

**Potensi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.)
Terhadap Penekanan Pertumbuhan Penyebab Penyakit Lanas
(*Phytophthora nicotianae* vBdH var. *parasitica*) pada
Tanaman Tembakau**

**OLEH
MUKTI BUDI WALUYO**

**MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2015**

**Potensi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.)
Terhadap Penekanan Pertumbuhan Penyebab Penyakit Lanas
(*Phytophthora nicotianae* vBdH var. *parasitica*) pada
Tanaman Tembakau**

**OLEH
MUKTI BUDI WALUYO
11504020111206**

**MINAT HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)**

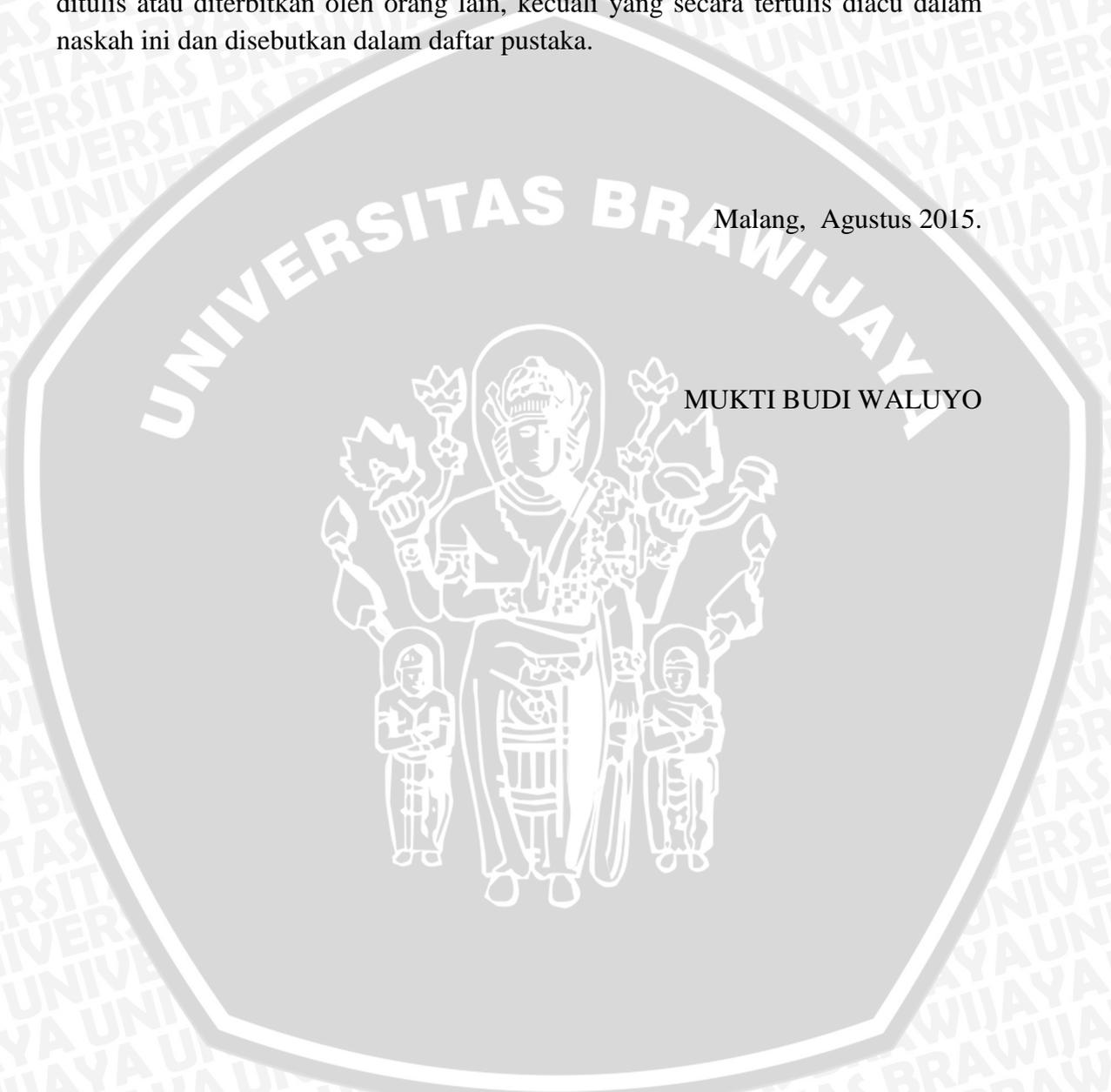
**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TANAMAN
MALANG
2015**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Agustus 2015.

MUKTI BUDI WALUYO



Judul Skripsi : Potensi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Penekanan Pertumbuhan Penyebab Penyakit Lanas (*Phytophthora nicotianae* vBdH var. *parasitica*) pada Tanaman Tembakau

Nama Mahasiswa : MUKTI BUDI WALUYO

Nim : 115040201111206

Jurusan : HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

Menyetujui : Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.

NIP. 19550821 198002 1 002

Dr. Edi Priyo Utomo, MS.

NIP. 19571227 198603 1 003

Mengetahui,
Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU.

19550403 198303 1 003

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Fery Abdul Choliq, SP., M.Sc.
NIK. 2015038605231001

Penguji II

Dr. Edi Priyo Utomo, MS.
NIP. 19571227 198603 1 003

Penguji III

Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.
NIP. 19550821 198002 1 002

Penguji IV

Prof. Dr. Ir. Tutung Hadiastono, MS.
NIP. 19521028 197903 1 003

Tanggal Lulus : 28 Agustus 2015

Dan carilah pada apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat, dan janganlah kamu melupakan bagianmu dari (kenikmatan) duniawi dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik kepadamu, dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan” .

(al-Qur' an al-Qashash - 77)



Kupersembahkan Skripsi ini Kepada :

Tuhanku Yang Maha Pemurah dan Pemberi Ilmu

Bapak dan Ibuku Yang Paling Kucintai

Kakak dan Keponakanku Tersayang

Seseorang Yang Selalu Memotifasiku

Tanah Air ku Tempat Dimana Aku Dibesarkan

Indonesia

RINGKASAN

MUKTI BUDI WALUYO. 11504020111206. Potensi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Penekanan Pertumbuhan Penyebab Penyakit Lanas (*Phytophthora nicotianae* vBdH var. *parasitica*) pada Tanaman Tembakau. Dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Edi Priyo Utomo, MS. sebagai Pembimbing Pendamping.

Penyakit lanas yang disebabkan oleh patogen *Phytophthora nicotianae* merupakan salah satu penyakit yang merugikan pada budidaya tanaman tembakau. Kerugian karena penyakit ini dapat menyebabkan kerusakan tanaman berkisar antara 4,88%-63,96%. Saat ini pengendalian patogen yang dilakukan kebanyakan menggunakan fungisida kimia yang dapat mencemari lingkungan. Alternatif lain yang dapat digunakan untuk pengendalian patogen yaitu dengan aplikasi fungisida nabati yang pada umumnya mudah terdegradasi oleh alam. Tanaman Kirinyuh (*Chromolaena odorata*) merupakan salah satu jenis tanaman yang banyak tersedia di alam namun belum banyak dimanfaatkan. Selain itu senyawa metabolik sekunder yang dimiliki tanaman kirinyuh dapat bersifat sebagai antimikroba, sehingga dapat digunakan sebagai fungisida nabati yang ramah lingkungan.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji kandungan senyawa minyak atsiri daun kirinyuh dan keefektifan minyak atsiri daun kirinyuh terhadap penekanan pertumbuhan penyakit lanas yang disebabkan oleh patogen *P. nicotianae* secara *in vitro* dan *in vivo*.

