

## JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

**Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Antijamur Daun Jeringau (*Acorus calamus* Linn.) Sebagai Pengendali Jamur *Athelia rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Busuk Batang Pada Tanaman Kedelai**

**Isolation And Identification Of Antifungal Compounds Of Jeringau Leaf (*Acorus calamus* Linn.) As A Control *Athelia rolfsii* Sacc. Fungus That Causes Stem Rot Disease Of Soybean Plants**

**Ni Made Susun Parwanayoni<sup>1\*</sup> Sang Ketut Sudirga<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

E-mail: [parwanayoni@unud.ac.id](mailto:parwanayoni@unud.ac.id)

### INTISARI

Tujuan penelitian adalah untuk isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif ekstrak daun jeringau (*Acorus calamus*) serta uji aktivitasnya untuk menghambat pertumbuhan jamur *Athelia rolfsii* penyebab penyakit busuk batang pada tanaman kedelai. Penelitian diawali oleh ekstraksi daun jeringau, uji daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan jamur *Athelia rolfsii*, partisi, kolom kromatografi dan lapis tipis kromatografi, uji daya hambat fraksi serta mengidentifikasi senyawa bioaktif menggunakan gas kromatografi-spektroskopi massa (GC-MS). Ekstrak kasar daun jeringau mampu menghambat pertumbuhan jamur *A. rolfsii* dengan diameter zona hambat sebesar 25 mm. Hasil analisis fraksi aktif ekstrak daun jeringau berhasil mengidentifikasi 24 senyawa antijamur terhadap *A. rolfsii*. Senyawa dominan yang terdapat dalam ekstrak tersebut adalah ethanol, 2-(2-ethoxyethoxy) dan 1.2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl).

Kata kunci: Ekstrak, antijamur, isolasi, identifikasi, *Athelia rolfsii*

### ABSTRACT

The aim of this research was to isolate and identify the bioactive compounds of jeringau (*Acorus calamus*) leaf extract and test its activity to inhibit the growth of *Athelia rolfsii* fungus that causes stem rot in soybean plants. The study was began with the extraction of jeringau leaves, inhibition test of extracts against the growth of *Athelia rolfsii* fungus, partitions, column chromatography and thin layer chromatography (TLC), fraction inhibition test and identification of bioactive compounds using gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS). Coarse extract of jeringau leaves can inhibit the growth of *A. rolfsii* with an inhibition zone diameter of 25 mm. The analysis result of the active fraction of the jeringau leaf extracts is able to identify 24 antifungal compounds against *A. rolfsii*. The dominant compounds contained in the extract are ethanol, 2- (2-ethoxyethoxy) and 1.2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl).

**Keyword:** Extract, antifungal, isolation, identification, *Athelia rolfsii*

### PENDAHULUAN

*Athelia rolfsii* merupakan jamur tular tanah yang dapat menyebabkan penyakit busuk

batang pada tanaman kedelai (Parveen *et al.*, 2017; Iquebal *et al.*, 2017; Nugroho *et al.*, 2019; Banakar *et al.*, 2017). Kwon *et al.*

(2017); Acabal *et al.* (2019); Unal *et al.* (2019) menyatakan jamur *A. rolfsii* merupakan bentuk seksual/ telemorf dari *S. rolfsii* dan kedua jamur tersebut menyebabkan penyakit busuk batang tanaman kedelai. Penyakit busuk batang menyebabkan kegagalan panen dan kerugian ekonomi (Soesanto, 2013). Lebih lanjut Paul (2017); Mudji (2018) menyatakan bahwa penyakit busuk batang dapat menurunkan 13 % – 59 % produksi dan mengurangi 11 % produksi polong sehingga menyebabkan kerugian ekonomi.

