

Pengaruh Formulasi Biofungisida Berbahan Aktif *Cladosporium* sp. Terhadap Penyakit Karat Putih Pada Tanaman Krisan (Effect of Biofungicide Formulation Based on *Cladosporium* sp. Against White Rust Disease on *Chrysanthemum*)

Evi Silvia Yusuf, Wakiah Nuryani, dan Kurniawan Budiarto

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jln. Raya Pacet-Ciherang, PO. Box. 8 SDL, Pacet, Cianjur, Jawa Barat, Indonesia 43253
E-mail: evinugraha99@yahoo.com

Diterima: 19 Februari 2019; direvisi: 20 Mei 2019; disetujui: 28 Juni 2019

ABSTRAK. Pengendalian penyakit karat putih pada tanaman krisan dengan menggunakan agens hayati merupakan salah satu upaya penting dalam mewujudkan sistem pertanian yang berkelanjutan dan ramah lingkungan. Penelitian bertujuan mengevaluasi kemangkusan biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* sp. pada beberapa formulasi (WP-1, WP-2, dan WP-3) dibandingkan dengan penggunaan fungisida sintetik dan asam salisilat dalam mengendalikan penyakit karat pada krisan cv. Puspita Nusantara. Penelitian berlangsung selama 1 tahun dari bulan Januari hingga Desember 2016, dilakukan melalui dua tahap, yaitu penelitian *super impose* di Kebun Percobaan Balai Penelitian Tanaman Hias dengan menggunakan rancangan acak lengkap terdiri atas enam perlakuan (WP-1, WP-2, WP-3, AS, FS, dan kontrol) dengan lima ulangan, setiap ulangan terdiri atas 100 tanaman. Aplikasi dilakukan setiap minggu pada sore hari dan verifikasi kemangkusan di lahan petani menggunakan uji t berpasangan terdiri atas dua perlakuan (WP-1 2 g/l dan fungisida sintetik berbahan aktif pyraclostrobin 250 g/l) dengan 10 ulangan. Hasil evaluasi kemangkusan perlakuan biofungisida menunjukkan bahwa seluruh formulasi mampu menekan serangan penyakit karat sebesar 17% hingga 27%. Demikian juga dengan hasil uji di lahan petani formulasi WP-1 mampu mengimbangi fungisida sintetik dengan menyisakan serangan karat 1,6% dan 1,7%. Hasil percobaan menunjukkan bahwa seluruh formulasi biofungisida mempunyai keefektifan yang sama dalam menurunkan intensitas dan perkembangan penyakit karat, dengan fungisida sintetik berbahan aktif pyraclostrobin 250 g/l dengan kualitas bunga yang cenderung lebih baik dibandingkan dengan kultur teknis petani yang berbasis fungisida sintetik.

Kata kunci : *Dendranthema grandiflora*; Agens hayati; Intensitas serangan; Evaluasi lapangan

ABSTRACT. The application of biological agents to control white rust on chrysanthemum is one important issues in the era of ecofriendly and sustainable agriculture, including in chrysanthemum production system. The research was carried out to evaluate the application of several biofungicide formulations with the active ingredient of *Cladosporium* sp., i.e. WP-1, WP-2, and WP-3, synthetic fungicide and salicylic acid for white rust control in chrysanthemum cv. *Puspita Nusantara*. The research was conducted from January to December 2015, through two subsequent experiments, i.e. super-impose experiment that located in Indonesian Ornamental Crops Research Institution using a complete randomized design consisting of six treatments (WP-1, WP-2, WP-3, AS, FS, and control) and five replications and verification of biofungicide effectiveness at the growers' nursery using paired t test consisting of dua treatments (WP-1 2 g/l) dan synthetic fungicide with active ingridient pyraclostrobin 250 g/l) and 10 replications. The results of evaluation of biofungicide treatment efficacy showed that all of formulations biofungicide formulation were able to suppress rust attack by 17% to 27%. Likewise with the results of tests on farmer land the WP-1 formulation was able to compensate for synthetic fungicide with 1.6% and 1.7% rust attack. The results of this experiment showed that all of biofungicide formulations and synthetic fungicides had the same effectiveness in reducing the intensity and development of rust disease and improved flower quality compared to farmers' technical culture based on synthetic fungicides.

Keywords : *Dendranthema grandiflora*; Biological agent; Attack intensity; Field evaluation

Krisan (*Dendranthema grandiflora* Tzelev syn. *Chrysanthemum morifolium* [Ramat.] Kitam) adalah salah satu tanaman hias yang populer di hampir seluruh belahan dunia. (He e't al. 2013). Komoditas krisan menempati lebih dari 35% segmen pasar bunga potong dunia setelah mawar. Beberapa negara di Eropa dan Amerika seperti Belanda, Italia, Kolombia, Spanyol, Jerman dan Amerika Serikat merupakan negara-negara produsen utama krisan dan menyuplai lebih dari 60% kebutuhan krisan di pasar florikultura dunia (Yamane 2015). Di pasar domestik Indonesia, krisan menempati

peringkat pertama sebagai tanaman hias yang paling banyak dipasarkan. Produksi nasional meningkat dari tahun ketahun selama 10 tahun terakhir dari 305,9 juta tangkai pada tahun 2011 menjadi 442,7 juta tangkai pada tahun 2015 dengan rata-rata peningkatan sekitar 43,2% pertahun sebagai akibat peningkatan luas panen (Matondang & Hendriani 2016).

Kecenderungan peningkatan produksi yang menggembirakan ini masih terkendala dengan kualitas fisik bunga terutama di tingkat petani tradisional. Serangan organisme pengganggu tanaman, terutama

penyakit karat putih adalah satu kendala budidaya yang hingga saat ini masih menyebabkan rendahnya kuantitas dan harga jual produk (Hanudin & Marwoto 2012). Penyakit ini disebabkan oleh cendawan patogen *Puccinia horiana* P. Henn (*Basidiomycetes*). Cendawan ini diketahui mempunyai inang terbatas pada 12 spesies termasuk *Chrysanthemum*, *Nipponanthemum*, dan *Leucanthemella* (Demers, Crouch & Castlebury 2015; O'Keefe & Davis 2015; Dheepa *et al.* 2016). Dalam skala produksi, kerugian yang diakibatkan cendawan ini dapat mencapai 80% (Yusuf *et al.* 2017) dan pada intensitas tinggi dapat menyebabkan kegagalan panen (Hanudin, Marwoto & Djatnika 2015). Intensitas serangan dan keparahan penyakit ditentukan oleh beberapa faktor dan tergantung pada tingkat ketahanan genotipe dan kondisi lingkungan. Serangan tinggi umumnya dijumpai pada suhu lingkungan yang hangat dan kelembaban tinggi terutama bila menyerang genotipe yang rentan (Bonde *et al.* 2015).

Untuk mengendalikan penyakit karat, pelaku usaha hingga kini masih mengandalkan pestisida sintetik seperti oxycarboxin, triforine, benodanile, triadimefon, diclobutrazol, bitertanol, dan propiconazol. Namun demikian, di beberapa negara termasuk Indonesia hingga kini belum terdapat satu pun kimia sintetik yang teregistrasi secara spesifik untuk mengendalikan penyakit karat putih pada krisan (Yusuf, Djatnika & Suhardi 2014). Pada kondisi ini, pelaku usaha cenderung menggunakan berbagai macam jenis fungisida dengan dosis yang tidak terkendali dengan harapan dapat mengurangi kerusakan akibat patogen karat. Praktik ini juga sering dilakukan walaupun pada tanaman belum terdapat gejala serangan. Kondisi ini tidak hanya menyebabkan peningkatan biaya produksi dan dalam jangka waktu lama, praktik ini juga dapat menginduksi ketahanan patogen terhadap fungisida sintetik dan menyebabkan aplikasi fungisida menjadi tidak efektif (Barro *et al.* 2017; Escribano-Viana *et al.* 2018).

