

PATOGENISITAS ISOLAT *Botryodiplodia* spp. TERHADAP BIBIT JABON (*Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miq)

*Pathogenicity of Botryodiplodia spp. Isolates on Jabon (Anthocephalus cadamba (Roxb.)
Miq) Seedlings*

Ai Rosah Aisah^{1*}, Bonny PW Soekarno², dan/and Achmad³

¹ Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Nusa Tenggara Barat
Jl. Raya Peninjauan Narmada Tlp. +62-370-671312; Fax +62-370-671620, Lombok Barat 83371,
Nusa Tenggara Barat, Indonesia

²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Jl. Lingkar Kampus IPB Tlp. +62-251-8629364; Fax. +62-251-8629362, Bogor 16680, Indonesia

³Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor
Jl. Lingkar Kampus IPB, Tlp. +62-251-8626806; Fax. +62-251-8626886, Bogor 16680, Indonesia

*Email: arosfito10@gmail.com

Tanggal diterima: 1 September 2016; Tanggal direvisi: 29 Oktober 2017;

Tanggal disetujui: 24 Desember 2017

ABSTRACT

Botryodiplodia spp. potentially cause dieback disease on jabon (*Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miq) seedlings. Five isolates of *Botryodiplodia* spp were inoculated on jabon seedling to find out its virulence levels, mechanism of pathogen attack and mechanism of host plant defense. The virulence levels was estimated by disease severity of host plants; the pathogen attack mechanism was done by measuring pectinase and cellulase enzyme activities; whereas host plant defense mechanism was determined by measuring peroxidase enzyme activity. The virulent isolates caused disease severity > 50%. *Botryodiplodia* sp1, *Botryodiplodia* sp2, and *Botryodiplodia* sp3 showed pectinase activities of 21.31; 18.13; 26.08 U/ml, and cellulase 0.014; 0.015; 0.023 U/ml, respectively. The peroxidase activity of host plants after pathogen inoculated was ranging from 0.0006 to 0.0012 UAE/g. Based on this research, three *Botryodiplodia* spp. isolates were virulent on jabon seedlings and involved enzymatic strength as attack mechanism, whereas the host plant defense mechanism involved peroxidase activity.

Key words: Dieback, host defense, pathogen attack

ABSTRAK

Isolat *Botryodiplodia* spp. berpotensi menyebabkan penyakit mati pucuk pada bibit jabon (*Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miq). Lima isolat *Botryodiplodia* spp. diinokulasikan terhadap bibit jabon untuk menentukan tingkat virulensi isolat, mengetahui mekanisme infeksi patogen dan mekanisme pertahanan tanaman inang. Tingkat virulensi isolat ditentukan melalui nilai keparahan penyakit pada tanaman inang; mekanisme infeksi patogen dilakukan melalui pengukuran aktivitas enzim pektinase dan selulase; sedangkan mekanisme pertahanan tanaman inang dilakukan melalui pengukuran aktivitas enzim peroksidase. Isolat *Botryodiplodia* spp. yang virulen menghasilkan keparahan penyakit > 50%. Isolat-isolat tersebut adalah *Botryodiplodia* sp. 1, *Botryodiplodia* sp. 2, dan *Botryodiplodia* sp. 3 yang secara berturut-turut menunjukkan aktivitas pektinase sebesar 21,31; 18,13; 26,08 U/ml, dan aktivitas selulase sebesar 0,014; 0,015; 0,023 U/ml. Adapun aktivitas peroksidase tanaman inang setelah diinokulasi patogen, yaitu berkisar 0,0006-0,0012 UAE/g. Berdasarkan penelitian ini, tiga isolat *Botryodiplodia* spp. bersifat virulen terhadap bibit jabon dan melibatkan kekuatan enzim sebagai mekanisme infeksi, sedangkan mekanisme pertahanan inang melibatkan aktivitas peroksidase.

Kata kunci: Infeksi patogen, mati pucuk, pertahanan inang

I. PENDAHULUAN

Jabon merupakan salah satu jenis tanaman yang memiliki prospek tinggi untuk dikembangkan di hutan tanaman industri dan digunakan sebagai tanaman penghijauan. Hal ini dikarenakan jabon memiliki pertumbuhan yang cepat, mampu beradaptasi pada berbagai kondisi tempat tumbuh, dan perlakuan silvikultur relatif mudah. Jenis ini diharapkan dapat menjadi komoditas penting bagi industri perkebunan di masa yang akan datang, terutama ketika bahan baku kayu dari hutan alam akan semakin berkurang (Krisnawati, Kallio, & Kanninen, 2011).

Karakteristik yang dimiliki tanaman jabon menjadi daya tarik bagi masyarakat. Tanaman ini dapat digunakan sebagai bahan investasi berupa kayu atau dimanfaatkan untuk usaha konservasi lingkungan. Guna memenuhi kebutuhan masyarakat, maka usaha pembibitan jabon mulai banyak dilakukan. Perbanyakan tanaman ini dapat dilakukan secara generatif melalui pengecambahan biji (Krisnawati *et al.*, 2011) maupun vegetatif melalui stek pucuk (Putra, Indriyanto, & Riniarti, 2014).

Usaha perbanyakan tanaman jabon berpotensi mendapat gangguan penyakit di areal persemaian. Gangguan ini merupakan salah satu kendala yang umum dihadapi dalam usaha regenerasi tanaman hutan karena dapat mengurangi kualitas maupun kuantitas bibit. Penyakit yang umum mengganggu tanaman di persemaian adalah layu, busuk akar (Krishnan, Kalia, Tewari, & Roy, 2014), rebah kecambah (Achmad *et al.*, 2012), bercak dan hawar daun, karat daun (Pathak, Maru, HN, & SC, 2015), serta mati pucuk (Aisah, Soekarno, & Achamd, 2015). Penyakit tersebut dapat mengganggu pertumbuhan tanaman atau bahkan menyebabkan kematian, sehingga dapat merugikan pengusaha.

Penelitian Aisah *et al.* (2015) menunjukkan bahwa penyakit mati pucuk

pada bibit jabon dapat menyebabkan kematian tanaman. Penyakit ini disebabkan oleh *Botryodiplodia* spp. (sinonim *Lasiodiplodia* sp.).

Serangan *Botryodiplodia* sp. dapat menghasilkan gejala yang berbeda pada tanaman inang yang berbeda. Serangan *Botryodiplodia theobromae* (Pat.) menyebabkan penurunan pertumbuhan tanaman hingga kematian pada tanaman jambu (*Psidium guajava* Linn.) (Safdar, Khan, & Safdar, 2015), mati pucuk pada tanaman sisham (*Dalbergia sissoo* Roxb.) dan tanaman anggur (*Vitis vinifera* L.) (Ahmad, Khan, & Siddiqui, 2012; Rodríguez-Gálvez, Maldonado, & Alves, 2015), kemudian pada tanaman karet muda menyebabkan tekstur permukaan batang menjadi kasar dan berwarna coklat (Nurhasanah, 2012). Sementara itu, cendawan *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) pada tanaman jarak (*Jatropha curcas* L.) menyebabkan busuk akar dan pangkal batang (Adandonon, Datinon, Baimey, & Toffa, 2014).

