EFEKTIVITAS ASAP CAIR DALAM MENGHAMBAT PERTUMBUHAN Corynespora cassiicola PENYEBAB PENYAKIT GUGUR DAUN PADA TANAMAN KARET (Hevea brasiliensis Muell. Arg) SECARA IN VITRO

The Effectiveness of Liquid Smoke In Inhibiting The Growth of Corynespora cassiicola Causes of Deciduous Disease In Rubber Plants (Hevea brasiliensis Muell. Arg) In In Vitro

> Yusmar Mahmud*, Dedi Hidayat, Tahrir Aulawi Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau, Fakultas Pertanian dan Peternakan Jl. H.R. Soebrantas No. 155 KM 15 Simpang Baru Panam Pekanbaru Riau 28293 *Corresponding author: yusmar@uin-suska.ac.id HP: 085265410499

Abstract. Corynespora Deciduous Disease (PGDC) caused by Corynespora cassiicola is one of the most important rubber diseases. The technology that is used by farmers today is still a lot that uses synthetic fungicides that can cause adverse side effects. Given the losses incurred, one of which can be utilized is coconut shell waste for making liquid smoke. This study aims to determine the best concentration in suppressing the development of Corynespora cassicola. This research has been carried out at the Forestry Laboratory of the Faculty of Agriculture, University of Riau, Laboratory of Organic Chemistry Research, Faculty of FMIPA, University of Riau and Pathology and Microbiology Pathology Laboratory, Faculty of Agriculture and Animal Husbandry, Sultan Syarif Kasim Riau State Islamic University. The study was conducted for 2 months, from March to April 2019. The experiment was arranged in a completely randomized design (CRD) with 6 treatments and 5 replications so that there were 30 units of the experiment. The concentrations tested were 0%, 1%, 2%, 3%, 4% and 5%. The results showed that the best concentration of coconut shell liquid smoke in controlling Corynespora cassicola was 2% which was able to inhibit 100%.

Keywords: Liquid smoke, Concentration, Corynespora cassicola

Abstrak. Penyakit Gugur Daun Corynespora (PGDC) yang disebabkan oleh Corynespora cassiicola merupakan salah satu penyakit karet yang sangat penting. Teknologi yang digunakan petani saat ini masih banyak yang menggunakan fungisida sintetik yang dapat menimbulkan pengaruh samping yang merugikan. Mengingat kerugian yang ditimbulkan tersebut, salah satu yang dapat dimanfaatkan yaitu limbah tempurung kelapa untuk pembuatan asap cair. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terbaik dalam menekan perkembangan Corynespora cassicola. Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorim Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Riau, Laboratorium Penelitian Kimia Organik Fakultas FMIFA Universitas Riau dan Laboratorium Patologi Entomologi dan Mikrobiologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Penelitian dilaksanakan selama 2 bulan yaitu Bulan Maret sampai dengan April 2019. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan sehingga terdapat 30 unit percobaan. Konsentrasi yang diuji yaitu 0%, 1%, 2%, 3%, 4% dan 5%. Hasil penelitian menunjukan bahwa konsentrasi asap cair tempurung kelapa yang yang terbaik dalam mengendalikan Corynespora cassicola yaitu sebesar 2% yang mampu menghambat sebesar 100%.

Kata kunci: Asap cair, Konsentrasi, Corynespora cassicola

PENDAHULUAN

Penyakit Gugur Daun Corynespora (PGDC) yang disebabkan oleh Corynespora cassiicola merupakan salah satu penyakit karet yang sangat penting. Hal ini karena penyakit ini dapat peranggasan mengakibatkan tanaman karet sepanjang tahun sehingga pertumbuhan tanaman terhambat, penyadapan tidak dapat dilakukan dan bahkan menyebabkan kematian tanaman. Selain menyerang tanaman di lapangan penyakit ini juga menjangkiti tanaman karet yang ada di pembibitan, sehingga dapat mengakibatkan kerugian yang besar. Penyakit ini dapat menyerang daun karet baik yang masih muda maupun yang telah tua. Serangan Corvnespora sangat berpengaruh pertumbuhan tanaman muda sehingga masa matang sadap terhambat atau diperpanjang 3 sampai 5 tahun atau lebih, atau sama sekali gagal untuk matang sadap (Pawirosoemardjo, 2004).