Penelitian terdiri dari beberapa tahapan. I. destilasi daun kirinyuh. II. analisis senyawa minyak atsiri menggunakan GC-MS. III. Pengujian minyak atsiri secara *in vitro* dengan metode peracunan media. IV. Pengujian minyak atsiri secara *in vitro* dengan metode volatil. Pengujian minyak atsiri secara *in vitro* menggunakan Rancangan Acak Lengkap. V. Pengujian minyak atsiri secara *in vivo* dengan metode perendaman bibit dengan Rancangan Acak Kelompok. Penelitian dilaksanakan di Laboraturium dan rumah kawat Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, mulai bulan Desember 2014 sampai Juni 2015.

Hasil analisa GC-MS menunjukkan bahwa terdapat 15 senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri daun kirinyuh dengan senyawa utama Germacrene D, *trans*-caryophyllene, δ -cadinene, α -copaene, β -selinene, Pregeijeren, β -caryophyllene. Dari pengujian secara *in vitro* dengan metode peracunan media dan metode volatil minyak atsiri daun kirinyuh efektif dapat menghambat pertumbuhan jamur *P. nicotianae* dengan nilai EC₅₀ 458,55 ppm dan 617,05 ppm. Sedangkan pada uji *in vivo* pada bibit tembakau menunjukkan nilai efektifitas yang lebih rendah, dengan perlakuan konsentrasi tertinggi 700 ppm hanya dapat menghambat pertumbuhan sebesar 32% dengan nilai EC₃₅ sebesar 693,25 ppm dan nilai EC₅₀ sebesar 855,56 ppm.

SUMMARY

MUKTI BUDI WALUYO. 115040201111206. The Potential of Essential Oil from Kirinyuh Leaves (*Chromolaena odorata* L.) Against Growth Inhibition of Black Shank Disease (*Phytophthora nicotianae* vBdH var. *parasitica*) on Tobacco Plants. Supervised by Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS., and Dr. Edi Priyo Utomo, MS.

Black shank diseases caused by pathogens *Phytophthora nicotianae* is one of diseases that attack on tobacco and causes 4.88% to 63,96% losses. Mostly farmers use chemical pesticides to control black shank disease which resulted environmental pollution. Alternatives which could be used to control a pathogen is natural fungicide, that is generally easier degraded by nature. *Chomolaena odorata* is one kind of plant widely available in nature but not much used. In addition, secondary metabolic compounds on *C. odorata* which potentially as sources for anti-fungal compound, so that could be used as a natural fungicide.

The porpose of this research were to examine essential oil compound of *C. odorata* and anti-fungal activities against growth inhibition black shank disease by pathogen *P. nicotianae* with in vitro and in vivo assay.

Research consisting of several phases. I. Plant material and isolation of essential oil, II. Chemical analysis of essential oil with GC-MS, III. In vitro assay by poisoned food technique method, IV. In vitro assay by volatile method, V. In vivo assay to tobacco seedling. Research was carried out in Laboraturium and glass house of Agricultur Faculty, University of Brawijaya, Malang, start from December 2014 to June 2015,

Results of GC-MS analysis showed fifteen components were identified from essential oil of *C. odorata* leaves. The major components of essential oil were identified as Germacrene D, *trans*-caryophyllene, δ -cadinene, α -copaene, β -selinene, Pregeijeren, β -caryophyllene. Poisoned food technique and volatile assay of essential oil *C. odorata* showed antifungal activity against *P. nicotianae* with an EC₅₀ 458,55 ppm and 617,05 ppm. In vivo assay to tobacco seedling showed weak antifungal activity with an EC₃₅ 693,25 ppm and EC₅₀ 855,56 ppm.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, serta hidayah – Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan kegiatan tugas akhir dengan judul “**Potensi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.) Terhadap Penekanan Pertumbuhan Penyebab Penyakit Lanas (*Phytophthora nicotianae* vBdH. var. *parasitica*) pada Tanaman Tembakau**”.

Pada kesempatan ini, dengan rasa hormat, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.
2. Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. selaku dosen pembimbing utama atas kesabaran, nasihat, arahan dan bimbingannya kepada penulis.
3. Dr. Edi Priyo Utomo, MS. selaku pembimbing pendamping atas segala kesabaran, nasihat dan arahan selama penelitian dilaboraturium dan kesediaan menjadi pembimbing pendamping lintas Jurusan.
4. Bu Heri Supradi, Pak Catur, Pak Tomo, Pak Mardi dan seluruh staf Laboraturium Mikologi, Toksikologi, dan Administrasi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian yang sudah membantu penulis selama kegiatan penelitian.
5. Penghargaan yang tulus penulis berikan kepada Ibu Yuni Rahayu, Bapak Kusaeri, Kakak Kukuh Cahyo Baskoro, Adik Haidar Akhmad Raharjo atas doa, dukungan, dan semangat yang diberikan kepada penulis.
6. Sahabatku Nanik Yuliana, M. Fadli, Firman, Sabiha, Teman – teman Jurusan HPT, BP dan Tanah 2011 serta Keluarga Widuri Home Stay atas bantuan, dukungan dan kebersamaan selama ini.

Penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan.

Malang, Agustus 2015

Penulis,

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Pasuruan 05 Agustus 1993 sebagai putra kedua dari dua bersaudara dari pasangan Kusaeri dan Yuni Rahayu.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Negeri Kedawungwetan 1 Kecamatan Grati pada tahun 1998 hingga 2005, kemudian melanjutkan di SMP Negeri 2 Grati pada tahun 2005 hingga tahun 2008, dan penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Grati pada tahun 2008 hingga tahun 2011. Pada tahun 2011 penulis lolos ujian SNMPTN Jalur Undangan dan melanjutkan pendidikan sebagai mahasiswa Strata satu – S1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang dan memilih minat Hama dan Penyakit Tumbuhan.

Selama menjadi mahasiswa penulis aktif dalam organisasi kampus IAAS (International Association of Students In Agricultural and Related Sciences) sebagai *Staff Public Relation* pada tahun 2011 hingga tahun 2013. Penulis juga aktif dalam kegiatan kepanitian IWOCA (International Working Camp) pada tahun 2013. Selain itu penulis berkempan untuk mengikuti *Thai Language and Thai Study Program* Di Rajamangalan University of Technology Lanna, Chiang Mai, Thailand pada tahun 2012 dan menjadi delegasi dalam *Collaborative Research on Fungal Identification and Ethanol Fermentation* di Faculty of science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand pada tahun 2013.