Petani di Indonesia telah melakukan pengendalian penyakit busuk batang dengan aplikasi pestisida sintetik. Selama ini pengendalian dengan cara ini berdampak kurang baik pada lingkungan, ekosistem, bahan pangan maupun manusia (Hasyim dkk., 2015). Pestisida nabati merupakan salah satu alternatif pengendalian hama dan penyakit tanaman yang diterapkan untuk menunjang pertanian berkelanjutan. Pestisida nabati dibuat dari bahan aktif ekstrak tumbuhan. Indonesia khususnya Bali memiliki potensi yang besar untuk mengembangkan pestisida nabati karena memiliki keanekaragaman tumbuhan yang sangat tinggi. Namun demikian penelitian jenis-jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai fungisida nabati baru 10% (Suprpta, 2014). Oleh karena itu penelitian tentang beranekaragam tumbuhan yang berpotensi sebagai fungisida nabati penting untuk dilakukan.

Tumbuhan jeringau yang dalam Bahasa Bali disebut jangu mengandung senyawa bioaktif pada bagian rimpangnya yang dikenal sebagai minyak atsiri. Komposisi minyak atsiri rimpang jeringau terdiri dari 82 % asaron, 5 % kalamenol, 4 % kalamine, 1 % kalameon, 1 % metileugenol dan 0,3 % eugenol (Pandey *et al.*, 2015). Bagian daun tumbuhan ini juga penting untuk diteliti kandungan senyawa aktifnya terutama yang berpotensi sebagai fungisida nabati. Penelitian ini dilakukan untuk isolasi dan identifikasi kandungan senyawa bioaktif ekstrak daun jeringau yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *A. rolfsii*.

## BAHAN DAN METODE

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeringau dan biakan

murni jamur *A. rolfsii*. Bahan kimia yang digunakan meliputi pelarut methanol, heksana, aseton, kloroform, silica gel dan Plat KLT.

### Ekstraksi Daun Jeringau

Daun jeringau dipotong kecil-kecil, dicincang, dan dikeringanginkan dalam ruangan selama 5-6 hari. Bahan yang telah kering tersebut diblender kering sampai halus dan dimaserasi dalam methanol selama 72 jam dengan perbandingan 1:10 (berat/volume). Bahan yang dimaserasi disaring dengan kertas saring wathman no. 1 setiap 24 jam. Filtrat dari masing-masing penyaringan dicampur jadi satu, pelarutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* (Iwaki, Japan) pada suhu 50 °C, dan ekstrak kental yang diperoleh digunakan untuk pengujian (Parwanayoni *et al.*, 2019).

### Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Jeringau

Pengujian aktivitas antijamur ekstrak daun jeringau terhadap pertumbuhan jamur *A. rolfsii* dilakukan dengan menggunakan metode sumur difusi. Pengujian diawali dengan inokulasi *A. rolfsii* pada media *potato dextrose agar* (PDA) secara *pour plate*. Pada biakan yang telah memadat dibuat sumur dengan menggunakan *corkborer*. Setiap sumur diisi 20 µl ekstrak daun jeringau dan diinkubasi pada 25 °C. Pengamatan dilakukan setiap hari dengan mengukur diameter zona hambatan yang terbentuk di sekitar sumur difusi (Parwanayoni *et al.*, 2018; Suriani *et al.*, 2019). Diameter zona hambatan yang terbentuk digolongkan menjadi tiga yaitu  $\geq 20$  mm tergolong daya hambat sangat kuat, 10-20 mm kuat dan 5-10 mm sedang atau lemah (Paudel, 2014).

### Partisi Ekstrak Daun Jeringau Fase Methanol dan Heksana

Sebanyak 10 g ekstrak dilarutkan dalam campuran methanol dan heksana masing-masing 100 mL. Campuran dimasukkan ke dalam corong pisah dan dikocok-kocok sampai merata. Pemisahan dua fase dilakukan dengan membuka kran corong pemisah dan masing-masing fase ditampung dalam *erlenmeyer* 250 mL dan dievaporasi. Setiap fase diuji daya

hambatnya terhadap jamur *A. rolfii* sehingga diperoleh fase aktif (Suprpta, 2014).

