


## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Penelitian Tahap I (Pembuatan Ekstrak Bahan Dengan Aquadest, Uji Konsentrasi Minimum Daya Hambat Ekstrak dan Uji Aktifitas Antifungi)

#### 1. Pembuatan Ekstrak

Hasil analisis identifikasi metabolik sekunder ekstrak bahan yang direndam dengan aquadest selama 24 jam yang dilakukan di Laboratorium Kimia Hasil Uji Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Andalas pada Tabel 8.

Tabel 8. Identifikasi Metabolik Sekunder Kunyit, Kulit Jeruk Daun Cengkeh dan Temulawak\*



Jenis Metabolik Sekunder	Kunyit	Kulit Jeruk	Daun Cengkeh	Temulawak
Flavonoid	-	-	-	-
Fenolik	-	++	+++	-
Saponin	-	-	-	-
Triterpenoid	++	+	+++	++
Steroid	-	-	-	+
Alkaloid	-	-	-	-
Kumarin	-	-	+	++

\*) Hasil Uji Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Andalas.

Keterangan :  
- : Tidak Ada      ++ : Kuat  
+ : Lemah        +++ : Sangat Kuat

Berdasarkan hasil identifikasi metabolik sekunder pada setiap ekstrak pada Tabel 8 berbeda-beda baik jenisnya maupun kandungannya. Meskipun pengujiannya hanya secara kualitatif akan tetapi bisa menggambarkan potensi ekstrak tersebut sebagai antifungi terhadap jamur *Aspergillus sp.* Karena jenis metabolik sekunder tersebut sudah dikenal masyarakat luas mempunyai kemampuan antifungi. Dimana untuk senyawa yang mempunyai fungsi utama sebagai antifungi yaitu triterpenoid sedangkan senyawa fenolik lebih dikenal sebagai antioksidan.

Terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur. Senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur (Lutfiyanti dkk., 2012). Razzaghi-Abyaneh, dkk (2011) menyatakan metabolisme bioaktif tumbuhan dapat dibagi kedalam beberapa bagian besar yaitu terpen (terpenoid, isoterpenoid), phenylpropanoids (flavonoids, tannins, glycosides, and lignins), Fenolik and komponen Nitrogen (alkaloids and heterocyclic aromatics). Ditambahkan oleh Harboune (1987), terpenoid bersifat larut dalam lemak, salah satu golongan terpenoid yang berpotensi sebagai antimikroba adalah triterpenoid. Sedangkan steroid adalah golongan lemak dan merupakan bagian dari triterpenoid. Yuharmen, dkk (2002) mengemukakan bahwa efek antimikroba dari senyawa terpenoid adalah kemampuannya merusak membran sel bakteri, sedangkan minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel; membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna, sehingga tekanan osmosis sel terganggu dan mikroba mati.

Senyawa fenolik berinteraksi dengan protein membran sel yang menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein membran sel (Manitto, 1992). Kerusakan pada membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran, sehingga mengakibatkan lisisnya membran sel jamur (Parwata dan Dewi, 2008). Ditambahkan Chismirina dkk (2011) fenol bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri sehingga aktivitas sel terganggu dan menyebabkan kematian sel. Sehingga senyawa ini banyak digunakan sebagai antiseptik oral. Sesuai dengan penelitian Lisangan, dkk (2015) bahwa ekstrak HEM daun rumput kebar yang mengandung senyawa fenolik merupakan salah satu penyebab penghambatan produksi AFB1. Kumar dkk. (2010) mengemukakan bahwa adanya komponen fenolik pada minyak atsiri *Ocimum sanctum* mampu mereduksi pertumbuhan kapang dan produksi AFB1. Penghambatan produksi aflatoksin oleh komponen fenolik juga dikemukakan oleh Kim dkk. (2006) yang menyatakan bahwa mitokondria berperan dalam penyediaan asetil-CoA yang merupakan prekursor utama dalam biosintesis aflatoksin. Kerusakan rantai

respirasi mitokondrial yang disebabkan oleh komponen fenolik merupakan bagian dari penghambatan produksi aflatoxin. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak HEM daun rumput kebar tidak hanya mampu menghambat pertumbuhan kedua isolat *A. flavus* tetapi juga mampu menghambat produksi AFB1.

Kumarin adalah senyawa metabolit sekunder yang dapat larut dalam air dengan jumlah yang sangat sedikit (Sabnis, 2007). Mekanisme kerja kumarin yaitu dengan merusak sel dengan membentuk pori-pori dinding sel sehingga merubah struktur dan fungsi membran plasma yang menyebabkan meningkatkannya transmembran dan kebocoran asam amino dan isi sitoplasma lainnya sehingga sel-sel pun menyusut dan hancur (Widodo dkk., 2012).

Minyak atsiri cengkeh mengandung 72-90% senyawa eugenol, sisanya adalah asetil eugenol,  $\beta$ -caryophyllene dan vanillin, asam krategolat, asam gallotanat, metil salisilat, dan flavonoid lainnya (Bhowmik *et al.*, 2012). Eugenol termasuk ke dalam golongan polifenolat yang memiliki aktivitas bakteriostatik ataupun bakterisid tergantung dari konsentrasinya (Pelczar *et al.*, 1988; Dorman and Deans, 2008). Eugenol menghambat biosintesis dari ergosterol – komponen penting dalam membran sel jamur – sehingga membran sel jamur rusak dan fungsinya menurun (De Oliveira *et al.* 2013). Karena termasuk senyawa lipofilik, eugenol mampu melakukan penetrasi terhadap membran lipid bilayer yang tersusun dari rantai asam lemak sehingga mengubah fluiditas dan permeabilitas membran sel (Braga *et al.*, 2007).

Sedangkan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan *Zingiberaceae* umumnya dapat menghambat pertumbuhan pathogen yang merugikan kehidupan manusia, diantaranya bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, jamur *Neurospora* sp, *Rhizopus* sp. dan *Penicillium* sp. (Nursal *et al.*, 2006). Dalam beberapa penelitian dinyatakan bahwa minyak atsiri memiliki berbagai manfaat kesehatan dan digunakan dalam aromaterapi, industri farmasi serta untuk aroma dan rasa makanan. Bahkan dilaporkan pula minyak atsiri dari kulit buah jeruk manis pomelo Vietnam memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba tinggi (Viuda Martos, *et al.*, 2008; Choi, 2010; Hung, *et al.*, 2013.; Lan-Phi, *et al.*, 2015). Lebih jauh minyak atsiri dari kulit buah jeruk *C. aurantium* dari Iran, juga memiliki aktivitas

antidermatofit, sitotoksisitas, anxiolytic, obat penenang dan efek gastro-protective (Jong Seok *et al*, 2008; Sanguinetti, *et al* 2007; Carvalho-Freitas dan Costa, 2002; Pultrini, *et al.*, 2006; Moraes, *et al.*, 2009).

## 2. Uji Konsentrasi Minimum Daya Hambat Ekstrak

Rataan daya hambat yang terbentuk pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 9, dan hasil sidik ragam pada Lampiran 1 memperlihatkan bahwa perlakuan faktor A (jenis ekstrak) tidak berbeda nyata terhadap daya hambat sedangkan faktor B (konsentrasi ekstrak) dan interaksi antara faktor A (jenis ekstrak) dengan faktor B (konsentrasi ekstrak) berbeda nyata terhadap daya hambat ( $P < 0,01$ ). Hasil analisis Uji Konsentrasi Minimum Daya Hambat Ekstrak dapat dilihat pada Tabel 9 berikut

Tabel 9. Uji Daya Hambat Berbagai Ekstrak Tumbuhan Terhadap *Aspergillus parasticus* Pada Beberapa Level Konsentrasi (mm)

Jenis Ekstrak (E)	Konsentrasi (K)				Rataan
	K1 (25%)	K2 (50%)	K3 (75%)	K4 (100%)	
Kunyit (E1)	0,72 <sup>Aa</sup>	0,75 <sup>Aa</sup>	0,83 <sup>Aa</sup>	0,85 <sup>Ab</sup>	0,79
Kulit Jeruk (E2)	0,78 <sup>Aa</sup>	0,78 <sup>Aa</sup>	0,78 <sup>Aa</sup>	0,78 <sup>Ab</sup>	0,78
Daun Cengkeh (E3)	0,73 <sup>Ba</sup>	0,79 <sup>Ba</sup>	0,80 <sup>Ba</sup>	1,13 <sup>Aa</sup>	0,86
Temulawak (E4)	0,75 <sup>Aa</sup>	0,78 <sup>Aa</sup>	0,80 <sup>Aa</sup>	0,83 <sup>Ab</sup>	0,79
Rataan	0,74	0,78	0,80	0,90	

Keterangan : Superskrip dengan huruf besar yang berbeda pada baris dan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,01$ ).