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Hipotesis Penelitian.....	3
1.5. Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Tanaman Tembakau	4
2.2. Penyakit Lanas (<i>Phytophthora nicotiane</i>).....	4
2.3. Fungisida Nabati.....	9
2.4. Tumbuhan Kirinyuh (<i>Chromolaena odorata</i>).....	10
III BAHAN DAN METODE.....	15
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	15
3.3. Metode Penelitian.....	15
3.4. Persiapan Penelitian	16
3.5. Pelaksanaan Penelitian	19
3.6. Parameter Pengamatan.	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1. Analisa Komponen Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Menggunakan GC-MS	25
4.2. Isolasi dan Identifikasi Jamur <i>P. nicotinae</i> Penyebab Penyakit Lanas pada Tanaman Tembakau.....	27
4.3. Pengujian Minyak Atsiri Daun Kirinyuh terhadap Pertumbuhan Jamur <i>P. nicotianae</i> secara <i>In vitro</i>	28
4.4. Pengujian Minyak Atsiri Daun Kirinyuh terhadap Pertumbuhan Jamur <i>P. nicotianae</i> pada Tanaman Tembakau secara <i>In vivo</i>	36



V. PENUTUP.....43

5.1. Kesimpulan.....43

5.2. Saran.....43

DAFTAR PUSTAKA.....44

LAMPIRAN.....50



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Senyawa yang Terdapat pada Minyak Atsiri Daun Kirinyuh	14
2.	Analisa GC-MS Komponen Senyawa Minyak Atsiri Daun Kirinyuh <i>C. odorata</i>	26
3.	Rerata Persentase Laju Penghambatan Pertumbuhan Jamur <i>P. nicotianae</i> (%) Akibat Perlakuan Penambahan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh dengan Metode Peracunan Makanan.	30
4.	Rerata Berat Biomassa Miselium Jamur <i>P. nicotianae</i> Setelah Penambahan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Metode Peracunan Media	31
5.	Persentase Laju Penghambatan Pertumbuhan Jamur <i>P. nicotianae</i> (%) Akibat Perlakuan penambahan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh dengan Metode Volatil.	34
6.	Rerata Berat Biomassa Miselium Jamur <i>P. nicotianae</i> Setelah Penambahan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Metode Peracunan Media.	36
7.	Rerata Persentase Intensitas Penyakit Lanas Setelah Perlakuan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh pada Tanaman Tembakau	40
8.	Rerata Persentase Efektifitas Penghambatan Penyakit Lanas Setelah Perlakuan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh pada Tanaman Tembakau	41
9.	Nilai EC ₅₀ Minyak Atsiri Daun Kirinyuh	41

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Siklus Hidup Jamur <i>Phytophthora nicotianae</i> pada Tanaman Tembakau	7
2.	Gejala Serangan <i>P. nicotianae</i> pada Tanaman Tembakau	8
3.	Morfologi Tanaman Kirinyuh (a) Daun Tumbuhan dan (b) Bunga Tumbuhan <i>C. odorata</i>	11
4.	Cara Pengukuran Diameter Koloni Jamur pada Media CMA	22
5.	Kromatogram Analisis Komponen Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Menggunakan GC-MS	25
6.	Jamur <i>P. nicotianae</i> yang diisolasi dari Tanaman Tembakau (a) Biakan Murni pada Cawan Petri 9 cm Berumur 17 HSI (b) Mikroskopis Perbesaran 400x	27
7.	Pertumbuhan Koloni Jamur <i>P. nicotianae</i> pada Uji Toksisitas Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara <i>In vitro</i> dalam Cawan Petri saat Pengamatan 14 HSI Metode Peracunan Media. (a) kontrol, (b) 300 ppm, (c) 400 ppm, (d) 500 ppm, (e) 600 ppm, (f) 700 ppm	28
8.	Pertumbuhan Diameter Jamur <i>P. nicotianae</i> pada Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh.	29
9.	Pertumbuhan Koloni Jamur <i>P. nicotianae</i> Pada Uji Toksisitas Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara <i>In vitro</i> dalam Cawan Petri saat Pengamatan 14 HSI dengan Metode volatil. (a) kontrol, (b) 300 ppm, (c) 400 ppm, (d) 500 ppm, (e) 600 ppm, (f) 700 ppm. ...	33
10.	Pertumbuhan Diameter Jamur <i>P. nicotianae</i> pada Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh.	35
11.	Hubungan Konsentrasi Minyak Atsiri daun Kirinyuh dengan Masa Inkubasi Penyakit Lanas pada Bibit Tembakau.	37

12. Serangan Penyakit Lanas pada Bibit Tembakau Setelah Perlakuan Perendaman Larutan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh dengan Berbagai Konsentrasi pada Uji *In vivo* saat 24 HSI..... 38
13. Perkembangan Persentase Intensitas Penyakit Lanas pada Bibit setelah Aplikasi Minyak Atsirih dengan Berbagai Konsentrasi.... 39



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perhitungan Formulasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh.....	51
2.	Perhitungan formulasi minyak atsiri daun kirinyuh dalam pembuatan CMA 1000 ml	51
3.	Komposisi Media CMA (Corn Meal Agar) Produk SIGMA-ALDAICH	52
4.	Denah Percobaan Rumah Kawat	52
5.	Hasil Uji Statistika	52
6.	Analisa Probit Penentuan EC_{50} Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara <i>In vitro</i> Metode Peracunan Media dengan Program SPSS 16.0.....	58
7.	Analisa Probit Penentuan EC_{50} Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara <i>In vitro</i> Metode Volatil dengan Program SPSS 16.0.....	59
8.	Analisa Probit Penentuan EC_{35} dan EC_{50} Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara <i>In vivo</i> pada Bibit Tembakau dengan Program SPSS 16.0.....	60
9.	Surat Keterangan Identifikasi Bahan Uji	61
10.	Hasil Analisa Kandungan Senyawa Minyak Atsiri Daun Kirinyuh ..	62
11.	Dokumentasi Penelitian	72

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tembakau merupakan salah satu komoditi penting dalam perekonomian Indonesia, karena memberikan pendapatan Negara dari cukai tembakau rata-rata 43 trilyun/tahun. Produksi tembakau dalam negeri pada tahun 2011 mencapai 214.524 ton/tahun, dengan jumlah ekspor 38.905 ton/tahun (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2012). Dalam perkembangannya, budidaya tembakau tak lepas dari serangan Organisme Pengganggu Tumbuhan (OPT) yang mengakibatkan kerugian hasil. Tanaman tembakau sangat peka terhadap penyakit, seperti penyakit yang disebabkan oleh jamur, bakteri maupun virus. Salah satu jenis penyakit tanaman yang menyerang pertanaman tembakau adalah penyakit lanas oleh jamur patogen *Phytophthora nicotianae*. Jamur ini merupakan patogen tular tanah *soil born disease* dan sulit dikendalikan apabila keadaannya berada di dalam tanah. Di Kabupaten Kuningan petani tembakau menanam ulang bibit seluas 1,5 hektar yang mati diakibatkan oleh serangan *P. nicotianae* (Daniati, 2013). *P. nicotianae* merupakan patogen yang mematikan mulai pembibitan sampai tanaman dewasa di lapangan. Penyakit lanas mulai terjadi pada tanaman tembakau berumur 35 HST sampai 105 HST hingga mencapai rata-rata kerusakan 4,88%-63,96% (Roeswitawati *et al.*, 2004).

Dalam upaya pengendalian penyakit lanas yang disebabkan oleh *P. nicotianae* telah dilakukan pengendalian dengan metode kultur teknis, fisik, mekanik sampai kimiawi menggunakan pestisida sintetis. Namun, pengendalian kimiawi atau secara kimia menggunakan pestisida sintetis yang paling sering digunakan oleh petani. Alasan petani memilih pestisida sintetis karena akan memberikan hasil yang lebih cepat dan hasilnya dapat dievaluasi relatif cepat terutama untuk pengendalian bersifat kuratif atau penyembuhan.