### Fraksinasi Ekstrak Daun Jeringau

Fase aktif hasil partisi dilanjutkan dengan tahap fraksinasi kolom. Pembuatan kolom diawali dengan pengisian kolom dengan eluen pengembang, *silica gel* sebanyak 100 g dan kolom didiamkan selama 24 jam.

Sebanyak lima gram ekstrak hasil partisi dimasukkan ke dalam kolom melalui bagian atas, ditambahkan eluen pengembang sedikit demi sedikit, dan eluen yang keluar melalui bagian bawah ditampung dalam botol-botol kecil dengan setiap botol menampung 10 mL. Eluen dalam botol-botol kecil dievaporasi dan diuji dengan uji KLT sehingga diperoleh fraksi. Fraksi-fraksi tersebut diuji hayati pada jamur *A. rolfii* untuk mendapatkan fraksi aktif (Verma *et al.*, 2016).

### Identifikasi Senyawa Aktif

Identifikasi senyawa aktif dilakukan pada fraksi yang menunjukkan aktivitas paling aktif terhadap jamur *A. rolfii*. Deteksi dilakukan dengan mencocokkan bobot molekul dan pola fragmentasi senyawa hasil isolasi dengan senyawa yang ada pada pustaka GC-MS (Wright *et al.*, 2017).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas Antijamur Ekstrak Kasar Daun Jeringau

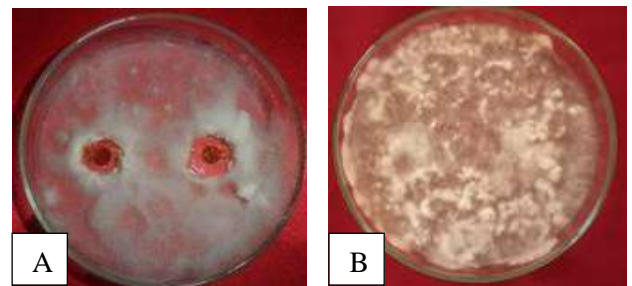
Ekstrak kasar daun jeringau mampu menghambat pertumbuhan jamur *A. rolfii*. Kemampuan tersebut ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambatan sebesar 25 mm (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak kasar daun jeringau

### Daya Hambat Ekstrak Jeringau Hasil Partisi

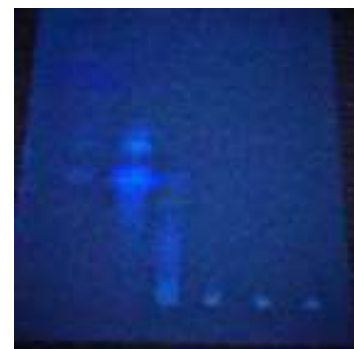
Fase methanol hasil partisi mampu menghambat pertumbuhan jamur *A. rolfii* dengan diameter zona hambat sebesar 10 mm (Gambar 2) sedangkan fase heksana bersifat tidak aktif. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif antijamur ekstrak daun jeringau terdapat pada fase methanol serta bersifat polar.



Gambar 2. Zona hambat A= fraksi methanol dan B= fraksi heksana ekstrak daun jeringau hasil partisi

### Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

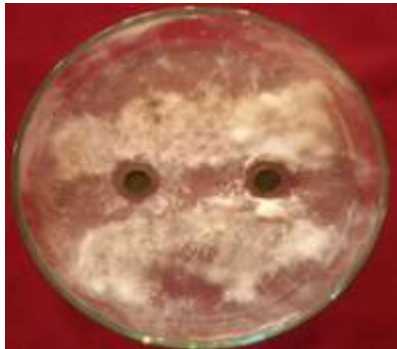
Fraksinasi kromatografi kolom menghasilkan eluen yang ditampung dalam 70 botol. Pada 70 botol ekstrak daun jeringau tersebut dilakukan uji KLT dan botol yang memiliki pola noda sama digabung sehingga diperoleh delapan fraksi ekstrak daun jeringau (Gambar 3). Masing-masing fraksi yang memiliki pola noda sama menunjukkan golongan senyawa yang sama sehingga dalam satu fraksi memiliki golongan senyawa yang sama.



