

## Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) minyak atsiri *Acorus calamus* terhadap *Aspergillus flavus*

### Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of *Acorus calamus* essential oil against *Aspergillus flavus*

Komang Kartika Indi Swari<sup>1,\*</sup>, Ida Bagus Gede Darmayasa<sup>1</sup>, I Putu Agus Hendra Wibawa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana  
Jalan Raya Kampus Unud Jimbaran, Kuta Selatan, Badung, Bali, Indonesia

<sup>2</sup> Pusat Riset Botani Terapan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)  
Jalan Raya Jakarta-Bogor Km. 46, Cibinong, Bogor, Jawa Barat 16911

\*Email: [kartikaindiswari19@gmail.com](mailto:kartikaindiswari19@gmail.com)

Diterima  
23 April 2024

Disetujui  
20 Juni 2024

#### INTISARI

Naskah lontar Bali merupakan dokumentasi budaya Bali masa lampau. Komponen utama daun lontar adalah selulosa. Upaya pencegahan kerusakan naskah lontar dari jamur pendegradasi selulosa seperti *Aspergillus flavus* sangat diperlukan untuk mempertahankan kearifan lokal Bali. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dari minyak atsiri daun jangu (*Acorus calamus*) dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus* secara *in vitro*. Hasil yang diperoleh yaitu konsentrasi optimum minyak atsiri *A. calamus* sebesar 5% (v/v), dengan rata-rata diameter zona hambat 11,72 mm (kategori kuat). Nilai MIC dari minyak atsiri daun jangu dalam menghambat *A. flavus* yaitu 2% v/v dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 7,08 mm. Penelitian ini membuka wawasan baru dalam upaya konservasi naskah lontar Bali akibat dari kerusakan jamur pendegradasi selulosa, dengan memanfaatkan minyak atsiri tumbuhan lokal Bali yaitu daun jangu (*A. calamus*).

*Kata kunci:* *Aspergillus flavus*, *Acorus calamus*, selulosa, minyak atsiri, antifungi

#### ABSTRACT

Balinese lontar manuscripts are documentation of past Balinese culture. The main component of palm leaves is cellulose. Efforts to prevent damage to lontar manuscripts from cellulose-degrading fungi such as *Aspergillus flavus* are needed to maintain Balinese local wisdom. The purpose of this study was to evaluate the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value of jangu leaf essential oil (*Acorus calamus*) in inhibiting the growth of *A. flavus* in vitro. The results obtained were the optimum concentration of *A. calamus* essential oil at 5% (v/v), with an average inhibition zone diameter of 11.72 mm (strong category). Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of jangu leaf essential oil in inhibiting *A. flavus* is 2% v/v with an average inhibition zone diameter of 7.08 mm. This research opens new insights in the conservation of Balinese ancient manuscripts from damage caused by cellulose-degrading fungi, by utilizing the essential oil of local Balinese plants, namely jangu leaf (*A. calamus*).

*Keywords:* *Aspergillus flavus*, *Acorus calamus*, cellulose, essential oil, antifungal

#### PENDAHULUAN

Bali memiliki warisan kesusastraan yang berisi sumber data kearifan lokal dan terekam pada manuskrip berupa naskah lontar. Pada masa lampau masyarakat menggunakan sarana tulis dari daun pohon lontar atau pohon siwalan

(*Borassus flabellifer* L.), family Arecaceae. Perkembangan teknologi saat ini menyebabkan keberadaan sastra lontar tidak dihiraukan dan tidak dirawat dengan baik bahkan hanya disimpan saja. Konservasi naskah lontar sangat diperlukan untuk mempertahankan kearifan lokal Bali karena didalamnya terdapat dokumentasi budaya masa lampau yang membahas tentang usada, weda, asta kosala kosali, dan lain sebagainya. Upaya perawatan naskah lontar agar tidak rusak oleh jamur pendegradasi selulosa juga penting dilakukan sebelum adanya digitalisasi atau penulisan ulang naskah secara digital pada komputer dalam rangka menyelamatkan naskah penting yang memuat tuntunan upacara keagamaan di Bali (Paranatha et al., 2022).

