

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jamur *Colletotrichum* sp adalah patogen utama yang menyebabkan penyakit antraknosa pada tanaman cabai. di bawah kondisi tertentu dapat menimbulkan kerugian produksi hingga 100% secara global. Terutama di daerah tropis dan subtropis, infeksi *Colletotrichum* sp menimbulkan kerusakan buah dan hasil panen yang cukup besar (Saxena, 2016). Di Indonesia serta negara penghasil cabai utama lainnya, penyakit ini menjadi masalah serius dalam produksi hortikultura, yang berdampak pada kesejahteraan petani dan ketahanan pangan nasional. Pengendalian penyakit ini selama ini masih bergantung pada fungisida kimia yang berisiko meninggalkan residu dan menyebabkan resistensi pada jamur, sehingga dibutuhkan metode pengendalian alternatif yang lebih aman dan efektif. Kerugian ekonomi yang disebabkan oleh penyakit antraknosa diperkirakan mencapai antara 45 hingga 65% dari total hasil panen, dengan potensi kehilangan pascapanen hingga 100% apabila pengendalian tidak dilakukan secara tepat (Ciofini *et al.*, 2022).

Oleh karena itu, dibutuhkan alternatif pengendalian yang tidak hanya efektif tetapi juga aman bagi lingkungan dan kesehatan manusia. Salah satu pendekatan yang berpotensi adalah pemanfaatan ekstrak tanaman obat, seperti daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*), yang memiliki sifat antimikroba dan antifungal alami, sehingga dapat digunakan sebagai biofungisida alternatif yang ramah lingkungan dan berkelanjutan. Ekstrak daun kumis kucing diketahui mengandung senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antimikroba yang cukup kuat (Ashraf *et al.*, 2018).

Berbagai penelitian telah menguji kemampuan antijamur dari beberapa ekstrak tanaman terhadap *Colletotrichum* sp. Misalnya, ekstrak rimpang kunyit dilaporkan efektif menghambat pertumbuhan jamur tersebut melalui pengurangan sporulasi dan germinasi spora (Akin, 2024). Di sisi lain, ekstrak *Orthosiphon stamineus* sudah dikaji untuk aktivitas antimikroba dan antifungal secara umum, termasuk terhadap bakteri dan jamur patogen lain, yang menunjukkan potensi sebagai antibakteri dan antijamur (Ashraf *et al.*, (2018). Selain itu menurut menurut hasil penelitian Akbar *et al.*, (2023) Ekstrak daun kumis kucing pada konsentrasi 10% menghasilkan zona hambat rata-rata terbesar sebesar 5,99 mm terhadap *Malassezia furfur* setelah inkubasi 24 jam, menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan konsentrasi lain

Kekurangan utama penelitian ini adalah kurangnya data yang secara khusus mengeksplorasi efektivitas ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) terhadap jamur *Colletotrichum* sp melalui uji *in vitro*. Penelitian sebelumnya cenderung lebih fokus pada aktivitas antimikroba ekstrak kumis kucing secara umum terhadap beragam patogen, misalnya aktivitas antibakterinya terhadap *Propionibacterium acnes* (Isnawati *et al.*, 2024) , namun penelitian yang menguji dan mengonfirmasi pengaruhnya terhadap *Colletotrichum* sp masih sangat terbatas.

Selain itu, informasi mengenai dosis efektif serta mekanisme kerja ekstrak dalam menghambat pertumbuhan *Colletotrichum* sp juga masih sangat sedikit. Beberapa penelitian yang menelaah pengaruh ekstrak tanaman lain terhadap *Colletotrichum* sp telah dilakukan, seperti penggunaan ekstrak daun Binahong

yang mampu menekan pertumbuhan *Colletotrichum* sp pada konsentrasi tertentu (Aminatuzzifah *et al.*, 2024).

Pembahasan yang secara khusus membahas tentang ekstrak daun kumis kucing dilapangan masih belum memadai. Berdasarkan latar belakang, perlu dilakukan penelitian tentang “ Uji Efektivitas Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphonstamineus* Benth) Terhadap Jamur *Colletotrichum* sp Secara *In vitro*”.

