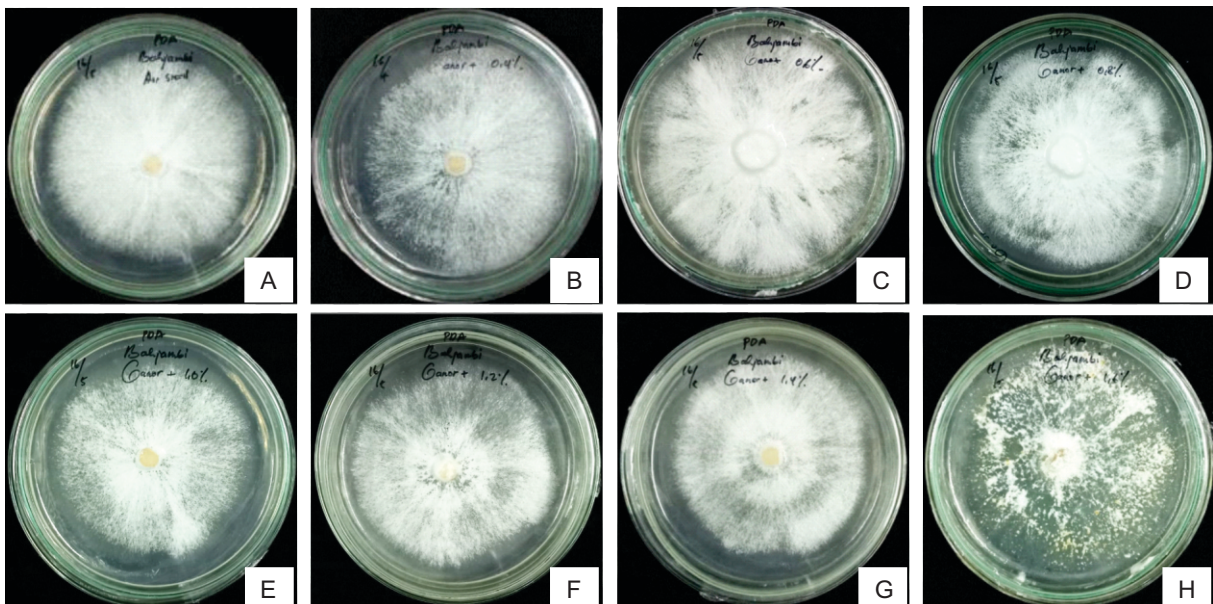
Pengujian kontak kombinasi GE+P menunjukkan bahwa konsentrasi minimum yang mampu merusak koloni *G. boninense* adalah 0,6%, namun kerusakan yang jelas terlihat mulai dari konsentrasi 0,8% (Gambar 5). Kerusakan pada koloni *G. boninense* akibat aplikasi kombinasi GE+P terjadi dalam waktu kurang dari 24 jam dan semakin bertambah seiring bertambahnya masa inkubasi. Serupa dengan hasil pengujian dengan metode penetesan, hasil aplikasi kombinasi GE+P yang dilakukan dengan cara semprot juga menunjukkan kerusakan yang terjadi pada koloni

G. boninense bahkan kurang dari 1 hari setelah aplikasi (HSA). Kerusakan *G. boninense* terparah teramati pada koloni yang diaplikasikan kombinasi GE+P dengan konsentrasi 1,6% (Gambar 7). Hasil serupa juga dilaporkan oleh Wang *et al.* (2019), aplikasi ekstrak bawang putih mengakibatkan kerusakan integritas membran sel, meningkatkan permeabilitas membran sel dan menyebabkan kematian sel *Phytophthora nicotianae*. Sejalan dengan hasil uji penetesan, aplikasi penyemprotan kombinasi GE+P dengan dosis terendah (0,4%) sudah menunjukkan adanya kerusakan pada miselium *G. boninense* meskipun lebih ringan dibandingkan dengan perlakuan dengan konsentrasi yang lebih tinggi.



Gambar 6. Pengaruh aplikasi kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol yang diteteskan di atas koloni *G. boninense* 1 hari setelah aplikasi: A. Kontrol air steril; B. 0,4%; C. 0,6%; D. 0,8%; E. 1%; F. 1,2%; G. 1,4%; H: 1,6%.