Isolat cendawan *Botryodiplodia* spp. telah berhasil diisolasi oleh Aisah *et al.* (2015) dari bibit jabon yang memperlihatkan gejala mati pucuk. Lima dari 9 isolat *Botryodiplodia* spp. yang berhasil diisolasi oleh Aisah *et al.* (2015) selanjutnya digunakan dalam penelitian. Lima isolat tersebut dipilih karena mampu menghasilkan gejala yang identik dengan gejala alami mati pucuk pada saat dilakukan postulat Koch dan memiliki masa inkubasi relatif cepat. Oleh karena itu, penelitian dilakukan dengan tujuan untuk menentukan tingkat virulensi isolat patogen serta mempelajari mekanisme infeksi patogen terhadap tanaman inang dan mekanisme pertahanan tanaman inang terhadap infeksi patogen, dengan harapan penyakit ini dapat dikendalikan melalui upaya rekayasa terhadap patogen, inang, atau lingkungan setelah diketahui mekanisme infeksi patogen dan mekanisme pertahanan inang.

II. METODOLOGI

A. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikologi (Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor) untuk kegiatan kultivasi isolat cendawan, rumah *paranet* Bagian Perlindungan Hutan (Departemen Silviculture, Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor) untuk kegiatan uji patogenisitas isolat cendawan, dan Laboratorium Rekayasa Bioproses (Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor) untuk analisis mekanisme infeksi patogen dan mekanisme pertahanan inang. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli sampai dengan Desember 2013.

B. Metode

Penelitian terdiri atas tiga kegiatan, yaitu: (1) penyiapan isolat dan uji

patogenisitas isolat *Botryodiplodia* spp., (2) analisis mekanisme infeksi cendawan patogen terhadap tanaman inang, dan (3) analisis mekanisme pertahanan tanaman inang terhadap infeksi patogen.

1. Penyiapan isolat dan uji patogenisitas isolat *Botryodiplodia* spp.

Isolat yang digunakan merupakan cendawan *Botryodiplodia* spp. yang berhasil diisolasi oleh Aisah *et al.* (2015) dari bibit jabon yang terinfeksi penyakit mati pucuk. Cendawan *Botryodiplodia* spp. yang digunakan terdiri atas lima isolat, dan diberi kode *Botryodiplodia* sp. 1, *Botryodiplodia* sp. 2, *Botryodiplodia* sp. 3, *Botryodiplodia* sp. 4, dan *Botryodiplodia* sp. 5 (Tabel 1).

Tabel (Table) 1. Asal, karakter makroskopik dan mikroskopik isolat *Botryodiplodia* spp. (*The origin, macroscopic and microscopic characters of Botryodiplodia spp. isolates*)

Isolat (<i>Isolates</i>)	Asal isolat (<i>Origin of isolates</i>)	Karakter isolat (<i>Isolate characters</i>)	
		Makroskopik (<i>Macroscopic</i>)	Mikroskopik (<i>Microscopic</i>)
<i>Botryodiplodia</i> sp1	Persemaian di daerah Situ Gede 1 (<i>Nursery in Situ Gede 1 area</i>)	Koloni pada awalnya berwarna putih, kemudian warna pada bagian bawah cawan perlahan-lahan akan berubah menjadi putih keabuan. Isolat memenuhi cawan petri (Ø 9 cm) setelah dua hari inkubasi, dan memiliki morfologi koloni <i>rugose</i> dan <i>fluffy</i> (<i>The colonies were initially white, then the color on the bottom of petri dishes gradually turned grayish white. The isolates covered the entire surface of petri dishes (Ø 9 cm) after two days of incubation, and had colony morphologies of rugose and fluffy</i>)	Konidia pada awalnya hialin, selanjutnya akan berubah warna menjadi coklat dan memiliki sekat. Konidia berbentuk <i>ellipsoid</i> atau <i>ovoid</i> dan memiliki ukuran 26 sampai 29 x 13 sampai 16 (<i>The conidia were initially hyaline, then turned brown and had a septate. The conidia were ellipsoid or ovoid and had a size 26 to 29 x 13 to 16 µm</i>)

Tabel (Table) 1. Lanjutan (Continuation)

Isolat (<i>Isolates</i>)	Asal isolat (<i>Origin of isolates</i>)	Karakter isolat (<i>Isolate characters</i>)	
		Makroskopik (<i>Macroscopic</i>)	Mikroskopik (<i>Microscopic</i>)
<i>Botryodiplodia</i> sp2	Persemaian di daerah Situ Gede 1 (<i>Nursery in Situ Gede 1 area</i>)	Koloni miselium pada awalnya berwarna putih, kemudian akan berubah menjadi abu-abu pada bagian permukaan atas, sementara pada bagian bawah cawan berubah menjadi hijau kehitaman. Koloni miselium <i>rugose</i> , <i>cottony</i> , dan isolat dapat memenuhi cawan petri setelah 2 hari inkubasi (<i>The colonies of mycelium were initially white, then turned gray on the upper surface, while on the bottom of petri dishes turned blackish green. The colonies of mycelium were rugose, cottony, and the isolates could cover of petri dishes after two days of incubation</i>)	Konidia muda hialin dan akan berubah menjadi berwarna kecoklatan serta bersekat ketika menjadi konidia matang. Konidia berbentuk <i>ellipsoid</i> atau <i>ovoid</i> dengan ukuran 28 sampai 29 x 16 sampai 17 μm (<i>The immature conidia were hyaline and turned brownish and had a septate when it became mature. The conidia were ellipsoid or ovoid with a size 28 to 29 x 16 to 17 μm</i>)
<i>Botryodip-lodia</i> sp3	Persemaian di daerah Situ Gede 2 (<i>Nursery in Situ Gede 2 area</i>)	Koloni miselium pada awalnya berwarna putih, kemudian berubah menjadi abu-abu pada permukaan bagian atas, dan hijau kehitaman pada bagian bawah cawan. Koloni <i>rugose</i> , <i>velvety</i> , dan isolat dapat memenuhi cawan petri setelah tiga hari inkubasi (<i>The colonies of mycelium were initially white, then turned gray on the upper surface, and blackish green on the bottom of petri dishes. The colonies were rugose, velvety, and the isolates could cover the petri dishes surface after three days of incubation</i>)	Konidia hialin pada saat muda dan berwarna kecoklatan serta bersekat saat konidia matang. Konidia berbentuk <i>ellipsoid</i> atau <i>ovoid</i> dengan ukuran 27 sampai 30 x 13 sampai 14 μm (<i>The conidia were hyaline when immature and brownish and had a septate when mature. The conidia were ellipsoid or ovoid with a size 27 to 30 x 13 to 14 μm</i>)
<i>Botryodiplodia</i> sp4	Persemaian di Fakultas Kehutanan IPB (<i>Nursery in Faculty of Forestry, Bogor Agricultural University</i>)	Koloni pada awalnya berwarna putih, kemudian berubah menjadi abu-abu dan lama-kelamaan menjadi hitam baik pada permukaan bagian atas maupun bagian bawah cawan. Morfologi koloni <i>rugose</i> , <i>velvety</i> , dan isolat dapat memenuhi cawan petri setelah tiga hari inkubasi (<i>The colonies were initially white, then turned gray and gradually turned black both on the upper or bottom surfaces of petri dishes. The morphology of colonies were rugose, velvety, and isolates could cover of petri dishes surface after three days of incubation</i>)	Konidia hialin ketika muda dan berwarna coklat serta bersekat ketika matang. Konidia berbentuk <i>ellipsoid</i> atau <i>ovoid</i> dengan ukuran 27 sampai 30 x 15 sampai 16 μm (<i>The conidia were hyaline when immature and brown and had a septate when mature. The conidia were ellipsoid or ovoid with a size 27 to 30 x 15 to 16 μm</i>)