1.2 Rumusan Masalah

Belum banyak data yang secara khusus membuktikan ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) efektif menghambat jamur *Colletotrichum* sp dalam uji laboratorium (*in vitro*). Penelitian sebelumnya lebih sering membahas sifat antimikroba ekstrak secara umum atau terhadap jamur lain., sehingga belum diperoleh informasi yang jelas mengenai dosis efektif maupun mekanisme kerja ekstrak ini terhadap patogen penyebab antraknosa pada cabai.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp secara *in vitro*, termasuk menentukan konsentrasi efektif ekstrak tersebut.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan alternatif pengendalian hayati yang aman, alami, dan ramah lingkungan terhadap penyakit antraknosa pada tanaman cabai yang disebabkan oleh jamur *Colletotrichum* sp.

2. Bagi mahasiswa, penelitian ini memberikan kontribusi penting sebagai sumber ilmu pengetahuan dan pengalaman praktis dalam bidang bioteknologi pertanian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kumis Kucing

Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) adalah tanaman herba yang tumbuh tegak dengan tinggi sekitar 1 hingga 2 meter. Batangnya bersegi empat dengan permukaan yang beralur, dan dapat berbulu pendek atau gundul (Nita Utami *et al.*, 2023). Daunnya berbentuk lonjong hingga bundar telur, dengan ukuran panjang antara 1-10 cm dan lebar antara 7,5 mm hingga 1,5 cm. Tepi daun bergerigi dan dilapisi bulu halus. Urat daun sepanjang pinggir berbulu tipis atau gundul, dengan permukaan daun yang berbintik-bintik karena adanya kelenjar (Daudy Bahari Sugiarto, 2024).

Bunga kumis kucing terbentuk dalam tandan di ujung cabang, panjang bunga sekitar 7 hingga 29 cm. Warna bunga ungu yang kemudian berubah menjadi putih, dengan kelopak bunga berkelenjar dan berbulu pendek pada urat dan pangkalnya. Helai bunga tumpul, bundar, dengan benang sari yang lebih panjang dari tabung bunga dan memanjang melewati bibir bunga bagian atas (Nita Utami *et al.*, 2023). Habitat tanaman kumis kucing umumnya di daerah tropis atau subtropis dengan curah hujan tinggi, seperti hutan hujan, lereng gunung, dan daerah lembap. Tanaman ini umum ditemukan di Indonesia, Malaysia, Thailand, dan beberapa negara Asia Tenggara lain (Faramayuda *et al.*, 2021)



Gambar 2.1 Daun kumis kucing (Faramayuda *et al.*, 2021)

Klasifikasi Tanaman kumis kucing

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom: *Tracheobionta*

Superdivisi : *Spermatophyta*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas: *Magnoliopsida*

Subkelas : *Asteridae*

Ordo : *Lamiales*

Famili : *Lamiaceae*

Genus: *Orthosiphon*

Spesies: *ortosiphon stamineus*.

Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) memiliki potensi sebagai agen anti jamur yang efektif terutama untuk jamur yang menyerang tanaman. Sebagai tanaman herbal, kumis kucing mengandung beragam senyawa bioaktif seperti tanin, flavonoid, steroid, saponin, alkaloid, fenolik, yang punya aktivitas menghambat pertumbuhan jamur dan dapat digunakan sebagai alternatif untuk mengatasi infeksi jamur yang sering terjadi pada tanaman, seperti yang ditunjukkan oleh penelitian sebelumnya (Akbar *et al.*, 2023) dalam penelitiannya menyebutkan ekstrak daun kumis kucing mampu menghambat perkembangan jamur *Malassezia furfur* secara *in vitro*, terbukti dari zona hambat yang muncul di media uji, menandakan efektivitas antijamur pada konsentrasi ekstrak tertentu.

Lebih lanjut, studi mengenai jamur endofit yang diisolasi dari daun kumis kucing juga mengindikasikan adanya aktivitas antibakteri dan antijamur, dimana jamur endofit ini dapat berperan pada proteksi tanaman dari serangan patogen mikroba, termasuk jamur. Ekstrak dari daun kumis kucing lebih efektif

dibandingkan dari batang dalam menghambat mikroorganisme, memperkuat peran kumis kucing sebagai biokontrol alami tanaman (Pelu *et al.*, 2022).