Penggunaan agens hayati seperti mikoparasit diharapkan dapat mengurangi kerugian ekonomi akibat serangan penyakit karat dan dampak negatif penggunaan pestisida sintetik yang tidak bijaksana. *Cladosporium* merupakan salah satu genus cendawan dengan anggota spesies yang mempunyai pola hidup bervariasi pada kisaran habitat dan lingkungan yang luas termasuk sebagai mikoparasit (Yusuf, Nuryani & Hanudin 2016). Spesies-spesies *Cladosporium* dikenal dapat hidup sebagai kompetitor substrat nutrisi atau faktor lingkungan dengan cendawan lain, sebagai cendawan saprofit yang dapat menguraikan bahan organik dan bahkan sebagai patogen bagi cendawan lain (Torres *et al.* 2017; James *et al.* 2016; Ruszkiewicz-

Michalska 2010). Beberapa spesies *Cladosporium* seperti *C. uredinicola*, *C. sphaerospermum*, dan *Cladosporium* sp. telah dilaporkan mempunyai karakteristik mikoparasit pada *P. horiana* Henn. pada krisan dan dapat menekan serangan karat hingga 30–80% (Yusuf, Nuryani & Hanudin 2016; Torres *et al.* 2017).

Kegiatan koleksi dan isolasi terhadap mikrob antagonis untuk penyakit karat telah dilakukan beberapa tahun terakhir di beberapa sentra produksi krisan di Bandung dan Cianjur, Jawa Barat. Dari kegiatan ini diperoleh setidaknya 20 mikoparasit yang mempunyai karakteristik koloni berupa koloid berwarna coklat kehitaman pada media isolasi sehingga dimungkinkan termasuk pada kelompok *Cladosporium*. Isolat mikoparasit *Cladosporium* tersebut telah diuji keefektifannya terhadap penyakit karat dan mempunyai prevalensi penekanan yang hampir sama dengan fungisida sintetik, yaitu bervariasi antara 10–35% (Yusuf, Djatnika & Suhardi. 2014).

Isolat-isolat *Cladosporium* yang efektif menekan penyakit karat telah diformulasi dalam bentuk tepung yang dicairkan (*wetable powder*/WP) dan cair. Pengujian pendahuluan formulasi ini menunjukkan bahwa formulasi tepung yang dicairkan (WP) memberikan penekanan yang lebih besar dan menurunkan tingkat keparahan penyakit karat dibandingkan fungisida sintetik. Namun demikian, formulasi ini masih meninggalkan residu yang tinggi pada tanaman terutama bahan pembawanya. Perbaikan formulasi diperlukan yang ditujukan tidak hanya untuk mengurangi tingkat residu bahan pembawa, namun juga dengan menambahkan bahan lain yang secara sinergis dapat berfungsi untuk menginduksi ketahanan pada tanaman, seperti asam salisilat (Delaney *et al.* 1994; Clarke *et al.* 2000; Esmailzadeh, Soleimani & Rouhani 2008).

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi kemangkusan biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* sp. pada beberapa formulasi dalam mengendalikan penyakit karat putih pada krisan.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan sejak bulan Januari hingga Desember 2016 dan dilakukan dalam dua tahap, yaitu evaluasi kemangkusan formulasi biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* sp. dan verifikasi efektivitas formulasi pada lahan petani. Kedua penelitian menggunakan krisan cv. Puspita Nusantara.

Tabel 1. Komposisi bahan penyusun formulasi tepung (WP) biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* sp. (Composition of constituent for wettable powder formulation (WP) biofungicides with active ingredient of *Cladosporium* sp.)

Bahan penyusun (Constituent material)	Komposisi bahan penyusun pada formulasi tepung yang dicairkan (WP)		
	WP-1	WP-2	WP-3
Konidia isolat <i>Cladosporium</i> sp.	30 ml dari suspensi 10 ⁸ sel konidia/ml	30 ml dari suspensi 10 ⁸ sel konidia/ml	30 ml dari suspensi 10 ⁸ sel konidia/ml
Gliserin (Merck)	10 g	10 g	10 g
Asam salisilat (Brataco Chemicalia Co. Ltd.)	4 g	4 g	--
Eter asam karbosilat (Brataco Chemicalia Co. Ltd.)	5 g	5 g	5 g
Talk (teknis)	90 g	45 g	45 g

Pembuatan Biopestisida

Isolat *Cladosporium* sp. yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Biokontrol Balai Penelitian Tanaman Hias. *Cladosporium* sp. diinokulasikan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA; Difco) selama 1 minggu. Hasil biakan isolat pada media PDA kemudian dibiakkan dalam 1.000 ml media cair (dekstrosa + kentang) pada suhu ruang. Selama proses ini, botol biakan ditutup rapat dan diaduk dengan gelembung yang berasal dari *aerator* selama 7 hari untuk mendapatkan 10¹² sel konidia/ml media. Penghitungan konidia dilakukan di bawah mikroskop dengan menggunakan *haemocytometer*. Kemudian suspensi konidia *Cladosporium* sp. dicampurkan dengan bahan penyusun formulasi biofungisida seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Pengolahan Lahan, Penanaman, Pemeliharaan dan Panen

Lahan pertanaman krisan di bawah kondisi rumah plastik diolah hingga gembur dan dibersihkan, kemudian dibuat bedengan dengan lebar 1 m memanjang searah rumah plastik. Tinggi bedengan 20–25 cm dengan jarak antarbedengan kurang lebih 30 cm. Sebelum tanam dilakukan pemupukan dengan pupuk kandang dengan dosis 30 ton/ha dan NPK (16:16:16) dengan dosis 200 kg/ha. Pupuk disebar dan dicampurkan merata dengan tanah. Lahan bedengan kemudian disiram dengan air secara merata hingga jenuh. Bibit krisan berupa setek berakar ditanam pada bedengan dengan kerapatan 64 tanaman/m² dan populasi tanaman untuk setiap perlakuan pada setiap ulangan adalah 100 tanaman.

Setek yang telah ditanam kemudian dipelihara lebih lanjut dengan pemupukan susulan dengan menggunakan NPK (16:16:16) dengan dosis 200, 300, dan 100 kg/ha berturut-turut pada umur 21, 42, dan 63 HST. Pupuk pelengkap cair juga diberikan dengan dosis 2 ml/l dengan frekuensi 1 minggu sekali

dari awal tanam hingga 60 HST. Selain pemupukan, pemeliharaan tanaman juga dilakukan dengan memberikan kondisi hari panjang melalui pencahayaan tambahan pada malam hari.

Pencahayaan tambahan dilakukan selama 4 jam per hari selama 30 hari dimulai sejak awal tanam dengan menggunakan lampu LED 11 watt dari pukul 10.00 – 02.00 dini hari. Lampu diletakkan 1,5 m di atas bedengan dan jarak antartitik lampu sekitar 2 m. Pemeliharaan lain meliputi pemberian air dan penyiangan dengan melihat kondisi pertanaman. Pengendalian hama juga dilakukan dengan menggunakan insektisida sesuai dengan target hama yang mengganggu dengan dosis sesuai rekomendasi dalam kemasan.