Penyimpanan lontar dalam jangka waktu lama sangat rentan rusak oleh kontaminasi jamur. Jamur yang hidup dalam faktor lingkungan yang mendukung, khususnya pada kondisi lembab memiliki potensi dalam merusak suatu material dengan proses degradasi. Komponen dari daun lontar sebagian besarnya adalah selulosa yang merupakan karbohidrat penyusun dinding sel tumbuhan. Substrat yang mengandung selulosa sangat optimal untuk pertumbuhan jamur. Selulosa sebagai bentuk polimer dari D-glukosa dan berikatan pada 1,4 glikosidik. Selulosa memiliki asosiasi yang erat dengan hemiselulosa dan lignin, sehingga dalam proses degradasinya melibatkan kemampuan enzim selulase yang dihasilkan oleh beberapa jenis jamur. Enzim selulase tersebut berperan dalam memutuskan ikatan glikosidik beta-1,4 pada selulosa (Yuliatun & Santoso, 2022). Menurut penelitian Julyeda et al., (2021), jamur pendegradasi selulosa yang paling sering ditemukan pada lontar dengan pertumbuhan yang cepat yaitu dari genus *Aspergillus*. Berdasarkan hasil penelitian Setiani (2018), jamur *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) menjadi salah satu penyebab kerusakan naskah lontar Bali. Hal tersebut disebabkan oleh adanya aktivitas dari enzim selulase dalam *A. flavus* yang memanfaatkan komponen selulosa dalam lontar Bali sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya dan berdampak pada kerusakan naskah lontar tersebut.

Upaya konservasi lontar Bali sangat diperlukan untuk menjaga kelestarian manuskrip Bali. Konservasi dalam hal tersebut dikaitkan dengan perawatan lontar, pemeliharaan dan perlindungan untuk mencegah kerusakan naskah lontar Bali. Permasalahan akan semakin memburuk jika perawatan lontar menggunakan fungisida sintetik, karena akan merusak struktur alami daun lontar. Salah satu tumbuhan lokal Bali yang dapat dimanfaatkan minyak atsirinya yaitu Jangu (*Acorus calamus* L.) memiliki potensi yang baik sebagai fungisida nabati, namun belum banyak penelitian yang dilakukan untuk mempelajari kandungan senyawa antifungi dalam tumbuhan tersebut, potensi, dan pengaplikasiannya dalam mencegah pertumbuhan jamur perusak lontar Bali. Menurut penelitian Mohammed & Hameed (2018), ekstrak metanol rimpang *A. calamus* memiliki fraksi senyawa  $\beta$ -asaron yang berpotensi sebagai antifungi terhadap jenis *Cryptococcus neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, dan *Aspergillus niger*. Tidak hanya itu, minyak atsiri rimpang *A. calamus* juga telah dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan daya hambat sebesar 11 mm (kategori kuat) (Rita et al., 2017). Hasil zona hambat yang terbentuk oleh beberapa senyawa antifungi dapat bervariasi. Kemampuan penghambatan berdasarkan diameter zona hambat dapat dikategorikan sebagai berikut: lemah ( $\leq 5$  mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm), dan sangat kuat ( $\geq 21$  mm) (Simanjuntak & Butar, 2019). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya telah membuktikan bahwa rimpang dari *A. calamus* memiliki potensi antifungi yang baik, namun pemanfaatan bagian daun jangu sebagai agen fungisida nabati masih belum

banyak dipelajari. Hal tersebut dapat disebabkan karena faktor lingkungan tempat tumbuhnya kurang mencekam sehingga jumlah metabolit sekunder daun jangu kurang melimpah pada daerah dengan kondisi lingkungan yang optimal bagi pertumbuhan jangu.

Berdasarkan hal tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan penentuan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) minyak atsiri daun jangu terhadap *A. flavus* secara *in vitro*. Penelitian tentang fungisida nabati yang mampu menghambat pertumbuhan jamur pendegradasi selulosa juga tidak hanya dimanfaatkan dalam ruang lingkup spesifik pada naskah lontar, namun juga dapat digunakan sebagai dasar fungisida nabati pada ruang lingkup yang lebih luas dimana melibatkan komponen selulosa di dalam bahan yang akan dirawat.