Setelah dilakukan uji lanjut DMRT (Lampiran 2) Ekstrak Kunyit (EK), Ekstrak Temulawak (ET) pada level konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap daya hambat ekstrak. Akan tetapi tetap mempunyai kemampuan membentuk zona bening, hal ini berarti mampu menghambat pertumbuhan mikroba uji dengan bervariasinya rata-rata diameter daerah bebas mikroba yang terbentuk disebabkan karena ekstrak segar rimpang jahe-jahean mengandung senyawa anti-mikroba. Mulyani (2010) menambahkan bahwa ekstrak segar rimpang jahe-jahean mengandung beberapa komponen

minyak atsiri yang tersusun dari  $\alpha$ -pinena, kamfena, kariofilena,  $\beta$ -pinena,  $\alpha$ -farnesena, sineol, dl-kamfor, isokariofilena, kariofilenaoksida, dan germakron yang dapat menghasilkan antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba.

Ekstrak Kulit Jeruk (EKJ) pada level konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap daya hambat ekstrak, akan tetapi tetap membentuk zona bening karena terdapat kandungan triterpenoid meskipun lemah dan fenolik. Senyawa dengan golongan terpenoid yaitu limonene berpengaruh terhadap regulasi pertumbuhan fungi patogen, berpotensi sebagai antifidan terhadap zat pengatur tumbuh dan zat toksik dalam proses reproduksi pada fungal. Terpenoid yang bersifat fungistatik dapat menghambat kerja enzim tertentu yang mengakibatkan terganggunya metabolisme sel fungi, sehingga proses pemanjangan hifa fungi menjadi terhambat dan fragmentasi hifa pun menjadi terganggu dan menyebabkan sel fungi tidak dapat berkembang biak dalam waktu tertentu Putri (2013). Menurut Chrisnawati dan Helti (2000) senyawa terpenoid juga dapat mereduksi miselium sehingga terjadi pemendekkan pada ujung hifa. Percabangan juga banyak terjadi tidak seperti biasanya, sehingga akhirnya terbentuk pertumbuhan miselium yang tidak normal. Sedangkan senyawa fenol mempunyai kemampuan membentuk kompleks dengan protein dan polisakarida. Kecenderungan ini diperkirakan bahwa senyawa fenol tersebut mampu menghambat kerja berbagai enzim yang berperan dalam reaksi enzimatik jamur Koussevitzky, *et al* (1998).

Ekstrak Daun Cengkeh (EDC) pada level konsentrasi 25%, 50%, 75% tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata sedangkan pada level konsentrasi 100% memberikan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0.01$ ) terhadap pembentukan daya hambat. Hal ini sejalan dengan penelitian Pinto *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa minyak atsiri cengkeh memiliki aktivitas antifungi dengan spektrum yang luas. Penelitian Karlina dkk (2016) minyak atsiri daun cengkeh terdiri atas eugenol (80,685,1%), asetil eugenol, kariofilen, Bunga Daun-Daun cengkeh mengandung 16-23% minyak atsiri yang terdiri dari 64-85% eugenol, 10% zat samak tipe gallat. Eugenol menghambat biosintesis dari ergosterol – komponen penting dalam membran sel jamur – sehingga membran sel jamur rusak dan fungsinya menurun (De Oliveira *et al.* 2013). Karena termasuk senyawa

lipofilik, eugenol mampu melakukan penetrasi terhadap membran lipid bilayer yang tersusun dari rantai asam lemak sehingga mengubah fluiditas dan permeabilitas membran sel (Braga *et al.*, 2007).

Dari Tabel 9 juga dapat dilihat semua ekstrak menunjukkan zona hambat pada konsentrasi 25% terhadap *Aspergillus parasiticus*, namun besarnya daya hambat (zona terang yang terbentuk) berbeda-beda. Hal ini berarti konsentrasi hambat minimum (MIC = Minimum Inhibition Concentration) semua ekstrak adalah 25% terhadap *Aspergillus parasiticus*. Daya hambat terkecil ditunjukkan oleh EK pada konsentrasi 25% dengan diameter sebesar 0,72 mm dan terbesar ditunjukkan oleh EDC pada konsentrasi 100 % dengan diameter 1,13 mm terhadap *Aspergillus parasiticus*. Hal ini mungkin disebabkan karena jenis metabolik sekunder yang terkandung pada ekstrak tersebut, dimana pada EK hanya satu jenis metabolik sekunder yang teridentifikasi yaitu triterpenoid, sedangkan pada EDC terdapat tiga jenis metabolik sekunder yaitu fenolik, triterpenoid dan kumarin seperti yang ditunjukkan pada Tabel 8. Hal ini sesuai dengan pendapat Ria (2011) bahwa ekstrak kasar masih mengandung senyawa lain yang bukan merupakan senyawa antioksidan yang ikut larut selama proses ekstraksi sehingga dapat meningkatkan nilai rendemen ekstrak yang diduga memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Selain jenis metabolik sekunder yang terkandung, konsentrasi ekstrak juga mempengaruhi pembentukan diameter zona bening, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar diameter zona bening yang terbentuk. Menurut Martoredjo (1989) bahwa konsentrasi suatu bahan yang berfungsi sebagai antimikroba merupakan salah satu faktor penentu besar kecilnya kemampuan dalam menghambat pertumbuhan mikroba yang diuji. Penelitian Velázquez-Nuñez, *et al.* (2012) menunjukkan bahwa pada kedua metode paparan uap atau penambahan langsung minyak atsiri kulit jeruk, pertumbuhan *Aspergillus flavus* menurun ketika meningkatkan konsentrasi minyak esensial.

### 3. Uji Aktifitas Antifungi Ekstrak Terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur

Rataan aktifitas antifungi ekstrak terhadap pertumbuhan *Aspergillus parasiticus* pada setiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 10. Hasil sidik ragam

pada Lampiran 3 memperlihatkan bahwa perlakuan faktor A (jenis ekstrak), faktor B (konsentrasi ekstrak) dan interaksi faktor A (jenis ekstrak) dengan faktor B (konsentrasi ekstrak) terdapat interaksi yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap aktifitas antifungi pertumbuhan koloni jamur.

Tabel 10. Uji Aktifitas Antifungi Berbagai Ekstrak Tumbuhan Terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur *Aspergillus parasiticus* (%).

Jenis Ekstrak (E)	Konsentrasi (K)				Rataan
	K1 (25%)	K2 (50%)	K3 (75%)	K4 (100%)	
Kunyit (E1)	70,08 <sup>Cb</sup>	75,41 <sup>BCb</sup>	86,48 <sup>ABa</sup>	95,08 <sup>Aab</sup>	81,76
Kulit Jeruk (E2)	51,64 <sup>Cc</sup>	59,02 <sup>Cc</sup>	72,13 <sup>Bb</sup>	86,07 <sup>Aab</sup>	67,22
Daun Cengkeh (E3)	36,89 <sup>Bd</sup>	50,41 <sup>Bc</sup>	71,31 <sup>Bb</sup>	74,59 <sup>Ab</sup>	58,30
Temulawak (E4)	93,44 <sup>Aa</sup>	93,85 <sup>Aa</sup>	94,26 <sup>Aa</sup>	95,49 <sup>Aa</sup>	94,26
Rataan	63,01	69,67	81,04	87,81	

Keterangan : Superskrip dengan huruf besar yang berbeda pada baris dan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,01$ ).