Figure 6. Effect of the combination of garlic extract and polyphenols dripped above *G. boninense* colony 1 day after application: A. control; B. 0.4%; C. 0.6%; D. 0.8%; E. 1.0%; F. 1.2%; G. 1.4%; H: 1.6%.



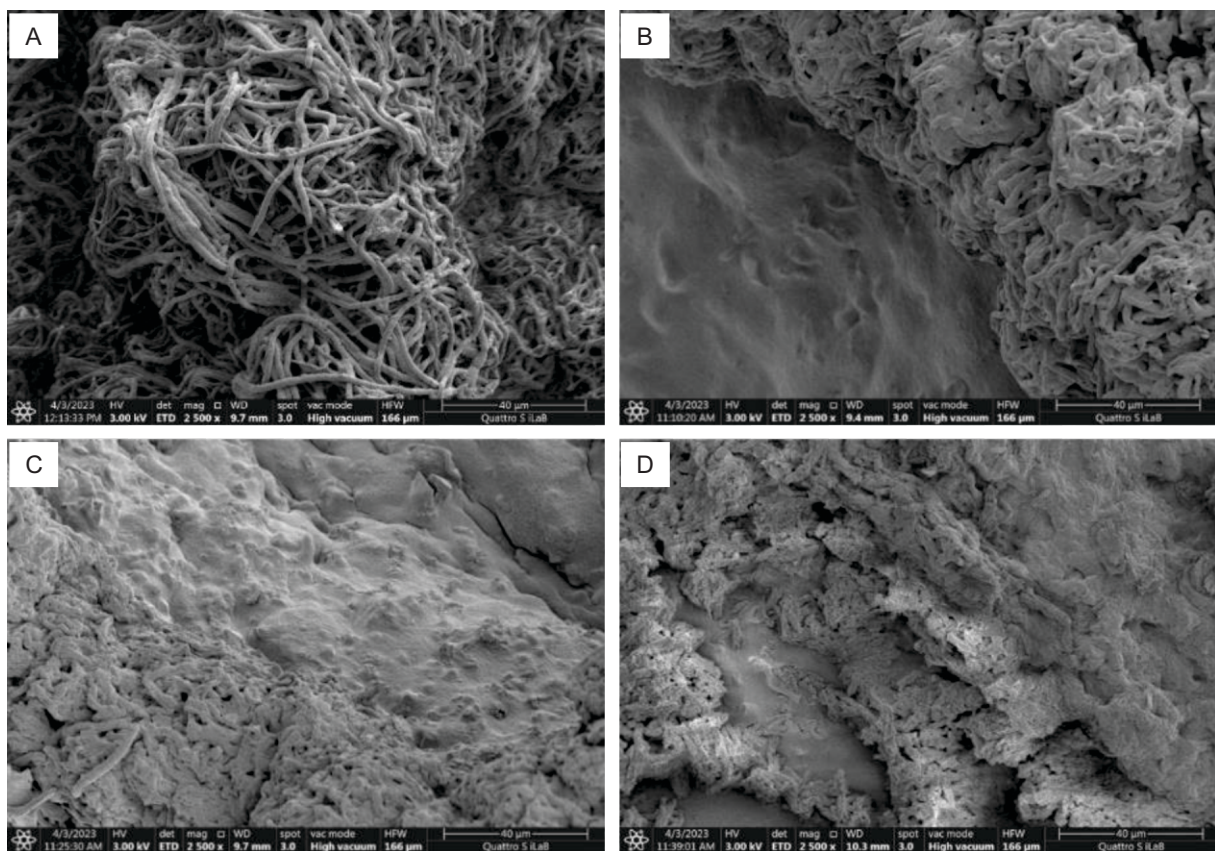
Gambar 7. Pengaruh aplikasi kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol yang disemprotkan di atas koloni *G. boninense* 1 hari setelah aplikasi: A. Kontrol air steril; B. 0,4%; C. 0,6%; D. 0,8%; E. 1%; F. 1,2%; G. 1,4%; H: 1,6%.

Figure 7. Effect of the combination of garlic extract and polyphenols sprayed on *G. boninense* colony 1 day after application: A. control; B. 0.4%; C. 0.6%; D. 0.8%; E. 1.0%; F. 1.2%; G. 1.4%; H: 1.6%.