Selain kelebihan di atas, pestisida sintetis juga dapat menimbulkan dampak negatif. Dampak negatif tersebut adalah meningkatkan resistensi hama dan patogen di lapangan, dapat menyebabkan terjadi resurgensi dan ledakan hama atau penyakit, meninggalkan residu pada produk pertanian yang berbahaya bagi kesehatan dan lingkungan karena kandungan pestisida yang umumnya adalah

racun dan persisten di alam terlebih lagi jika penggunaan tidak secara bijak dalam arti tidak sesuai dosis, aturan, dan kebutuhan. Oleh karena itu, diperlukan solusi dari masalah tersebut yang akan menguntungkan dalam hal lingkungan dan produksi. Solusi yang dapat ditawarkan untuk masalah ini adalah dengan mengurangi penggunaan pestisida kimia sintetik dengan pestisida nabati yang dinilai lebih aman terhadap lingkungan. Saat ini banyak dikembangkan penelitian mengenai pestisida alami sebagai alternatif pengendalian. Salah satu contoh adalah pengembangan penelitian tentang insektisida nabati yang berasal dari bahan tumbuhan yang berpotensi membunuh OPT (Kardinan, 2002)

Jenis tanaman yang telah terbukti efektif dijadikan sebagai pestisida nabati adalah kirinyuh (*Chromolaena odorata*) (Tunwari *et al.*, 2014). Dalam bidang pertanian kirinyuh dikategorikan sebagai gulma yang berbahaya. Hal ini disebabkan pertumbuhan yang cepat serta persaingan dengan tanaman lain. Selama ini dalam pengendalian tanaman kirinyuh dengan cara mekanis, yaitu dengan membat batang tanaman dan tidak dimanfaatkan lebih lanjut karena bersifat racun pada hewan ternak (Prawiradiputra, 2007). Sehingga perlu adanya pemanfaatan lebih lanjut untuk meningkatkan nilai guna gulma yang selama ini menjadi permasalahan dibidang pertanian. Panggabean (2009) menyatakan bahwa ekstrak kirinyuh yang diaplikasikan secara pengolesan dapat menghambat perkembangan gejala penyakit busuk buah kakao pada tingkat konsentrasi 70%. Hal yang sama juga dijelaskan oleh Owolabi (2010), bahwa minyak atsiri daun kirinyuh efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Asperillus niger*.

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, dilakukan penelitian untuk menguji keefektifan dari minyak atsiri daun kirinyuh yang digunakan sebagai fungisida nabati. Harapannya, akan didapatkan fungisida nabati yang efektif dan dapat menghambat perumbuhan penyakit lanas (*P. nicotianae*) pada bibit tanaman tembakau.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan dapat diuraikan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah minyak atsiri daun kirinyuh (*C. odorata*) dapat menekan pertumbuhan jamur patogen *P. nicotianae* penyebab penyakit lanas pada tembakau baik secara *in vitro* maupun *in vivo*.
2. Berapakah konsentrasi minyak atsiri daun kirinyuh yang efektif dalam penekanan patogen *P. nicotianae* pada tembakau.

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mempelajari kandungan senyawa dalam minyak atsiri daun segar kirinyuh (*C. odorata*) menggunakan alat GC-MS (*Chromatography–Mass Spectrometry*).
2. Mempelajari potensi atau kemampuan minyak atsiri *C. odorata* dalam penekanan penyakit lanas (*P. nicotianae*) pada tanaman tembakau (*Nicotinae tabaccum L.*) secara *in vitro* dan *in vivo*.

1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini yaitu minyak atsiri dengan konsentrasi 700 ppm lebih potensial dan efektif dalam menekan pertumbuhan jamur *P. nicotianae* dibandingkan dengan konsentrasi yang lain.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat bahwa tanaman kirinyuh dapat digunakan sebagai fungisida nabati untuk mengendalikan penyakit lanas pada tanaman tembakau.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Tembakau

2.1.1 Botani Tanaman Tembakau

Menurut Van steenis *et al.* (1987), tanaman tembakau diklasifikasikan sebagai berikut : Kingdom : Planta; Divisi : Spermatophyta; Kelas : Dicotyledonae; Ordo : Solanales; Famili : Solanaceae; Genus : Nicotiana; Spesies : *Nicotiana tabacum* L.

Tanaman tembakau memiliki akar tunggang. Jenis akar tunggang pada tanaman tembakau dapat tumbuh sepanjang 0,75 m. Selain akar tunggang, terdapat pula akar-akar serabut dan bulu-bulu akar (Matnawi, 1997). Bentuk batang agak bulat, agak lunak tetapi kuat, makin ke ujung, makin kecil. Ruas – ruas batang mengalami penebalan yang ditumbuhi daun, batang tanaman bercabang atau sedikit bercabang. Pada setiap ruas batang selain ditumbuhi daun, juga ditumbuhi tunas ketiak daun, diameter batang sekitar 1-2 cm (Abdullah, 1990). Bagian terpenting tembakau adalah daun dengan ciri-ciri antara lain daun berwarna hijau, berbentuk oval, ujung meruncing, tepi licin dan bertulang sirip. Daun bertangkai pendek, memanjang dengan pangkal yang menyempit dan ujung runcing (Cahyono, 1998). Tanaman tembakau memiliki bunga termasuk bunga majemuk. Bunga berbentuk seperti terompet dengan panjang ≤ 5 cm, berwarna kemerah-merahan atau putih. Buah mencapai kematangan sekitar 20 hari setelah terjadinya pembuahan. Satu tanaman tembakau dapat menghasilkan sekitar 300 buah. Dalam satu buah terdapat sekitar 2.500 butir biji. Biji tembakau berwarna coklat muda kehitam-hitaman (Van steenis *et al.*, 1987).

2.2. Penyakit Lanas (*Phytophthora nicotiane*)

2.2.1 Bioekologi *Phytophthora nicotiane*

Penyakit lanas merupakan salah satu penyakit utama yang menyerang tanaman tembakau. Penyakit lanas pada tanaman tembakau diakibatkan oleh jamur *P. nicotianae* (Hidayah, 2013). Klasifikasi jamur *P. nicotianae*

menurut Agrios (2005) yaitu Kingdom : Kromista; Divisi : Eumycota; Sub Divisi : Mastigomycotina; Kelas : Oomycetes; Ordo : Peronosporales; Famili : Pythiaceae; Genus : *Phytophthora*; Species : *P. nicotianae*.

Penyakit lanas adalah penyakit polisiklik dimana patogen dalam satu musim tanam dapat menghasilkan banyak daur reproduksi serta menyebabkan sebagian besar penyakit epidemik secara mendadak dan sangat merugikan. Talus dari cendawan ini disebut miselium yang tiap individualnya disebut hifa. Tabung dari filamen bervariasi dengan diameter 5-8 μm dan dapat dilihat di bawah mikroskop. Ketika miselium dikulturkan di media yang sesuai atau ketika tumbuh keluar dari jaringan di bawah kondisi lembab akan terlihat tak berpigmen. Ketika dilihat di mikroskop (100x) miselium muda akan terlihat hialin dan senositik. Spesies dari *Phytophthora* memproduksi spora aseksual pada kondisi lingkungan yang cocok, pada suhu optimum 30°C dan kelembapan optimum 80% (Chupp, 1960).

Sporangia akan berkecambah pada kondisi basah (berair) atau pada media agar dengan membentuk tabung kecambah, tapi saat temperatur turun sporangia dapat langsung berkecambah. Zoospora berbentuk seperti ginjal dengan 2 flagela yang muncul pada sisi cekung. Zoospora akan berenang selama berjam-jam, kemudian berhenti, mengumpul, dan dalam beberapa menit membentuk dinding sel. Pada tahap ini spora disebut *cyst*. *Cyst* akan berkecambah dengan memproduksi tabung kecambah dan miselia. Kadang-kadang zoospora di dalam *cyst* dapat keluar dan menginfeksi tanaman. Struktur seksual dari *Phytophthora* terdiri dari antheridium dan oogonium. Oogonia selalu berbentuk globos atau subglobos, kadang-kadang pyriform. Seluruhnya hampir hialin, tapi beberapa kasus dinding berpigmen dengan warna kuning kecoklatan. Oogonium dibatasi oleh septa dari hifa. Sementara itu, antheridium dibatasi oleh septa dan menempel pada oogonium (Hausbeck, 2004).