Setelah dilakukan uji lanjut DMRT (Lampiran 4) pada EK konsentrasi 25% dengan 50%, konsentrasi 50% dengan 75 dan konsentrasi 75% dengan 100% tidak terdapat perbedaan yang sangat nyata. Pada EKJ konsentrasi 25 % dengan 50% tidak menunjukkan perbedaan yang sangat nyata sedangkan konsentrasi 75% dan 100% menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ). Pada EDC konsentrasi 25%, 50% dan 75 % tidak menunjukkan perbedaan yang sangat nyata sedangkan pada konsentrasi 100% menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ). Pada ET semua level konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan yang sangat nyata. Pada semua jenis ekstrak mempunyai aktifitas antifungi meskipun berbeda besarnya aktifitas antifungi yang terbentuk, hal ini disebabkan karena terdapat metabolik sekunder jenis triterpenoid. Dimana senyawa golongan triterpenoid menunjukkan aktivitas farmakologi yang signifikan, seperti antiviral, antibakteri, antiinflamasi, sebagai inhibisi terhadap sintesis kolesterol dan sebagai antikanker sedang bagi tumbuhan yang mengandung senyawa triterpenoid terdapat nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai antifungus, insektisida, antipemangsa, antibakteri dan antivirus. Terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur.

Senyawa senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur. Natta *et al.* (2008), mengungkapkan bahwa mekanisme penghambatan oleh senyawa terpenoid masih belum diketahui dengan jelas. Namun dengan adanya sifat hidrofobik atau lipofilik pada senyawa terpenoid kemungkinan menyebabkan kerusakan sitoplasmik membran, koagulasi sel, dan terjadinya gangguan proton pada sel jamur.

Dari Tabel 10 menunjukkan bahwa aktifitas antifungi terendah pada EDC konsentrasi 25% sebesar 36,89% dan tertinggi pada ET konsentrasi 100% sebesar 95,49%. Hal ini berbeda dengan yang ditunjukkan pada pengukuran daya hambat dimana ekstrak terbaik yaitu EDC Konsentrasi 100%. Kejadian ini dapat dimungkinkan karena tidak semua minyak atsiri mempunyai efek negatif terhadap cendawan. Menurut Kishore, *et al.* (2007) senyawa atsiri citral, eugenol, geraniol, limonene dan linalool memiliki efek yang berbeda terhadap lima jenis cendawan (*alternaria altemata*, *Aspergillus flavus*, *Curvularia lunata*, *Fusarium monoliforme*, *F. pallidoroseum* dan *Phoma shorgina*). Berdasarkan Tabel 8 identifikasi metabolik sekunder EDC terdapat 2 kandungan fenolik dan triterpenoid yang sangat kuat hal ini bisa mengakibatkan terjadinya kompetisi yang negatif karena fungi mempunyai kemampuan menggunakan nitrogen organik dan senyawa lain untuk sumber bahan metabolismenya baik secara anabolisme maupun katabolisme. Hal ini sesuai dengan pendapat Mujiyarto (2008) yaitu fungi dapat menghidrolisis senyawa-senyawa toksik yang sulit diurai menjadi senyawa yang lebih sederhana yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme itu sendiri atau lainnya seperti fenol dan derivatnya yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon dan energi oleh *Aspergillus sp.* Slaughter (1988) mengemukakan sebagian besar fungi dapat tumbuh baik dalam medium yang mengandung glutamine, asparmin dan arginin diikuti dengan asam glutamat, asam aspartat dan alanin. Mujiyarto (2008) menambahkan bahwa metabolisme fungi lebih kompleks daripada bakteri karena fungi merupakan mikroorganisme eukariotik yang sangat bervariasi kemampuannya memanfaatkan nutrient dari lingkungan dan kemampuan metabolisme yang dimiliki oleh fungi juga sangat bervariasi.



Senyawa antioksidan yang dapat menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Senyawa fenolik dan flavonoid merupakan sumber antioksidan alami yang biasanya terdapat dalam tumbuhan. Selain itu, antioksidan memiliki kemampuan dalam memberikan elektron, mengikat dan mengakhiri reaksi berantai radikal bebas yang mematikan. Antioksidan yang dipakai kemudian didaur ulang oleh antioksidan lain untuk mencegahnya menjadi radikal bebas (bagi dirinya sendiri) atau tetap dalam bentuk tersebut tetapi dengan struktur. Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan dan fenol dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain kemampuan dalam menyeimbangkan radikal bebas agar tidak terjadi kerusakan sel yang berlebih. Cao *et al.* (1997) menyatakan, tingginya aktivitas antioksidan dan polifenol dapat terjadi karena faktor dari sifat redoks seperti penerapan maupun kemampuan menetralkan radikal bebas. Hal ini diduga karena senyawa bioaktif pada ekstrak tidak dapat menghambat sintesis polimer dinding sel *Aspergillus flavus* sehingga tidak berpengaruh pada pertumbuhan jamur tersebut. Zacchino *et al.* (2003), menyatakan bahwa secara umum komponen utama dinding sel cendawan adalah (1,3)- $\beta$  dan (1,6)- $\beta$  glukukan, khitin, dan manoprotein. (1,3)- $\beta$  glukukan sangat penting untuk pertumbuhan normal dan perkembangan cendawan karena polimerisasi (1,3)- $\beta$  glukukan dikatalisir dengan bantuan enzim sintase (1,3) $\beta$  glukukan. Diperkirakan bahwa senyawa bioaktif dapat menghambat sintesis polimer dinding sel dengan menghambat kerja enzim sintase (1,3)- $\beta$  glukukan.

Dan juga dari Tabel 10 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin tinggi aktifitas antifungi pertumbuhan koloni jamur hal ini disebabkan karena adanya aktifitas antifungi pada ekstrak tersebut. Sesuai dengan pendapat Selvyana (2012) bahwa setiap adanya penambahan konsentrasi ekstrak memperlihatkan adanya penambahan daya hambat, karena semakin besar konsentrasi ekstrak yang terdapat dalam medium maka jumlah ekstrak yang berdifusi ke dalam sel jamur semakin meningkat sehingga menyebabkan terganggunya pertumbuhan jamur bahkan menyebabkan kematian. Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain: (1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel, (2)

peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan cairan sel, (3) menginaktivasi enzim, dan (4) destruksi atau fungsi material genetik (Anonymus, 2007). Terjadinya penghambatan mikroba terhadap pertumbuhan koloni bakteri juga disebabkan karena kerusakan yang terjadi pada komponen struktural membran sel bakteri. Membran sel yang tersusun atas protein dan lipid sangat rentan terhadap zat kimia yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transport nutrisi (senyawa dan ion) sehingga sel bakteri mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi pertumbuhannya (Volk dan Wheeler, 1991).

Velázquez-Nuñez (2012) menyebutkan konsentrasi minyak atsiri lebih tinggi diperlukan untuk menunda pertumbuhan jamur; dan dilaporkan efek penghambatan sinergis dari komposisi gas di sekitarnya dari senyawa volatil minyak atsiri. Carson, *et al.*, (2002) dan Tyagi dan Malik (2011) menyatakan bahwa minyak atsiri menyebabkan perubahan yang berbeda pada sifat dan fungsi membran sel mikroba dengan meningkatkan fluiditas membran dan mengubah permeabilitas membran; sementara konsentrasi rendah mengubah permeabilitasnya, konsentrasi tinggi menyebabkan kerusakan parah, kehilangan homeostasis, dan kematian. Nychas (1995) melaporkan bahwa beberapa komponen minyak atsiri dapat mengubah ukuran enzim yang bertanggung jawab untuk spora germinasi, produksi energi dan sintesis senyawa struktural atau mengganggu asam amino yang terlibat dalam perkecambahan.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, aktivitas antijamur ekstrak diduga berhubungan dengan kandungan senyawa fitokimia yang berada di dalam ekstrak tersebut. Senyawa fitokimia yang diduga memiliki kemampuan sebagai antijamur seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid (Vibrianthi, 2011). Dan menurut Selvyana, dkk (2012) terbentuknya zona hambatan di sekitar sumur sampel menunjukkan ekstrak rimpang mengandung bahan senyawa fungisida terhadap jamur *Aspergillus flavus*. Kerusakan yang ditimbulkan komponen antimikroba dapat bersifat fungisidal (membunuh jamur) dan fungistatik (menghentikan sementara pertumbuhan jamur). Suatu komponen akan bersifat fungisidal atau fungistatik tergantung pada sifat senyawa aktifnya, konsentrasi, dan media yang digunakan. Kerusakan yang ditimbulkan komponen