Panen dilakukan setelah minimal 80% bunga telah mekar sempurna. Bunga dipanen pada pagi hari dengan cara memotong batang pada ketinggian sekitar 5 cm dari atas permukaan tanah dengan menggunakan gunting setek steril. Tangkai bunga yang telah dipanen kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pengamatan selanjutnya.

Evaluasi Kemangkusan Formulasi Biofungisida Berbahan Aktif *Cladosporium* sp.

Evaluasi kemangkusan formulasi biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* sp. dilaksanakan di Kebun Percobaan Segunung, Balai Penelitian Tanaman Hias yang berlokasi pada ketinggian 1.100 m dpl. Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan lima ulangan. Perlakuan formulasi biofungisida disajikan pada Tabel 2.

Seluruh perlakuan kemangkusan formulasi diaplikasikan mulai tanaman berumur 14 hari setelah tanam (HST). Aplikasi perlakuan formulasi dilakukan pada volume semprot 5 l/m² dengan frekuensi dan durasi sesuai deskripsi masing-masing perlakuan pada Tabel 2.

Tabel 2. Deskripsi perlakuan evaluasi kemangkusan formulasi biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* sp. pada tanaman krisan (*Treatment description of efficacy evaluation of biofungicide formulations with active ingredient of Cladosporium sp. on chrysanthemum*)

Kode perlakuan (<i>Treatments code</i>)	Deskripsi (<i>Description</i>)
WP-1	Penyemprotan formula biofungisida WP-1 dengan konsentrasi 2 g/l saat sore hari dengan frekuensi seminggu sekali hingga 1 minggu sebelum panen
WP-2	Penyemprotan formula biofungisida WP-2 dengan konsentrasi 1 g/l saat sore hari dengan frekuensi seminggu sekali hingga 1 minggu sebelum panen
WP-3 + AS	Penyemprotan asam salisilat teknis (Brataco Chemicalia Co. Ltd.) dengan dosis 400 ppm saat sore hari dan diikuti penyemprotan formula biofungisida WP3 dengan konsentrasi 1 g/l pada hari berikutnya. Penyemprotan asam salisilat dan formula WP-3 dilakukan seminggu sekali hingga 1 minggu sebelum panen
AS	Penyemprotan asam salisilat teknis dengan dosis 400 ppm saat sore hari dengan frekuensi seminggu sekali hingga menjelang panen
FS	Penyemprotan fungisida sintetik berbahan aktif pyraclostrobin 250 g/l dengan konsentrasi 10 ml/l saat sore hari dengan frekuensi seminggu sekali hingga menjelang panen
Kontrol	Penyemprotan air saat sore hari dengan frekuensi seminggu sekali hingga menjelang panen

Table 3. Skala dan kriteria kerusakan akibat serangan penyakit karat putih (*Puccinia horiana* Henn.) pada krisan (*Damage scale and criteria caused by white rust disease (Puccinia horiana Henn.) in chrysanthemum*)

Skala (<i>Scale</i>)	Kriteria (<i>Criteria</i>)
0	Tanaman tidak terinfeksi <i>P. horiana</i>
1	Kerusakan sangat ringan (penyakit karat terbatas pada daun-daun bawah dengan kerusakan tidak lebih dari 5% luas permukaan daun)
2	Kerusakan ringan (penyakit karat terbatas pada daun-daun bawah dengan kerusakan antara 5<-10% luas permukaan daun)
3	Kerusakan sedang (penyakit karat dijumpai pada daun-daun bawah dan tengah dengan kerusakan antara 10<- 20% luas permukaan daun)
4	Kerusakan berat (penyakit karat dijumpai pada daun-daun bawah, tengah, dan atas dengan kerusakan antara 20<- 40% luas permukaan daun)
5	Kerusakan sangat berat (penyakit karat dijumpai pada daun-daun bawah, tengah, dan atas dengan kerusakan antara 40<- 80% luas permukaan daun)

Pengujian Formulasi Biofungisida Pada Skala Petani

Perlakuan formulasi biofungisida terbaik pada percobaan I (evaluasi kemangkusan formulasi biofungisida; WP-1) kemudian diuji kembali pada lahan petani. Lahan petani berlokasi di Desa Sukanagalih, Cipanas, Cianjur, Jawa Barat (800 m dpl.). Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan petak berpasangan terdiri atas dua perlakuan dengan lima ulangan. Perlakuan 1 adalah aplikasi biofungisida WP-1 dengan konsentrasi 2 g/l saat sore hari dengan frekuensi seminggu sekali hingga 1 minggu sebelum panen. Perlakuan 2 menggunakan tata cara pengendalian penyakit karat yang umum dilakukan petani, yaitu dengan menggunakan fungisida sintetik aktif pyraclostrobin 250 g/l yang diaplikasikan dengan konsentrasi 10 ml/l saat pagi hari dengan frekuensi

seminggu sekali dari mulai tanam hingga menjelang panen.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati meliputi intensitas penyakit karat, jumlah pustul, dinamika perkembangan penyakit, intensitas parasitisme, dan kualitas bunga. Tata cara pengamatan pada peubah yang diamati adalah sebagai berikut:

1. Intensitas penyakit karat, diamati pada 10% tanaman sampel yang telah ditentukan secara sistematis. Pengamatan dilakukan pada saat tanaman berumur 14, 28, 42, 56, 70, dan 84 HST serta menjelang panen. Intensitas penyakit diamati pada setiap sampel tanaman berdasarkan skala menurut Yusuf & Suhardi (2013) seperti yang disajikan pada Tabel 3.

Intensitas penyakit karat kemudian dihitung dengan menggunakan rumus :

$$I = \frac{\sum (v \times n)}{N \times Z}$$

Keterangan :

I = Intensitas karat daun (%); v = skala kerusakan tiap kategori serangan; n = jumlah tanaman tiap kategori serangan; Z = skala tertinggi dari kategori serangan

N = Jumlah tanaman sampel yang diamati

2. Jumlah pustul pada daun tanaman diamati empat kali, yaitu sebelum aplikasi perlakuan biofungisida, 30, 60, dan 90 HST. Pengamatan pustul dilakukan pada lima daun bagian bawah dari tanaman sampel.
3. Dinamika perkembangan penyakit karat diamati seminggu sekali.
4. Intensitas parasitisme dilakukan dengan melakukan pengamatan pada 10% dari populasi tanaman/petak. Dari tanaman sampel diambil lima daun dari bawah, kemudian dihitung jumlah pustul terparasit. Pada pengamatan selanjutnya daun diambil dari tanaman sampel yang lain, yang juga berjumlah 10% dari populasi tanaman/petak. Pengamatan dilakukan pada 21, 35, 49, 63, dan 77 HST. Pustul yang merupakan indikasi adanya parasit ditandai oleh adanya pertumbuhan jamur kelabu/putih di atasnya. Intensitas parasitisme kemudian dihitung berdasarkan persentase jumlah pustul yang terparasit dengan rumus Yusuf & Suhardi (2013) :

$$P = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

P = Intensitas parasitisme (%)

a = Jumlah pustul terparasit

b = Jumlah pustul yang diperiksa

5. Kualitas hasil panen bunga diamati dari diameter bunga mekar, ketebalan bunga, *vase life* dan panjang tangkai bunga dengan penampisan sebagai berikut:

Kualitas A = panjang tangkai > 80 cm; kualitas B = panjang tangkai 60 – 80 cm; kualitas C = panjang tangkai 60 > - 40 cm; kualitas D = panjang tangkai < 40 cm

Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam dan dilanjutkan

dengan uji beda nyata terkecil (LSD) dengan selang kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

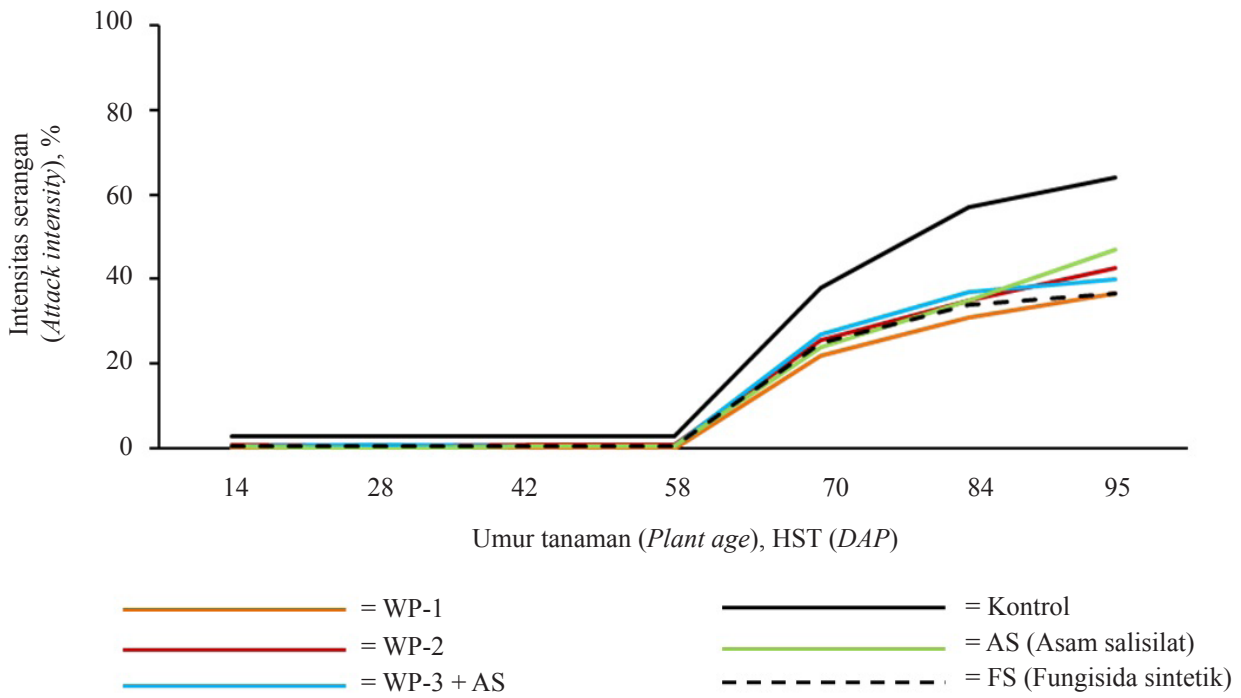
Evaluasi Kemangkusan Formulasi Biofungisida Berbahan Aktif *Cladosporium* sp. Terhadap Intensitas Serangan Penyakit Karat

Serangan penyakit karat pada awal pertanaman pada semua perlakuan biofungisida dan fungisida sintetik sangat rendah. Hingga 56 HST, intensitas serangan masih di bawah 5% pada semua perlakuan yang dicoba dan pada periode ini intensitas serangan karat tertinggi terdeteksi pada tanaman tanpa perlakuan fungisida sintetik dan formulasi biofungisida (kontrol) (Gambar 1). Rendahnya intensitas penyakit karat pada awal pertanaman diduga disebabkan oleh rendahnya kelembaban udara pada awal pertanaman. Rendahnya kelembaban udara berkorelasi dengan rendahnya curah hujan yang mengakibatkan rendahnya infestasi dan perkembangan penyakit karat pada pertanaman krisan (Bonde et al. 2014).

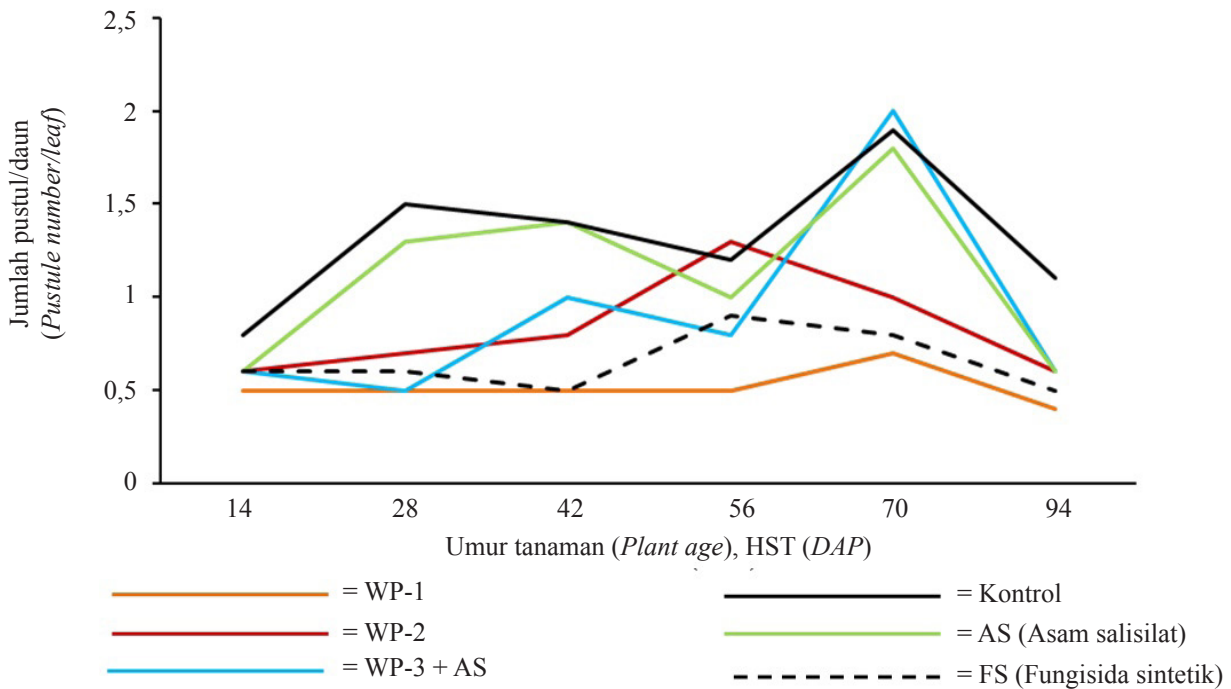
Serangan penyakit karat terlihat meningkat setelah 56 HST pada semua perlakuan fungisida sintetik dan formulasi biofungisida. Peningkatan tertinggi terlihat pada perlakuan kontrol hingga 95 HST, sedangkan peningkatan intensitas penyakit karat bervariasi pada perlakuan fungisida sintetik dan formulasi biofungisida. Aplikasi biofungisida pada formulasi WP-1 mempunyai intensitas penyakit karat terendah dari semua perlakuan fungisida sintetik dan formulasi biofungisida yang dicoba, diikuti perlakuan formulasi biofungisida WP-3 +AS.