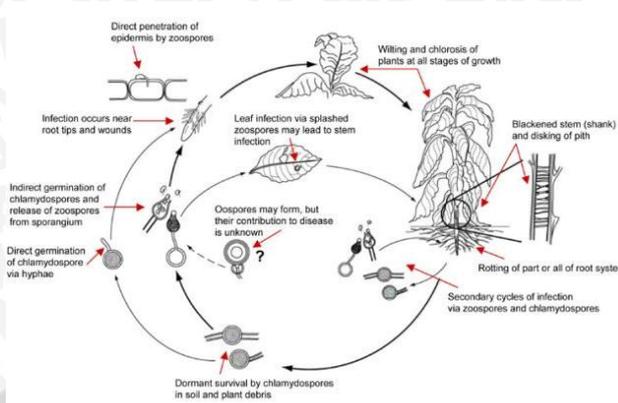
Sporangium (zoosporangium) berbentuk bulat telur seperti buah pir (pyriform) yang mempunyai sebuah tonjolan (papil). Sporangium mempunyai ukuran (18–70) x (14–39) μm . Sporangium dapat

berkecambah secara tidak langsung membentuk spora kembara (zoospora) yang keluar satu persatu dari dalam sporangium. Disamping itu sporangium berkecambah secara langsung dengan membentuk hifa atau pembuluh kecambah (Semangun, 2000).

Zoospora yang dihasilkan sporangia berjumlah 5-30 zoospora yang berukuran $7 \times 11 \mu\text{m}$ dan mempunyai dua flagel. Klamidospora terbentuk secara aseksual dari dalam hifa dengan ukuran rata-rata diameter $13 - 16 \mu\text{m}$ dengan tebal dinding $1,5 \mu\text{m}$. Klamidospora dapat bertahan di alam hingga 4 – 6 tahun (Gallup *et al.*, 2006)

2.2.2 Patogenesis dan Siklus Hidup *P. nicotianae*

P. nicotianae dapat terus hidup pada benih dan sisa tanaman di dalam tanah dalam bentuk spora berdinding tebal hasil reproduksi secara seksual yang disebut oospora, dibentuk ketika dua miselium berlawanan jenis tumbuh bersama (Erwin dan Ribeiro, 1996). Oospora dapat bertahan terhadap desikasi, suhu rendah, kondisi lingkungan yang esktrim, serta mampu bertahan dalam tanah bertahun-tahun dalam keadaan tidak ada tanaman inang. Ketika tanaman dipindah ke lapangan dan kondisi lingkungan menguntungkan, oospora akan berkecambah dan membentuk sporangia, kemudian melepaskan zoospora. Infeksi dimulai saat zoospora dilepaskan ke dalam air, berenang dan mengadakan kontak dengan jaringan inang. Proses infeksi berikutnya, pembentukan luka pada pangkal batang dekat permukaan tanah. Sporangia dibentuk pada permukaan luka dan menyebar oleh percikan air hujan. Sporangia tersebut berkecambah dan membentuk tabung kecambah. Sporangia yang berkecambah dapat melakukan penetrasi secara langsung atau dengan melalui pelepasan zoospora yang kemudian menginfeksi tanaman (Zitter, 1989). Apabila zoospora sebagai inokulum sampai ke permukaan jaringan tanaman, maka inokulum tersebut akan menempel dengan bantuan protein atau glikoprotein pada permukaan jaringan, sedangkan jika sampai pada permukaan yang keras, zoospora akan berubah bentuk menjadi sitospora.



Gambar 1. Siklus Hidup Jamur *Phytophthora nicotianae* pada Tanaman Tembakau (Hickman, 1970).

Pada kondisi yang sesuai, terutama dalam keadaan air jenuh, sitospora berkecambah membentuk tabung kecambah, dan pada ujung tabung kecambah yang bersentuhan dengan permukaan jaringan tanaman dibentuk apresorium. Selanjutnya dari apresorium tersebut dibentuk hifa yang dapat melakukan penetrasi ke dalam dinding sel epidermis luar. Cendawan dalam sel inang akan membentuk struktur hifa primer yang menyebar melalui ruang interseluler, kemudian membentuk hifa sekunder (haustorium) yang menembus ke dalam sel, selanjutnya membentuk sporangiofor. Struktur tersebut muncul dari stomata inang dan membentuk cabang-cabang pendek, tempat terbentuknya sporangium. Zoospora akan dibentuk dan dilepas dari sporangium melalui papila setelah dinding sporangium pecah (Agrios, 2005).

2.2.3 Gejala Serangan *P. nicotiane* pada Tembakau

Penyakit lanas dapat menyerang tanaman tembakau pada semua tahap pertumbuhan. Penyakit dimulai pada bibit muda atau transplantasi. Gejala yang paling umum dari penyakit ini adalah kerusakan akar dan pangkal batang busuk, tetapi *P. nicotianae* juga dapat menginfeksi daun jika patogen kontak dengan tanah terinfestasi selama periode hujan. Tanda-tanda patogen yang jarang diamati pada tanaman batang dan sekitar lesi daun, namun hifa sering mudah ditemukan pada jaringan empulur pada membelah batang. Pengamatan mikroskopis sel empulur dapat membantu mengkonfirmasi keberadaan hifa karakteristik *Phytophthora*. Di lapangan,

tanaman sakit sering dikaitkan dengan tanah dan kerugian basah dapat mencapai 100% pada kultivar peka pada tahun-tahun yang menguntungkan bagi pengembangan penyakit.



Gambar 2. Gejala Serangan *P. nicotianae* pada Tanaman Tembakau (Pemotongan Batang Secara Melintang) (Csinos, 1999).

Pada akar penyakit menginfeksi saat ujung akar dalam keadaan terluka. Akar yang terinfeksi disebabkan jumlah air yang berlebih pada tanah, kemudian dengan cepat menjadi terjadi nekrotik. Pada varietas rentan, perluasan penyakit berkembang dengan cepat ke dalam akar lebih besar sampai sebagian besar atau semua sistem akar hancur. Kolonisasi jaringan akar varietas rentan berlangsung cepat dan akhirnya mencapai batang, sehingga mengakibatkan kematian tanaman. Gejala pada batang terlihat pangkal batang kecoklatan hingga mencapai 30 cm dari dasar tanah. Jika dilakukan pemotongan secara melintang pada batang pada empulur nampak gejala nekrotik yang sering dipisahkan menjadi lapisan lapisan kecoklatan. Gejala pada daun nampak daun dan batang layu sementara, selanjutnya tanaman layu permanen dan daun layu menguning hingga kering (Csinos, 1999).

2.2.4 Pengendalian *P. nicotianae*

Pengendalian yang dapat dilakukan untuk menekan kejadian penyakit lanas oleh jamur *P. nicotianae* dapat dilakukan dengan cara kultur teknis, varietas tahan serta penggunaan fungisida (Anna, 2013). Hwang dan Kim (1995) melaporkan bahwa pengendalian efektif hawar *Phytophthora*

tergantung pada aplikasi fungsida. Beberapa fungsida seperti *metalaxyl*, *oxadixyl*, *propamocarb*, *copper oxychloride*, *chlorothalonil*, dan *dithianon* telah dilaporkan untuk pengendalian hawar *Phytophthora* di Korea.