## MATERI DAN METODE

### Tempat dan waktu penelitian

Pengambilan sampel jamur lontar dilaksanakan di Griya Punia Temuku Manuaba Serongga, kecamatan Gianyar, Kabupaten Gianyar, Bali. Identifikasi jamur perusak lontar dilaksanakan di Laboratorium Bersama MIPA, kampus Bukit Jimbaran, Universitas Udayana, sedangkan pengambilan dan penyulingan sampel daun *A. calamus* hingga penelitian secara *in vitro* dilaksanakan di Laboratorium Botani Terapan BRIN-Kebun Raya Eka karya Bali dan di Laboratorium Biokimia, Prodi Biologi, FMIPA, Universitas Udayana. Penelitian dilaksanakan dari bulan Desember 2023-Februari 2024.

### Bahan dan alat

Bahan yang digunakan adalah jamur pada lontar Bali dan daun jangu (*A. calamus*). Pelarut minyak atsiri yaitu Tween 80 (2% v/v) dalam aquades. Swab jamur pada lontar dengan *Cotton swab* steril. Media kultur dan identifikasi jamur dengan media *Potato Dextrose Agar* (PDA), komposisi PDA yaitu kentang segar, aquades, dextrose, agar-agar (Satelit), dan Chloramphenicol (Kalbe) sebagai antibakteri. Pewarna *Lactophenol Blue* (Merck) digunakan untuk identifikasi jamur. Kontrol positif dengan Nystatin drop (Novell Pharmaceutical Laboratories). Peralatan yang digunakan meliputi satu set alat destilasi (ketel penyulingan, kondensor, selang, corong pemisah, batang penyangga, ErlenMeyer (Pyrex) untuk memperoleh minyak atsiri daun jangu. Isolasi dan pengujian jamur digunakan cawan Petri (Iwaki), cork borer (Usbeck Germany), *Laminar Air Flow*, gelas beker (Schott), batang pengaduk, labu ukur (Iwaki CTE 33), micropipette (Gilson), blue dan yellow tip (One Med), kawat ose dan jarum (Usbeck), vortex (Thermo Scientific), tabung reaksi (Pyrex), neraca analitik (AND EK-300i), jangka sorong (Sigmat), aluminum foil (Klin Pak), inkubator (Binder). Alat sterilisasi yaitu autoclave (all american). Identifikasi jamur dengan mikroskop cahaya, glass object (Sail Brand), cover glass (Sail Brand).

### Metode

#### *Destilasi minyak atsiri daun Acorus calamus*

. Daun jangu segar dipanen dari tumbuhan koleksi di Taman Akuatik Kebun Raya Eka Karya Bali, bagian pangkal hingga ujung daun yang sudah dewasa kemudian ditimbang sebanyak 100 gram dan dilakukan proses destilasi dengan metode destilasi uap dan air (*Hydro-steam distillation*). Langkah pertama yang harus dilakukan yaitu memenuhi ketel penyulingan dengan air hingga batas piringan baja berlubang dan bahan yang akan disuling berada sejajar dengan saringan yang menyebabkan bahan tanaman tidak dipanaskan langsung dalam air mendidih, namun bahan akan berhubungan dengan uap air (Politeo et al.,

2023). Sampel daun diletakkan di atas piringan penyangga berlubang, kemudian ketel penyulingan ditutup. Rangkaian alat dipastikan sudah terhubung satu sama lain dengan erat, kemudian sistem pemanasan dimulai. Proses penguapan yang terjadi di dalam bejana akan menyebabkan partikel minyak atsiri dalam bahan dan uap air atau yang disebut hidrosol terbawa melalui kondensor. Kondensor merupakan alat pendingin dengan bentuk tabung dan terdapat saluran spiral didalamnya, dalam proses penyulingan ini kondensor berfungsi untuk mengubah uap menjadi air, yang kemudian campuran antara air dan minyak atsiri dialirkan ke pemampungan atau Erlenmeyer. Air dan minyak atsiri yang berhasil ditampung dipisahkan menggunakan corong pemisah atau bisa juga dilakukan secara konvensional (Nasardin et al., 2018).