Selain itu daun kumis kucing juga bermanfaat bagi kesehatan manusia, diketahui senyawa flavonoid dalam kumis kucing yaitu sinensetin dan eupatorin memiliki efek antihipertensi dengan meningkatkan relaksasi pembuluh darah dan mengurangi tekanan darah (Nahdi dan Kurniawan, 2019). Manfaat ini sangat penting bagi pasien dengan hipertensi dan risiko urolitiasis, karena pengendalian tekanan darah dapat membantu menjaga fungsi ginjal yang optimal.

2.2 Kandungan Daun Kumis Kucing

2.2.1 Flavonoid

Flavonoid menyerang membran sel jamur dengan membentuk kelompok bersama protein, sehingga membran bocor dan isi sel keluar. Ia juga mendenaturasi protein penting serta mengerutkan dinding sel jamur, menyebabkan sel pecah dan jamur tidak bisa hidup. Efek ini mirip seperti sabun yang melubangi gelembung (Rodríguez *et al.*, 2023).

2.2.2 Tanin

Tanin mengikat protein di membran dan dinding sel jamur, menyebabkan protein menggumpal dan sel tidak bisa berfungsi normal. Ia juga merusak enzim penting dalam sel jamur, menghentikan proses metabolisme seperti produksi energi. Hal ini membuat jamur melemah dan akhirnya mati. (Mayer, 2022).

2.2.3 Fenolik

Senyawa fenolik merusak membran sel jamur dengan menembusnya dan mengganggu enzim vital, sehingga proses seperti respirasi terhenti. Ia juga

menghentikan aktivitas sel dengan mengikat DNA atau protein, menyebabkan jamur tidak berkembang biak. Fenolik bertindak seperti racun yang melemahkan sel dari dalam (Cabanillas Bojórquez *et al.*, 2024)

2.2.4 Saponin

Saponin menurunkan ketegangan permukaan membran sel jamur, membuatnya lebih mudah ditembus sehingga protein dan enzim keluar dari sel. Ia berinteraksi dengan sterol di membran seperti ergosterol, membentuk lubang yang merusak sel secara permanen. Akibatnya, sel jamur kehilangan fungsi vital dan mati (Abdelrahman dan Jogalah, 2020).

2.2.5 Alkaloid

Alkaloid bekerja dengan masuk ke sel jamur dan mengganggu pembentukan dinding selnya, misalnya dengan merusak peptidoglikan sehingga dinding sel tidak kuat dan pecah. Selain itu, alkaloid bisa merusak membran sel jamur dengan berikatan pada ergosterol, menyebabkan kebocoran isi sel seperti protein dan enzim, hingga jamur mati. Alkaloid juga menghambat produksi DNA dan protein di dalam sel jamur (Wink, 2016).

2.2.6 Steroid

senyawa ini mengikat dan merusaknya, sehingga membran sel jamur bocor dan kehilangan kendali. Ini menyebabkan keluarnya zat-zat penting dari sel, menghambat pertumbuhan, dan memicu kematian sel. Steroid tanaman sering bekerja serupa dengan obat antijamur sintetis. Wegner *et al.*, (2022)

2.3 Jamur *Colletotrichum* sp



Gambar 2.1 *Colletotrichum* sp

Colletotrichum sp merupakan fungi patogen yang menyebabkan penyakit antraknosa pada tanaman cabai. Patogen ini menginfeksi berbagai bagian tanaman, terutama buah, dengan ditandai oleh munculnya bercak nekrotik berwarna coklat kehitaman yang berlekuk. Koloni jamur tersebut memiliki karakteristik bentuk dan warna tertentu, serta konidia yang berbentuk silindris dengan ujung tumpul dan bersepta, yang menjadi ciri morfologis untuk identifikasi patogen. Penyakit ini berpotensi menurunkan hasil produksi secara signifikan, dan jamur dapat bertahan dalam benih yang terkontaminasi serta menyebar melalui medium udara. Penelitian ini memfokuskan pada pengujian antagonisme *Actinomycetes* sebagai metode pengendalian hayati terhadap *Colletotrichum* sp, menegaskan pentingnya pengelolaan biologis untuk mitigasi dampak penyakit tersebut.(Afifah dan Utami, 2018).

Colletotrichum sp berkembang dengan baik pada suhu sekitar 27°C dan kelembapan tinggi sekitar 80%. Kondisi tersebut sangat mendukung pertumbuhan penyakit antraknosa pada cabai rawit. Serangan penyakit ini menyebabkan buah menjadi busuk, mengering, dan akhirnya rontok, sehingga menambah sumber inokulum baru untuk penyebaran penyakit lebih lanjut. Infeksi jamur biasanya

terjadi mulai dari fase buah cabai kedua dan seterusnya, dengan perkembangan penyakit yang cepat terutama pada tanaman yang lebih tua (Luis, Liestiany dan Salamiah, 2025).