Faktor iklim (hujan, kelembaban, suhu dan sinar matahari) sangat berperan untuk timbulnya serangan Corvnespora cassicola (Situmorang dkk., 2001). Sumatera Utara, Jambi dan Riau merupakan daerah yang terinfeksi berat oleh PGDC yang menyebabkan kerugian penurunan produksi lateks 40-60% (Situmorang dkk., 2007).

Teknologi yang digunakan petani saat ini masih banyak yang menggunakan fungisida sintetik dengan alasan mudah didapat, praktis dalam aplikasi, petani tidak perlu membuat sediaan sendiri, tersedia dalam jumlah yang banyak dan hasil relatif cepat terlihat (Dono dkk., 2008). Namun, penggunaan fungisida sintetis dapat menimbulkan pengaruh samping yang merugikan, seperti timbulnya resistensi pada hama sasaran, resurjensi hama utama, eksplosi hama sekunder dan terjadinya pencemaran lingkungan (Tohir, 2010).

Mengingat kerugian yang ditimbulkan tersebut, salah satu yang dapat dimanfaatkan yaitu limbah tempurung kelapa untuk pembuatan asap cair. Asap cair merupakan cairan kondensat uap asap hasil pirolisis kayu yang mengandung senyawa penyusun utama asam, fenol dan karbonil hasil degradasi termal komponen selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Senyawa asam, fenol, dan karbonil dalam asap cair memiliki kontribusi dalam karakteristik aroma, warna dan flavor (Katja dkk., 2008).

Menurut Yuan dkk. (2003), senyawa fenol yang terkandung pada asap cair bersifat anti jamur, dengan cara menghambat kerja enzim yang dibutuhkan untuk menginfeksi tanaman. Oksidasi fenol, seperti quinon, mempunyai sifat antimikroba yang lebih dibanding fenol. Quinon juga berpengaruh pada pembentukan dinding sel jamur. Produk oksidasi fenol juga dapat mempengaruhi pembentukan struktur seks jamur tertentu dan pengaturan metabolisme jamur (Agrios, 2005). Pangestu dkk. (2009) melaporkan bahwa penggunaan asap cair tempurung kelapa dengan dosis lebih dari 0,11% mampu menghambat pertumbuhan Phytopthora sp. penyebab busuk buah pada tanaman kakao secara in vitro, Selanjutnya Aisyah dkk. (2012) juga melaporkan Asap cair dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 1%, 5% dan 6%, dapat menghambat pertumbuhan koloni cendawan Colletotrichum gloeosporoides sebesar (5,59-97,68%) dan Fusarium oxysporum (6,06-97,85%) secara in vitro.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terbaik dalam menekan perkembangan Corynespora cassicola penyebab penyakit gugur daun pada tanaman karet (Hevea brasiliensis Muell. Arg).

2. METODE

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorim Kehutanan Fakultas Pertanian Universitas Riau, Laboratorium Penelitian Kimia Organik Fakultas FMIFA Universitas Riau dan Laboratorium Patologi Entomologi dan Mikrobiologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Penelitian dilaksanakan selama dua bulan yaitu Bulan Maret sampai dengan April 2019.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat jamur Corynespora cassicola dari koleksi Laboratorium Balai Penelitian Sungei Putih, air. alkohol 96%, media PDA, aquades, kertas membran filter 0,2 mm, tisu, alumminium foil, plastic wrap, kertas label dan tempurung kelapa. Alat yang digunakan adalah pisau, alat destilasi asap cair. Autoklaf, gelas ukur, Erlenmeyer, pipetmikro, batang pengaduk, spatula, timbangan analitik, hot plate. laminar air flow cabinet (LAFC), Cawan Petri, bunsen, Jarum Ose, hand sprayer, Cork borer, kulkas, labu destilasi, kamera dan alat tulis.