#### *Isolasi dan identifikasi jamur Aspergillus flavus*

Sampel jamur *A. flavus* diperoleh dengan teknik swab pada permukaan lontar Bali yang rusak, kemudian ditumbuhkan dalam media PDA (*Potato Dextrose Agar*) untuk dilakukan pengujian tahap lanjut secara *in vitro* (Jullyeda et al., 2021). Proses pemurnian biakan *A. flavus* dilakukan dengan kondisi steril di Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. Koloni jamur hasil swab dilakukan reisolasi pada media PDA padat dalam cawan Petri, kemudian diinkubasi pada suhu ruang 24°C selama 3-7 hari untuk memperoleh biakan murni *A. flavus* (Rampa et al., 2023). Biakan murni *A. flavus* diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis menggunakan buku *Fungi and Food Spoilage* (Edisi Kedua) (Pitt dan Hocking, 1997) dan *Introduction to Food-Borne Fungi* (Samson et al., 1981). Pengamatan secara makroskopis dilakukan pada beberapa aspek meliputi 1) warna koloni bagian atas dan bawah serta permukaan koloni (tekstur permukaan yang bergranular, halus seperti tepung, menggunung, licin, ada tidaknya tetes-tetes eksudat), 2) adanya garis-garis radial pada bagian pusat koloni menuju tepi koloni, dan 3) adanya lingkaran-lingkaran konsentris (Hanif & Zamriyetti, 2023). Pengamatan morfologi jamur secara mikroskopis dilakukan dengan bantuan mikroskop cahaya. Pengamatan diawali dengan membuat preparat kultur murni jamur. Prosedur pembuatan preparat meliputi persiapan *slide culture* yang bersih selanjutnya ditetaskan pewarna *Lactophenol blue* pada dua sisi slide. Hifa dan spora pada media diambil dengan jarum dan digoreskan di atas tetesan pewarna secara aseptis, kemudian ditutup dengan cover glass. Slide diamati di bawah mikroskop hingga pembesaran 400 kali. Struktur anatomi jamur yang diamati secara mikroskopis meliputi bentuk konidia, hifa (berseptata atau tidak, berpigmentasi hialin atau gelap), dan konidiofor (Fitria et al., 2023).

#### *Penentuan Minimum Inhibitory Concentration (MIC) minyak atsiri daun A. calamus terhadap A. flavus secara in vitro*

Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) minyak atsiri daun jangu secara *in vitro* dilakukan dengan metode difusi agar. Metode ini diawali dengan pembuatan suspensi spora jamur uji yaitu *A. flavus*. Isolat murni *A. flavus* pada media PDA miring ditransfer ke dalam aquades steril sebanyak 10 mL, kemudian spora digerus dengan jarum ose secara perlahan agar media tidak tergerus. Kerapatan spora yang diujikan dihitung dengan haemocytometer dengan rumus yang telah dimodifikasi dari rumus (Rohmah & Alif, 2021) sebagai berikut:

$$C = \frac{\text{rata - rata } \Sigma \text{ sel dalam 5 kotak}}{\text{luas kotak hitung (mL)}}$$

Keterangan:

C = Kerapatan sel per mL larutan

Luas kotak hitung =  $4 \times 10^{-6}$

Proses pengerjaan dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*. Suspensi spora dihomogenkan pada vortex dengan kecepatan 1500 rpm. Inokulasi jamur dilakukan dengan metode *pour plate* yaitu suspensi jamur diambil sebanyak 100  $\mu$ L dengan micropipette dan dimasukkan ke dalam cawan Petri. Media PDA cair ditambahkan sebanyak 10 mL ke dalam cawan Petri, kemudian media dan inokulum jamur dihomogenkan dan didiamkan hingga media memadat. Media dan inokulum *A. flavus* yang telah memadat dilubangi dengan *cork borer* berdiameter 6 mm sebanyak 6 sumur dalam 1 Petri. Konsentrasi minyak atsiri daun jangu yang diujikan yaitu 0% (Kontrol pelarut Tween 80), 5%, 4%, 3%, 2%, dan 1% (v/v). Masing-masing minyak atsiri yang diuji dimasukkan ke sumur difusi sebanyak 15  $\mu$ L dengan mikropipet, kemudian diinkubasikan pada suhu ruang 24°C selama 3 hari. Hasil pengujian adanya aktivitas antifungi dapat diketahui berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk. Diameter zona hambat menjadi petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan jamur oleh suatu senyawa metabolisme sekunder yang terkandung dalam ekstrak tanaman. Pengenceran minyak atsiri menggunakan rumus dari Febia et al. (2020, sebagai berikut:

$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

Keterangan:

V1 = Volume larutan yang akan diencerkan (mL)

M1 = Konsentrasi Minyak Atsiri yang tersedia (%)

V2 = Volume larutan yang diinginkan (mL)

M2 = Konsentrasi Minyak Atsiri yang akan dibuat (%)

Pengukuran diameter zona hambat dilakukan berdasarkan rumus Putri et al. (2019) sebagai berikut:

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{D1 \text{ (mm)} + D2 \text{ (mm)}}{2}$$

Keterangan:

D1 = Diameter vertikal zona hambat

D2 = Diameter horizontal zona hambat

X = Diameter lubang sumuran.

### Analisis data

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data kuantitatif dianalisis dengan *Analisis of Varian* (ANOVA) menggunakan *software* SPSS 25 for windows. Jika hasil berbeda nyata dilakukan uji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan  $P < 0.05$ . Analisis statistik tersebut dilakukan pada data *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) minyak atsiri daun jangu (*A. calamus*) dalam menghambat pertumbuhan *A. flavus*, jamur perusak naskah lontar Bali.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik makroskopis dan mikroskopis jamur *Aspergillus flavus*

*A. flavus* secara makroskopis memiliki karakteristik sebagai berikut: koloni tumbuh cepat pada media PDA, dengan diameter koloni yaitu 50 mm - 80 mm diukur setelah 7 hari pada suhu ruang 24°C. Warna koloni hijau muda dan dikelilingi oleh miselia berwarna putih pada bagian tepi, memiliki zonasi, tidak menghasilkan butir-butir cairan atau *exudate drops*. Tekstur koloni seperti tepung dan warna sebaliknya yaitu putih hingga kuning pucat. Ciri mikroskopis *A. flavus* dengan bentuk konidia yaitu kolumnar, memiliki tepi yang halus, konidia berukuran 3-3,4 µm. Konidiofor tampak tegak, memiliki vesikel berbentuk kolumnar dan termasuk kedalam tipe uniseriate (satu baris), hifa bersepta.

### Penentuan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) minyak atsiri daun *A. calamus* terhadap *A. flavus* secara *in vitro*

Aktivitas antifungi daun jangu terhadap jamur perusak lontar Bali yaitu *A. flavus* diketahui melalui pengujian daya hambat secara *in vitro* dengan metode sumur difusi. Parameter yang diukur dalam pengujian ini yaitu diameter zona hambat dari 6 perlakuan dan 4 ulangan. Adapun perlakuan yang diujikan beserta hasilnya berupa diameter zona hambat disajikan pada Tabel 1.

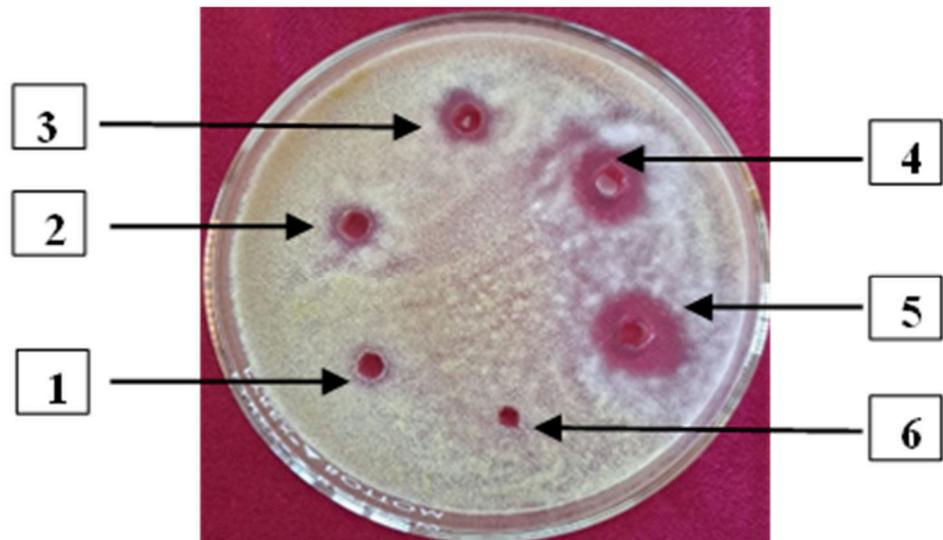
Tabel 1. Rata-rata diameter zona hambat minyak atsiri *A. calamus* terhadap *A. flavus*