Jamur *Colletotrichum* sp dikenal sebagai patogen yang memiliki tingkat agresivitas yang tinggi, karena kemampuannya untuk menembus jaringan tanaman melalui pori-pori alami maupun luka yang terdapat pada permukaan buah. Kondisi ini menyebabkan pengendalian jamur tersebut menjadi sangat kompleks dan sulit untuk dilakukan secara efektif. Oleh karena itu, pemahaman yang mendalam dan komprehensif terhadap karakteristik serta mekanisme infeksi patogen ini sangat diperlukan. Pengetahuan tersebut menjadi dasar penting dalam merancang dan mengimplementasikan strategi pengendalian yang tepat. Strategi tersebut mencakup penerapan agen hayati serta fungisida yang bersifat ramah lingkungan sebagai upaya untuk mengurangi dampak kerusakan yang diakibatkan oleh penyakit antraknosa pada tanaman cabai. Dengan pendekatan ini, diharapkan dapat meminimalkan kerugian yang ditimbulkan sekaligus menjaga keberlanjutan lingkungan pertanian (Santos *et al*, 2024).

Faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan jamur *Colletotrichum* sp adalah kondisi pH media serta lingkungan tempat tumbuhnya. pH memainkan peran penting dalam mengatur aktivitas metabolisme dan enzim jamur tersebut. Jika pH berada di luar kisaran optimal, maka proses metabolisme jamur akan terganggu sehingga pertumbuhannya terhambat. Rentang pH yang paling ideal untuk pertumbuhan maksimal *Colletotrichum* sp adalah antara 5 hingga 7. Selain itu, suhu lingkungan juga memiliki peran krusial, dengan rentang suhu optimal sekitar 24 hingga 30°C. Kelembaban relatif yang mendukung pertumbuhannya

berada pada kisaran 80 hingga 92%. Kondisi musim kemarau yang kering berserta sistem drainase lahan yang baik dapat membantu menurunkan tingkat keberadaan penyakit tersebut, sedangkan penyebaran spora (konidia) jamur ini dapat difasilitasi oleh angin dan hujan (Kommula, 2017).

2.4 Fungisida Nabati

Fungisida nabati adalah jenis fungisida yang berasal dari ekstrak tumbuhan, khususnya dari organ tumbuhan seperti daun, yang mengandung senyawa metabolit sekunder dengan sifat antibiotik, antifungi, dan antivirus. Senyawa metabolit sekunder ini meliputi, alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tanin, steroid, dan, yang secara alami diproduksi tumbuhan untuk melindungi diri dari serangan patogen (Cenobio Galindo *et al.*, 2024).

Keunggulan fungisida nabati adalah kemampuannya menghambat perkembangan penyakit jamur patogen dengan cara yang lebih ramah lingkungan dan aman bagi konsumen karena mudah terurai dan tidak meninggalkan residu berbahaya pada produk pertanian. Fungisida nabati ini dapat menjadi alternatif pengendalian penyakit tanaman selain fungisida kimiawi, yang meskipun efektif, memiliki risiko resistensi patogen dan dampak negatif terhadap lingkungan dan kesehatan manusia apabila digunakan secara berlebihan (Rahayu, 2019).

Penelitian menunjukkan bahwa kombinasi penggunaan fungisida hayati dan nabati dapat memberikan pengaruh positif dalam menekan penyakit layu fusarium pada tanaman bawang merah, sekaligus meningkatkan hasil panen (Prangge *et al.*, 2023). Hal ini menunjukkan potensi fungisida nabati sebagai solusi pengendalian penyakit tanaman yang efektif dan berkelanjutan. Selain itu, fungisida nabati juga dianggap sebagai pilihan terakhir bila pengendalian secara

kultur teknis dan organik sudah dilakukan, memberikan jalan untuk mengurangi penggunaan pestisida kimiawi pada pertanian modern (Prangge *et al.*, 2023).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan komponen tertentu dari campuran berdasarkan distribusinya antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Metode ekstraksi pelarut ini sering digunakan untuk memisahkan gugus-gugus yang diinginkan maupun gugus-gugus pengganggu yang mungkin ada dalam analisis keseluruhan, dengan beberapa gugus pengganggu dapat dihilangkan secara selektif melalui proses ini (Ronco *et al.*, 2020).