antimikroba dapat bersifat fungisidal (membunuh jamur) dan fungistatik (menghentikan sementara pertumbuhan jamur). Suatu komponen akan bersifat fungisidal atau fungistatik tergantung pada sifat senyawa aktifnya, konsentrasi, dan media yang digunakan. Terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur. Senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur (Lutfiyanti dkk., 2012). Yuharmen, dkk (2002) menyatakan bahwa efek antimikroba dari senyawa terpenoid adalah kemampuannya merusak membran sel bakteri, sedangkan minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel; membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna, sehingga tekanan osmosis sel terganggu dan mikroba mati. Ditambahkan oleh Nursal *et al.*, (2006) rimpang jahe-jahean mengandung senyawa antimikroba golongan fenol, flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri yang terdapat pada ekstrak jahe merupakan golongan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Terhambatnya pertumbuhan mikroba oleh ekstrak segar rimpang jahe-jahean disebabkan karena adanya senyawa bioaktif yang terkandung didalam ekstrak. Mulyani (2010) menyatakan bahwa ekstrak segar rimpang jahe-jahean mengandung beberapa komponen minyak atsiri yang tersusun dari  $\alpha$ -pinena, kamfena, kariofilena,  $\beta$ -pinena,  $\alpha$ -farnesena, sineol, dl-kamfor, isokariofilena, kariofilenaoksida, dan germakron yang dapat menghasilkan antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba.

## **B. Penelitian Tahap II (Uji Kemampuan Antifungi dan Kemampuan Ekstrak Mempertahankan Kandungan Nutrisi Jagung )**

Berdasarkan hasil penelitian tahap pertama (I) maka konsentrasi terbaik yang digunakan untuk ke tahap penelitian selanjutnya atau tahap ke dua (II) adalah perlakuan jenis ekstrak pada tingkat konsentrasi 100%.

## 1. Pengukuran Kadar Air

Rataan kandungan kadar air pada jagung yang pada setiap perlakuan dan lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 11. Hasil sidik ragam pada Lampiran 5 memperlihatkan bahwa antara perlakuan faktor A (jenis ekstrak), faktor B (lama penyimpanan) dan interaksi faktor A (jenis ekstrak) dengan faktor B (lama penyimpanan) terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kadar air jagung.

Tabel 11. Pengaruh Ekstrak Terhadap Kadar Air Pada Beberapa Lama Penyimpanan Jagung (%)

Jenis Ekstrak	Lama Penyimpanan (Hari)					Rataan
	0	7	14	21	28	
Ekstrak Kunyit	13,53 <sup>Aa</sup>	12,82 <sup>Ba</sup>	12,21 <sup>Ca</sup>	11,85 <sup>Ca</sup>	11,74 <sup>Ca</sup>	12,43
Ekstrak Kulit Jeruk	14,05 <sup>Aa</sup>	12,52 <sup>Ba</sup>	11,56 <sup>Cb</sup>	11,48 <sup>Cab</sup>	11,34 <sup>Cab</sup>	12,19
Ekstrak Daun Cengkeh	12,69 <sup>Ab</sup>	12,47 <sup>Aa</sup>	11,12 <sup>Bb</sup>	10,41 <sup>Cc</sup>	10,40 <sup>Cc</sup>	11,42
Ekstrak Temulawak	12,71 <sup>Ab</sup>	11,88 <sup>Bb</sup>	11,34 <sup>Cb</sup>	11,32 <sup>Cb</sup>	11,30 <sup>Cab</sup>	11,71
Rataan	13,25	12,42	11,56	11,26	11,20	

Keterangan: Superskrip dengan huruf besar yang berbeda pada baris dan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,01$ ).

Setelah dilakukan uji lanjut DMRT (Lampiran 6) pada perlakuan EK, EKJ, dan ET pada lama penyimpanan 0 dengan 7 hari berbeda sangat nyata ( $p < 0,01$ ) sedangkan pada lama 14, 21 dan 28 hari tidak berbeda nyata. Pada EDC penyimpanan 0, 7, 21 dan 28 hari tidak berbeda nyata sedangkan penyimpanan 14 hari berbeda sangat nyata. Hal ini disebabkan bahwa suhu optimum dan waktu memproduksi aflatoxin oleh *Aspergillus flavus* adalah 25°C dalam waktu 7-9 hari, suhu 30°C dalam waktu 5-7 hari, dan pada suhu 20°C dibutuhkan waktu 11-13 hari. Sebagian besar total aflatoxin diproduksi pada suhu 25°C sampai 30°C selama masa inkubasi 7-15 hari (Diener and Davis, 1969). Sehingga pada rentang waktu tersebut terjadi fase dimana *Aspergillus flavus* dalam memproduksi aflatoxin membutuhkan air untuk metabolismenya.

Pada Tabel 11 ini juga dapat dilihat bahwa makin lama penyimpanan jagung maka kadar air pada jagung akan berkurang. Hal ini disebabkan

pertumbuhan dan aktivitas metabolisme jasad renik membutuhkan air untuk mengangkut zat-zat gizi atau bahan-bahan limbah ke dalam dan keluar sel. Seluruh aktivitas ini membutuhkan air dalam bentuk cair. Air yang mengalami kristalisasi dan membentuk es atau air yang terikat secara kimiawi dalam larutan gula atau garam tidak dapat digunakan jasad renik.  $A_w$  minimum untuk pertumbuhan kapang adalah 0,80 (Syarief, *et al.*, 2003). Kapang biasanya tumbuh pada kondisi lingkungan yang lembab dan secara umum kapang tumbuh pada kelembaban udara relatif diatas 80%. Hal ini sesuai dengan penelitian Widianingrum, dkk (2010) pada penyimpanan jagung empat minggu pertama kadar air mengalami penurunan dari kadar air pada awal penyimpanan. Susanto (2008) menyebutkan bahwa faktor ekologis yang mempengaruhi pertumbuhan cendawan adalah aktifitas air ( $a_w$ ), kadar air, suhu, substrat  $O_2$ ,  $CO_2$ , interaksi mikroba, kerusakan mekanis, infeksi serangga, jumlah spora, dan lama penyimpanan. Ditambahkan Syarief, *et al* (2003) yaitu pertumbuhan dan aktifitas metabolisme jasad renik membutuhkan air untuk mengangkut zat-zat gizi atau bahan-bahan limbah ke dalam dan ke luar sel. Seluruh aktifitas ini memerlukan air dalam bentuk cair.

Susanto (2008) juga mengemukakan bahwa kadar air berkorelasi positif dengan aktifitas air ( $a_w$ ) dalam biji maupun dalam giling di ketiga tingkatan pengelola karena aktifitas air merupakan air bebas yang dapat digunakan jasad renik, semakin besar kandungan air dalam material akan memiliki kecenderungan pula ketersediaan air bebas yang dapat digunakan metabolisme jasad renik, maka kedua variable tersebut memiliki hubungan korelasi positif.

## **2. Pengukuran Kadar Protein Kasar**

Rataan kandungan kadar protein kasar jagung pada setiap perlakuan dan lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 12. Hasil sidik ragam pada Lampiran 5 memperlihatkan bahwa antara perlakuan faktor A (jenis ekstrak), dan interaksi faktor A (jenis ekstrak) dengan faktor B (lama penyimpanan) tidak terdapat perbedaan yang sangat nyata, sedangkan faktor B (lama penyimpanan) terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kadar air jagung.

Tabel 12. Pengaruh Ekstrak Terhadap Kadar Protein Pada Beberapa Lama Penyimpanan Jagung (%).