Rerata Jumlah Pustul dan Dinamika Perkembangan Penyakit

Sejalan dengan intensitas serangan penyakit karat, dinamika perkembangan penyakit yang lebih besar pada perlakuan formulasi WP-1 mengindikasikan bahwa bahan pembawa formulasi WP-1 dapat memberikan dukungan pada bahan aktif konidia *Cladosporium* sp. untuk dapat beradaptasi, berkembang, dan memberikan penekanan terhadap penyakit karat. Bahan pembawa umumnya merupakan bahan yang tidak mempunyai kapasitas pengendali terhadap patogen target, namun berfungsi sebagai bahan pendukung perkecambahan dan viabilitas konidia bahan aktif (Larkin & Fravel 1998). Dukungan tersebut berupa kemampuan bahan pembawa dalam memberikan kondisi kelembaban yang optimal untuk perkecambahan konidia, daya adhesi formulasi dengan organ tanaman target, dan



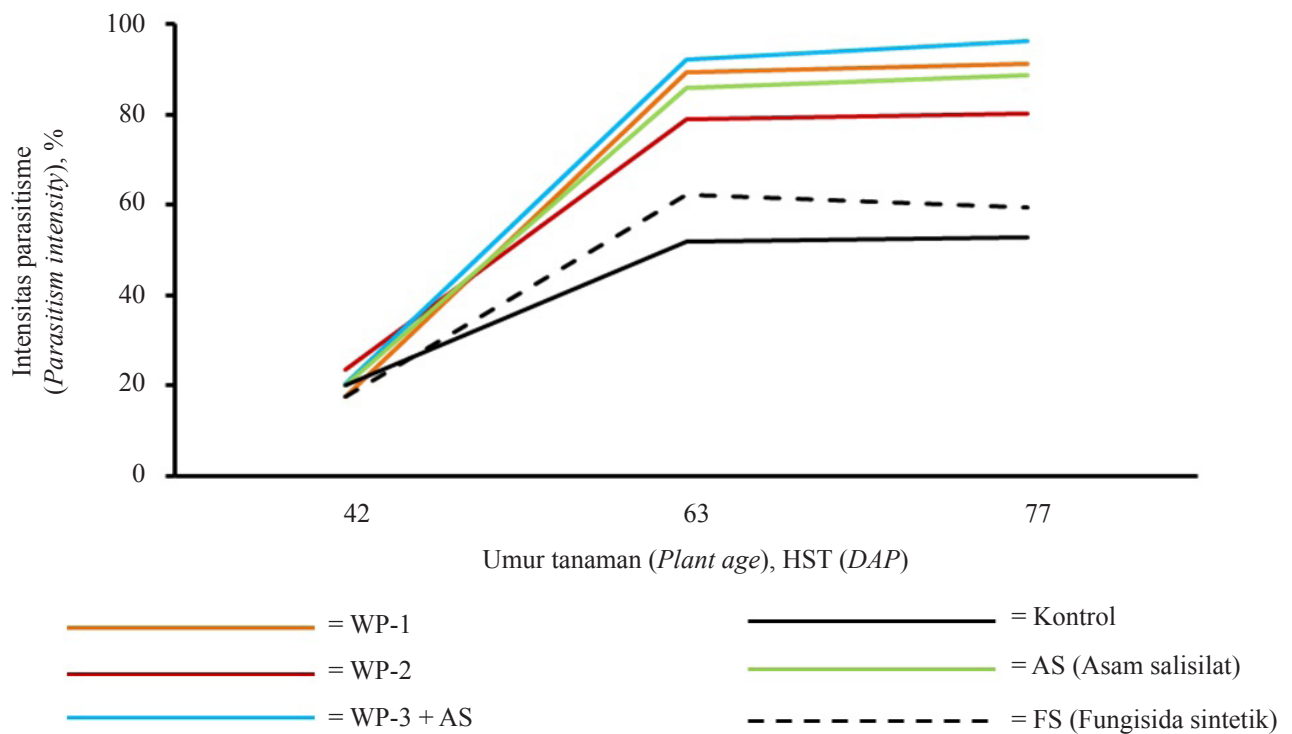
Gambar 1. Intensitas serangan karat pada pertanaman krisan pada berbagai perlakuan biofungida berbahan aktif *Cladosporium* sp. dan fungisida sintetik (*Intensity of white rust attacks on chrysanthemum under various biofungicides with active ingredient of Cladosporium sp. and synthetic fungicides*)



Gambar 2. Dinamika perkembangan penyakit karat krisan pada perlakuan fungisida sintetik dan berbagai formulasi biofungisida (*Dynamic rust development on chrysanthemum under various biofungicides with active ingredient of Cladosporium sp. and synthetic fungicides*)

perlindungan fisik konidia bahan aktif terhadap kondisi yang dapat menurunkan viabilitas dan keefektifan bahan aktif (Schubert, Fink & Schwarze 2008). Penyakit yang direpresentasikan dalam jumlah

pustul pada setiap 2 minggu juga bervariasi antar perlakuan fungisida sintetik dan formulasi biofungisida (Gambar 2). Secara umum jumlah pustul meningkat pada 14 hingga 42 HST dan menurun pada 56 HST.



Gambar 3. Intensitas parasitisme perlakuan fungisida sintetik dan formulasi biofungisida terhadap patogen penyakit karat (*Parasitism intensity of synthetic fungicide and biofungicide formulation treatments against rust disease on chrysanthemum*)

Jumlah pustul meningkat kembali pada 70 HST dan kembali menurun pada 94 HST. Tanaman krisan tanpa perlakuan fungisida sintetik dan formulasi biofungisida mempunyai prevalensi jumlah pustul yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain hingga 94 HST.

Dinamika perkembangan penyakit karat pada tanaman yang diberi perlakuan formulasi biofungisida WP-1 mempunyai kecenderungan lebih tertekan dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Gambar 2). Jumlah pustul pada tanaman yang diberi perlakuan ini menurun sejak 14 hingga 56 HST, meningkat pada 70 HST dan menurun hingga 94 HST. Secara umum, jumlah pustul pada perlakuan ini juga lebih rendah dari perlakuan lainnya hingga akhir pengamatan. Trend serupa juga diperlihatkan pada tanaman dengan perlakuan fungisida sintetik walaupun dengan nilai yang lebih tinggi. Penekanan pada perkembangan jumlah pustul pada perlakuan ini mengindikasikan bahwa formulasi biofungisida WP-1 dapat memberikan lingkungan yang tidak kondusif terhadap patogen *Puccinia horiana* untuk berkembang dan menginfeksi lebih lanjut pada jaringan yang lain. Hal ini diduga *Cladosporium* pada formulasi WP-1 dapat beradaptasi pada lingkungan organ tanaman dan berkembang dan hidup sebagai parasit dan menekan perkembangan cendawan patogen target (Heydari & Pessarakli 2010).

Intensitas Parasitisme

Kemampuan mikrob antagonis *Cladosporium* sp. dalam berbagai formulasi terhadap penyakit karat pada tanaman krisan juga terlihat dari intensitas parasitisme (Gambar 3). Secara umum, intensitas parasitisme meningkat seiring dengan bertambahnya umur tanaman dan menurunnya perkembangan penyakit (Gambar 3). Intensitas parasitisme tertinggi terlihat pada formulasi WP-3 + AS pada 63 dan 77 HST, diikuti oleh WP-1, asam salisilat (AS), dan WP-2, sedangkan intensitas parasitisme fungisida sintetik terlihat jauh lebih rendah dibandingkan keempat formulasi yang telah disebutkan.