Gambar 3. KLT delapan fraksi ekstrak daun jeringau

### Daya Hambat Fraksi Ekstrak Daun Jeringau terhadap Jamur *A. rolfii*

Hasil uji daya hambat delapan fraksi ekstrak daun jeringau terhadap pertumbuhan jamur *A. rolf sii* menunjukkan hanya ada satu fraksi yang aktif yaitu yang berkode F6J. Sifat aktif fraksi tersebut ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat dengan diameter sebesar 8 mm (Gambar 4).



Gambar 4. Daya hambat fraksi aktif (F6J) ekstrak daun jeringau

### Identifikasi Senyawa Aktif Fraksi Aktif Ekstrak Daun Jeringau

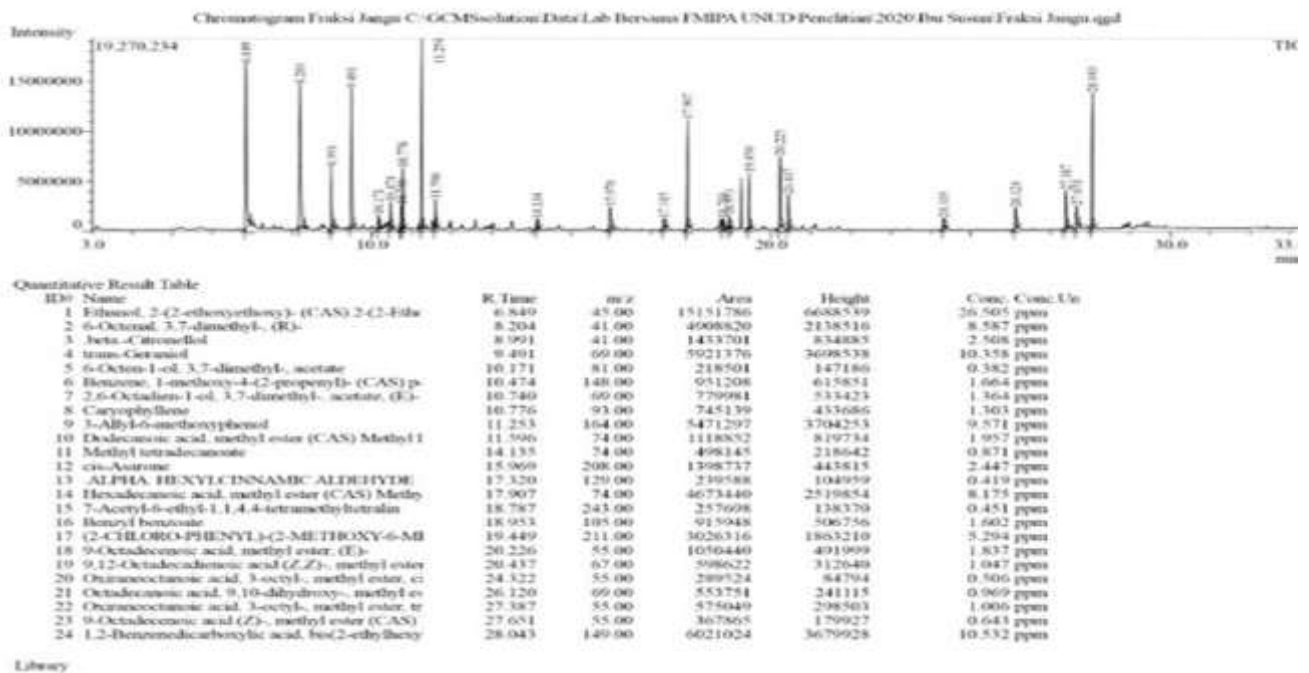
Identifikasi fraksi aktif ekstrak daun jeringau (F6J) menghasilkan 24 puncak (Gambar 5). Berdasarkan hasil identifikasi ini, ekstrak daun jeringau diduga mengandung 24 senyawa aktif yang berfungsi sebagai senyawa antijamur *A. rolf sii*.