Proses ekstraksi pada dasarnya adalah proses perpindahan massa dari komponen zat padat yang terdapat pada simplisia ke dalam pelarut organik yang digunakan. Pelarut organik akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada bagian luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses ini terus berulang sampai terjadi kesinambungan konsentrasi zat aktif antara di dalam sel dengan konsentrasi zat aktif diluar sel (Mutia *et al.*, 2024)

Metode ekstraksi yang diterapkan untuk mengisolasi senyawa dari bahan alam bergantung pada tekstur bahan, kandungan serta sifat senyawa yang akan diisolasi. Faktor-faktor yang memengaruhi proses ekstraksi meliputi temperatur, lama waktu kontak, perbandingan zat terlarut dan pelarut, ukuran partikel, pengadukan, serta waktu dekantasi. Umumnya, metode ekstraksi bahan alam menggunakan teknik maserasi, yakni proses perendaman sampel dalam pelarut pada suhu kamar yang merupakan metode paling sederhana (Srivastava *et al.*,

2021). Ekstraksi maserasi menggunakan prinsip “*like dissolved like*” untuk mengekstrak senyawa pada sampel, dimana pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar.

2.5.1 Metode Maserasi

Metode maserasi merupakan cara penyaringan yang sederhana yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut hingga seluruh serbuk simplisia terendam seluruhnya. Larutnya kandungan kimia simplisia saat proses maserasi, umumnya akan terjadi apabila pelarut menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, dalam rongga sel inilah terdapat senyawa aktif yang dapat larut di dalam pelarut (Muzafri, 2019). Metode ini digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang seperti benzoin, stiraks dan lilin. Penggunaan metode ini misalnya pada sampel yang berupa daun, contohnya pada penggunaan pelarut *eter* atau *aseton* untuk melarutkan lemak lipid (Islam *et al.*, 2016).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Selain itu, kerusakan pada komponen kimia sangat minimal. Adapun kerugian cara maserasi ini adalah pengerjaannya lama dan penyaringannya kurang sempurna. (Hidayat dan Wulandari, 2021).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Pasir Pengaraian, Jl Tuanku Tambusai, Rambah, Rambah Hilir, Kabupaten Rokan Hulu. Waktu penelitian ini dilaksanakan dari bulan juni sampai Juli 2026.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Kumis Kucing, *Potato Dextrose Agar* (PDA), etanol 70%, aquades, dektrosa, tisu, , magnesium, amil alkohol, alkohol, FeCl₃, air panas, HCl 2 N, asam asetat, asam sulfat, mayer, alumunium foil, plastik, kertas saring.

Alat yang digunakan adalah *autoklave*, cawan petri, tabung reaksi, tabung *elemeyer*, mikroskop, jarum ose, *cork borer*, oven, *blender*, *vaccum rotary evaporator*, *laminar air flow*, mikro pipet, lampu busen, pipet tetes, pisau, botol tidak tembus cahaya, timbangan digital, kamera dan alat tulis.

3.3 Sterilisasi Alat

Alat tahan panas, bahan, dan media yang digunakan untuk penelitian disterilisasikan dengan menggunakan autoklave selama 15 menit pada suhu 121 C dan tekanan 1 atm. Beberapa alat yang disterilisasikan dengan autoclave alat yang berbahan kaca seperti, cawan petri, tabung reaksi, tabung *elemeyer*. Sebelumnya alat dicuci bersih, dikeringkan dan di bungkus dengan plastik anti panas. Alat yang tidak tahan panas disterilkan dengan alkohol 70% berupa *laminar air flow* dan alat yang disterilisasikan dengan cara dibakar adalah jarum ose, *cork borer*.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Media yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu media PDA instan yang telah tersedia di laboratorium. Cara pembuatan media PDA adalah dengan menimbang 20 g PDA instan. Masukkan PDA kedalam tabung *erlemeyer* dan tambahkan 500 ml aquadest kemudian tutup *erlemeyer* dengan aluminium foil setelah itu dihomogenkan. Setelah homogen kemudian disterilisasi dengan *autoklave* pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.4.2 Peremajaan Jamur *Colletotrichum* sp