Beberapa sumber menyebutkan bahwa karakteristik parasitisme *Cladosporium* sp. terhadap cendawan patogen melalui beberapa mekanisme. Mekanisme parasitisme fisik-mekanik melalui hifa *Cladosporium* sp. yang tumbuh dan terinduksi arah pertumbuhannya ke arah spora cendawan karat setelah beradaptasi. Hifa *Cladosporium* kemudian menempel pada basidiospora cendawan dengan atau tanpa pembentukan apresoria (Junaid et al. 2013). Pada titik ini, hifa dapat bercabang membentuk rangkaian melingkupi spora patogen dan mengakibatkan kontraksi dan disintegrasi dinding bagian luar spora. Hifa kemudian melakukan penetrasi pada basidiopsora dan mengakibatkan koagulasi pada sitoplasma spora dan mematikan sel spora patogen

Tabel 4. Kualitas bunga krisan pada perlakuan fungisida sintetik dan berbagai formulasi biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* sp. dan fungisida sintetik (*The quality of chrysanthemum flowers produced from chrysanthemum plants treated with various biofungicide formulations with active ingredient of Cladosporium sp. and synthetic fungicides*)

Perlakuan (Treatments)	Kualitas bunga*) Flowers quality				
	Jumlah bunga (Number of flowers)	Diameter bunga (Diameter of flower) cm	Tebal kuntum (Floret thick) cm	Panjang tangkai (Stalk lenght) cm	Vase life Hari (Days)
WP-1	22,6 a	5,8 a	0,9 a	127,2 a	9,1 ab
WP-2	21,1a	5,5 a	0,9 a	119,7 b	9,2 ab
WP-3 + AS	19,2 a	5,0 a	0,7 a	131,7 a	9,4 ab
AS	19,5 a	5,3 a	0,8 a	131,0 ab	9,7 a
FS	17,4 a	4,7 a	0,7 a	130,2 ab	9,0 b
Kontrol	18,7 a	5,5 a	0,8 a	129,0 ab	9,6 ab
KK (%)	18,1	14,4	20,7	5,4	4,9

*) angka-angka diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berbeda menurut uji Beda Nyata Terkecil (BNT, $\alpha \leq 5\%$) (Mean in the same column followed by the different letters differ significantly according to BNT test ($\alpha \leq 5\%$))

(Avis & Bélanger 2002). Selain itu, karakteristik mikoparasit juga dapat melalui produksi senyawa yang bersifat racun bagi spora cendawan patogen (Paul 1999a; Paul 1999b). Senyawa berbentuk asam lemak dengan gugus aldehida mempunyai sifat antibiosis dan diketemukan pada mikrob antagonis *Cladosporium* sp. serta diduga berhubungan dengan degradasi sel spora cendawan patogen tanpa penetrasi hifa *Cladosporium* sp. (Avis & Bélanger 2002).

Kualitas Bunga

Secara umum tanaman krisan yang diberi perlakuan fungisida sintetik dan formulasi biofungisida menghasilkan bunga dengan kualitas sesuai dengan standar bunga potong. Aplikasi biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* sp. pada berbagai formulasi, fungisida sintetik, asam salisilat tidak memberikan perbedaan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan kualitas bunga yang dihasilkan (Tabel 4). Kondisi ini diduga mikrob antagonis *Cladosporium* sp. hanya berperan pada pengendalian penyakit karat dan tidak mempunyai mekanisme langsung sebagai pemicu pertumbuhan tanaman. Hal ini juga disampaikan oleh Torres *et al.* (2017) yang melakukan studi terhadap *Cladosporium cladosporioides* dan *C. pseudocladosporioides* yang mempunyai karakteristik antagonis terhadap penyakit karat krisan oleh *Puccinia horiana*.

Rendahnya variasi jumlah daun, diameter bunga, tebal kuntum panjang tangkai dan vase life bunga krisan pada berbagai perlakuan formulasi biofungisida dan fungisida sintetik juga diduga berhubungan dengan intensitas serangan penyakit karat. Intensitas penyakit karat selama pertumbuhan tanaman dapat

dikategorikan rendah, walaupun pada tanaman yang tidak diberi perlakuan fungisida sintetik dan biofungisida (kontrol). Kondisi ini mengakibatkan penyakit karat hanya memberikan dampak negatif yang minimal terhadap pertumbuhan sehingga tidak memberikan penurunan kualitas pertumbuhan hingga periode reproduktif. Sehubungan dengan tidak adanya substansi pemicu pertumbuhan pada ketiga formulasi biofungisida maka perbaikan kualitas pertumbuhan tanaman sebagai hasil penekanan perkembangan penyakit karat dapat terlihat pada parameter kualitas bunga yang diamati.

Pengujian Keefektifan Formulasi Biofungisida pada Skala Petani

Hasil evaluasi kemangkusan formulasi biofungisida terhadap penyakit karat mengindikasikan bahwa formulasi biofungisida WP-1 mempunyai daya penekanan terhadap serangan penyakit karat lebih baik dari formulasi lainnya. Hal ini ditunjukkan dengan tanaman yang diberi perlakuan formulasi WP-1 mempunyai intensitas serangan, jumlah pustul, dan dinamika perkembangan penyakit yang lebih rendah selama periode pertumbuhan tanaman serta intensitas parasitisme yang tinggi dari perlakuan lainnya. Tanaman dengan perlakuan WP-1 juga menghasilkan bunga sesuai standar kualitas bunga potong dan tidak berbeda secara nyata dengan tanaman yang diberi perlakuan fungisida sintetik. Formulasi biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* WP-1 kemudian diverifikasi lebih lanjut pada lahan petani dan dibandingkan dengan tata cara petani dalam mengendalikan penyakit karat yang umumnya berbasis fungisida sintetik.

Tabel 5. Intensitas penyakit karat pada tanaman krisan yang diberi perlakuan biofungisida WP-1 dan kultur teknis petani (*Intensity of chrysanthemum rust disease with WP-1 biofungicide application and common farmer practices using synthetic fungicide*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Intensitas penyakit karat (%) pada masa pertumbuhan (<i>Rust disease intensity (%) during growth</i>), HST (<i>DAP</i>)				
	14	28	42	56	70
Biofungisida formulasi WP-1 (2 g/l)	1,3	1,8	1,8	1,7	1,7
Kultur teknis petani (Pyraclostrobin 250 g/l)	0,5	0,9	1,1	1,6	1,6
T test ($t_{\text{tabel}} 5\% = 2.6$ *)	s	s	s	ns	ns

*) s= berbeda secara signifikan dan ns = tidak berbeda menurut uji T student ($\alpha = 5\%$) (*s = significantly different and ns = is not different according to the student T test ($\alpha = 5\%$)*)

Tabel 6. Rata-rata jumlah pustul selama masa pertumbuhan tanaman krisan yang diberi perlakuan biofungisida WP-1 dan kultur teknis petani (*Average number of pustules during chrysanthemum growth with WP-1 biofungicide application and common farmer practices using synthetic fungicide*)

Perlakuan (<i>Treatment</i>)	Rata-rata jumlah pustul/daun selama masa pertumbuhan (<i>Average number of pustules / leaves during growth</i>), HST (<i>DAP</i>)			
	14	44	74	104
Biofungisida formulasi WP-1 (2 g/l)	9.75	5.7	1.9	3.3
Kultur teknis petani (Pyraclostrobin 250 g/l)	7.5	5.4	1.8	2.6
T test ($t_{\text{tabel}} 5\% = 2.6$ *)	s	ns	ns	ns

Keterangan : *) s= berbeda secara signifikan dan ns = tidak berbeda menurut uji T student ($\alpha = 5\%$) (*s = is significantly different and ns = is not different according to the student T test ($\alpha = 5\%$)*)