Dua puluh empat senyawa aktif tersebut adalah ethanol,2-(2-ethoxyethoxy); 6-okthanal,3,7-dimethyl; beta-citronellol; trans-geraniol; 6-octen-1-ol 3,7-dimethyl-acetate; benzene 1-methoxy-4-(2-propenil); 2,6-otahen-1-ol 3,7-dimethyl-acetate; caryophyllen; 3-Allyl-6- methoxyphenol; dodecanoic acid methyl ester; methyl tetradecanoate; cis-Asarone; alpha hexylcinnamic aldehyde; hexadecanoic acid methyl ester; 7-acethyl-6-ethyl-1-1-4-4-tetramethylhetralin;benzyl benzoate; (2(chlorophenyl)-(2-methoxy-6-MI; 9-octadecenoic acid methyl ester; 9.12-octadecadienoic acid (Z.Z)-methyl ester; oxinaneoctanoic acid 3-octyl-methyl ester; octadecenoic acid 9.10-didydroxyl-methyl ester; oxinaneoctanoic acid 3-octyl-methyl trans; 9-octadecenoic acid (Z)-methyl ester; 1.2-benzenedicarboxylic acid, bis (2-ethylhexyl).

Satu diantara 24 senyawa yang ditemukan pada fraksi aktif ekstrak daun jeringau memiliki sifat antijamur terhadap *A. rolf sii*. Senyawa tersebut adalah 1,2-benzene dicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl). Hasil penelitian Parwanayoni (2018) menunjukkan bahwa senyawa 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) yang diisolasi dari daun *Mansoa aliaceae* merupakan senyawa yang bersifat antijamur terhadap *A. rolf sii*. Sementara itu, 23 senyawa lainnya belum diketahui dengan pasti aktivitasnya.

Hasil penelitian Akpuaka *et al.* (2012) memperoleh senyawa 1, 2-benzenedicarboxylic acid bis (2-ethylhexyl) yang termasuk ke dalam golongan phthalat. Golongan senyawa phthalat yang berhasil diisolasi dari ekstrak heksana daun *Azadirachta indica* ada enam golongan yaitu mono-(2ethylhexyl) phthalate, heptylmethyl phthalate, dibutyl phthalate, diisobutyl phthalate, ethylhexyl phthalate dan mono-octyl phthalate. Diisobutyl phthalate, dibutyl phthalate dan mono-(2ethylhexyl) phthalate adalah golongan utama senyawa phthalat yang memiliki aktivitas sebagai senyawa bioaktif antijamur kuat, antidiabetik, antikanker dan antitumor. Senyawa 1, 2-benzenedicarboxylic acid bis (2-ethylhexyl) adalah senyawa golongan dibutyl phthalate.

Lebih lanjut hasil penelitian Laksana (2011) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kayu surian asal Bogor mengandung senyawa 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2ethylhexyl) ester 11,02 %. Senyawa tersebut yang menunjukkan kemampuan sebagai larvasida termasuk golongan senyawa yang sama dengan terephthalic acid, di(2-ethylhexyl) ester yaitu senyawa golongan phthalat. Penelitian Al-Huqail *et al.* (2015) melaporkan bahwa senyawa 1,2-benzenedicarboxylic juga dapat ditemukan pada ekstrak biji *Punica protopunica* dengan kandungan 80 %. Hasil penelitian de-Oliveira (2015) juga menemukan senyawa 1,2-benzenedicarboxylic acid, 1,2-bis(2-ethylhexyl) ester sebesar 5.05 % yang diisolasi dari tanaman *Leonotis nepetifolia*. Kemampuan ekstrak tersebut adalah juga sebagai antijamur pada *Aspergillus spp.*, *Candida albicans* dan *Trichophyton spp*



Gambar 5. Dua puluh empat senyawa aktif hasil identifikasi fraksi aktif ekstrak daun jeringau

### KESIMPULAN

Ekstrak kasar daun jeringau mampu menghambat pertumbuhan jamur *A. rolfsii* dengan diameter zona hambat sebesar 25 mm. Hasil identifikasi fraksi aktif ekstrak daun jeringau mengandung 24 senyawa antijamur terhadap jamur *A. rolfsii*. Senyawa dominan yang terdapat dalam ekstrak tersebut adalah ethanol, 2-(2-ethoxyethoxy)-CAS dan 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl).

### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih ditunjukkan kepada LPPM Universitas Udayana yang telah mendanai seluruh penelitian ini dalam skim penelitian PUPS. Ucapan terimakasih juga ditunjukkan kepada Laboratorium Biokimia Prodi Biologi dan Laboratorium Bersama FMIPA Universitas Udayana.

### DAFTAR PUSTAKA

Akpuaka, A., M.M.Ekwenchi, D.A.Dashak, and A.Dildar. 2014. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC/MS) Analysis of Phthalate Isolates in n-Hexane Extract of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem) Leaves. *Journal of American Science* 8(12): 146-155.

Al-Huqail, A.A., G.A.Elgaaly, and M.M.Ibrahim. 2015. Identification of bioactive Phytochemical from two *Punica* species using GC-MS and estimation of antioxidant activity of seed extracts. *Sandi Journal of Biological Sciences* 30:5.

Acabal Jr,B.D., T.U. Dalisay, J. Z. Groenewald, P.W. Crous and C. J. R. Cumagun. 2019. *Athelia rolfsii* (= *Sclerotium rolfsii*) infects banana in the Philippines. Australasian Plant Disease. Springer. [Online] <https://doi.org/10.1007/s13314-019-0341-x>.

Nugroho,C. E. Mirnia and C. J. R. Cumagun. 2019. Antifungal Activities of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Aqueous Extract Against *Sclerotium rolfsii*, Causal Agent of Damping-Off on Tomato Seedling. *Agrivita Journal off Agricultural Science* 41(1): 149-157.