**Patogenisitas Isolat *Botryodiplodia* spp. Terhadap Bibit Jabon
(*Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miq)**

Ai Rosah Aisah, Bonny PW Soekarno, dan Achmad

Tabel (Table) 1. Lanjutan (Continuation)

Isolat (<i>Isolates</i>)	Asal isolat (<i>Origin of isolates</i>)	Karakter isolat (<i>Isolate characters</i>)	
		Makroskopik (<i>Macroscopic</i>)	Mikroskopik (<i>Microscopic</i>)
<i>Botryodiplodia</i> sp5	Persemaian di Fakultas Kehutanan IPB (<i>Nursery in Faculty of Forestry, Bogor Agricultural University</i>)	Koloni isolat pada awalnya berwarna putih keabuan pada bagian permukaan atas dan hijau kehitaman pada bagian bawah cawan. Warna selanjutnya berubah menjadi abu-abu kehitaman pada permukaan atas dan hijau kehitaman pada bagian bawah cawan (<i>The colonies of isolates were initially grayish white on the upper surface and blackish green on the bottom of petri dishes. The next color turned to blackish gray on the upper surface and blackish green on the bottom of petri dishes</i>)	Konidia hialin pada saat muda, lalu berubah menjadi berwarna coklat dan bersekat ketika matang. Konidia memiliki ukuran 27 sampai 29 x 14 sampai 16 µm (<i>The conidia were hyaline when immature, then turned brown and had a septate when mature. The size of conidia was 27 to 29 x 14 to 16 µm</i>)

Sumber (*Source*): Aisah (2014)

Sampel tanaman yang digunakan untuk uji patogenisitas adalah bibit jabon umur ± 4 bulan dari penyapihan. Sebelum diinokulasi, batang bagian atas bibit disterilisasi permukaan dengan alkohol 70%, kemudian dibilas dengan akuades steril. Setelah itu, batang dilukai dengan menggunakan jarum suntik steril. Inokulasi setiap isolat dilakukan sebanyak 4 ulangan dan setiap ulangan terdiri atas 5 bibit jabon.

Lima isolat *Botryodiplodia* spp. yang digunakan dalam penelitian ini dapat menghasilkan gejala mati pucuk pada kegiatan uji postulat Koch (Aisah *et al.*, 2015). Penyiapan sumber inokulum dan teknik inokulasi dilakukan berdasarkan metode Ismail *et al.* (2012) dengan modifikasi pada lama waktu dan tempat inkubasi tanaman, yaitu selama tujuh hari inkubasi di rumah paranet. Sumber inokulum diperoleh dengan cara memotong bagian ujung koloni isolat cendawan umur tujuh hari dengan *cork borer* (Ø 7 mm). Setelah itu, potongan agar ditempel pada batang bagian atas yang telah dilukai. Sebagai kontrol, bagian batang ditempeli dengan blok agar

tanpa koloni isolat cendawan. Potongan blok agar yang ditempel pada bagian batang selanjutnya ditutup dengan kapas lembab dan aluminium *foil* selama tujuh hari atau sampai muncul gejala. Tanaman yang telah diinokulasi selanjutnya diinkubasi di rumah *paranet* dengan menggunakan rancangan percobaan acak kelompok lengkap satu faktor, yaitu faktor macam isolat cendawan. Pengamatan kejadian penyakit dan keparahan penyakit dilakukan setelah 14 hari masa inkubasi. Kejadian penyakit ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Ahmad *et al.*, 2012):

$$KjP = \frac{n}{N} \times 100\%$$

Keterangan:

KjP = Kejadian penyakit

n = Jumlah tanaman yang sakit

N = Jumlah tanaman yang diamati

Keparahan penyakit ditentukan dengan menggunakan skoring mulai dari nol sampai dengan empat (Gambar 1). Rumus yang digunakan adalah sebagai

berikut (Stević, Vukša, & Elezović, 2010):

$$K_{pP} = \frac{\sum n \times v}{N \times V} \times 100\%$$

Keterangan:

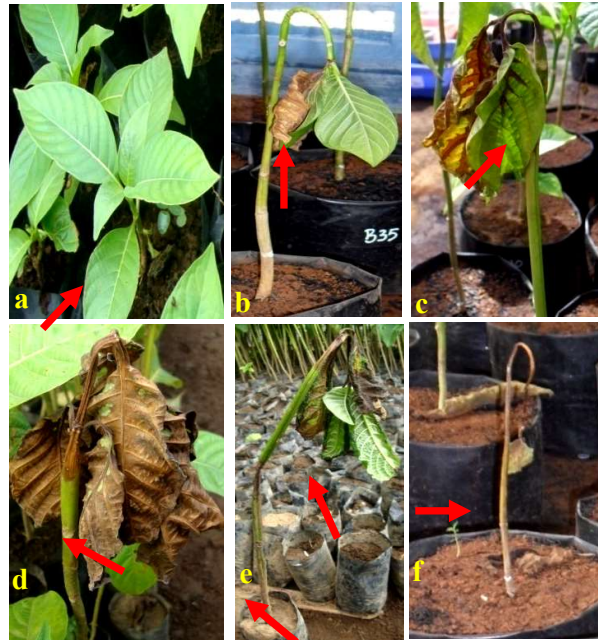
KpP = Keparahan penyakit

n = Jumlah tanaman yang tergolong ke dalam suatu kategori infeksi

v = Skor pada setiap kategori infeksi

N = Jumlah tanaman yang diamati

V = Skor untuk kategori infeksi terberat



Gambar (Figure) 1. Skoring keparahan gejala penyakit mati pucuk pada bibit jabon: a) 0 = tanaman tidak bergejala; b-c) 1 = tanaman terlihat layu atau $\leq 25\%$ bagian tanaman mengalami nekrosis; d) 2 = 26-50% bagian tanaman mengalami nekrosis; e) 3 = $> 50\%$ bagian tanaman mengalami nekrosis; dan f) 4 = tanaman mati (*Disease severity scores of dieback disease on jabon seedlings: a) 0 = no symptom; b-c) 1 = plant looked wilt or got necrotic of plant $\leq 25\%$; d) 2 = necrotic of plant 26-50%; e) 3 = necrotic of plant $> 50\%$; and f) plant die*)

Sumber (Source): Aisah (2014)