Jenis Ekstrak	Lama Penyimpanan (Hari)					Rataan
	0	7	14	21	28	
Ekstrak Kunyit	8,34	8,69	8,71	8,72	8,75	8,64
Ekstrak Kulit Jeruk	8,38	8,49	8,74	8,75	8,78	8,63
Ekstrak Daun Cengkeh	8,44	8,65	8,66	8,68	8,71	8,63
Ekstrak Temulawak	8,62	8,66	8,67	8,72	8,80	8,69
Rataan	8,44 <sup>B</sup>	8,62 <sup>A</sup>	8,69 <sup>A</sup>	8,72 <sup>A</sup>	8,76 <sup>A</sup>	

Keterangan: Superskrip dengan huruf besar yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,01$ ).

Setelah dilakukan uji lanjut DMRT (Lampiran 8) faktor B (lama penyimpanan) untuk kadar protein terendah pada penyimpanan 0 hari sebesar 8,44% dan tertinggi pada penyimpanan 28 hari sebesar 8,78%. Dari Tabel 12 dapat dilihat bahwa makin lama penyimpanan jagung maka kandungan protein kasar pada jagung akan meningkat pada penyimpanan dari 0 hari ke 7, sedangkan dari 7 hari sampai penyimpanan 28 hari tidak terlalu signifikan/relative stabil. Peningkatan protein ini mungkin disebabkan karena adanya aktifitas metabolisme jamur dan keberadaan jamur pada pakan sehingga dapat meningkatkan kandungan protein pada pakan. Hal ini sesuai dengan FAO (1992) dalam Susi (2011), jamur memiliki kandungan protein yang cukup tinggi mencapai 13,8%. Sehingga kandungan protein jamur dapat meningkatkan kadar protein pakan. Purwadaria (1998) dalam Haryati (2006), jamur *Aspergillus* dapat menghasilkan enzim hidrolitik mananase dan selulase yang dapat menurunkan serat kasar dan meningkatkan protein kasar. Ditambahkan Lim *et al.* (2001) dalam Simon (2006) menyatakan fermentasi bahan pakan dengan menggunakan *Aspergillus flavus* dapat meningkatkan kadar protein kasar. Lina, dkk (2012) mengatakan *R. oryzae* mampu meningkatkan kadar protein dan menurunkan kadar HCN dari tepung mocaf. Sugiyono (2008) dalam Ria (2012), fermentasi *Aspergillus niger* pada ampas sagu dapat meningkatkan kadar protein sebesar 1,9% dalam waktu 12 hari. *Aspergillus niger* secara kultur tunggal sering digunakan dalam pengolahan pakan

karena kemampuannya dalam degradasi selulosa maupun pati dan meningkatkan kadar protein.

Syaifurrisal (2014) menambahkan bahwa penambahan volume air pada pakan komersial dapat mengakibatkan penurunan kadar protein kasar pada sampel yang belum disimpan, sedangkan sampel yang sudah disimpan menunjukkan nilai protein kasar yang meningkat. Menurut Takahashi dan Kiyosha (1928), pada komoditas jiwawut, dengan menggunakan metode kimia dapat dilihat bahwa sejumlah besar perubahan kimia terjadi dalam protein jiwawut selama masa penyimpanan. Pemecahan protein terjadi karena adanya hidrolisa oleh enzim proteolitik menjadi polipeptida, yang kemudian menghasilkan asam amino. Fennema (1985) menyebukan proses ini berjalan lambat selama proses pematangan buah atau biji-bijian, pada awal penyimpanan, kadar protein biji jagung adalah 5,90% dan meningkat pada minggu ke-2 menjadi 6,08%; 6,76%; 7% dan 6,28% pada penyimpanan dengan perlakuan kontrol terbuka, CO<sub>2</sub> 0 %, CO<sub>2</sub> 40%, dan CO<sub>2</sub> 70% dan walaupun ada beberapa fluktuasi, namun kadarnya relatif stabil sampai 8 minggu penyimpanan. Menurut Winarno (1997), selama penyimpanan tepung-tepungan, nitrogen total sebagian besar tidak mengalami perubahan, akan tetapi nitrogen dari protein sedikit menurun. Perlakuan penyimpanan biji jagung dengan perlakuan CO<sub>2</sub> dapat mempertahankan kandungan protein sehingga tetap stabil dan bahkan cenderung meningkat pada penyimpanan sampai minggu ke-8.

### **3. Pengukuran Kandungan Gross Energi**

Rataan kandungan gross energi jagung pada setiap perlakuan dan lama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 13. Hasil sidik ragam pada Lampiran 8 memperlihatkan bahwa perlakuan faktor A (jenis ekstrak) dan interaksi faktor A dengan faktor B tidak terdapat perbedaan yang sangat nyata sedangkan faktor B (lama penyimpanan) terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kandungan gross energi jagung.

Tabel 13. Pengaruh Ekstrak Terhadap Kandungan Gross Energi Pada Beberapa Lama Penyimpanan Jagung (kal/g)

Jenis Ekstrak	Lama Penyimpanan (Hari)					Rataan
	0	7	14	21	28	
Ekstrak Kunyit	3797,52	3885,22	3899,03	3915,92	3927,73	3885,08
Ekstrak Kulit Jeruk	3886,16	3891,07	3922,83	3925,01	3928,83	3910,78
Ekstrak Daun Cengkeh	3844,78	3863,73	3927,40	3931,54	3941,85	3901,86
Ekstrak Temulawak	3850,24	3905,17	3943,80	3947,87	3951,93	3919,80
Rataan	3844,68 <sup>B</sup>	3886,30 <sup>AB</sup>	3923,27 <sup>A</sup>	3930,09 <sup>A</sup>	3937,58 <sup>A</sup>	

Keterangan: Superskrip dengan huruf besar yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,01$ ).

Setelah dilakukan uji lanjut DMRT (Lampiran 10) faktor B (Lama Penyimpanan) pada penyimpanan 0 dengan 7 hari tidak berbeda nyata, penyimpanan 7, 14, 21 dan 28 hari juga tidak berbeda nyata. Hal ini disebabkan karena penambahan ekstrak dapat melindungi jagung dari serangan jamur sehingga kandungan nutrisi jagung tidak terlalu banyak terdegradasi oleh metabolisme jamur tersebut. Nafiah (2009) dalam penelitiannya penambahan asam propionat dapat mencegah berkembangbiaknya kapang dengan cara merusak sel membran, mengganggu keaktifan enzim–enzim yang ada dalam sel dan menghambat transport nutrient mikroba karena struktur 3 atom karbonnya tidak bisa diurai oleh mikroba yang dapat menyebabkan kerusakan bahan sehingga kualitas dapat dipertahankan.

Dari Tabel 13 dapat dilihat bawah makin lama penyimpanan jagung kandungan gross energi akan meningkat meskipun tidak berbeda nyata, hal itu disebabkan selain metabolisme jamur membutuhkan karbohidrat dan derivatnya sebagai substrat utama, yang mana karbohidrat dapat dioksidasi menjadi energi kimia yang tersedia di dalam sel dalam bentuk ATP dan nukleotida phosphopyridine tereduksi. Juga ditambahkan Susanto (2008) bahwa bahan organik akan meningkat jika kadar air turun atau bahan organik akan meningkat jika nilai  $a_w$  baik dalam bentuk giling maupun biji turun, begitu juga sebaliknya. Penurunan kadar air pada batas yang aman, selain melindungi dari serangan



cendawan penghasil aflatoksin juga meningkatkan konsentrasi nutrient dalam jagung..

#### 4. Pengukuran % Jagung Tercemar Jamur/Kapang secara Kualitatif secara Visual

Rataan % jagung yang tercemar jamur/kapang dapat dilihat pada Tabel 14. Hasil sidik ragam pada Lampiran 11 memperlihatkan bahwa perlakuan jenis ekstrak, lama penyimpanan dan jenis ekstrak dengan lama penyimpanan terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap % jagung tercemar jagung/kapang Tabel 14. Pengaruh Ekstrak Terhadap Prosentase Jagung Tercemar Jamur/Kapang Pada Beberapa Lama Penyimpanan Jagung (%).