Berdasarkan hasil pengujian kontak dengan kedua metode tersebut, maka diputuskan untuk melakukan pengamatan lanjutan pada koloni *G. boninense* yang diberi perlakuan kombinasi GE+P 1,6% dengan menggunakan *scanning electron microscope* (SEM). Karakterisasi SEM dilakukan pada area di sekitar koloni *G. boninense* yang mengalami kerusakan. Aplikasi kombinasi GE+P mampu merusak jaringan miselium *G. boninense* bahkan sejak 1 HSA dan bertambah parah hingga 7 HSA (Gambar 8, tanda panah). Jaringan miselium yang terkena larutan kombinasi GE+P mengalami

peluruhan dan akhirnya mengalami kematian sel. Gejala kerusakan ini lebih parah jika dibandingkan dengan kerusakan yang diakibatkan alisin murni dan ekstrak bawang putih terhadap *Trichophyton rubrum* yang hanya menyebabkan kerusakan pada permukaan miselium (Aala *et al.*, 2014). Hal ini diperkirakan karena adanya penambahan polifenol yang memiliki *mode of action* mengganggu sintesis ergosterol, mengganggu integritas membran dan kehilangan kandungan intraseluler sehingga menyebabkan kematian jaringan miselium (Ansari *et al.*, 2013).



Gambar 8. Karakterisasi SEM miselium *G. boninense* yang diberi perlakuan kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol dengan konsentrasi 1,6%: A. Kontrol air steril 3 hari setelah aplikasi (HSA); B. 1 HSA; C. 3 HSA; D. 7 HSA.

Figure 8. SEM micrograph of *G. boninense* mycelium treated by the combination of garlic extract and polyphenols with 1.6% concentration: A. control sterile water 3 days after application (DAA); B. 1 DAA; C. 3 DAA; D. 7 DAA.

Formulasi dan uji daya simpan

Formulasi larutan kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol

Ekstrak bawang putih (GE) dan polifenol (P) secara alami tidak dapat larut satu sama lainnya, sehingga diperlukan penambahan surfaktan untuk membentuk formulasi yang homogen dan stabil. Penambahan

sodium lauryl sulfate (SLS) dengan konsentrasi 5% menghasilkan larutan kombinasi GE+P yang homogen dan stabil (Tabel 3). Penambahan SLS 3,5% sudah mampu menghasilkan larutan yang homogen, namun kembali terpisah setelah didiamkan selama 48 jam (Gambar 9). Sodium lauryl sulfate merupakan surfaktan anionik yang banyak digunakan dalam formulasi pestisida resiko rendah, SLS memiliki kemampuan sinergistik dengan bahan aktif antimikroba (Baker

& Grant, 2018). Tergantung kepada jenisnya, penambahan surfaktan pada formulasi pestisida selain berperan dalam menstabilkan formulasi juga dapat berperan dalam meningkatkan efikasinya (Castro *et al.*, 2014). Penggunaan surfaktan dalam formulasi di bidang agrochemical tidak memiliki batasan yang pasti (Castro *et al.*, 2014), berbeda dengan penggunaan surfaktan di bidang formulasi biofarmaka yang rata-rata dibawah 0,1% (Martos *et al.*, 2017).

Tabel 3. Homogenitas larutan kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol dengan beberapa jenis dan konsentrasi surfaktan.

Table 3. Homogeneity of the combination solution of garlic extract and polyphenols with several types and concentrations of surfactants.

Surfaktan / Surfactants	Konsentrasi / Concentrations			
	1,5%	2,5%	3,5%	5%
Alkil Aril Poliglicol Eter	(-), US*	(-), US*	(-), US*	(-), US*
Sodium Lauryl Sulfate (SLS)	(-), US*	(-), US*	(+), US*	(+), S*
Polysorbate 20	(-), US*	(-), US*	(-), US*	(-), US*
Polysorbate 80	(-), US*	(-), US*	(-), US*	(-), US*

*(-): tidak homogen / *inhomogeneous*. (+): homogen / *homogeneous*. S: stabil / *stable*. US: tidak stabil / *unstable*.



Gambar 9. Homogenitas kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol dengan beberapa konsentrasi sodium laureth sulfate: A. 1,5%; B. 2,5%; C. 3,5%; D. 5%.