Data kejadian dan keparahan penyakit selanjutnya dianalisis ragam dengan menggunakan program SAS 9.1.3. Jika perlakuan berpengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji selang berganda Duncan dengan taraf uji 5%, sesuai dengan model rancangan percobaan acak kelompok lengkap (Mattkjik & Sumertajaya, 2013).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

i = 1, 2, ..., r dan j = 1, 2, ..., r

Y_{ij} = Pengamatan pada perlakuan ke-i dan kelompok ke-j

μ = Rataan umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

β_j = Pengaruh kelompok ke-j

ε_{ij} = Pengaruh acak pada perlakuan ke-i dan kelompok ke-j

2. Analisis mekanisme infeksi cendawan patogen terhadap tanaman inang

Mekanisme infeksi patogen terhadap tanaman inang dipelajari melalui pengukuran aktivitas pektinase dan selulase dari isolat *Botryodiplodia* spp. yang memiliki tingkat virulensi tinggi (keparahan penyakit > 50%). Analisis ini dilakukan untuk mendeteksi ada atau tidaknya aktivitas enzim pektinase dan selulase pada cendawan patogen. Oleh karena itu, dalam tahapan ini tidak digunakan rancangan percobaan. Pengukuran aktivitas enzim diawali dengan mengulurkan isolat cendawan *Botryodiplodia* spp. pada media CMS (*Corn Meal Sand*). Hal ini dilakukan berdasarkan metode Achmad *et al.* (2012) dengan modifikasi pada jumlah potongan batang bibit jabon yang ditambahkan pada media CMS dan masa inkubasi isolat. Satu potongan isolat cendawan *Botryodiplodia* spp. (\emptyset 7 mm) ditumbuhkan pada media CMS steril yang diberi tambahan 1 gram potongan batang bibit jabon (umur \pm 4 bulan dari penyapihan). Batang bibit jabon yang digunakan disterilisasi permukaan terlebih dahulu dengan cara direndam dalam NaOCl 1% selama \pm 2 menit, kemudian dicuci dengan air steril sebanyak tiga kali. Media CMS terdiri atas campuran pasir, hancuran biji jagung, dan air (96:4:20 (g:g:ml)). Media CMS yang telah diinokulasi cendawan selanjutnya di-inkubasi selama 2 minggu pada suhu ruang, kemudian dilakukan ekstraksi enzim. Ekstraksi dan analisis aktivitas enzim dilakukan oleh tenaga analis dari Laboratorium Rekayasa Bioproses, Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor.

3. Analisis mekanisme pertahanan tanaman inang terhadap infeksi patogen

Mekanisme pertahanan inang terhadap infeksi patogen dilakukan melalui metode pendekatan aktivitas peroksidase tanpa menggunakan rancangan percobaan. Kegiatan diawali dengan mempersiapkan bahan berupa bibit jabon umur \pm 4 bulan dari penyapihan. Selanjutnya, isolat *Botryodiplodia* sp1, *Botryodiplodia* sp2, *Botryodiplodia* sp3, *Botryodiplodia* sp4, dan *Botryodiplodia* sp5 masing-masing diinokulasikan pada satu tanaman jabon. Sebagai kontrol, bibit diinokulasi blok agar tanpa isolat cendawan. Setelah muncul gejala (3 hari setelah inokulasi), bagian daun bibit jabon digunakan sebagai bahan untuk analisis aktivitas peroksidase. Ekstraksi dan analisis aktivitas enzim dilakukan oleh tenaga analis dari Laboratorium Rekayasa Bioproses, Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor berdasarkan metode Simon & Ross (1970).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Uji patogenisitas isolat *Botryodiplodia* spp.

Lima isolat *Botryodiplodia* spp. yang diinokulasikan pada bibit jabon mampu menimbulkan gejala nekrosis pada titik inokulasi, dan selanjutnya berkembang menjadi penyakit mati pucuk (Gambar 2). Gejala muncul setelah dua hari masa inkubasi untuk isolat *Botryodiplodia* sp1, *Botryodiplodia* sp2, *Botryodiplodia* sp3, dan tiga hari untuk isolat *Botryodiplodia* sp4 dan *Botryodiplodia* sp5. Gejala penyakit umumnya berkembang relatif cepat sehingga pada inkubasi hari ke-4 atau ke-5 tanaman mulai terlihat terkulai, dan apabila gejala terus berkembang maka bagian atas tanaman mengalami kemati-

an. Perkembangan nekrosis atau menyusutnya batang umumnya menjadi lebih lambat ketika sudah mencapai pangkal batang. Bagian dalam batang tanaman yang sudah mati memperlihatkan adanya warna kecoklatan atau justru sudah tidak berisi jaringan batang.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan inokulasi lima isolat *Botryodiplodia* spp. berpengaruh sangat nyata terhadap persentase kejadian penyakit (Tabel 2). Kejadian penyakit

yang dihasilkan oleh kelima isolat *Botryodiplodia* spp. cukup beragam. Persentase kejadian penyakit paling tinggi dihasilkan isolat *Botryodiplodia* sp1 dan *Botryodiplodia* sp3 (90%), kemudian diikuti isolat *Botryodiplodia* sp2 (70,67%), isolat *Botryodiplodia* sp5 (32,31%), dan *Botryodiplodia* sp4 (26,57%), sedangkan kontrol tidak memperlihatkan adanya gejala (0%) (Tabel 2).



Sumber (Source): Aisah (2014)

Gambar (Figure) 2. Gejala mati pucuk pada bibit jabon setelah diinokulasi lima isolat *Botryodiplodia* spp.: a) isolat *Botryodiplodia* sp1, b) isolat *Botryodiplodia* sp2, c) isolat *Botryodiplodia* sp4, d) isolat *Botryodiplodia* sp5, e) isolat *Botryodiplodia* sp3, dan f) kontrol (*dieback symptoms on jabon seedlings after inoculation of five Botryodiplodia spp. isolates: a) Botryodiplodia sp1 isolate, b) Botryodiplodia sp2 isolate, c) Botryodiplodia sp4 isolate, d) Botryodiplodia sp5 isolate, e) Botryodiplodia sp3 isolate, and f) control*)

Tabel (Table) 2. Hasil uji selang berganda Duncan kejadian penyakit mati pucuk pada bibit jabon (*Duncan's multiple range test for the incidence of dieback disease on jabon seedlings*)*

Perlakuan (Treatment)	N ¹	Nilai rata-rata kejadian penyakit (Average value of incidence of disease ²) (%)
<i>Botryodiplodia</i> sp1	4	90,00 ± 0,00 ^a
<i>Botryodiplodia</i> sp2	4	70,67 ± 24,41 ^a
<i>Botryodiplodia</i> sp3	4	90,00 ± 0,00 ^a
<i>Botryodiplodia</i> sp4	4	26,57 ± 0,00 ^b
<i>Botryodiplodia</i> sp5	4	32,31 ± 26,42 ^b
Kontrol (Control)	4	0,00 ± 0,00 ^c

Keterangan (Note): * Data hasil transformasi (*Transformated data*)

¹ Jumlah ulangan (*Number of replication*)

² Nilai rata-rata dengan huruf mutu yang sama menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan $\alpha=0.05$ (*average value with same grade letter showed the non-significance effect based on Duncan's multiple range test $\alpha=0.05$*)

Hasil analisis ragam juga menunjukkan bahwa perlakuan inokulasi lima isolat *Botryodiplodia* spp. terhadap bibit jabon memberi pengaruh sangat nyata terhadap keparahan penyakit (Tabel 4). Persentase keparahan penyakit paling tinggi dihasilkan isolat *Botryodiplodia* sp2 (58,68%), kemudian diikuti isolat *Botryodiplodia* sp3 (57,75%) dan *Botryodiplodia* sp1 (50,93%), sedangkan persentase keparahan penyakit paling rendah dihasilkan oleh perlakuan kontrol (0%), kemudian diikuti oleh isolat *Botryodiplodia* sp5 (14,48%) dan *Botryodiplodia* sp4 (23,15%) (Tabel 3).