Selain itu hal lain yang dapat dilakukan untuk menekan kejadian penyakit yang disebabkan oleh jamur *Phytophthora* yaitu dengan kultur teknis yaitu dengan cara budidaya tanaman dengan rotasi tanaman. Rotasi tanaman menggunakan tanaman yang bukan merupakan inang *P. nicotianae* merupakan hal penting. Tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman rotasi adalah jenis rerumputan seperti gandum atau sejenisnya. Rotasi dapat dilakukan selama 3 sampai 5 tahun sehingga populasi jamur *P. nicotianae* dapat menurun (Pearce *et al.*, 2011). Sementara itu ekstrak dari tanah pertanaman wijen dan kacang tanah serta eksudat akarnya mampu menghambat pertumbuhan miselia, pembentukan sporangium, dan pelepasan zoospore *P. capsici*. Tanaman lain seperti bawang merah (*Allium cepa*), jahe (*Zingiber officinale*), dan kacang hijau (*Pisum sativum*) memiliki pengaruh penghambatan terhadap *P. capsici* (Hwang, 1995).

2.3. Fungsida Nabati

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keragaman biodiversitas yang tinggi. Indonesia memiliki lebih dari 350.000 spesies tumbuhan tingkat tinggi yang dapat menghasilkan berbagai produk yang salah satunya adalah metabolit sekunder dengan jumlah 100.000 dari 1.000.000 senyawa kimia. Senyawa kimia tersebut memiliki fungsi adaptif sebagai pertahanan diri, simbiosis, polinasi dan lain-lain (Surjadi, 2005).

Penggunaan bahan-bahan yang berasal dari tumbuhan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif pengganti penggunaan fungsida sintetik yang sering disebut fungsida nabati atau biofungsida yang ramah lingkungan (Kardinan, 2002), karena mudah terdegradasi sehingga tidak menimbulkan residu (Hamijaya, 2005). Keefektifan suatu fungsida tergantung dari daya larutnya, sehingga dapat dengan mudah diserap oleh patogen dan mempengaruhi kelangsungan hidupnya. Untuk melindungi bagian dari tanaman maka fungsida tersebut harus dapat menutupi dan terbagi rata serta dapat melekat dengan baik pada permukaannya. Selain itu fungsida tersebut harus bersifat toksik terhadap patogen tetapi tidak

toksik terhadap tanaman (fitotoksik). Pemakaian ekstrak bahan alami secara terus-menerus diyakini tidak menimbulkan resisten terhadap hama dan penyakit, seperti yang biasa terjadi pada fungisida sintesis (Moekasan, 2004).

Sejumlah metabolit sekunder juga dapat digunakan sebagai fungisida atau antibiotik untuk melindungi tanaman dari serangan jamur dan bakteri. Mekanisme fungisida yang digunakan untuk penanggulangan penyakit pada umumnya adalah menghambat perkecambahan, pertumbuhan, dan perkembangbiakan atau sekaligus membunuh patogen. Hingga sekarang fungisida yang digunakan untuk penyemprotan atau penghambusan pada daun biasanya ditujukan untuk mencegah terjadinya infeksi dan mematikan patogen yang telah mengadakan infeksi. Kebanyakan dari fungisida nabati sudah harus berada pada permukaan tanaman sebelum patogen datang menyerang sehingga dengan demikian dapat mencegah terjadinya infeksi (Margaret, 1981).

Menurut Suradji *et al.*, (1992) cara fungisida dalam menghambat atau mematikan cendawan berbeda-beda diantaranya mengubah struktur dinding sel atau membran sel, menghambat sintesis komponen-komponen seluler yang vital atau mengubah keadaan fisik bahan seluler. Mekanisme kerja dari fungisida nabati ada yang menghambat kerja enzim, sehingga dapat merusak proses-proses metabolisme pada jamur dan ada yang merusak dinding sel jamur dengan cara melarutkan kitin dan selulosa pada dinding sel yang menyebabkan dinding sel rusak dan mengganggu permeabilitas. Akibatnya sel-sel pada jamur tidak selektif, mengalami kerusakan jaringan dan mengakibatkan kematian pada jamur karena jamur tidak mendapatkan energi untuk pertumbuhan dan perkembangannya.

2.4. Tumbuhan Kirinyuh (*Chromolaena odorata*)

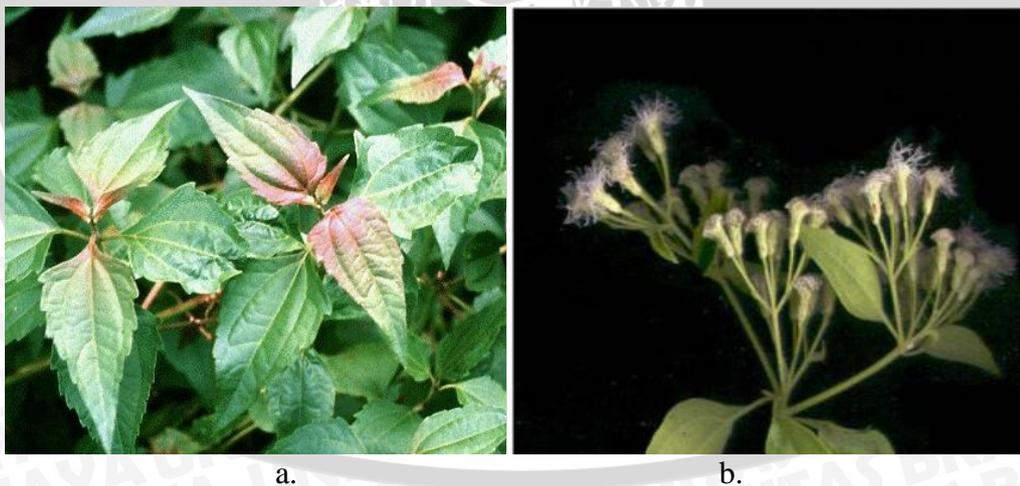
2.4.1 Deskripsi Kirinyuh

C. odorata dikenal dengan nama “Kirinyuh”. Tumbuhan ini termasuk dalam famili Asteraceae/Composite (Prawiradiputra, 1985). Sebelumnya *C. odorata* merupakan bagian dari Eupatoriae sebelum dimasukkan pada subfamili Asteroidae (King and Robinson, 1987). *Eupatorium* meliputi 1200 spesies sebelum dipetakan oleh King dan Robinson (1970) yang kemudian diikuti dengan *Chromolaena* yang sekarang meliputi 165 spesies yang

berasal dari amerika tengah, Amerika Selatan dan India Barat (King and Robinson, 1987). Golongan dari Asteraceae ini tumbuh menyeluruh di dunia, dan sangat melimpah di Amerika yang merupakan tempat asal tumbuh kirinyuh (Bremer, 1994).

Tumbuhan ini sangat cepat tumbuh dan berkembang biak. Karena cepatnya perkembangbiakan dan pertumbuhannya, gulma ini cepat juga membentuk komunitas yang rapat sehingga dapat menghalangi tumbuhnya tumbuhan lain melalui persaingan (Moore, 2005). Menurut FAO (2005), kirinyuh dapat tumbuh pada ketinggian 1000–2800 m dpl, tetapi di Indonesia banyak ditemukan di dataran rendah (0–500 m dpl) seperti di padang padang penggembalaan. Di Indonesia kirinyuh dapat tumbuh pada ketinggian 50-1000 mdpl, dan banyak ditemukan di tepi jalan, tanah sawah yang kering, belukar, lahan kosong dan hutan, Selain itu tanaman *C. odorata* dapat tumbuh baik pada berbagai jenis tanah (Prawiradiputra, 2007).