Figure 9. Homogeneity of the combination of garlic extract and polyphenols with several sodium laureth sulfate concentration: A. 1.5%; B. 2.5%; C. 3.5%; D. 5%.

Uji daya simpan larutan kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol

Hasil pengujian *in vitro* formulasi fungisida organik kombinasi GE+P masih memiliki kemampuan

menekan 100% pertumbuhan *G. boninense* hingga setelah 6 bulan masa simpan (Tabel 4). Baik dari konsentrasi 0,4% hingga 1,6%, tidak terlihat adanya pertumbuhan inokulum *G. boninense*. Hasil ini menunjukkan bahwa formulasi yang dihasilkan memiliki stabilitas antifungal terhadap *G.*

boninense yang baik setelah disimpan selama 6 bulan. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Fazila (2018), dimana masa simpan pestisida organik ekstrak daun gulma siam tidak menunjukkan penurunan efikasi terhadap larva ulat grayak *Spodoptera litura*.

Tabel 4. Tingkat penghambatan koloni *G. boninense* oleh fungisida organik kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol pada beberapa durasi penyimpanan.

Table 4. Inhibition rate of *G. boninense* colonies by organic fungicide combination of garlic extract and polyphenols at several storage periods.

Konsentrasi / Concentration (%)	Tingkat Penghambatan <i>G. boninense</i> / Inhibition Rate of <i>G. boninense</i> (%)					
	1 BSP* / MAP*	2 BSP* / MAP*	3 BSP* / MAP*	4 BSP* / MAP*	5 BSP* / MAP*	6 BSP* / MAP*
	Kontrol	0	0	0	0	0
0,4	100	100	100	100	100	100
0,6	100	100	100	100	100	100
0,8	100	100	100	100	100	100
1,0	100	100	100	100	100	100
1,2	100	100	100	100	100	100
1,4	100	100	100	100	100	100
1,6	100	100	100	100	100	100

*BSP: bulan setelah produksi. MAP: months after production.

KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak bawang putih dan polifenol memiliki aktivitas antifungal yang baik terhadap *G. boninense* pada konsentrasi rendah secara in vitro. Aktivitas antifungal yang ditunjukkan adalah merusak jaringan miselium koloni *G. boninense*, sehingga berpotensi digunakan sebagai fungisida organik yang bersifat kuratif. Formulasi dengan penambahan surfaktan sodium lauryl sulfate menghasilkan larutan yang homogen dan stabil, serta tidak menurunkan efektivitasnya terhadap *G. boninense* setelah penyimpanan selama enam bulan. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengoptimalkan konsentrasi yang efektif diaplikasikan di lapangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Grant Riset

Sawit 2022 yang didanai oleh Badan Pengelola Dana Perkebunan Kelapa Sawit dengan nomor kontrak PRJ-361-DPKS-2022. Penelitian ini juga didukung oleh fasilitas riset, dan dukungan ilmiah serta teknis dari Karakterisasi Lanjut Cibinong – Laboratorium Bioproduk Terintegrasi di Badan Riset dan Inovasi Nasional.

DAFTAR PUSTAKA

- Aala, F., Yusuf, U. K., Nulit, R., & Rezaie, S. (2014). Inhibitory effect of allicin and garlic extracts on growth of cultured hyphae. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(3), 150. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2014.2399>
- Amaradasa, B. S., & Everhart, S. E. (2016). Effects of sublethal fungicides on mutation rates and genomic variation in fungal plant pathogen, *Sclerotinia*