Isolat *Botryodiplodia* sp2 dan *Botryodiplodia* sp3 dapat menyebabkan kematian bibit lebih dari 50%. Isolat yang memiliki persentase keparahan penyakit lebih dari 50% dikategorikan sebagai isolat virulen (*Botryodiplodia* sp1, *Botryodiplodia* sp2, dan *Botryodiplodia* sp3), sedangkan isolat dengan persentase keparahan penyakit kurang dari 25%

tergolong kurang virulen terhadap bibit jabon (*Botryodiplodia* sp4 dan *Botryodiplodia* sp5).

Mekanisme infeksi cendawan patogen terhadap tanaman inang dilakukan melalui analisis enzim pektinase dan selulase yang umum dikenal sebagai senjata biokimia dari patogen. Cendawan yang diuji merupakan tiga isolat *Botryodiplodia* spp. yang virulen terhadap bibit jabon berdasarkan uji patogenisitas, yaitu *Botryodiplodia* sp1, *Botryodiplodia* sp2, dan *Botryodiplodia* sp3. Hasil analisis enzim menunjukkan bahwa tiga isolat *Botryodiplodia* spp. yang virulen terhadap bibit jabon, memiliki aktivitas pektinase dan selulase (Gambar 3). Aktivitas pektinase yang terdeteksi dari tiga isolat *Botryodiplodia* spp. yaitu berkisar 18,13-26,08 U/ml, sedangkan aktivitas selulase berkisar 0,014-0,023 U/ml.

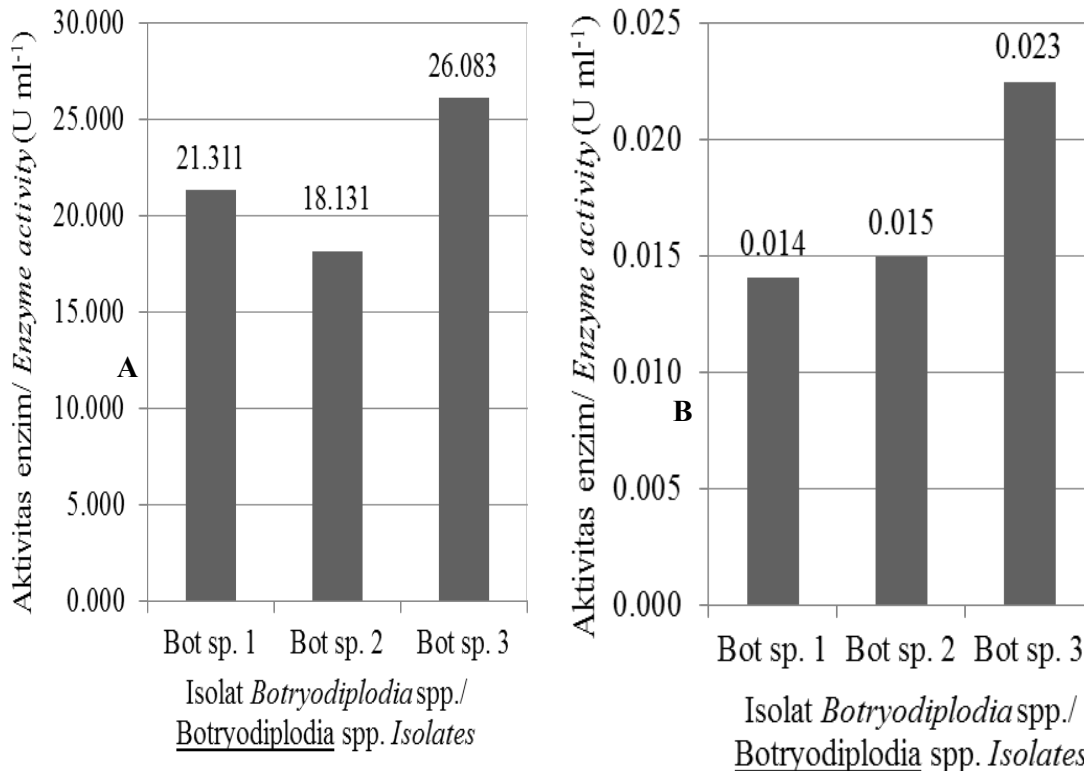
Tabel (Table) 3. Hasil uji selang berganda Duncan keparahan penyakit mati pucuk pada bibit jabon (*Duncan's multiple range test for dieback disease severity on jabon seedlings*)*

Perlakuan (Treatment)	N ¹	Nilai rata-rata keparahan penyakit (Average value of disease severity ²) (%)
<i>Botryodiplodia</i> sp1	4	50,93 ± 8,70 ^a
<i>Botryodiplodia</i> sp2	4	58,68 ± 15,42 ^a
<i>Botryodiplodia</i> sp3	4	57,75 ± 5,39 ^a
<i>Botryodiplodia</i> sp4	4	23,15 ± 6,82 ^b
<i>Botryodiplodia</i> sp5	4	14,48 ± 11,16 ^{bc}
Kontrol (Control)	4	0,00 ± 0,00 ^c

Keterangan (Note):* Data hasil transformasi (*Transformated data*)

¹ Jumlah ulangan (*Number of replication*)

² Nilai rata-rata dengan huruf mutu yang sama menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan $\alpha=0.05$ (*average value with same grade letter showed the non-significance effect based on Duncan's multiple range test $\alpha=0.05$*)



Keterangan (Note): *Hasil analisis dari Laboratorium Rekayasa Bioproses, Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor (*Analysis result from Laboratorium Rekayasa Bioproses, Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor*)

Gambar (Figure) 3: Aktivitas pektinase (A) dan selulase (B) tiga isolat *Botryodiplodia* spp. setelah dua minggu masa inkubasi pada media CMS (*Pectinase (A) and cellulase (B) activities of three Botryodiplodia spp. isolates after two weeks incubation on CMS media*)*

2. Mekanisme pertahanan tanaman inang terhadap infeksi patogen

Mekanisme pertahanan inang terhadap infeksi patogen dipelajari melalui analisis aktivitas peroksidase yang dihasilkan tanaman inang. Secara umum, bibit jabon yang diinokulasi dapat menunjukkan aktivitas peroksidase dengan nilai berkisar 0,0006-0,0012 UAE/g (Tabel 4). Selain bibit yang diinokulasi patogen, bibit yang tidak diinokulasi juga memperlihatkan adanya aktivitas peroksidase dengan nilai sebesar 0,0008 UAE/g.

B. Pembahasan

1. Uji patogenisitas isolat *Botryodiplodia* spp.

Botryodiplodia sp. merupakan cendawan di daerah tropis dan subtropis yang dapat menyebabkan berbagai jenis penyakit pada tanaman. Cendawan *L. theobromae* merupakan anggota dari Botryosphaeriaceae, dikenal sebagai patogen dengan lebih dari lima ratus inang dan (Abdollahzadeh, Javadi, Goltapeh, Zare, & Phillips, 2010; Ismail *et al.*, 2012).