| No | Perlakuan Minyak Atsiri | Diameter Zona Hambat (mm) ± Standar Deviasi |
|----|-------------------------|---|
| 1. | 5%                      | 11,70 ± 0,17 <sup>a</sup>                   |
| 2. | 4%                      | 10,58 ± 0,07 <sup>b</sup>                   |
| 3. | 3%                      | 8,85 ± 0,07 <sup>c</sup>                    |
| 4. | 2%                      | 7,08 ± 0,05 <sup>d</sup>                    |
| 5. | 1%                      | 0,00 ± 0,00 <sup>ef*</sup>                  |
| 6. | Kontrol negatif         | 0,00 ± 0,00 <sup>ef*</sup>                  |

Keterangan: \* Nilai yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada P<5%. Kontrol negatif tween 80 (2%) (v/v)

Kerapatan spora awal yang diujikan pada uji *in vitro* yaitu 18,15 x 10<sup>6</sup> sel/mL. Uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) bertujuan untuk mengevaluasi nilai konsentrasi terendah dari minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *A. flavus*. Hasil yang tertera pada Tabel 1 menunjukkan rata-rata diameter zona hambat ± standar deviasi dari 4 ulangan. Hasil yang diperoleh yaitu zona hambat dari perlakuan konsentrasi 5%, 4%, 3%, 2% (v/v) secara statistik berbeda nyata, hal tersebut ditandai dengan notasi huruf yang berbeda pada masing-masing perlakuan. Konsentrasi minyak atsiri 1% dan kontrol negatif tween 80 (2%) (v/v) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dan tidak menunjukkan adanya zona hambat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai MIC minyak atsiri daun jangu pada penelitian ini yaitu pada konsentrasi 2% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 7,08 mm. Hasil uji MIC pada penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Rita et al., (2017), yang menyebutkan bahwa MIC minyak atsiri *A. calamus* terhadap penghambatan *Candida albicans* yaitu pada konsentrasi 1% dengan zona hambat 7,83 mm, sedangkan pada konsentrasi minyak yang lebih rendah tidak terdapat zona

hambat. Perbedaan nilai MIC disebabkan karena perbedaan jamur yang diujikan. Uji daya hambat minyak atsiri daun *A. calamus* disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Uji daya hambat minyak atsiri daun jangu terhadap *A. flavus* secara *in vitro*: 1) minyak atsiri konsentrasi 1% (v/v); 2) 2% (v/v); 3) 3% (v/v); 4) 4% (v/v); 5) 5% (v/v); 6) kontrol negatif tween 80 (2%)(v/v).

Penetapan konsentrasi optimum pada penelitian ini ditujukan agar penggunaan minyak atsiri secara langsung pada lontar nantinya tidak menghabiskan banyak bahan akan tetapi dapat membunuh jamur perusak lontar. Konsentrasi optimum minyak atsiri *A. calamus* pada penelitian ini yaitu konsentrasi 5% (v/v), sebab dengan konsentrasi sekian sudah memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *A. flavus* secara *in vitro* dengan rata-rata diameter zona hambat yaitu 11,70 mm (kategori kuat). Konsentrasi minyak atsiri 5% menghasilkan daya hambat yang terbesar diantara konsentrasi lainnya yang diujikan, sebab senyawa *Asarone* yang diduga sebagai senyawa antifungi dalam minyak atsiri *A. calamus* lebih pekat (keberadaannya melimpah) pada konsentrasi yang tinggi (Sharma et al., 2020). Senyawa lainnya yang diduga bertindak sebagai senyawa antifungi dalam minyak atsiri *A. calamus* yaitu  $\beta$ -*Asarone* (Venkatesan et al., 2019). Sintawarak et al., (2021) mengungkapkan bahwa hifa dan konidia *Cylindrocladium reteaudii* menjadi menyusut dan mengkerut ketika diberi perlakuan dengan kadar  $\beta$ -*Asarone* dari minyak atsiri *A. calamus*.