- sclerotiorum*. *PLOS ONE*, 11(12), e0168079. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0168079>
- Andersson, D. I., & Hughes, D. (2014). Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nat. Rev. Microbiol.*, 12(7), 465–478. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3270>
- Ansari, M., Anurag, A., Fatima, Z., & Hameed, S. (2013). Natural Phenolic Compounds: A Potential Antifungal Agent. In A. Mendez-Vilaz (Ed.), *Microbial pathogens and strategies for combating them: Science, technology and education* (1st ed., pp. 1189–1195).
- Assis, K., Chong, P., Idris, S., & Ho, C. M. (2016). Economic Loss due to Ganoderma Disease in Oil Palm. *Indonesia Conference on Mathematics, Statistics and Scientific Computing*, 683–688.
- Baker, B. P., & Grant, J. A. (2018). Sodium Lauryl Sulfate Profile. In *New York State Integrated Pest Management Program*. New York State IPM Program. <https://hdl.handle.net/1813/56141>
- Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C. H., Nwachukwu, I. D., & Slusarenko, A. J. (2014). Allicin: Chemistry and Biological Properties. *Molecules*, 19(8), 12591–12618. <https://doi.org/10.3390/molecules190812591>
- Bussaman, P., Namsena, P., Rattanasena, P., & Chandrapatya, A. (2012). Effect of crude leaf extracts on *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. *Psyche*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/309046>
- Carvalho, R. S., Carollo, C. A., de Magalhães, J. C., Palumbo, J. M. C., Boaretto, A. G., Nunes e Sá, I. C., Ferraz, A. C., Lima, W. G., de Siqueira, J. M., & Ferreira, J. M. S. (2018). Antibacterial and antifungal activities of phenolic compound-enriched ethyl acetate fraction from *Cochlospermum regium* (mart. Et. Schr.) Pilger roots: Mechanisms of action and synergism with tannin and gallic acid. *South African Journal of Botany*, 114, 181–187. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2017.11.010>
- Castro, M. J. L., Ojeda, C., & Cirelli, A. F. (2014). Advances in surfactants for agrochemicals. *Environ. Chem. Lett.*, 12(1), 85–95. <https://doi.org/10.1007/S10311-013-0432-4/METRICS>
- Cong, M., Zhang, B., Zhang, K., Li, G., & Zhu, F. (2019). Stimulatory effects of sublethal doses of carbendazim on the virulence and sclerotial production of *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, 103(9), 2385–2391. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-19-0153-RE>
- Corley, R. H. V., & Tinker, P. B. H. (2016). *The Oil Palm* (5th edition). Blackwell Science.
- Daniel, C. K., Lennox, C. L., & Vries, F. A. (2015). In-vitro effects of garlic extracts on pathogenic fungi *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* and *Neofabraea alba*. *South African Journal of Science*, 111(7–8), 1–8. <https://doi.org/10.17159/SAJS.2015/20140240>
- Decourtye, A., Henry, M., & Desneux, N. (2013). Overhaul pesticide testing on bees. *Nature*, 497(7448), 188–188. <https://doi.org/10.1038/497188a>
- Demirbaş, A., & Arin, G. (2010). An overview of biomass pyrolysis. *Energy Sources*, 24(5), 471–482. <https://doi.org/10.1080/00908310252889979>
- Fazila, Z. R. (2018). *Pengaruh Lama Simpan Pestisida Nabati Ekstrak Daun Gulma Siam (Chromolaena odorata) terhadap Mortalitas Ulat Grayak (Spodoptera litura) pada Tanaman Sawi (Brassica juncea L.)* [Undergraduate Thesis]. Universitas Borneo Tarakan.
- Flood, J., Bridge, P. D., & Pilotti, C. A. (2022). Basal stem rot of oil palm revisited. *Ann. Appl. Biol.*, 181(2), 160–181. <https://doi.org/10.1111/AAB.12772>
- Garzón, C. D., Molineros, J. E., Yáñez, J. M., Flores, F. J., del Mar Jiménez-Gasco, M., & Moorman, G. W. (2011). Sublethal doses of mefenoxam enhance Pythium damping-off of geranium. *Plant Disease*, 95(10), 1233–1237. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-10-0693>
- Hadanu, R., & Apituley, D. A. N. (2016). Volatile Compounds Detected in Coconut Shell Liquid Smoke through Pyrolysis at a Fractioning Temperature of 350–420 °C. *Makara Journal of Science*, 20(3), 95–100. <https://doi.org/10.7454/MSS.V20I3.6239>