Cendawan *Botryodiplodia* sp. secara umum dapat menghasilkan

pertumbuhan radial koloni yang cepat pada media PDA. Pertumbuhan radial koloni isolat dalam penelitian ini serupa dengan penelitian Correia *et al.* (2016) yaitu dapat memenuhi cawan petri setelah dua sampai dengan tiga hari inkubasi pada media PDA. Sementara itu, Kausar, Chohan, & Parveen (2009) menunjukkan bahwa pertumbuhan radial koloni isolat *L. theobromae* pada media PDA dan WA (*Water Agar*) tidak berbeda nyata setelah 7 hari inkubasi.

Isolat *Botryodiplodia* spp. yang diinokulasikan pada bibit jabon dapat berkembang dengan cepat di dalam jaringan tanaman. Cendawan ini dapat menyebabkan batang jabon menjadi menyusut dan kering serta daun menjadi berwarna kecoklatan dan menggulung. Djeugap, Bernier, Dostaler, & Zena (2016) melaporkan serangan *L. theobromae* pada bibit tanaman *corkwood* (*Riciodendron heudelotii* (Baill.) Pierre ex Heckel) yang menimbulkan gejala hawar pada pucuk. Gejala yang terus berkembang menyebabkan bibit tanaman layu dan mati pucuk hingga tanaman mati.

Tabel (Table) 4. Aktivitas peroksidase bibit jabon setelah diinokulasi lima isolat *Botryodiplodia* spp. (*Peroxidase activity of jabon seedlings after inoculation of five Botryodiplodia spp. isolates*)*

Isolat (<i>Isolates</i>)	Aktivitas peroksidase (<i>Peroxidase activity</i>) (UAE/g)
<i>Botryodiplodia</i> sp1	0,0012
<i>Botryodiplodia</i> sp2	0,0012
<i>Botryodiplodia</i> sp3	0,0008
<i>Botryodiplodia</i> sp4	0,0008
<i>Botryodiplodia</i> sp5	0,0006
Kontrol (<i>Control</i>)	0,0008

Keterangan (*Note*): *Hasil analisis dari Laboratorium Rekayasa Bioproses, Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor (*Analysis result from Laboratorium Rekayasa Bioproses, Pusat Antar Universitas, Institut Pertanian Bogor*)

Inokulasi merupakan tahap awal dari suatu siklus penyakit. Tahap ini selanjutnya akan diikuti oleh tahap penetrasi, infeksi, dan diseminasi. Inokulasi isolat *Botryodiplodia* spp. Dilakukan secara buatan. Cendawan dapat memasuki jaringan tanaman jabon melalui luka atau penetrasi langsung (Aisah *et al.*, 2015). Sementara itu, nilai keparahan penyakit mati pucuk yang dihasilkan isolat virulen cenderung lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Achamd & Arshinta (2014) yang memiliki nilai keparahan sebesar 42% pada bibit jabon umur \pm 4 bulan dari penyapihan.

Masa inkubasi yang dibutuhkan *Botryodiplodia* spp. untuk menimbulkan gejala pada bibit jabon relatif pendek dan penyakit dapat berkembang dengan cepat. Nekrosis yang muncul pada titik inokulasi dapat berkembang hingga menyebabkan kematian tanaman. Li *et al.* (2014) menunjukkan bahwa inokulasi *L. theobromae* pada tanaman peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) mampu menimbulkan gejala seperti tersiram air pada enam jam setelah inokulasi. Gejala tersebut berkembang menjadi warna kemerahan pada satu hari setelah inokulasi dan menyebabkan *gumosis* pada 3 hari setelah inokulasi.

Perkembangan penyakit tumbuhan bergantung pada interaksi antara tiga komponen, yaitu tanaman inang, patogen, dan lingkungan. Perubahan salah satu dari komponen-komponen tersebut akan mempengaruhi keparahan penyakit pada individu atau populasi tanaman inang. Inokulasi isolat *Botryodiplodia* spp. pada semai jabon menghasilkan persentase keparahan penyakit yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa isolat *Botryodiplodia* spp. memiliki derajat patogenisitas yang berbeda, dengan asumsi kondisi tanaman inang dan lingkungan homogen. Prasannath (2013) menyatakan bahwa patogenisitas merupakan kemampuan patogen dalam menyebabkan

penyakit, sedangkan virulensi adalah derajat patogenisitas yang dihasilkan oleh patogen yang bersangkutan.

Berdasarkan tingkat keparahan penyakit, dapat diketahui bahwa tiga dari lima isolat *Botryodiplodia* spp. bersifat virulen terhadap bibit jabon, sedangkan dua isolat lainnya kurang virulen. Isolat virulen tidak hanya dapat menimbulkan gejala lebih cepat pada tanaman inang, tapi juga menghasilkan persentase kematian bibit lebih tinggi jika dibandingkan dengan isolat kurang virulen.

Perbedaan tingkat virulensi isolat *Botryodiplodia* spp. diduga disebabkan oleh faktor genetik atau lingkungan. Faktor genetik dapat mempengaruhi tingkat virulensi cendawan patogen, karena untuk menimbulkan penyakit diperlukan interaksi gen antara patogen dengan inangnya.

2. Mekanisme infeksi cendawan patogen terhadap tanaman inang

Inokulasi isolat *Botryodiplodia* spp. pada bibit jabon berhasil menimbulkan gejala pada bagian yang dilukai. Berdasarkan Aisah *et al.* (2015), inokulasi isolat *Botryodiplodia* spp. terhadap bibit jabon dapat menimbulkan gejala berupa nekrotik, baik pada bagian yang dilukai maupun tidak dilukai. Hal ini menunjukkan bahwa isolat *Botryodiplodia* spp. selain dapat melakukan penetrasi secara pasif juga dapat melakukan penetrasi secara aktif terhadap bibit jabon.

Mekanisme penetrasi secara aktif yang dilakukan cendawan patogen terhadap inangnya dapat dilakukan melalui kekuatan mekanik atau enzimatik. Underwood & Somerville (2008) menyatakan bahwa cendawan yang melakukan penetrasi secara langsung pada epidermis akan menembus kutikula dan dinding sel untuk memperoleh nutrisi dan air. Karena adanya pertahanan pasif dari tanaman inang, maka banyak cendawan yang mengembangkan struktur infeksi khusus yang disebut *apresorium* untuk

membantu menembus kutikula atau dinding sel dengan kekuatan mekanik atau enzimatik.

Pektinase dan selulase ini merupakan enzim pendegradasi dinding sel yang dapat digunakan cendawan patogen untuk proses penetrasi atau kolonisasi. Kikot, Hours, & Alconada (2008) menyatakan bahwa enzim pendegradasi dinding sel berperan dalam patogenesis melalui degradasi lapisan lilin, kutikula, dan dinding sel untuk membantu invasi jaringan dan diseminasi patogen. Enzim ini selanjutnya dapat bertindak sebagai elisitor dalam reaksi pertahanan inang.