Penelitian serupa terhadap aktivitas antifungi *A. calamus* yang dilakukan Dinev et al. (2021), menyebutkan bahwa ekstrak metanol *A. calamus* (64 mg/mL) dapat menghambat pertumbuhan *A. flavus* dengan diameter zona hambat 10 mm. Penghambatan *Aspergillus fumigatus* dan *Aspergillus niger* oleh minyak atsiri *A. calamus* konsentrasi 500  $\mu$ g/mL dilaporkan pada penelitian Loying et al. (2019) dengan zona hambat masing-masing yaitu 16 mm dan 15 mm. Hasil penelitian Prawnayoni & Sudirga (2020) menemukan senyawa dominan golongan benzene pada ekstrak daun *A. calamus* yaitu 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl). Senyawa tersebut memiliki kemampuan antifungi terhadap jamur *Athelia rolfsii*. Perbedaan kemampuan daya hambat suatu minyak atsiri bergantung pada konsentrasi dan jenis kandungan senyawa bioaktif dalam bahan tersebut. Kondisi lingkungan yang optimal akan membuat tumbuhan lebih mempertahankan produksi metabolit primer dibandingkan metabolit sekunder, begitu juga sebaliknya apabila

tumbuhan dalam kondisi tercekam, maka produksi metabolit sekunder lebih banyak diproduksi (Szczeblewski et al., 2022; Tancinova et al., 2018). Literatur yang tersedia tidak memiliki data tentang aktivitas minyak atsiri daun *A. calamus* terhadap *A. flavus*.

## SIMPULAN

Minyak atsiri *A. calamus* memiliki aktivitas antifungi terhadap jamur pendegradasi selulosa *A. flavus* dengan konsentrasi optimal yaitu 5% (v/v), rata-rata diameter zona hambat 11,72 mm (kategori kuat). Nilai MIC dari minyak atsiri daun jangu dalam menghambat *A. flavus* yaitu 2% v/v dengan rata-rata diameter zona hambat 7,08 mm.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kebun Raya Eka Karya Bali-BRIN atas pemberian ijin pengambilan sampel daun *Acorus calamus*, serta peminjaman fasilitas laboratorium yang menunjang penelitian ini. Terima kasih kami sampaikan juga kepada Bapak Dr. Sang Ketut Sudirga, S.Si., M.Si. selaku penanggung jawab Laboratorium Biokimia, Prodi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana yang telah memberikan fasilitas dalam menjalankan seluruh rangkaian prosedur penelitian, dan seluruh pihak yang terlibat dalam pelaksanaan penelitian ini.

## KEPUSTAKAAN

- Abdulmageed L. 2023. Study of morphological and physiological characteristics of some types of fungus *Aspergillus* Spp. *Anbar Journal of Agricultural Sciences* **21(2)**: 386–395.
- Dinev T, Tzanova M, Velichkova K, Dermendzhieva D, Beev G. 2021. Antifungal and antioxidant potential of methanolic extracts from *Acorus calamus*, *Chlorella vulgaris* Beijerinck, *Lemna minuta* Kunth and *Scenedesmus dimorphus* (Turpin) Kützing. *Applied Sciences (Switzerland)* **11(11)**: 1-13.
- Febia A, Mukarlina, Rahmawati. 2020. Aktivitas antifungi ekstrak metanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides*) terhadap *Phytophthora* sp. (Im5) secara *in vitro*. *Jurnal Protobiont* **9(2)**: 167–174.
- Fitria F, Suhartini S, dan Prihandono DS. 2023. Gambaran kapang *Aspergillus* Sp. pada terasi dalam kemasan tanpa merek di pasar tradisional kota Samarinda. *Jl-KES (Jurnal Ilmu Kesehatan)* **6(2)**: 147–154.
- Hanif A, Zamriyetti Z. 2023. Karakterisasi morfologi cendawan penyebab penyakit busuk pangkal batang pada bawang merah (*Allium cepa*). *AGRIUM: Jurnal Ilmu Pertanian* **26(1)**: 76–82.
- Julyeda NKD, Darmayasa, IBG, Hardini J. 2021. Potential of awar-awar leaf methanol extract (*Ficus septica* Burm. f.) against *Aspergillus niger* on Balinese lontar. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences* **8(2)**: 268-274.
- Mohammed GJ, Hameed IH. 2018. Anti-fungal, antitumor and anti-inflammatory activity of *Acorus calamus*. *Indian Journal of Public Health Research and Development* **9(3)**: 254–258.
- Nasardin NR, Zainon M, Zulkefle A, Hanafiah MA, Ibrahim M, Rahman AI. 2018. Comparative study on steam distillation and hydro-distillation methods for agarwood oil extraction. *International Journal of Applied Engineering Research* **13(8)**: 6253–6256.
- Paranatha KAD, Bratayadnya PA, dan Octaviano AL. 2022. Konservasi Naskah lontar dalam fotografi story. *Retina Jurnal Fotografi* **2(1)**: 123–132.
- Parwanayoni S, Sudirga SK. 2020. Isolasi dan identifikasi senyawa antijamur daun jeringau (*Acorus calamus* Linn.) sebagai pengendali jamur *Athelia rolfsii* Sacc. penyebab penyakit busuk batang pada tanaman kedelai. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences* **7(2)**:10-12.
- Polite O, Popovic M, Versic Bratincevic M, Koceic P, Nincevic T, Mekinic IG. 2023. Conventional vs. microwave-assisted hydrodistillation: influence on the chemistry of sea fennel essential oil and its by-products. *Plants* **12(7)**: 32-43.