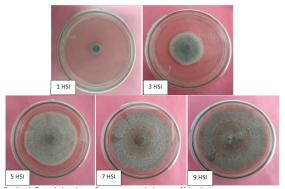
Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 5 ulangan sehingga terdapat 30 unit percobaan. Penguijan ini dilakukan dengan metode media beracun, teknik ini meliputi penanaman organisme uji di atas media tumbuh yang sudah dicampur dengan bahan kimia uji mengukur pertumbuhan organisme dan Konsentrasi yang digunakan dalam perlakuan uji toksisitas asap cair terhadap penghambatan Corynespora cassiicola sebagai berikut:

A0 = 0% (Tanpa asap cair + 20 ml PDA) A1 = 1% (0,2 ml asap cair +19,8 ml PDA) A2 = 2% (0.4 ml asap cair + 19.6 ml PDA)A3 = 3% (0.6 ml asap cair + 19.4 ml PDA) A4 = 4% (0.8 ml asap cair + 19.2 ml PDA)

HASIL DAN PEMBAHASAN 3. 3.1 Makroskopis Corynespora casicola

A5 = 5% (1 ml asap cair + 19 ml PDA)

Hasil isolasi jamur Corynespora cassicola selama 9 hari pada media PDA dilihat pada Gambar 3.1. sebagai berikut:

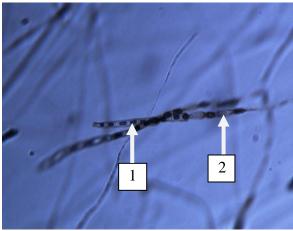


3.1. Pertumbuhan Jamur Corynespora Gambar cassicola secara Makroskopis

Gambar 3.1. di atas menunjukan pertumbuhan jamur Corynespora cassicola pada media PDA selama 9 hari pada suhu 30°C. Hasil pengamatan pertumbuhan koloni jamur Corynespora cassicola secara *in-vitro* di media PDA menunjukan peningkatan lebar diameter koloni dari setiap harinya. Pertumbuhan koloni jamur Corynespora cassicola pada umur 1 HSI koloni jamur Corynespora cassicola belum mengalami pertambahan diameter, selanjutnya pertumbuhan koloni jamur Corynespora cassicola pada umur 3 HSI sudah mengalami perkembangan koloni dan berwarna abu-abu. Pada umur 5 HSI koloni jamur semakin berkembang dan melebar dan masih berwarna abu-abu. Selanjutnya pada umur 7 HSI koloni jamur mengalami perubahan warna koloni yaitu berwarna abu-abu kecoklatan dan pada hari ke 9 HSI koloni jamur tumbuh sempurna memenuhi cawan petri dan bewarna coklat kehitaman dengan tekstur yang lembut. Perubahan warna koloni jamur Corynespora cassicola ini sejalan dengan penelitian Ahmed dkk (2013).

3.2 Mikroskopis Corynespora cassicola

Pengamatan secara mikroskopis iamur Corynespora cassicola dilakukan dibawah mikroskop binokuler (10x100).



Gambar 3.2. Mikroskopis Corvnespora cassicola Keterangan: 1. Konidiofor; 2. Konidia

Berdasarkan Gambar 3.2 di atas dapat dilihat hasil pengamatan mikroskopis jamur Corynespora cassicola yaitu mempunyai bentuk konidiofor yang berbentuk cabang dan mempunyai bentuk konidium yang slindris atau berbentuk tabung. Hasil pengamatan ini sesuai dengan pendapat Semangun (2008) bahwa konidiofor Corynespora cassicola coklat. bercabang berwarna dengan membengkak. Konidium Corynespora cassicola berwarna coklat, seperti gada atau slindris dan ujungnya agak runcing.

3.3 Kandungan Senyawa Fenol Total pada Asap Cair

Hasil penelitian asap cair tempurung kelapa yang telah dianalisis, senyawa fenol merupakan komponen yang paling besar yang terdapat dalam asap cair. Senyawa fenol mempunyai aktivitas antimikroba yang cukup besar dan merupakan senyawa utama dalam asap cair. Analisis kandungan fenol total pada asap cair dilakukan dengan Mikroplate Reader di laboratorium Penelitian Kimia Organik Fakultas FMIFA Universitas Riau.