Jenis Ekstrak	Lama Penyimpanan (Hari)					Rataan
	0	7	14	21	28	
Ekstrak Kunyit	0,00 <sup>Ea</sup>	3,33 <sup>Da</sup>	3,98 <sup>Ca</sup>	15,69 <sup>Ba</sup>	19,52 <sup>Ab</sup>	10,63
Ekstrak Kulit Jeruk	0,00 <sup>Ea</sup>	1,58 <sup>Db</sup>	4,27 <sup>Ca</sup>	14,83 <sup>Bb</sup>	20,12 <sup>Aa</sup>	10,20
Ekstrak Daun Cengkeh	0,00 <sup>Da</sup>	1,83 <sup>Cb</sup>	1,93 <sup>Cb</sup>	14,25 <sup>Bb</sup>	17,11 <sup>Ac</sup>	8,78
Ekstrak Temulawak	0,00 <sup>Da</sup>	3,71 <sup>Ca</sup>	3,77 <sup>Ca</sup>	11,89 <sup>Bc</sup>	16,78 <sup>Ac</sup>	9,04
Rataan	0,00	7,66	11,12	47,75	60,94	

Keterangan: Superskrip dengan huruf besar yang berbeda pada baris dan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,01$ ).

Setelah dilakukan uji DMRT (Lampiran 12) pada EK dan EKJ pada semua lama penyimpanan berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ). Pada EDC dan ET pada penyimpanan 7 dan 14 hari tidak berbeda nyata sedangkan 0, 21 dan 28 hari terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $p < 0,01$ ). Berdasarkan Tabel 14 juga dapat dilihat bahwa pada semua perlakuan yang diberikan ekstrak mulai tumbuh jamur pada penyimpanan 7 hari. Hal ini disebabkan karena berdasarkan data di Tabel 11, pada saat awal (0 hari) penyimpanan kadar air rata-rata jagung yang diberi ekstrak sebesar 13,25%. Hal ini mengakibatkan kondisi lingkungan tersebut optimum bagi jamur untuk pertumbuhannya. Karena faktor kadar air, suhu dan kelembaban relatif menjadi faktor utama dalam pertumbuhan jamur. Hal ini sesuai dengan pendapat Titik *et al.* (2001) menyatakan bahwa *Aspergillus flavus* mulai terdeteksi pada penyimpanan jagung sewaktu 2 minggu dan cendawan *Aspergillus flavus*

dan *Aspergillus parasiticus* mampu tumbuh pada kadar air rendah. Dimana menurut Christensen and Kaufmann, 1969 suhu optimum dan waktu memproduksi aflatoksin oleh *Aspergillus flavus* adalah 25°C dalam waktu 7-9 hari, suhu 30°C dalam waktu 5-7 hari, dan pada suhu 20°C dibutuhkan waktu 11-13 hari dan kelembaban udara relatif diatas 80%. Kondisi Indonesia yang rata-rata kisaran suhunya sekitar 30°C maka waktu yang dibutuhkan untuk perkembangan jamur sekitar 5-7 hari. Ditambahkan oleh (Diener and Davis, 1969) sebagian besar total aflatoksin diproduksi pada suhu 25°C sampai 30°C selama masa inkubasi 7-15 hari. Christensen and Kaufmann, 1969 mengemukakan bahwa jagung akan aman disimpan pada tingkat kadar air kurang dari 12%, sedangkan pada kadar air >13 – 18% kapang akan menyerang. Syarief dan Halid (1999) menambahkan bahwa pertumbuhan kapang terjadi pada suhu 26–35°C dan kelembaban relative 70–90%.

Pada lama penyimpanan 0 hari belum terdeteksi jamur/kapang, mulai tumbuh jamur/kapang pada penyimpanan 7 hari dan terus meningkat. Dimana prosentase jagung tercemar kapang pada lama penyimpanan 7 hari pada EK, EKJ, EDC, ET dan KA berturut-turut sebesar 3,33%; 1,58%; 1,83%; dan 3,71%, terus meningkat pada lama penyimpanan 28 hari sebesar secara berturut 19,52%; 20,12%; 17,11%; 16,78%, dapat dilihat bahwa makin lama penyimpanan jagung makin meningkatnya prosentase jagung yang tercemar jamur/kapang. Hal ini sesuai dengan pendapat Christensen and Kaufmann (1969) bahwa kadar air yang aman untuk penyimpanan bahan pangan selama 2 minggu belum tentu aman untuk penyimpanan selama 2 bulan, begitu pula kadar air yang aman untuk penyimpanan 2 bulan belum tentu aman untuk penyimpanan 2 tahun. Jadi pemberian ekstrak ini hanya menghambat pertumbuhan jamur/kapang bukan mematikan jamur/kapang. Cushnie dan Lamb (2005) menyatakan bahwa penambahan zat anti cendawan dapat meningkatkan kualitas zat aktif. Ditambahkan Nafiah (2009) pengawetan merupakan salah satu usaha untuk menghambat atau mencegah terjadinya kerusakan, mempertahankan mutu, menghindari terjadinya kerusakan, memudahkan penanganan dan penyimpanan dan daya kerja bahan pengawet umumnya dengan cara: mengganggu cairan nutrient dalam sel mikroba atau dengan merusak sel membran, mengganggu

aktivitas enzim–enzim yang ada dalam sel mikroba, mengganggu sistem genetika dari mikroba. Mekanisme kerja bahan pengawet yang terdiri dari asam–asam organik, berdasarkan permeabilitas dari membran sel mikroba terhadap molekul–molekul asam yang tidak terdisosiasi (*undissociated acid*). Penambahan aditif pada perlakuan tersebut dapat melindungi bahan dari serangan kapang dan khamir yang memanfaatkan kandungan nutrient bahan sehingga menurunkan kandungan bahan kering dan bahan organik.

Garcia dan Park (1999) menyatakan bahwa biji rusak jagung akan menyediakan dan memudahkan rute infeksi dan pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan produksi aflatoxin dibandingkan dengan cendawan lain sehingga dapat merusak bahan pakan. Nafiah (2009) menambahkan pada penyimpanan jagung selama 6 minggu mengalami peningkatan yang nyata perubahan total biji jagung yang rusak jika dibandingkan dengan minggu sebelumnya. Hal ini juga bisa menjadi salah satu faktor penyebab terjadinya pertumbuhan jamur/kapang. Dimana faktor yang mempengaruhi keretakan biji yaitu: terjadi perubahan kadar air akibat perubahan cuaca, pemipilan yang tidak benar dan serangan hama gudang. Kerusakan bahan pakan akibat perubahan kadar air merupakan kasus yang paling sering terjadi, sehingga mempermudah pertumbuhan mikroorganisme terutama kapang. Mikroorganisme mengambil dan memakan zat makanan dari biji–bijian atau bahan baku lain yang menyebabkan rusaknya lapisan pelindung bahan. Selain menyebabkan kerusakan secara fisik karena sifatnya yang suka bermigrasi, mikroorganisme dapat memindahkan spora jamur perusak bahan pakan dan membuka jalan bagi kontaminasi mikroorganisme lain seperti kapang yang menghasilkan mikotoksin yang dapat meningkatkan kerusakan bahan pakan seperti biji berlubang, hancur dan pecah. Imdad dan Nahwangsih (1995) menambahkan bahwa fruktusasi suhu dan kelembaban lingkungan penyimpanan secara alamiah akan menyebabkan terjadinya pergerakan (perpindahan) uap air dari bahan sehingga akan mendorong terjadinya kerusakan kualitatif (secara fisik) pada bahan yang disimpan. Hal yang tidak menguntungkan dalam penyimpanan adalah hilangnya nutrient atau zat–zat tertentu yang dibutuhkan baik oleh ternak maupun manusia selama proses penyimpanan.

## 5. Pengukuran % Jagung Tercemar Aflatoksin secara Kualitatif Menggunakan Sinar Ultraviolet

Rataan % jagung yang tercemar aflatoksin yang dilihat menggunakan sinar ultraviolet dapat dilihat pada Tabel 15. Hasil sidik ragam pada Lampiran 13 memperlihatkan memperlihatkan bahwa perlakuan jenis ekstrak, lama penyimpanan dan jenis ekstrak dengan lama penyimpanan terdapat perbedaan yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap % jagung tercemar aflatoksin.