Secara umum, tiga isolat uji *Botryodiplodia* spp. (*Botryodiplodia* sp. 1, *Botryodiplodia* sp. 2, dan *Botryodiplodia* sp. 3) dapat menghasilkan pektinase dan selulase. Penelitian Li *et al.* (2012) menunjukkan bahwa *B. theobromae* mampu menghasilkan lima tipe enzim pendegradasi dinding sel, yaitu poligalakturonase (PG), selulase (Cx), pektin metilgalakturonase (PMG), poligalakturonase transeliminase (PGTE) dan pektin metil transeliminase (PMTE) pada kondisi *in vitro* dan kondisi inokulasi.

Aktivitas enzim isolat *Botryodiplodia* spp. memperlihatkan aktivitas pektinase yang lebih tinggi jika dibandingkan selulase. Hal ini diduga karena sampel tanaman yang digunakan masih cukup muda sehingga komponen dinding selnya relatif lebih banyak mengandung pektin. Terdeteksinya aktivitas pektinase dan selulase menunjukkan bahwa isolat *Botryodiplodia* spp. melibatkan kekuatan biokimia untuk menginfeksi tanaman inang.

3. Mekanisme pertahanan tanaman inang terhadap infeksi patogen

Seperti halnya mekanisme infeksi patogen, tanaman inang pun memiliki pertahanan yang bersifat aktif dan pasif.

Pertahanan dasar atau bawaan merupakan bentuk pertahanan pasif yang sudah tersedia sebelum terjadi infeksi patogen, contohnya dinding sel. Underwood (2012) menjelaskan bahwa patogen harus menghadapi rintangan fisik yang terdapat pada dinding sel tanaman inang. Ketika terjadi interaksi inang-patogen, rintangan pasif menghambat akses patogen menuju dinding sel, dan dinding sel secara aktif berubah bentuk dan menebal pada bagian dimana interaksi terjadi.

Apabila patogen berhasil memasuki jaringan inang, maka inang akan mengaktifkan mekanisme pertahanan lain sebagai respon terhadap infeksi patogen. Karena bentuk pertahanan ini muncul setelah adanya infeksi patogen, maka mekanisme ini dikenal dengan pertahanan aktif. Pertahanan aktif inang dapat berupa ledakan oksidatif, perubahan dasar dinding sel, akumulasi metabolit sekunder, aktivasi atau sintesis peptida dan protein pertahanan (Ashry & Mohamed, 2011).

Aktivitas peroksidase umum digunakan untuk mengetahui respon ketahanan dari suatu tanaman inang. Aktivitas enzim ini dapat terdeteksi pada bibit jabon yang diberi perlakuan stress biotik berupa inokulasi cendawan patogen *Botryodiplodia* spp.. Ter-eteksinya aktivitas peroksidase pada bibit jabon menunjukkan bahwa tanaman inang melibatkan pertahanan aktif untuk mengatasi infeksi patogen. Aktivitas peroksidase juga terdeteksi pada bibit jabon yang tidak diinokulasi patogen. Hal ini diduga karena tanaman sedang melakukan sintesis polimer dinding sel, seperti pernyataan Ashry & Mohamed (2011) bahwa salah satu peranan penting enzim peroksidase adalah untuk sintesis polimer dinding sel yang merupakan *barrier* fisik terhadap *stress* biotik dan abiotik.

Lehr, Schrey, Hampp, & Tarkka (2008) melaporkan bahwa inokulasi patogen *Botrytis cinerea* Pers. pada

bagian daun dan inokulasi *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. pada bagian akar bibit tanaman Norway spruce (*Picea abies* (L.) H. Karst.) memperlihatkan aktivitas peroksidase yang lebih tinggi dibandingkan kontrol. Sementara itu, Zolfaghari, Hosseini, & Korori (2010) menunjukkan bahwa aktivitas peroksidase pada tanaman beech (*Fagus orientalis* Lipsky) mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya tingkat kekeringan, dan mencapai tingkat maksimum pada saat menjelang musim dingin. Adapun aktivitas paling rendah terjadi pada saat kondisi lingkungan sesuai untuk pertumbuhan tanaman, karena pada kondisi ini tanaman tidak perlu mengeluarkan enzim oksidatif untuk pertahanan terhadap *stress* lingkungan.

Perlakuan inokulasi patogen tidak selalu diikuti oleh peningkatan aktivitas peroksidase inang, bahkan tanaman kontrol (tanpa inokulasi patogen) dapat memiliki aktivitas lebih tinggi dibandingkan tanaman yang dinokulasi patogen. Hal ini diduga sebagai respon terhadap pelukaan yang dilakukan sebelum tahap inokulasi. Meskipun peroksidase memiliki peranan penting dalam pertahanan tanaman, namun aktivitas enzim ini tidak selalu berkorelasi positif dengan tingkat ketahanan inang, karena aktivitas peroksidase bukan satu-satunya mekanisme yang terlibat dalam pertahanan inang terhadap stress biotik atau abiotik.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Isolat *Botryodiplodia* sp1, *Botryodiplodia* sp2, *Botryodiplodia* sp3, *Botryodiplodia* sp4, dan *Botryodiplodia* sp5 memiliki tingkat virulensi yang berbeda terhadap bibit jabon, yaitu bersifat virulen untuk isolat *Botryodiplodia* sp1, *Botryodiplodia* sp2,

dan *Botryodiplodia* sp3, dan kurang virulen untuk isolat *Botryodiplodia* sp4 dan *Botryodiplodia* sp5. Mekanisme infeksi isolat *Botryodiplodia* spp. terhadap bibit jabon salah satunya melibatkan sekresi enzim, yaitu pektinase dan selulase. Sementara itu, mekanisme pertahanan tanaman jabon terhadap infeksi *Botryodiplodia* spp. dilakukan dengan menghasilkan peroksidase.

B. Saran

Tindakan pencegahan terhadap gangguan penyakit mati pucuk pada bibit jabon perlu dilakukan sebelum terjadi infeksi patogen yang dapat dilakukan dengan cara mengurangi kerusakan fisik tanaman, tidak menciptakan kondisi stress pada tanaman, dan mengatur jarak antar tanaman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Dadang selaku teknisi di Laboratorium Mikologi, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian IPB; Ibu Tutyn Suryatin selaku teknisi di Laboratorium Patologi Hutan, Departemen Silviculture, Fakultas Kehutanan IPB; Bapak Eter Cahyadi selaku penggiat pembibitan jabon; dan kepada seluruh pihak yang telah membantu kegiatan penelitian sehingga karya tulis ilmiah ini dapat disusun dan diselesaikan. Semoga menjadi materi yang bermanfaat bagi yang membutuhkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdollahzadeh, J., Javadi, A., Goltapeh, E.M., Zare, R., & Phillips, A.J.L. (2010). Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. *Persoonia: Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 25, 1–10. <https://doi.org/10.3767/003158510X524150>