C. odorata memiliki bentuk daun oval, bagian bawah lebih lebar, makin ke ujung makin runcing. Tepi daun begerigi menghadap ke pangkal. Letak daun berhadap – hadapan. Karangan bunga terletak di ujung cabang (Prawiradiputra, 2007).



a.

b.

Gambar 3. Morfologi Tanaman Kirinyuh (a) Bagian Daun dan (b) Bunga Tumbuhan *C. odorata*. (Prawiradiputra, 2007).

2.4.2 Potensi Kirinyuh Dalam Bidang Pertanian

Kirinyuh merupakan tanaman liar dan mudah ditemui serta belum dimanfaatkan secara optimal sebagai bahan pengendali biologi. Tumbuhan ini dapat tumbuh dengan baik pada berbagai jenis tanah dan akan tumbuh lebih baik lagi apabila mendapat cahaya matahari yang cukup. Kondisi yang ideal bagi gulma ini adalah wilayah dengan curah hujan > 1000 mm/tahun (Binggeli, 1997). Selain itu kirinyuh adalah jenis gulma yang sangat penting dan merugikan, bahkan di beberapa Negara kirinyuh termasuk pada daftar gulma yang diwaspadai, karena daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan dan perkembangbiakan yang sangat cepat, sehingga gulma kirinyuh mampu tumbuh diberbagai tempat dan dapat menutupi lahan serta menghalangi pertumbuhan tanaman lain (Torres, 1989). Menurut laporan Department of Agriculture (2013), setiap tumbuhan dewasa mampu memproduksi sekitar 80 ribu biji setiap musim. Saat musim pengujian banyak diantara biji tersebut akan tumbuh dan akan mempercepat kemampuan mendominasi area pada suatu hamparan lahan. Oleh karena itu keberadaannya selalu dibasmi karena dampak negatif yang ditimbulkannya menyebabkan kerugian terhadap lahan pertanian dan pencemaran lingkungan akibat limbah yang dihasilkannya bahkan dapat membahayakan hewan ternak disebabkan sifat racun yang dimilikinya (Zachariades *et al.*, 2009). Berdasarkan beberapa penelitian menyatakan bahwa kirinyuh mempunyai senyawa metabolit sekunder yang dapat bersifat sebagai antijamur dan antibakteri (Naidoo *et al.*, 2011).

Pengujian kualitatif fitokimia ekstrak etanol daun kirinyuh terhadap beberapa senyawa kimia oleh mendapatkan hasil bahwa daun kirinyuh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, dan seskuiterpenoid. (Hadi, 2008) Berdasarkan hasil analisis dari penelitian Prasad *et al.* (2005) bahwa jenis pelarut ekstrak daun kirinyuh yang berbeda, diantaranya eter petroleum, khloroform, metanol dan larutan air memberikan pengaruh terhadap variasi dan kualitas dari senyawa aktif daun kirinyuh. Ekstrak eter petroleum daun kirinyuh menunjukkan adanya steroid, triterpen, alkaloid, flavonoid, tannin, diterpen, dan saponin. Ekstrak kloroform menunjukkan

adanya senyawa steroid, alkaloid, flavonoid, tannin, dan glikosida. Ekstrak methanol menunjukkan adanya steroid, alkaloid, flavonoid, tannin, lactone, diterpene, dan saponin, sedangkan pada ekstrak air dari daun kirinyuh menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, lactone, tannin, dan saponin.

Menurut Yunita *et al.* (2009) tannin menekan konsumsi makan, tingkat pertumbuhan dan kemampuan bertahan. Menurut Cahyadi (2009), senyawa alkaloid dan flavonoid bersifat racun perut, sehingga akan menghambat dan mengganggu alat pencernaan juvenil udang *Artemia salina*. Menurut hasil penelitian Unnithan *et al.* (2014) menunjukkan bahwa ekstrak Hydro-ethanol dengan kandungan penol, tannin saponin, minyak esensial, alkaloid, dan cardiac glycoside dari *Eupatorium odoratum* dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

2.4.3 Kandungan Minyak Atsiri pada daun *C. odorata*

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pisutthanan (2005) ditemukan 23 senyawa yang didapat dari minyak atsiri daun kirinyuh. Senyawa utama yang memiliki persentase jumlah terbanyak dalam minyak atsiri kirinyuh adalah Pregeijerene (17,6%), Germacrene-D (11,1%), α -pinene (8,3%). Selain senyawa utama ada beberapa senyawa lain dengan persentase lebih rendah yang terkandung dalam minyak atsiri daun kirinyuh. Berikut merupakan senyawa - senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri daun kirinyuh yang teridentifikasi menggunakan GC-MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry) menurut Pisutthanan *et al.*, (2005) (Tabel 1).

Senyawa α -Pinene dan β -Pinene merupakan senyawa monoterpens yang memiliki sifat antimikroba terutama pada bakteri dan jamur, (Rivas da Silva *et al.*, 2012). Selain itu menurut Kirana (2006) senyawa pregeijerene, geijerene dan germacrene D diketahui dapat bersifat sebagai larvasida pada pengujian terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dan *Anopheles stephensi*. Senyawa lain yang memiliki potensi yaitu δ -cadinene sebagai antimikroba pada *Streptococcus pneumoniae* (Cirio *et al.*, 2011), β -caryophyllene dan α -humulene yang memiliki sifat antikanker yang telah diujikan pada sell tumor manusia (Legault, 2007), senyawa α -copaene juga terbukti memiliki sifat antioksidan dan antikanker yang telah diujikan pada

hewan pengerat sehingga senyawa ini dapat digunakan sebagai senyawa potensial yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker (Turkez, 2014).

Tabel 1. Senyawa yang Terdapat pada Minyak Atsiri Daun Kirinyuh (Pisutthanan, 2005).

No Puncak	Senyawa	Persen Area (%)	Berat Molekul.
1	2,3-Dihydro-4 methylfuran	1,6	84
2	2-Hexanal	1,6	98
3	α -Pinene	8,3	136
4	Sabinene	0,9	136
5	β -Pinene	5,7	136
6	Myrcene	1,5	136
7	Limonene	1,0	136
8	<i>Trans</i> -Ocimene	2,2	136
9	Geijerene isomer	0,3	136
10	Geijerene	3,1	154
11	Terpinen-4-ol	0,8	162
12	1,2,3,6-Tetramethyl-bicycle[2.2.2]octa-2,5-diene	0,4	162
13	Mellitene	0,8	162
14	Pregeijerene	17,6	204
15	α -copaene	1,6	204
16	β -Caryophyllene	7,3	160
17	unknown Vestitenone	6,5	178
18	Germacrane D	11,1	204
19	δ -Cadinene	4,9	204
20	4-Ethenyl- $\alpha,\alpha,4$ - trimethyl -3-(1-methyl ethenyl)-[1S-(1 $\alpha,3\alpha,4\alpha$)]-cyclohexane methanol	0,8	222
21	ephi- α -cadinol	0,6	222
22	Bulnesol	2,9	222

III BAHAN DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboraturium Mikologi, Toksikologi Pestisida dan Rumah Kawat Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, dan Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, berlangsung dari bulan Desember 2014 sampai Juni 2015.