Tabel 15. Pengaruh Ekstrak Terhadap Prosentase Jagung Tercemar Aflatoksin Pada Beberapa Lama Penyimpanan Jagung (%).

Jenis Ekstrak	Lama Penyimpanan (Hari)					Rataan
	0	7	14	21	28	
Ekstrak Kunyit	0,00 <sup>Ca</sup>	0,00 <sup>Ca</sup>	0,00 <sup>Ca</sup>	8,86 <sup>Bd</sup>	19,09 <sup>Ac</sup>	5,59
Ekstrak Kulit Jeruk	0,00 <sup>Ca</sup>	0,00 <sup>Ca</sup>	0,00 <sup>Ca</sup>	11,94 <sup>Bc</sup>	24,61 <sup>Aa</sup>	7,31
Ekstrak Daun Cengkeh	0,00 <sup>Ca</sup>	0,00 <sup>Ca</sup>	0,00 <sup>Ca</sup>	18,89 <sup>Ba</sup>	21,73 <sup>Ab</sup>	8,13
Ekstrak Temulawak	0,00 <sup>Ca</sup>	0,00 <sup>Ca</sup>	0,00 <sup>Ca</sup>	16,20 <sup>Bb</sup>	18,10 <sup>Ac</sup>	6,86
Rataan	0,00	0,00	0,00	13,97	20,88	

Keterangan: Superskrip dengan huruf besar yang berbeda pada baris dan huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,01$ ).

Setelah dilakukan uji DMRT (Lampiran 14) setiap ekstrak EDC, EKC. EDC dan ET mulai tumbuh aflatoksin pada penyimpanan 21 hari secara berturut-turut sebesar 8,86%; 11,94%; 18,89%; 16,20%; 36,55% dan meningkat pada penyimpanan 28 hari sebesar 19,09%; 24,61%; 21,73%; dan 18,10%. Pada pengukuran % jagung tercemar aflatoksin secara kualitatif ini menggunakan sinar ultraviolet (UV) dimana prinsip pengukuran ini berdasarkan sifat dari metabolik sekunder *Aspergillus flavus* yaitu dimana sifat toksisitas *Aspergillus flavus* di alam secara garis besar dapat dikelompokkan menjadi aflatoksigenik (atau dikenal juga dengan strain toksik) dan non toksik. Strain toksik merupakan strain yang mampu menghasilkan metabolit sekunder aflatoksin, sedangkan strain non toksik adalah strain yang tidak menghasilkan toksin. Strain toksik mampu menghasilkan warna perpendaran fluoresen biru pada pengamatan di bawah sinar UV ( $\lambda = 365$  nm) yang tidak ditemui pada strain non toksik. Rahmianna, dkk (2003) menyebutkan senyawa-senyawa toksin tersebut diberi nama sesuai dengan

karakteristik warna fluoresen pada saat pendeteksian menggunakan gelombang ultraviolet 1 ( $\lambda = 365 \text{ nm}$ ) setelah pemisahan senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis (*thin layer chromatography*). AfB<sub>1</sub> dan AfB<sub>2</sub> menghasilkan warna fluoresen biru, sedangkan AfG<sub>1</sub> dan AfG<sub>2</sub> memproduksi warna fluoresen hijau (Klich 2007). Akan tetapi metode ini masih terdapat kelemahan selain karena hanya bersifat kualitatif dan juga ada sifat strain toksik yang tidak mengeluarkan pendaran cahaya fluoresen serta pemendaran cahaya fluoresen dalam waktu yang terbatas. Sesuai dengan pendapat Imdad dan Nawangsih (1999) *Aspergillus parasiticus* memproduksi aflatoksin yang sebagian besar total aflatoksin diproduksi selama masa inkubasi 7–15 hari. Jadi membutuhkan waktu deteksinya, padahal sebelum waktu tersebut sudah terdapat jamur/kapang *Aspergillus* sp pada jagung.

Dari 12 jenis aflatoksin yang telah diidentifikasi Goto (1990) aflatoksin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> umum ditemui pada bahan pangan dan pakan serta aflatoksin M<sub>1</sub> pada susu, dan telah diketahui bahwa aflatoksin B<sub>1</sub> banyak dihasilkan jamur *Aspergillus flavus* di Indonesia (Dharmaputra 2002). Di antara semuanya, aflatoksin B<sub>1</sub> dan M<sub>1</sub> merupakan toksin yang mendapat perhatian utama karena toksisitasnya terhadap hewan dan manusia (Bhatnagar *et al*, 2006), dan karena paling berbahaya, AfB<sub>1</sub> seringkali dipakai sebagai ambang batas maksimum aflatoksin dalam bahan pangan dan pakan (Goto 1990). Menurut Miskiyah, dkk (2009) saat ini dikenal enam jenis aflatoksin, yaitu B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, M<sub>1</sub>, dan M<sub>2</sub>. Aflatoksin M<sub>1</sub> dan M<sub>2</sub> merupakan metabolit aflatoksin B<sub>1</sub> dan B<sub>2</sub> yang terhidroksilasi dan dapat dijumpai dalam susu dan olahan susu yang diperoleh dari hewan yang mengonsumsi pakan yang tercemar aflatoksin. Urutan tingkat toksisitas berdasarkan kajian efek aflatoksin terhadap sel hati secara *in vitro* adalah B<sub>1</sub> > G<sub>1</sub> > G<sub>2</sub> > B<sub>2</sub>. Aflatoksin B<sub>1</sub> merupakan jenis aflatoksin yang dominan pada jagung (tongkol dan pipilan 23–367,4 *ppb*) dan produk jagung (maizena, popcorn, dan krupuk 10–40 *ppb*) yang diperoleh dari petani, pengepul, pedagang pengumpul, pedagang besar, dan pasar swalayan (Dharmaputra *et al*. 1995; Dharmaputra dan Putri 1997).

## 6. Pengukuran Jagung Tercemar Aflatoksin Secara Kuantitatif Menggunakan *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC)

Rataan jagung yang tercemar total aflatoksin yang dilihat menggunakan UPLC dapat dilihat pada Tabel 16. Hasil sidik ragam pada Lampiran 15 memperlihatkan bahwa perlakuan faktor A (jenis ekstrak), faktor B (lama penyimpanan) dan interaksi faktor A (jenis ekstrak) dengan faktor B (lama penyimpanan) terhadap % jagung tercemar aflatoksin tidak ada perbedaan yang sangat nyata, sehingga tidak dilakukan uji lanjut DMRT

Tabel 16. Pengaruh Ekstrak Terhadap Total Aflatoksin Pada Beberapa Lama Penyimpanan Jagung (ppb).

Jenis Ekstrak	Lama Penyimpanan (Hari)					Rataan
	0	7	14	21	28	
Ekstrak Kunyit	0,00	0,00	0,11	0,16	0,33	0,12
Ekstrak Kulit Jeruk	0,04	0,23	0,55	0,74	2,80	0,87
Ekstrak Daun Cengkeh	0,00	0,08	0,17	0,47	0,50	0,24
Ekstrak Temulawak	0,13	0,32	0,37	0,45	2,74	0,80
Rataan	0,04	0,16	0,30	0,46	1,59	

Keterangan: Superskrip dengan huruf besar yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ).

Pada Tabel 16 menunjukkan bahwa pada EK baru terdeteksi aflatoksin pada penyimpanan 14 hari dan terus meningkat sampai penyimpanan 28 hari, EKJ sudah terdeteksi aflatoksin pada awal penyimpanan (0 hari) dan terus meningkat sampai hari ke 28. EDC baru mulai terdeteksi aflatoksin pada penyimpanan 7 hari dan meningkat sampai penyimpanan 28 hari. ET dari awal penyimpanan sudah terdeteksi aflatoksin dan terus meningkat selama 28 hari penyimpanan. Dari data tersebut juga dapat kita lihat bahwa perlakuan jagung yang diberikan ekstrak selama penyimpanan 0 hari yang terbaik adalah EK dan EDC karena belum terdeteksi aflatoksin, penyimpanan 7 hari yang terbaik adalah EK karena masih belum terdeteksi aflatoksin, penyimpanan 14, 21 dan 28 hari ekstrak terbaik yang mempunyai kemampuan menghambat aflatoksin adalah jenis ekstrak kunyit (EK). Meskipun pada perlakuan ekstrak terdeteksi aflatoksin pada jagung selama masa penyimpanan jagung, akan tetapi berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI)

masih jauh dibawah batas maksimal kadar aflatoksin dimana pada ransum konsentrat ayam ras petelur 50 ppb untuk layer starter/anak dan layer grower/dewasa dan 60 ppb pada layer/masa bertelur, pada ransum konsentrat ayam ras pedaging/broiler starter adalah 50 ppb dan 60 ppb pada broiler finisher, pada ransum babi adalah 50 ppb, pada pakan puyuh adalah 40 ppb, pada itik adalah 20 ppb dan pada ransum konsentrat sapi perah dan sapi potong 200 ppb.