- Achamd, & Arshinta, P. (2014). Pathogenicity of *Botryodiplodias* sp. on The Seedling and Growth Characterization of Jabon (*Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miq). *Asian Journal of Plant Pathology*, 8(2), 55–62. <https://doi.org/10.3923/ajppaj.2014.55.62>
- Achmad, Hadi, S., Harran, S., Sa'id, E. G., Satiawiharja, B., & Kardin, M. K. (2012). Mekanisme Serangan Patogen Lodoh pada Semai Pinus (*Pinus merkusii*), 3(1), 57–64.
- Adandonon, A., Datinon, B., Baimey, H., & Toffa, J. (2014). First report of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl causing root rot and collar rot disease of *Jatropha curcas* L. in Benin. *Journal of Applied Biosciences*, 79, 6873–6877. Retrieved from www.ajol.info/
- Ahmad, I., Khan, R.A., & Siddiqui, M.T. (2012). Incidence of dieback disease following fungal inoculations of sexually and asexually propagated shisham (*Dalbergia sissoo*). *Forest Pathology*, 43, 77–82. <https://doi.org/10.1111/efp.12001>
- Aisah, A.R. (2014). *Identifikasi dan Patogenisitas Cendawan Penyebab Primer Penyakit Mati Pucuk pada Bibit Jabon (Anthocephalus cadamba (Roxb.) Miq)*. Institut Pertanian Bogor.
- Aisah, A.R., Soekarno, B.P.W., & Achamd. (2015). Isolasi dan Identifikasi Cendawan yang Berasosiasi dengan Penyakit Mati Pucuk pada Bibit Jabon (*Anthocephalus cadamba* (Roxb.) Miq). *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 12(3), 153–163.
- Ashry, N.A., & Mohamed, H.I. (2011). Impact of secondary metabolites and related enzymes in flax resistance and/or susceptibility to powdery mildew. *World Journal of Agricultural Sciences*, 7(1), 78–85. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1023>
- Correia, K.C., Silva, M.A., de Morais, M.A., Armengol, J., Phillips, A.J.L., Camara, M.P.S., & Michereff, S.J. (2016). Phylogeny, distribution and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback of table grape in the main Brazilian exporting region. *Plant Pathology*, 65(1), 92–103. <https://doi.org/10.1111/ppa.12388>
- Djeugap, J.F., Bernier, L., Dostaler, D., & Zena, G.R.D. (2016). First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing shoot blight of *Ricinodendron heudelotii* seedlings in Cameroon. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research (IJAAR)*, 8(1), 59–63. Retrieved from <https://www.researchgate.net/>
- Ismail, A.M., Cirvilleri, G., Polizzi, G., Crous, P.W., Groenewald, J.Z., & Lombard, L. (2012). *Lasiodiplodia* species associated with dieback disease of mango (*Mangifera indica*) in Egypt. *Australasian Plant Pathol.*, 41, 649–660. <https://doi.org/10.1007/s13313-012-0163-1>
- Kausar, P., Chohan, S., & Parveen, R. (2009). Physiological studies on *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium solani*, the cause of Shesham decline. *Mycopath*, 7(1), 35–38. Retrieved from pu.edu.pk/
- Kikot, G.E., Hours, R.A., & Alconada, T.M. (2008). Contribution of cell wall degrading enzymes to pathogenesis of *Fusarium*

- graminearum*: a review. *Journal of Basic of Microbiology*, 49(3), 231–241.
<https://doi.org/10.1002/jobm.200800231>
- Krishnan, P.R., Kalia, R.K., Tewari, J.C., & Roy, M.M. (2014). Plant Nursery Management: Principles and Practices. *Central Arid Zone Research Institute, Jodhpur*, 40. Retrieved from <http://www.cazri.res.in/>
- Krisnawati, H., Kallio, M., & Kanninen, M. (2011). *Anthocephalus cadamba* Miq. *Ecology, silviculture and productivity*. Bogor: Center for International Forestry Research. Retrieved from <http://www.cifor.org/>
- Lehr, N., Schrey, S.D., Hampp, R., & Tarkka, M.T. (2008). Root inoculation with a forest soil streptomycete leads to locally and systemically increased resistance against phytopathogens in Norway spruce. *New Phytologist*, 177, 965–976. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02322.x>
- Li, M., Gao, Z., Hu, M., Zhou, S., Yang, D., Yang, B., Yi, J., & Yang, F. (2012). Pathogenicity of Cell Wall Degrading Enzymes Produced by *Botryodiplodia theobromae* Pat. against Mangoes. *Agricultural Biotechnology*, 1(6), 18–21. Retrieved from <http://e-resources.perpusnas.go.id/>
- Li, Z., Wang, Y.T., Gao, L., Wang, F., Ye, J.L., & Li, G.H. (2014). Biochemical changes and defence responses during the development of peach gummosis caused by *Lasiodiplodia theobromae*. *European Journal of Plant Pathology*, 138(1), 195–207. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0322-4>
- Mattkjjik, A.A., & Sumertajaya, I.M. (2013). *Perancangan percobaan dengan aplikasi SAS dan Minitab* (1st ed.). Bogor: IPB Press.
- Nurhasanah, Y.S. (2012). *Karakterisasi Cendawan Botryodiplodia theobromae dan Rhizoctonia solani dari Berbagai Tanaman Inang Berdasarkan Morfologi dan Pola RAPD-PCR*. Institut Pertanian Bogor.
- Pathak, H., Maru, S., H.N.S., & SC, S. (2015). Fungal Diseases of Trees in Forest Nurseries of Indore, India. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 6(8), 8–11. <https://doi.org/10.4172/2157-7471>
- Prasannath, K. (2013). Pathogenicity and Virulence Factors of Phytobacteria. *Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB)*, 1(1), 24–33. Retrieved from saspublisher.com/.
- Putra, F., Indriyanto, & Riniarti, M. (2014). Keberhasilan Hidup Setek Pucuk Jabon (*Anthocephalus cadamba*) dengan Pemberian Beberapa Konsentrasi Rootone-F. *Jurnal Sylva Lestari*, 2(2), 33–40. Retrieved from jurnal.fp.unila.ac.id/
- Rodríguez-Gálvez, E., Maldonado, E., & Alves, A. (2015). Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* causing dieback of table grapes in Peru. *European Journal of Plant Pathology*, 141(3), 477–489. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0557-8>
- Safdar, A., Khan, S.A., & Safdar, M.A. (2015). Pathogenic Association and Management of *Botryodiplodia theobromae* in Guava Orchards at Sheikhpura District, Pakistan. *International Journal of Agriculture & Biology*, 17(2), 297–304. Retrieved from www.fspublishers.org/

- Simon, T.J., & Ross, A.F. (1970). Enhanced peroxidase activity associated with induction of resistance to *Tobacco Mosaic Virus* in hypersensitive tobacco. *Phytopathology*, 60, 383–384.
- Stević, M., Vukša, P., & Elezović, I. (2010). Resistance of *Venturia inaequalis* to demethylation inhibiting (DMI) fungicides. *Žemdirbystė=Agriculture*, 97(4), 65–72. Retrieved from <http://www.lzi.lt/>
- Underwood, W. (2012). The Plant Cell Wall: A Dynamic Barrier Against Pathogen Invasion. *Frontiers in Plant Science*, 3(May), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00085>
- Underwood, W., & Somerville, S.C. (2008). Focal accumulation of defences at sites of fungal pathogen attack. *Journal of Experimental Botany*, 59(13), 3501–3508. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern205>
- Zolfaghari, R., Hosseini, S.M., & Korori, S.A.A. (2010). Relationship between peroxidase and catalase with metabolism and environmental factors in Beech (*Fagus orientalis* Lipsky) in three different elevations. *International Journal of Environmental Sciences*, 1(2), 243–252. Retrieved from www.ipublishing.co.in/