- Putri D, Nasir N, Agustien A. 2019. Kemampuan jamur akar putih (*Rigidoporus microporus* (Swartz: Fr.) Van Ov.) dalam mendegradasi limbah selulosa. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences* **6(1)**: 102-114.
- Rampa E, Manurun S, Sinaga H. 2023. Isolasi fungi endofit dari buah dan daun belimbing wuluh. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes* **14(1)**: 92–96.
- Rita WS, Kawuri R, Swantara IMD. 2017. The essential oil contents of jeringau (*Acorus calamus* L.) rhizomes and their antifungal activity against *Candida albicans*. *Journal of Health Sciences and Medicine* **1(1)**: 33-41.
- Rohmah IN, Alif T. 2021. Uji pengembangan spora entomopatogen bunga entomopatogen *Lecanicillium lecanii* menggunakan haemocytometer. *Jurnal Matematika Dan Sains* **1(2)**: 143–150.
- Sharma V, Sharma R, Gautam DNS, Kuca K, Nepovimova E, Martins N. 2020. Role of vacha (*Acorus calamus* Linn.) in neurological and metabolic disorders: Evidence from ethnopharmacology, phytochemistry, pharmacology and clinical study. *Journal of Clinical Medicine* **9(4)**: 67-74.
- Simanjuntak HA, Butar M. 2019. Uji aktivitas antifungi ekstrak etanol umbi bawang merah (*Allium Cepa* L.) terhadap *Candida albicans* dan *Pityrosporum Ovale*. *Eksakta: Jurnal Penelitian dan Pembelajaran MIPA* **4(2)**: 91-98.
- Sintawarak P, Uthairatsamee S, Keawgrajang T. 2021. *In vitro* and *in vivo* inhibition of *Cylindrocladium reteaudii* by essential oils of *Acorus calamus* rhizomes. *Environment and Natural Resources Journal* **19(1)**: 34–42.
- Szczeblewski P, Wroblewski M, Borzyszkowska-Bukowska J, Bairamova T, Górska J, Laskowski T, Samulewicz, A, Kosno, M., Sobiech, Ł, Polit JT, Kukula-Koch W. 2022. The role of centrifugal partition chromatography in the removal of  $\beta$ -asarone from *Acorus calamus* essential oil. *Scientific Reports* **12(1)**: 1–14.
- Tancinova D, Maskova Z, Foltinova D, Stefanikova J, Arvay J. 2018. Effect of essential oils of lamiaceae plants on the *Rhizopus* spp. *Journal of Food Sciences* **12(1)**: 491–498.
- Venkatesan R, Karuppiyah PS, Arumugam G, Balamuthu K. 2019.  $\beta$ -Asarone exhibits antifungal activity by inhibiting ergosterol biosynthesis in *Aspergillus niger* ATCC 16888. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences* **89(1)**: 173–184.
- Yuliatun S, Santoso EM. 2022. Pengaruh konsentrasi natrium hidroksida pada isolasi selulosa dari ampas tebu. *Indonesian Sugar Research Journal* **2(1)**: 12–21.