Tabel 7. Parasitasi penyakit karat oleh perlakuan biofungisida formulasi WP-1 dan metode kultur teknis petani (*Rust parasitism by biofungicide WP-1 treatment and common farmer practices using synthetic fungicide*)

Perlakuan (<i>Treatment</i>)	Parasitasi penyakit karat (%) selama masa pertumbuhan (HST) [<i>Rust disease parasitism (%) during growth</i>]				
	14	28	42	56	70
Biofungisida formulasi WP-1 (2 g/l)	85	55	81.7	89.2	54.3
Kultur teknis petani (Pyraclostrobin 250 g/l)	69	61.2	34.2	39.5	28.2
T test ($t_{\text{tabel}} 5\% = 2.6$ *)	ns	ns	s	s	s

Keterangan : *) s= berbeda secara signifikan dan ns = tidak berbeda menurut uji T student ($\alpha = 5\%$) (*s = is significantly different and ns = is not different according to the student T test ($\alpha = 5\%$)*)

Intensitas Penyakit Karat dan Jumlah Pustul

Intensitas penyakit karat selama masa pertumbuhan tanaman bervariasi antar perlakuan terutama pada 14 – 42 HST (Tabel 5). Intensitas penyakit karat pada metode kultur teknis petani lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan biofungisida WP-1 selama periode ini. Hal ini disebabkan walaupun sensitivitas strain cendawan patogen bervariasi, mekanisme kerja destruksi fungisida sintetik kontak umumnya lebih menyeluruh pada setiap stadia pertumbuhan dan perkembangan patogen (Palmer *et al.* 2015). Kondisi ini menyebabkan penekanan terhadap penyakit akan terlihat lebih cepat dibandingkan dengan pengendalian berbasis mikrob antagonis. Penekanan perkembangan penyakit lebih efektif pada periode awal aplikasi fungisida sintetik

juga terlihat pada perkembangan jumlah pustul yang lebih rendah pada 14 HST (Tabel 6).

Pengendalian hayati dengan menggunakan mikrob antagonis umumnya memerlukan waktu tertentu agar bahan aktif mikrob antagonis dapat beradaptasi, berkembang dan memberikan penekanan terhadap patogen target (Yusuf, Nuryani & Hanudin 2016). Kondisi ini menyebabkan efektivitas penekanan akan terlihat rendah, terutama saat awal aplikasi. Namun demikian, bila mikrob antagonis dapat beradaptasi dan berkembang baik pada tanaman, umumnya efek penekanan juga akan terlihat persisten (Heydari & Pessarakli 2010), seperti halnya penurunan intensitas penyakit karat (Tabel 5) dan jumlah pustul (Tabel 6) setelah 42 HST hingga periode panen.

Tabel 8. Kualitas bunga krisan pada perlakuan biofungisida formulasi WP-1 dan metode kultur teknis petani (flower quality of chrysanthemum treated with biofungicide WP-1 biofungicide and common farmer practices using synthetic fungicide)

Perlakuan (Treatment)	Parameter kualitas bunga (Parameter of flower quality)				
	Jumlah bunga tanaman (Number of flower plant)	Ketebalan kuntum (Floret thickness), cm	Diameter kuntum (Floret diameter), cm	Panjang tangkai (Stalk length), cm	Vase life cm
Biofungisida formulasi WP-1 (2 g/l)	22,7	3,7	11,1	89,1	12
Kultur teknis petani (Pyraclostrobin 250 g/l)	16.5	3,4	9,7	84,3	11
T test ($t_{\text{tabel}} 5\% = 2.6$) ^{a)}	ns	ns	s	ns	Ns

Keterangan : ^{a)} s= berbeda secara signifikan dan ns = tidak berbeda menurut uji T student ($\alpha = 5\%$) (s = is significantly different and ns = is

Parasitasi Karat

Keberhasilan adaptasi dan perkembangan bahan aktif *Cladosporium* pada formulasi WP-1 untuk menekan penyakit karat lebih persisten terlihat pada persentase parasitasi penyakit karat selama masa pertumbuhan tanaman (Tabel 7). Saat awal aplikasi, tingkat parasitasi biofungisida tidak berbeda nyata dan bahkan cenderung lebih rendah dari fungisida sintetik hingga 28 HST. Tingkat parasitasi *Cladosporium* kemudian meningkat dan secara signifikan lebih tinggi dari fungisida sintetik pada 42 hingga 70 HST pada kisaran 26,1–49,7%. Fenomena yang sama juga dilaporkan oleh Hanudin, Budiarto & Marwoto (2017) saat mengevaluasi biofungisida berbahan aktif konsorsium *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* dan *Corynebacterium* sp. untuk mengendalikan penyakit karat pada krisan.

Kualitas Bunga

Kualitas bunga yang dihasilkan oleh tanaman dengan perlakuan biofungisida formulasi WP-1 tidak berbeda secara nyata dengan kualitas bunga yang dihasilkan dari kultur teknis petani, walaupun jumlah bunga, ketebalan dan diameter kuntum, panjang tangkai serta vase life bunga krisan dari perlakuan biofungisida WP-1 mempunyai nilai lebih tinggi (Tabel 8). Perbaikan kualitas bunga ini mengindikasikan peningkatan kualitas pertumbuhan sebagai akibat rendahnya serangan karat selama masa produksi tanaman. Rendahnya serangan karat ini diduga berhubungan dengan persistensi mikrob antagonis yang lebih lama dalam menekan perkembangan penyakit karat dibandingkan dengan kultur teknis petani yang berbasis fungisida sintetik, terutama saat memasuki fase reproduktif (Hanudin, Budiarto & Marwoto 2017).

KESIMPULAN DAN SARAN

Tanaman pada perlakuan formulasi biofungisida berbahan aktif *Cladosporium* sp. WP-1 menunjukkan intensitas penyakit karat lebih rendah dibandingkan perlakuan fungisida sintetik dan formulasi biofungisida lainnya. Formulasi biofungisida WP-1 juga mempunyai tingkat parasitasi 3,5–10% lebih tinggi terhadap penyakit karat dibandingkan perlakuan lainnya. Hasil verifikasi kemangkusan pada lahan petani juga menunjukkan formulasi WP-1 mempunyai keefektifan yang sama dalam menurunkan intensitas dan perkembangan penyakit dan kualitas bunga yang cenderung lebih baik dibandingkan dengan kultur teknis petani yang berbasis fungisida sintetik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, Balai Penelitian Tanaman Hias atas dukungan fasilitas selama penelitian berlangsung. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada sdr. Saepuloh, SP., Muhidin, Ridwan Daelani, Ade Sulaiman dan semua pihak yang telah membantu dalam pengamatan dan pengumpulan data selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Avis, TJ & Bélanger, RR 2002, 'Mechanisms and means of detection of biocontrol activity of *Pseudozyma* yeasts against plant-pathogenic fungi', *FEMS Yeast Research*, vol. 2, no. 1, pp. 5–8.