Berdasarkan hasil analisis dapat dilihat asap cair grade 2 yang telah didestilasi pada suhu 96 °C selama 3 jam mempunyai kandungan total fenol 56,1266 mg AG/ml sampel (5,61%). Hasil ini tidak sesui dengan yang dilaporkan Jayanudin dan Suhendi (2012) bahwa asap cair tempurung kelapa menghasilkan 12,93% senyawa fenol total. Hal ini diduga kurang optimalnya temperatur pirolisis pada saat pembuatan asap cair sehingga kandungan lignin pada tempurung kelapa belum efektif terurai sempurna. Menurut Asmawit dan Hidayati (2016), faktor yang mempengaruhi besarnya kandungan fenol dalam asap cair diantaranya adalah banyaknya kandungan lignin yang terurai dalam bahan. Semakin banyak kandungan lignin yang terurai dalam bahan, semakin banyak pula kandungan fenol dalam asap cair.

Fenol merupakan salah satu zat aktif yang mampu memberikan efek antibakteri dan antimikroba pada asap cair. Semakin tinggi kadar fenol dalam suatu bahan maka aktivitas antibakterinya akan meningkat. Fenol semakin selain memiliki kemampuan sebagai antibakteri dan antimikroba juga berperan sebagai antioksidan. Kandungan kimia dalam asap cair yang diketahui dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme diantaranya fenol dan asam asetat (Fachraniah dkk, 2009). Menurut Rahayu dan Sukadana (2015) dalam menghambat aktivitas mikroorganisme, fenol bekerja dengan mendenaturasi protein sel dan merusak membran sel sehingga dapat menyebabkan kematian pada patogen.

3.4 Uji Daya Hambat Asap Cair Terhadap Jamur Corynespora cassicola

Hasil uji daya hambat asap cair terhadap jamur Corynespora cassicola secara In vitro pada media tumbuh PDA dengan masa inkubasi sampai kontrol penuh yaitu selama 9 hari. Persentase daya hambat asap cair terhadap jamur Corynespora cassicolavang telah dihitung menggunakan rumus Noveriza dan Tombe (2003) dapat dilihat pada tabel.31. sebagai berikut:

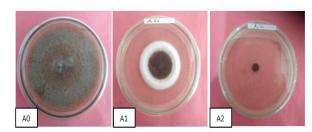
Tabel 3.1. Persentase Daya Hambat Asap Cair Terhadap Jamur Corynespora cassicola

| Perlakuan | Persentase Hambatan |
|-------------------|---------------------|
| A0 (0% asap cair) | 0 % |
| A1 (1% asap cair) | 79% |
| A2 (2% asap cair) | 100% |
| A3 (3% asap cair) | 100% |
| A4 (4% asap cair) | 100% |
| A5 (5% asap cair) | 100% |

Berdasarkan Tabel 3.1 di atas dapat dilihat bahwa asap cair tempurung kelapa pada setiap konsentrasi uji yang digunakan dengan metode peracunan makanan (food poisoned technique) dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan terhadap jamur Corynespora cassicola. Pada konsentrasi 0% asap cair tidak menghambat petumbuhan jamur Corynespora cassicola. Pada perlakuan 1% asap cair menyebabkan penghambatan sebesar 79% sedangkan pada konsentrasi 2% sampai 5% menyebabkan penghambatan sebesar 100% yaitu jamur tidak dapat tumbuh. Hal ini membuktikan bahwa asap cair bersifat toksin bagi jamur Corvnespora cassicola dan sesuai dengan yang dilaporkan Siskos dkk. (2007) bahwa asap cair bersifat antimikroba.

Tingginya daya hambat asap cair terhadap jamur Corynespora cassicola diduga berkaitan dengan kandungan bahan aktif yang dimilikinya. Selain itu, asap cair tempurung kelapa juga dilaporkan mengandung senyawa asam dan karbonil yang sinergis dengan fenol sehingga asap cair itu bersifat antimikroba (Akhirudin, 2006). Berdasarkan hasil tersebut dapat diperoleh konsentrasi yang efektif dalam pengendalian jamur Corynespora cassicola vaitu pada konsentrasi 2% yang sudah mampu menghambat pertumbuhan jamur Corynespora cassicola sebesar 100%. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 2% terjadi peningkatan bahan aktif yang beracun bagi jamur Corynespora cassicola dan mengakibatkan jamur Corynespora cassicola sudah tidak mampu untuk tumbuh pada media PDA. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Endang dan Abdul (2009) bahwa pada konsentrasi 2% asap cair tempurung kelapa dapat menghambat pertumbuhan diameter koloni jamur patogen sebesar 100%.

Hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa pemberian asap cair pada media agar memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan jamur Corynespora cassicola. Pengaruh terhadap pertumbuhan pada koloni jamur Corynespora cassicola dapat dilihat pada Gambar 3.3 sebagai berikut



Gambar 3.3 Penampakan Visual Isolat Jamur Corynespora cassicola 9 HIS

Berdasarkan Gambar 3 di atas dapat dilihat bahwa pada perlakuan A0 jamur Corynespora cassicola tumbuh dengan sempurna dan memenuhi Cawan Petri, sedangkan pada perlakuan A1 jamur Corynespora cassicola masih dapat tumbuh. Pada perlakuan A2 sampai A5 jamur Corynespor cassicola sudah tidak mengalami pertumbuhan sejak dilakukan isolasi. Hal ini diduga karena adanya pertambahan bahan aktif yang terkandung pada asap cair yang digunakan. Senyawa aktif fenol yang terkandung di cair tempurung dalamasap kelapa digunakandalam penelitian ini sebesar 56,1266 mg AG/ml sampel. Pada perlakuan A0 terdapat bahan aktif fenol total sebesar 0 mg AG/ml sampel, sedangkan pada perlakuan A1 (konsentrasi 1%)

terdapat bahan aktif fenol total 11,2253 mg AG/ml sampel dan mampu menghambat pertumbuhan jamur Corynespora cassicola sebesar 79%. Pada perlakuan A2 (konsentrasi 2%) terdapat bahan aktif fenol 22,4506 mg AG/ml sampel dan mampu menghambat pertumbuhan jamur Corvnespora cassicola sebesar 100%.

Aktivitas senyawa antimikrobia fenol yaitu dengan adanya reaksi antara fenol dengan membran sel yang menyebabkan terganggunya permeabilitas membran sel, inaktivasi enzim-enzim esensial, perusakan atau inaktivasi fungsional material genetik dan bekerja sebagai penghidrolisis lipid, sehingga merusak membran sel (Davidson dan Branen, 1981). Vickery (1981) menyatakan senyawa fenolat mempengaruhi fungsi mitokondria sehingga mengganggu respirasi sel. Hal ini menyebabkan penghambatan pertumbuhan jamur tersebut.

Selain fenol asap cair juga mempunyai senyawa lain yaitu asam asetat yang juga diindikasikan merupakan senyawa yang memiliki fungsi sinergi sebagai denaturan protein dan penghidrolisis lipid, sehingga dapat merusak membran sel pada jaringan tubuh cendawan dan menginaktifasi enzim yang diskeresikan cendawan tersebut (Pelczar, 1988). Efek antimikroba asam dari asap cair diduga secara langsung dapat mengasamkan sitoplasma, merusak tegangan permukaan membran dan hilangnya transport aktif makanan melalui membran sehingga menyebabkan destabilisasi bermacam-macam fungsi dan struktur komponen sel (Ray, 1996).

Kerusakan protein dan lipid pada membran sitoplasma sel, menyebabkan membran tersebut meniadi bocor dan akibatnya permeabilitas membran sel menjadi terganggu. Ini mengakibatkan membran menjadi tidak bersifat semi permeabel, sehingga kerja enzim permease pada membrane yang menjadi tempat keluar masuknya senyawa-senyawa tertentu ke dalam sel menjadi terganggu, dan akhirnya mengganggu penyerapan nutrisi. Jika aktivitas penyerapan nutrisi dari inang untuk metabolismenya mengakibatkan terganggu, bisa terganggunya akitivitas biologis dan fisiologis cendawan dan akhirnya menyebabkan kematian pada cendawan (Fardiaz, 1992).