Peremajaan isolat jamur *Colletotrichum* sp dilakukan pada tabung reaksi dengan mengambil sebagian hifa jamur yang telah ditumbuhkan dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) pada cawan petri kemudian dilakukan inokulasi pada media PDA steril dalam tabung reaksi dan dilakukan dengan menggunakan LAF (Laminar Air Flow) agar menghindari terjadinya kontaminasi yang tidak diinginkan. Peremajaan jamur diinkubasi pada suhu ruang (25-27 °C) selama 7 hari sampai miselia jamur menjadi banyak (Halwiyah *et al.*, 2019)

3.4.3 Identifikasi Jamur Patogen

Identifikasi jamur meliputi karakter makroskopis dan mikroskopis. Karakter makroskopis didapatkan dengan membuat kultur murni di dalam media PDA. Karakter mikroskopis didapatkan dengan membuat preparat. Preparat disiapkan dengan cara mengambil miselium jamur seujung ose kemudian diletakkan pada kaca objek yang sebelumnya telah disterilkan dengan alkohol 70%, kemudian

ditetesi dengan *methylene blue*. Selanjutnya ditutupi dengan *cover glass*, koloni diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. (Tjampakasari *et al.*, 2023)

3.4.4 Ekstraksi Daun Kumis Kucing

Prosedur pembuatan ekstrak kental daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) dengan metode maserasi dimulai dengan persiapan simplisia, di mana daun segar dicuci bersih, dikeringkan di oven suhu 40°C selama 2 hari hingga kadar air berkurang, kemudian dihaluskan menggunakan blender menjadi serbuk sebanyak 100 gram. Serbuk daun dimasukkan ke dalam bejana maserasi kaca, ditambahkan Etanol 70% sebanyak 750 ml (rasio 1:7,5), diaduk rata, ditutup rapat dengan aluminium foil untuk melindungi dari cahaya, dan didiamkan selama 3 hari pada suhu kamar sambil diaduk 1 kali sehari. Setelah periode maserasi pertama, maserat disaring menggunakan kertas saring dan corong, ampasnya diremaserasi dengan tambahan 250 ml Etanol selama 2 hari sambil diaduk 1 kali sehari, kemudian filtrat keduanya digabungkan. Filtrat digabungkan kemudian dipadatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga volumenya berkurang signifikan, diikuti pengeringan lanjutan di waterbath selama 1 hari hingga membentuk ekstrak kental (Pelu *et al.*, 2022). Metode maserasi dipilih karena menggunakan peralatan sederhana dan efisien dalam mengekstrak senyawa aktif dari daun kumis kucing. Keunggulan lain dari metode ini adalah kemudahan dalam pengendalian suhu dan waktu ekstraksi yang dapat diatur sesuai kebutuhan.

3.4.5 Rancangan penelitian

Pengujian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5

perlakuan dan 5 kali ulangan, sehingga diperoleh 25 unit percobaan. Rancangan percobaan terdiri dari 5 konsentrasi ekstrak yaitu, K0 = 0 %, K1 = 3 %, K2= 6 %, K3: 9 %, K4= 12 %.

Pengujian dilakukan dengan teknik peracunan media yaitu membuat campuran PDA dengan ekstrak daun kumis kucing sesuai dengan masing-masing konsentrasi yang digunakan. PDA dicampur dengan Ekstrak daun kumis kucing pada berbagai konsentrasi hingga rata dalam tabung *elemeyer*. Selanjutnya tiap campuran dengan berbagai konsentrasi dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing 10 ml. Setelah itu media dibiarkan dingin hingga memadat. Pengujian efektivitas ekstrak daun kumis kucing terhadap patogen. dilakukan dengan meletakkan miselium patogen. Berukuran 5 mm pada bagian tengah dari media yang telah dibuat dengan menggunakan *cork borer*. Pengamatan pertumbuhan dan pengukuran diameter koloni jamur dilakukan sehari setelah inkubasi sampai pada akhir pengamatan. Pengamatan terakhir dilakukan apabila pertumbuhan jamur sudah memenuhi cawan pentri pada kontrol (Laeshita *et al.*, 2022).