- Hong, S. B., Rhee, M. H., Yun, B. S., Lim, Y. H., Song, H. G., & Shin, K. S. (2016). Synergistic anti-bacterial effects of *Phellinus baumii* ethyl acetate extracts and β -lactam antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann. Lab. Med.*, 36(2), 111–116. <https://doi.org/10.3343/ALM.2016.36.2.111>
- Jazuli, N. A., Kamu, A., Chong, K. P., Gabda, D., Hassan, A., Abu Seman, I., & Ho, C. M. (2022). A review of factors affecting *Ganoderma* basal stem rot disease progress in oil palm. *Plants*, 11(19), 2462. <https://doi.org/10.3390/PLANTS11192462>
- Kutawa, A. B., Danladi, M. D., & Haruna, A. (2018). Antifungal Activity of Garlic (*Allium sativum*) Extract on Some Selected Fungi. *J. Med. Herbs Ethnomed.*, 4, 12–14. <https://doi.org/10.25081/jmhe.2018.v4.3383>
- Leontiev, R., Hohaus, N., Jacob, C., Gruhlke, M. C. H., & Slusarenko, A. J. (2018). A Comparison of the Antibacterial and Antifungal Activities of Thiosulfinate Analogues of Allicin. *Scientific Reports 2018 8:1*, 8(1), 1–19. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25154-9>
- Lisnawita, Hanum, H., & Tantawi, A. R. (2016). Survey of basal stem rot disease on oil palms (*Elaeis guineensis* Jacq.) in Kebun Bukit Kijang, North Sumatera, Indonesia. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 41(1), 012007. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/41/1/012007>
- Mahmud, Y., Lististio, D., Irfan, M., & Zam, S. I. (2021). Efektivitas asap cair tandan kosong kelapa sawit untuk mengendalikan *Ganoderma boninense* dan *Curvularia* sp. in vitro. *Jurnal Pertanian Presisi*, 5(1), 24–39.
- Martínez, O. L., Plata-Rueda, A., & Martínez, L. C. (2013). Oil palm plantations as an agroecosystem: impact on integrated pest management and pesticide use. *Outlooks Pest Manag.*, 24(5), 225–229. https://doi.org/10.1564/V24_OCT_10
- Martos, A., Koch, W., Jiskoot, W., Wuchner, K., Winter, G., Friess, W., & Hawe, A. (2017). Trends on analytical characterization of polysorbates and their degradation products in biopharmaceutical formulations. *J. Pharm. Sci.*, 106(7), 1722–1735. <https://doi.org/10.1016/J.XPHS.2017.03.001>
- Muniroh, M. S., Nusaibah, S. A., & Meon, S. (2020). Relationship between *Ganoderma* ergosterol concentration and basal stem rot disease progress on *Elaeis guineensis*. *Tropical Life Sciences Research*, 31(1), 19–43. <https://doi.org/10.21315/TLRSR2020.31.1.2>
- Ncube, B., Finnie, J. F., & Van Staden, J. (2012). In vitro antimicrobial synergism within plant extract combinations from three South African medicinal bulbs. *J. Ethnopharmacol.*, 139(1), 81–89. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2011.10.025>
- Nur-Rashyeda, R., Idris, A. S., Sundram, S., Zainol-Hilmi, N. H., & Ming, S. C. (2022). A field evaluation on fungicides application to control upper stem rot (USR) disease in oil palm caused by *Ganoderma* spp. *Journal of Oil Palm Research*, 37, 1–10. <https://doi.org/10.21894/JOPR.2022.0037>
- Oramahi, H., Rusmiyanto, E., & Kustiati, K. (2021). Penggunaan asap cair dari tandan kosong kelapa sawit untuk pengendalian jamur *Phytophthora citrophthora* secara in vitro. *Majalah Ilmiah Biologi BIOSFERA: A Scientific Journal*, 38(1), 34–38. <https://doi.org/10.20884/1.MIB.2021.38.1.1265>
- Orozco-Castillo C, Chalmers KJ, Waugh R, Powell W. (1994). Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, 87(8), 934–940. doi: 10.1007/BF00225787
- Priwiratama, H., Prasetyo, A. E., & Susanto, A. (2020). Incidence of basal stem rot disease of oil palm in converted planting areas and control treatments. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, 468(1), 012036. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/468/1/012036>
- Priwiratama, H., & Susanto, A. (2020). Kejadian penyakit busuk pangkal batang pada tanamanm belum menghasilkan varietas toleran *Ganoderma* dengan sistem lubang tanam standar. *WARTA Pusat Penelitian Kelapa Sawit*, 25(3), 115–122. <https://doi.org/10.22302/IOPRI.WAR.WARTA>