SIMPULAN

Asap cair dari bahan baku tempurung kelapa mampu menghambat perumbuhan jamur Corynespora cassicola. Konsentasi yang efektif untuk pengendalian jamur Corvnespora cassicola dengan asap cair berbahan baku tempurung kelapa yaitu pada 2% vang mampu menghambat konsentrasi pertumbuhan jamur sebanyak 100%.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, N. G. 2005. Plant Pathology-Fifth Edition. Departemen of Plant Pathology. University of Florida. United States of America.
- Ahmed, F.A., Alam, N. dan Khair, A. 2013. Incidence and Biology of Corynespora cassicola Disease of Okra in Bangladesh. Bangladesh jurnal Bot. 42(2): 265-272
- Aisyah, I., N. Juli, dan G. Pari. 2012. Pemanfaatan Cair Tempurung Kelapa Mengendalikan Cendawan Penyebab Penyakit Antraknosa dan Lavu Fusarium pada Ketimun. Jurnal Penelitian Hasil Hutan. 31(2): 170-178.
- Asmawit dan Hidayati. 2016. Karakteristik Destilat Asap Cair dari Tandan Kosong Kelapa Sawit Proses Redestilasi. Majalah BIAM. 12(2): 8-14
- Davidson, P.M. dan Branen, A.L. 1981. Antimicrobial Non- Halogenated Phenolic Activity of Compound. J. of Food Prot. 44(8): 623-632.
- Dono, D., Hidayat, C, Nasahi, dan E. Anggraini. 2008. Pengaruh Ekstrak Biji Barringtonia asiatica L. Terhadap Mortalitas Larva dan Fekunditas Crocidolomia pavinana F. Jurnal agrikultura. 19(1): 853-885
- Fachrania, Fona. Z dan Rahmi. Z. 2009. Peningkatan Kualitas Asap Cair Dengan Destilasi. Jurnal Reaksi (Jurnal of Science and Technology). (7)14: 6-11
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi pangan 1. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 126 hal.
- Katja, D.G, E, Suryanto, L.I, Momuat., Y. Tambunan. 2008. Pengaruh Adsorben Terhadap Aktivitas Antioksidan dari Asap Cair Kayu Cempaka (Michelia champaka Linn). Jurnal Hasil Hutan. 1(1): 83-92.
- Noveriza, R. dan M. Tombe. 2003. Uji In vitroLimbah Pabrik Rokok Terhadap Beberapa Jamur Patogenik Tanaman. Buletin Tro. XIV. (2): 1-7.
- Pangestu, E., Suswanto, I. dan Supriyanto. 2014. Uji Penggunaan Asap Cair Tempurung Kelapa dalam Pengendalian Phytophora Sp. Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao Secara In Vitro. Jurnal Perkebunan dan Lahan Tropika. 4(2): 39-

- Pawirosoemardjo S. 2004. Manajemen Pengendalian Penyakit Penting dalam Upaya Mengamankan Target Produksi Karet Nasional Tahun 2020. Proceedings Pertemuan teknis. Pusat Penelitian Karet Balai Penelitian Sembawa.
- Pelczar, M. J., Chan. E. C. S. 1988. Dasar-Dasar mikrobiologi, jilid 2. Alih Bahasa oleh Hadioetomo, S., T. Imas, S.S. Tjitrosomo, dan S. L. Angka. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 698 hal.
- Rahayu Santi, S. dan Sukadana, I, M. 2015. Aktivitas Antioksidan Total Flavonoid dan Fenol Kulit Batang Gayam (*Inocarpus fagiferus* Fosb). *Jurnal Kimia*. 9(2): 160-168
- Ray, B. 1996. Fundamental Food Microbiology . CRC Press Boca Raton. Pp:409-416.
- Semangun, H. 2008. *Penyakit- Penyakit tanaman Perkebunan di Indonesia*. Gajah Mada. University press. Yogyakarta.
- Palatabilitas Ulat Grayak (*Spodoptera litura* Fabr.) di Laboratorium. *Buletin Teknik Pertanian*. 15(1): 37-40.
- Tursiman, Puji, A., dan Risa, N. 2012. Total Fenol Fraksi Etil Asetat dari Buah Asam Kandis (*Garcinia diocia* Blume). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 1(1): 45-48
- Vickery, B. 1981. Secondary plant metabolisme. The Macmillan Press Ltd. London, pp 1-307.
- Yuan, Y., R. L. Bingner, and R. A. Rebich. 2003. Evaluation of AnnAGNPS Nitrogen Loading in an Agricultural Watershed. *J. of AWRA* 39(2): 457-466.