3.5 Parameter Pengamatan

3.5.1 Karakteristik Makroskopis Dan Mikroskopis Patogen

Pengamatan patogen yang telah diinkubasi selama 7 hari berdasarkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dengan cara langsung melihat warna koloni, bentuk koloni dan permukaan koloni jamur. Pengamatan ciri-ciri mikroskopis meliputi ada tidaknya spora atau konidia, tipe hifa, bentuk spora dan konidia dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40 x 100.

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengambil jamur menggunakan jarum ose. Kemudian diletakkan pada kaca objek yang telah ditetesi *methylene blue* kemudian ditutup dengan *cover glass* dan dilakukan pengamatan jamur pada mikroskop. Jamur yang telah diisolasi dan dimurnikan kemudian di karakterisasi berdasarkan buku panduan Pengenalan Kapang Tropik Umum . (Tjampakasari *et al.*, 2023)

3.5.2 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kumis Kucing

3.5.2.1 Uji Flavonoid

Ekstrak daun kumis kucing sebanyak 0,5 g, lalu larutkan ke dalam 3 mL alkohol 96% lalu Tambahkan sekitar 0,1 gram serbuk Magnesium (Mg) kemudian teteskan 1ml HCl pekat dan tambahkan Tambahkan 2 ml amil alkohol. Uji dinyatakan positif jika terjadi perubahan warna menjadi merah, jingga, atau kuning (Elisa *et al.* 2018).

3.5.2.2 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan dengan cara memasukkan Ekstrak daun kumis kucing sebanyak 0,5 g kedalam tabung reaksi, kemudian ditetaskan FeCl_3 5% sebanyak 3 tetes. Uji dikatakan positif jika larutan berubah warna menjadi hijau kehitaman, biru tua (Elisa *et al.* 2018).

3.5.2.3 Uji Fenolik

Pada uji fenolik ekstrak sebanyak 0,5 g, dimasukkan kedalam tabung reaksi, tambahkan sedikit aquades jika ekstrak terlalu pekat. kemudian ditetaskan FeCl_3 1% sebanyak 3 tetes. Uji dikatakan positif jika larutan berubah warna menjadi hijau kehitaman, ungu, biru, merah (Elisa *et al.* 2018).

3.5.2.4 Uji Saponin

Sebanyak 10 ml air panas dan 0,5 g Ekstrak daun kumis kucing dimasukkan kedalam tabung *elemeyer*, lalu didinginkan dan dihomogenkan selama 10 detik. Apabila terbentuk buih selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan jika ditambahkan 1 tetes HCl 2 N. Buih tidak hilang maka ekstrak tersebut mengandung saponin (Minarno *et al.*, 2017).

3.5.2.5 Uji Steroid

Ekstrak daun kumis kucing sebanyak 0,5 g diletakkan pada plat tetes dan ditambahkan asam asetat sampai semua sampel terendam, dibiarkan 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Perubahan warna yang terjadi diamati dan digunakan sebagai ukuran relatif kandungan steroid dalam sampel. Adanya warna biru atau hijau. (Sangi *et al.*, 2019).

3.5.2.6 Uji Alkaloid

Ekstrak daun kumis kucing sebanyak 0,5 g dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dimasukkan sebanyak 1 mL pereaksi Mayer. Setelah itu tunggu beberapa saat. Uji dikatakan positif jika terbentuk endapan putih atau krem. (Jesus and Borges (2024)).

3.5.3 Laju Pertumbuhan

Laju Pertumbuhan jamur patogen dilakukan sehari setelah inkubasi sampai jamur patogen memenuhi cawan petri pada kontrol. Laju pertumbuhan dihitung dengan rumus:

$$\mu = \frac{x}{T}$$

dengan μ , laju pertumbuhan (cm/hari); X diameter koloni pada hari terakhir

pengamatan (cm), T jumlah hari pengamatan (hari).

3.5.4 Daya Hambat Ekstrak Daun Kumis Kucing Terhadap Jamur

***Colletotrichum* sp**

Daya hambat ekstrak Kumis Kucing terhadap pertumbuhan jamur dilakukan setelah cawan petri pada perlakuan kontrol dipenuhi oleh jamur. Persentase penghambatan pertumbuhan koloni *Colletotrichum* sp dihitung dengan rumus :

$$\frac{D_C - D_P}{D_C} \times 100 \%$$

dengan DC, diameter koloni patogen/kontrol (cm); DP.diameter koloni perlakuan (cm). Data hasil penelitian Disajikan dalam bentuk deskriptif