2. Barro, JP, Forte, CT, Trentin, D, Scariot, M & Milanesi, PM 2017, 'Effectiveness of different fungicide formulations and number of applications in controlling wheat leaf rust', *Summa Phytopathologica*, vol. 43, no. 4, pp. 276–280.
3. Bonde, MR, Murphy, CA, Bauchan, GR, Luster, DG, Palmer, CL, Nester, SE, Revell & JM DB 2015, 'Evidence for systemic infection by *Puccinia horiana*, causal agent of chrysanthemum white rust, in chrysanthemum.', *Phytopathology*, vol. 105, no. 1, pp. 91–98.
4. Bonde, MR, Palmer, CL, Luster, DG, Nester, SE, Revell, JM & Berner, DK 2014, 'Viability of *Puccinia horiana* teliospores under various environmental conditions', *Plant Health Progress*, vol. 15, no. 1, pp. 25–28.
5. Clarke, JD, Volko, SM, Ledford, H, Ausubel, FM & Dong, X 2000, 'Roles of salicylic acid, jasmonic acid, and ethylene in cpr-induced resistance in arabidopsis.', *The Plant cell*, vol. 12, no. 11, pp. 2175–2190.
6. Delaney, TP, Uknes, S, Vernooij, B, Friedrich, L, Weymann, K, Negrotto, D, Gaffney, T, Gut-Rella, M, Kessmann, H, Ward, E & Ryals, J 1994, 'A central role of salicylic acid in plant disease resistance', *Science*, vol. 266, pp. 1247–1250.
7. Demers, JE, Crouch, JA & Castlebury, LA 2015, 'A multiplex real-time PCR assay for the detection of *Puccinia horiana* and *P. chrysanthemi* on chrysanthemum', *Plant Disease*, vol. 99, no. 2, pp. 195–200.
8. Dheepa, R, Vinodkumar, S, Renukadevi, P & Nakkeeran, S 2016, 'Phenotypic and molecular characterization of chrysanthemum white rust pathogen *Puccinia horiana* (Henn) and the effect of liquid based formulation of Bacillus spp. for the management of chrysanthemum white rust under protected cultivation', *Biological Control*, vol. 103, no. September, pp. 172–186.
9. Escribano-Viana, R, López-Alfaro, I, López, R, Santamaría, P, Gutiérrez, AR & González-Arenzana, L 2018, 'Impact of chemical and biological fungicides applied to grapevine on grape biofilm, must, and wine microbial diversity', *Frontiers in Microbiology*, vol. 9, no. 59, pp. 1–12.
10. Esmailzadeh, M, Soleimani, MJ & Rouhani, H 2008, 'Exogenous application of salicylic acid for inducing systemic acquired resistance against tomato stem cancer disease', *Journal of Biological Sciences*, vol. 8, no. 6, pp. 1039–1044.
11. Hanudin, Budiarto, K & Marwoto, B 2017, 'Application of PGPR and antagonist fungi-based biofungicide for white rust disease control and its economic analysis in chrysanthemum production', *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*, vol. 39, no. 3, pp. 266–278.
12. Hanudin & Marwoto, B 2012, 'Penyakit karat putih pada krisan dan upaya pengendaliannya', *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, vol. 31, no. 2, pp. 51–57.
13. Hanudin, Marwoto, B & Djatnika, I 2015, 'Penyakit karat pada krisan dan pengendalian ramah lingkungan dalam era masyarakat ekonomi Asean 2015', *J. Pengembangan Inovasi Pertanian*, vol. 8, no. 1, pp. 11–20.
14. He, H, Ke, H, Keting, H, Qiaoyan, X & Silan, D 2013, 'Flower colour modification of chrysanthemum by suppression of F3'H and overexpression of the exogenous *Senecio cruentus* F3'5'H gene', *PLoS ONE*, vol. 8, no. 11, pp. 1–12.
15. Heydari, A & Pessarakli, M 2010, 'A review on biological control of fungal plant pathogen using microbial antagonists', *Journal of Biological Sciences*, vol. 10, no. 4, pp. 273–290.
16. James, TY, Marino, JA, Perfecto, I & Vandermeer, J 2016, 'Identification of putative coffee rust mycoparasites via single-molecule DNA sequencing of infected pustules', *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 82, no. 2, pp. 631–639.
17. Junaid, JM, Dar, NA, Bhat, TA, Bhat, AH & Bhat, MA 2013, 'Commercial biocontrol agents and their mechanism of action in the management of plant pathogens', *International Journal of Modern Plant & Animal Sciences*, vol. 1, no. 12, pp. 39–57.
18. Larkin, RP & Fravel, DR 1998, 'Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of fusarium wilt of tomato', *Plant Disease*, vol. 82, no. 9, pp. 1022–1028.
19. Matondang, DP & Hendriani, R 2016, 'Sistem pola produksi krisan potong (*Chrysanthemum morifolium*) di Jorotani, Desa Cihideung, Kecamatan Parompong, Kabupaten Bandung Barat', *Jurnal Agrimart*, vol. 3, no. 1, pp. 1–5.
20. O'Keefe, G & Davis, DD 2015, 'Morphology of *Puccinia horiana*, causal agent of chrysanthemum white rust, sampled from naturally infected plants', *Plant Disease*, vol. 99, no. 12, pp. 1738–1743.
21. Palmer, CL, Bonde, MR, Nester, SE, Revell, JM & Luster, DG 2015, 'Fungicide impact on in vitro germination of basidiospores of *Puccinia horiana*, the causal agent of chrysanthemum white rust', *Plant Health*, vol. 16, no. 2, pp. 73–76.
22. Paul, B 1999a, 'Pythium periplocum, an aggressive mycoparasite of Botrytis cinerea causing the gray mould disease of grape-vine', *FEMS Microbiology Letters*, vol. 181, no. 2, pp. 277–280.
23. Paul, B 1999b, 'Suppression of Botrytis cinerea causing the grey mould disease of grape-vine by an aggressive mycoparasite, *Pythium radiosum*', *FEMS Microbiology Letters*, vol. 176, no. 1, pp. 25–30.
24. Ruskiewicz-Michalska, M 2010, '*Cladosporium epichloës*, a rare European fungus, with notes on other fungicolous species', *Polish Botanical Journal*, vol. 55, no. 2, pp. 359–371.
25. Schubert, M, Fink, S & Schwarze, FWMR 2008, 'Field experiments to evaluate the application of Trichoderma strain (T-15603.1) for biological control of wood decay fungi in trees', *Arboricultural Journal*, vol. 31, no. 4, pp. 249–268.
26. Torres, DE, Rojas-Martínez, RI, Zavaleta-Mejía, E, Guevara-Fefer, P, Márquez-Guzmán, GJ & Pérez-Martínez, C 2017, '*Cladosporium cladosporioides* and *Cladosporium pseudocladosporioides* as potential new fungal antagonists of *Puccinia horiana* Henn., the causal agent of chrysanthemum white rust', *PLoS ONE*, vol. 12, no. 1, pp. 1–16.
27. Yamane, K 2015, 'Markets of ornamental plants and postharvest physiology in cut flowers', *Reviews in Agricultural Science*, vol. 3, pp. 36–39.
28. Yusuf, ES, Nuryani, W & Hanudin 2016, 'Isolasi dan identifikasi mikoparasit utama pada karat krisan', *J. Hort.*, vol. 26, no. 2, pp. 217–222.
29. Yusuf, ES, Djatnika, I & Suhardi 2014, 'Koleksi dan karakterisasi mikoparasit asal karat putih pada krisan', *J. Hort*, vol. 24, no. 1, pp. 56–64.

30. Yusuf, ES & Suhardi 2013, 'Pengaruh varietas, perompesan daun dan penyemprotan fungisida terhadap intensitas penyakit karat (*Puccinia horiana* Henn.) pada tanaman krisan (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev)', *AGRIC*, vol. 25, no. 1, pp. 19–25.
31. Yusuf, ESi, Budiarto, K, Djatnika, I & Suhardi 2017, 'Effects of varieties, cutting health and fungicide application on chrysanthemum white rust', *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*, vol. 39, no. 1, pp. 21–30.