Pada EKJ dan ET sudah terdeteksi aflatoksin pada awal penyimpanan karena jagung merupakan salah satu tanaman yang berisiko terkontaminasi jamur *Aspergillus sp.* khususnya *Aspergillus flavus* dan *Aspergillus parasiticus* yang menghasilkan aflatoksin yang bersifat karsinogen dan berbahaya bagi manusia maupun hewan, dimana cemaran *Aspergillus sp.* dapat mencemari tanaman jagung saat masih berada di kebun atau pada saat penyimpanan. Menurut Somantri (2005) jamur ini merupakan jamur yang secara alami dapat tumbuh didalam tanah, sehingga bagian tanaman jagung yang sering terkena *Aspergillus sp.* ini adalah bagian akar, kemudian batang, daun, buah jagung dan kemudian merambat kebagian yang lebih dalam. Oleh karena itu penanganan pasca panen jagung merupakan hal yang sangat penting dalam mengatasi pertumbuhan jamur *Aspergillus sp* yang menghasilkan aflatoksin sehingga bisa memperpanjang masa penyimpanan jagung. Kadar air jagung merupakan salah satu faktor utama yang harus diperhatikan dalam penanganan pasca panen. Pada penelitian ini kadar air awal penyimpanan jagung rata-rata sebesar 13,25% menurut beberapa literatur kandungan kadar air tersebut masih masuk ke dalam kondisi lingkungan optimal pertumbuhan Jamur *Aspergillus sp.* Seperti yang dikemukakan oleh Christensen and Kaufmann (1969) bahwa jagung akan aman disimpan pada tingkat kadar air kurang dari 12%, sedangkan pada kadar air >13 – 18% kapang akan menyerang. Dan kadar air yang aman untuk penyimpanan bahan pangan selama 2 minggu belum tentu aman untuk penyimpanan selama 2 bulan, begitu pula kadar air yang aman untuk penyimpanan 2 bulan belum tentu aman untuk penyimpanan 2 tahun

Menurut Susanto (2008) waktu penyimpanan yang lama akan meningkatkan kandungan aflatoksin, karena dengan bertambahnya waktu akan memberikan peluang cendawan penghasil aflatoksin memproduksi metabolit sekunder aflatoksin. Rachmawati *et al* (1999) mengemukakan bahwa hasil

pengamatan kandungan aflatoksin pada pakan menunjukkan adanya peningkatan kadar aflatoksin selama masa inkubasi 10 hari. Ditambahkan oleh Goldbaltt (1969) bahwa pembentukan aflatoksin akan terus meningkat jika cendawan bertambah banyak dan waktu penyimpanan yang lama, selama batas optimum pertumbuhannya selama 7-15 hari. Titik, *et al* (2001) menyatakan bahwa *Aspergillus sp.* mulai terdeteksi pada penyimpanan jagung selama 2 minggu, dan cendawan *Aspergillus* dan *Pinicillium* mampu tumbuh pada kadar air rendah. Dharmaputra dkk (1997) menyatakan total aflatoksin akan meningkat dengan bertambahnya waktu penyimpanan karena aflatoksin tidak mudah didekomposisi, sehingga akan terakumulasi dengan waktu. Jumlah aflatoksin yang dihasilkan oleh kapang dipengaruhi oleh faktor-faktor tertentu seperti galur kapang, substrat yang ditumbuhi, kelembaban, kandungan CO<sub>2</sub> dan oksigen serta interaksi mikroba lain yang tumbuh pada bahan tersebut.

Tian *et al.* (2011) mengemukakan bahwa ada korelasi langsung antara pertumbuhan kapang dan produksi AFB<sub>1</sub>. Pertumbuhan miselium berkorelasi dengan sintesis enzim yang berperan dalam produksi AFB sehingga pertumbuhan miselium yang lebat pada *Aspergillus flavus* menyebabkan produksi aflatoksinya juga tinggi. Lebih lanjut dikatakan bahwa kondisi lingkungan yang dibutuhkan untuk pembentukan konidium, sklerosium, dan metabolisme sekunder adalah sama (Yu *et al.*, 2003). Meskipun demikian, penghambatan produksi AFB<sub>1</sub> tidak selalu disebabkan oleh pertumbuhan kapang yang tereduksi tetapi dapat disebabkan oleh penghambatan katabolisme karbohidrat *Aspergillus flavus* dengan cara mempengaruhi beberapa enzim kunci yang pada akhirnya menurunkan kemampuan *A. flavus* untuk memproduksi AFB<sub>1</sub> (Tatsadjieu *et al.*, 2009). Pitt (1993) mengemukakan bahwa penghambatan produksi aflatoksin mungkin disebabkan oleh enzim yang dilepaskan saat terjadi lisis pada miselium kapang. Ditambahkan pula oleh Namazi *et al.* (2002) kerusakan miselium dan konidium kapang merupakan salah satu ciri proses deaktivasi aflatoksin.

Oleh karena itu salah satu tujuan penambahan ekstrak pada penelitian ini yaitu untuk mengganggu proses metabolisme jamur *Aspergillus sp* dalam memproduksi aflatoksin, dimana pada ekstrak ini terdapat senyawa fitokimia yang mempunyai fungsi sebagai antifungi. Pada perlakuan penelitian ini total aflatoksin



yang terdeteksi pada setiap ekstrak bervariasi seperti yang ditunjukkan pada Tabel 16. Hal ini disebabkan karena jenis dan kandungan senyawa fitokimia/metabolik sekunder yang terkandung berbeda-beda. Akan tetapi berdasarkan data pada Tabel 8 bahwa senyawa fitokimia yang utama yang bisa menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus* adalah triterpenoid. Fungsi dari senyawa terpenoid ini adalah antibakteri, antijamur, antivirus dan dapat biasa digunakan dalam pengobatan dan terapi. Triterpenoid adalah senyawa yang mendominasi senyawa terpenoid dengan jumlah rantai 3 kali rantai terpenoid yang memiliki antimikroba yang baik. Karena pada penelitian Lutfiyanti, dkk (2012) hasil screening fitokimia pada ekstrak *Gelidium latifolium* dengan pelarut metanol, aseton, dan heksan senyawa bioaktif yang terkandung pada *Gelidium latifolium* hanya yaitu triterpenoid, steroid dan alkaloid, akan tetapi memiliki potensi sebagai antijamur alami dengan ditunjukkannya zona hambat terhadap jamur *C. albicans* pada pengujian aktivitas antijamurnya. Nassar *et al*, (2010) menyatakan senyawa golongan triterpenoid menunjukkan aktivitas farmakologi yang signifikan, seperti antiviral, antibakteri, antiinflamasi, sebagai inhibisi terhadap sintesis kolesterol dan sebagai antikanker. Sedang bagi tumbuhan yang mengandung senyawa triterpenoid terdapat nilai ekologi karena senyawa ini bekerja sebagai antifungus, insektisida, antipemangsa, antibakteri dan antivirus (Widiyati, 2006). Ismaini (2011) mengungkapkan bahwa senyawa triterpenoid ikut berperan dalam menghasilkan zona hambat karena sifat toksik yang dimiliki oleh senyawa triterpenoid dalam ekstrak tersebut, sehingga ketika senyawa aktif terserap oleh jamur patogen dapat menimbulkan kerusakan pada organel-organel sel, menghambat kerja enzim di dalam sel, dan pada akhirnya akan terjadi penghambatan pertumbuhan jamur patogen.