V25I3.20

- Reis, E. M., Dias Guerra, W., Reis, A. C., Zanatta, M., Carmona, M., & Sautura, F. (2021). Fungi resistance to multisite fungicides. *J. Agric. Sci.*, 13(11). <https://doi.org/10.5539/jas.v13n11p141>
- Salas, M. P., Céliz, G., Geronazzo, H., Daz, M., & Resnik, S. L. (2011). Antifungal activity of natural and enzymatically-modified flavonoids isolated from citrus species. *Food Chemistry*, 124(4), 1411–1415. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.07.100>
- Sarfraz, M., Nasim, M. J., Jacob, C., & Gruhlke, M. C. H. (2020). Efficacy of Allicin against Plant Pathogenic Fungi and Unveiling the Underlying Mode of Action Employing Yeast Based Chemogenetic Profiling Approach. *Applied Sciences 2020, Vol. 10*, Page 2563, 10(7), 2563. <https://doi.org/10.3390/APP10072563>
- Schmitz, H. (1930). Poisoned food technique. *Industrial and Engineering Chemistry-Analytical Edition*, 2(4), 361–363.
- Sepwin, N. S., Fijai, A., & Mulyaningsih, Y. (2019). Screening of ligninolytic activity of some Basidiomycota from domestic oil palm plantation in Bogor. *Journal of Physics: Conference Series*, 1402(3), 033033. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1402/3/033033>
- Shiny, K. S., Sundararaj, R., & Vijayalakshmi, G. (2018). Potential use of coconut shell pyrolytic oil distillate (CSPOD) as wood protectant against decay fungi. *European Journal of Wood and Wood Products*, 76(2), 767–773. <https://doi.org/10.1007/s00107-017-1193-8>
- Sulaiman, S. K. Bin, Ibrahim, Y., & Jeffree, M. S. (2019). Evaluating the perception of farmers towards pesticides and the health effect of pesticides: A cross-sectional study in the oil palm plantations of Papar, Malaysia. *Interdiscip. Toxicol.*, 12(1), 15–25. <https://doi.org/10.2478/intox-2019-0003>
- Sulhatun. (2017). Pemanfaatan asap cair berbasis cangkang sawit sebagai bahan pengawet alternatif. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 1(1), 91–100. www.ft.unimal.ac.id/jurnal_teknik_kimia
- Supramani, S., Rejab, N. A., Ilham, Z., Wan-Mohtar, W. A. A. Q. I., & Ghosh, S. (2022). Basal stem rot of oil palm incited by *Ganoderma* species: A review. *Eur. J. Plant Pathol.*, 164(1), 1–20. <https://doi.org/10.1007/S10658-022-02546-2/METRICS>
- Wang, Y., Wei, K., Han, X., Zhao, D., Zheng, Y., Chao, J., Gou, J., Kong, F., & Zhang, C. S. (2019). The antifungal effect of garlic essential oil on *Phytophthora nicotianae* and the inhibitory component involved. *Biomolecules*, 9(10), 632. <https://doi.org/10.3390/BIOM9100632>
- Wang, Z., Xia, T., & Liu, S. (2015). Mechanisms of nanosilver-induced toxicological effects: more attention should be paid to its sublethal effects. *Nanoscale*, 7(17), 7470–7481. <https://doi.org/10.1039/C5NR01133G>
- Wardoyo, E. R. P., Anggraeni, W., Rahmawati, & Oramahi, H. A. (2020). Aktivitas antifungi asap cair dari tandan kosong *Elaeis guineensis* Jacq. terhadap *Colletotrichum* sp. (WA2). *J. Bioteknol. Biosains Indonesia.*, 7(2), 271–279. <https://doi.org/10.29122/JBBI.V7I2.3582>
- Widiastuti, H., Eris, D. D., & Santoso, D. (2016). Potensi fungisida organik untuk pengendalian *Ganoderma* pada tanaman kelapa sawit. *Menara Perkebunan*, 84(2), 98–105. <https://doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v84i2.223>
- Zhou, F., Liang, H. J., Di, Y. L., You, H., & Zhu, F. X. (2014). Stimulatory effects of sublethal doses of dimethachlon on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 98(10), 1364–1370. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-13-1059-RE>