- De-Oliveira, A.P., A.L. Guimarães., E. C. da C.Araújo.1, I. C. C. Turatti., N. P. Lopes., and J.R.D. da S. Almeida. 2015. GC-MS analysis of esterified fatty acids obtained from leaves of wild and cultivated specimens of *Leonotis nepetifolia*. *Journal Med. Plants Res* 9(16): 525-530.
- Ünal, F., A., Askın, E. Koca, M. Yıldırım and M.Ü.Bingöl. 2019. Mycelial compatibility groups, pathogenic diversity and biological control of *Sclerotium rolfsii* on turfgrass Egyptian *Journal of Biological Pest Control*. Springer. 2019: 29:44
- Hasyim, A., S.Wiwin, dan L.Liferdi. 2015. Inovasi teknologi pengendalian OPT ramah lingkungan pada cabai : upaya alternatif menuju ekosistem harmonis. *Jurnal Pengembangan Inovasi Pertanian* 8(1): 1-10.
- Kwon, K. Jin-Hyeuk, Dong-Wan, Han-Inyoung, S.Chang-Ki, and Jinwoo-Kim. 2017. Morphological and molecular characterization of *Sclerotium rolfsii* (teleomorph *Athelia rolfsii*) associated with Sclerotium Rot of *Cucumis melo* L. var. *makuwa* Makino. *Journal of Agriculture & Life Science* 51(2): 1-8.
- Laksana, Y.T. 2011. *Bioaktivitas zat ekstraktif kayu teras surian (Toona sureni merr.) terhadap Artemia salina* leach. Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. (Bogor)
- Mudji, R. 2018. Penyakit Busuk Batang *Sclerotium rolfsii* pada Tanaman Kacang-Kacangan. Balitkabi. Available : <http://balitkabi.litbang.pertanian.go.id>. Opened: 23.06.2018.
- Iquebal, M.A., R. S. Tomar, M. V. Parakhia, D. Singla, S. Jaiswal, V. M. Rathod, S. M. Padhiyar, N. Kumar, A. Rai1 and D. Kumar. 2017. Draft whole genome sequence of groundnut stem rot fungus *Athelia rolfsii* revealing genetic architect of its pathogenicity and virulence. Scientific RepoRts [Online] DOI:10.1038/s41598-017-05478-8.
- Parwanayoni, N.M.S., D.N. Suprpta and K. Khalimi. 2019. Synergistic effectivity of *Mansoa alliacea* and *Allamanda cathartica* leaf extracts controlling stem rot disease in peanut plant (*Arachis hypogaea*) at the greenhouse. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing doi:10.1088/1755-1315/347/1/012077. 347 012077.
- Parwanayoni, N.M.S., D.N. Suprpta, I. G. R. Maya Temaja, I. M. Dira Swantara and K. Khalimi. 2018. Synergistic Activity of Leaves Extracts of *Mansoa alliacea* L. and *Allamanda cathartica* L. to Inhibit *Athelia rolfsii*, the Cause of Stem Rot Disease in Peanut Plants. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 8: 29-35.
- Parwanayoni, N.M.S. 2018. *Efektivitas campuran ekstrak daun Allamanda cathartica L dan Mansoa alliacea L. untuk mengendalikan penyakit busuk batang pada tanaman kacang tanah (Arachis hypogaea L.)*. Disertasi. Program Studi Doktor (S3) Ilmu Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Udayana. (Denpasar).
- Suriani, N.L., A.A.K. Darmadi, N. M. S. Parwanayoni, M. H. N. Abd Hamid and B. M. Yamin. 2019. The Combination of *Piper caninum* Blume Leaf Extract and Compost Fertilizer for Pressing Blast Disease and Improving Growth of Bali Red Rice (*Oryza Sativa* Linn). *International Journal Advanced Science Engineering Information Technology* . 9(2): 2088-5334.
- Paul, N.C. H. Eom-Ji, N.Sang-Sik, L.Hyeong-Un, L. Joon-Seol, Y.Gyeong. and K. Yong-Gu. 2017. Phylogenetic placement and morphological characterization of *Sclerotium rolfsii* (teleomorph: *Athelia rolfsii*) associated with blight disease of *Ipomoea batatas* in Korea. *Research Article. The Korean Society of Mycobiology* 45(3): 129-138.
- Pandey, U. K., V. Pandey & P. Singh. 2005. Response of some plants origin insecticides against *S. litura* (Tobacco caterpillar) infesting some food plants. 91 – 93. In Environment and Toxicology (Kumar, A. ed) A.P.H. Publishing Corporation. New Delhi.

- Paudel, B., H.D.Bhattarai, K.H.L.Chan, R.Sofronov, and L. Ivanova. 2014. Estimation of antioxidant, antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of plants collected from oymyakon region of the Republic of Sakha (Yahutia), Russia. Research Article. *Biological Research* 47(10).
- Parveen,S, A. H.Wani, M.Y.Bhat. A. R. Malik, J.A.Koka and N.Ashraf. Antimycotic potential of some phytoextracts on some pathogenic fungi. *Journal Biopest* 10(1): 60-65.
- Banakar,S.N., S.V.B. Kumar, and A.G. Thejsha. 2017. Morphological and cultural studies of *Sclerotium rolfsii* Sacc. causing foot rot disease of tomato. *Int.J.Curr. Microbiol. App.Sci* 6(3): 1146-1153.
- Suprpta, D.N. 2014. *Pestisida Nabati. Potensi dan Prospek Pengembangannya*. Penerbit Pelawa Sari. Denpasar.
- Soesanto, L. 2013. *Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Penerbit Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Verma, A.,B.N. Johri, and A. Prakash. 2014. *Antagonistic evaluation of bioactive metabolit from endophytic fungus, Aspergillus flavipes KF671231*.
- Wright, M.H., C.J.Lee, M.S.J.Arnold, J. Shalom, A.White, A.C., Greene, and I.E.Cock. 2017. GC-MS analysis of *Tasmannia lanceolata* extracts which inhibit the growth of the pathogenic *Bacterium Clostridium perfringens*. *Pharmacogn Journal* 9(5): 626-637.