3.2. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain: isolat *P. nicotianae* yang diisolasi dari daun tanaman tembakau yang bergejala, daun segar *C. odorata* yang didapatkan dari perumahan Jl. Monster Hijau Malang, dan tanaman tembakau, media tumbuh CMA (Corn Meal Agar), PDA (Potato Dextrose Agar), media V8 Juice Agar, NaOCl 4%, aquades, Alkhohol 70% dan 96%, *chloramphenicol*.

Alat yang digunakan adalah kamera, alat tulis, kapas, *alumunium foil*, tisu, timbangan digital, jarum ose, *autoclave*, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, pipet mikrometer, plastik, *haemocytometer*, *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), sentrifugasi, vortek, timbangan, *polybag*, penggaris, mikroskop medan terang, *hand spayer*, labu Erlenmeyer, destilator, dan GC-MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry) merek Shimidzu QP 2010.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1 Pengujian Minyak Atsiri *C. odorata* secara *In vitro* Terhadap Pertumbuhan Jamur *P. nicotianae* pada Cawan Petri

Penelitian ini dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 perlakuan konsentrasi yang masing masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali.

P0 = Kontrol (Tanpa perlakuan minyak atsiri daun kirinyuh)

P1 = Minyak atsiri daun kirinyuh konsentrasi 300 ppm

P2 = Minyak atsiri daun kirinyuh konsentrasi 400 ppm

P3 = Minyak atsiri daun kirinyuh konsentrasi 500 ppm

P4 = Minyak atsiri daun kirinyuh konsentrasi 600 ppm

P5 = Minyak atsiri daun kirinyuh konsentrasi 700 ppm

Jumlah cawan petri yang dibutuhkan saat pengujian *in vitro* dengan 6 perlakuan dan 4 kali ulangan pada masing – masing perlakuan. Sehingga untuk melakukan pengujian secara *in vitro* untuk menguji seluruh konsentrasi dibutuhkan 24 cawan petri.

Parameter yang diamati berupa daya hambat pertumbuhan koloni jamur pada media CMA (Corn Meal Agar). Pengamatan dilakukan setiap hari hingga koloni jamur pada perlakuan kontrol memenuhi cawan petri. Kemudian dianalisis dengan analisis varian (sidik ragam) sesuai dengan rancangan yang digunakan.

3.3.2 Pengujian Minyak Atsiri *C. odorata* secara *In vivo* Terhadap Pertumbuhan Jamur *P. nicotianae* pada Bibit Tembakau.

Pengujian minyak atsiri daun kirinyuh secara *in vivo* dengan berbagai tingkat konsentrasi berbeda untuk mengetahui perkembangan jamur *P. nicotianae* pada daun tembakau secara langsung menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 6 perlakuan dan diulang sebanyak 4 kali.

P0 = Kontrol (Tanpa perlakuan minyak atsiri daun kirinyuh)

P1 = Minyak Atsiri daun kirinyuh konsentrasi 300 ppm

P2 = Minyak Atsiri daun kirinyuh konsentrasi 400 ppm

P3 = Minyak Atsiri daun kirinyuh konsentrasi 500 ppm

P4 = Minyak Atsiri daun kirinyuh konsentrasi 600 ppm

P5 = Minyak Atsiri daun kirinyuh konsentrasi 700 ppm

Secara keseluruhan terdapat 24 satuan percobaan dan setiap satuan percobaan menggunakan 10 tanaman uji, sehingga dibutuhkan 240 tanaman.

3.4. Persiapan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Minyak Atsiri

Penyulingan minyak atsiri daun kirinyuh dilakukan menggunakan destilasi uap di Laboratorium Toksikologi Jurusan HPT Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang. Sumber minyak atsiri yaitu didapat dari daun kirinyuh (*Chromolaena odorata*) segar. Daun yang telah dipisahkan

dari batang ditimbang berat basah daun. Daun yang telah ditimbang selanjutnya dirajang kecil agar lebih banyak minyak atsiri yang dihasilkan. Waktu yang dibutuhkan dalam proses penyulingan daun kirinyuh selama 4-5 jam. Hasil sulingan berupa minyak atsiri ditampung dalam botol kaca selanjutnya minyak ditambahkan $MgSO_4 \cdot xH_2O$ dengan tujuan agar air yang masih terdapat pada minyak dapat terikat oleh $MgSO_4 \cdot xH_2O$ sehingga didapat minyak atsiri yang jernih.

Minyak atsiri yang didapat selanjutnya ditimbang untuk menentukan rendemen minyak atsiri, adapun rumus rendemen yaitu (Ginting, 2004).

$$\text{Rendeman (\%)} = \frac{\text{Berat Minyak}}{\text{Berat Daun Sebelum Disuling}} \times 100\%$$

Langkah selanjutnya yaitu menghitung Berat Jenis (BJ). Perhitungan BJ minyak atsiri kirinyuh dibutuhkan untuk pembuatan formulasi minyak kirinyuh agar didapatkan larutan stok dengan jumlah konsentrasi yang diharapkan.

$$BJ = \frac{\text{Berat Minyak (g)}}{\text{Volume Wadah (mL)}}$$

3.4.2 Analisa Komponen Kimia Minyak Atsiri dengan GC-MS (Gas Chromatography–Mass Spectrometry)

Minyak atsiri yang diperoleh kemudian dianalisis dengan GC–MS untuk mengetahui komponen penyusun minyak atsiri daun kirinyuh. Spektrum massa yang diperoleh dibandingkan dengan spektrum senyawa standar yang telah diketahui dalam database yang telah terprogram pada alat GC–MS (Rita *et al.*, 2011). Analisis kandungan senyawa–senyawa dalam minyak atsiri kirinyuh dilakukan menggunakan instrument GC-MS dengan tipe GCMS-QP2010S Shimadzu dengan kondisi operasi GC suhu kolom oven 70 °C, mode aliran kontrol dengan tekanan 28,0 kPa, mode injeksi *split* dengan temperatur 310°C, aliran dalam kolom 0,63 mL/menit dengan total aliran 91,5 mL/menit. Pada MS waktu awal pada menit ke-5 dan berakhir pada menit ke-35. Analisa GC-MS dilakukan di

Laboratorium Organik Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang.

3.4.3 Isolasi Jamur Patogen *P. nicotianae* Tanaman Tembakau.

Jamur patogen diisolasi dari bagian daun tanaman tembakau dari lapang yang bergejala terserang penyakit lanas. Bagian batang dipotong melintang dengan ukuran $0,5 \times 0,5$ cm, selanjutnya potongan batang didisinfeksi permukaan menggunakan alkohol 70% dan NaOCl 2% masing-masing selama 1 menit dan dibilas menggunakan aquades steril sebanyak 3 kali. Sampel kemudian diletakkan pada CMA dan diinkubasi selama 7 - 10 hari pada suhu ± 27 °C atau sampai jamur tumbuh memenuhi cawan petri.

Pemurnian biakan jamur dilakukan dengan cara memotong sebagian miselium jamur dan dipindahkan secara aseptis menggunakan jarum ose kedalam media baru (Alexopoulos *et al.*, 1996). Biakan jamur yang telah murni kemudian diamati secara makroskopis dan mikroskopis untuk proses identifikasi. Koloni jamur yang tumbuh pada media CMA diisolasi dan diletakkan diatas gelas objek steril yang ditetesi aquades steril dan di tutup dengan gelas penutup, diinkubasi 5 hari. Kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran $400\times$ untuk di identifikasi.

3.4.4 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan dengan uji coba berbagai konsentrasi minyak atsiri daun kirinyuh yang diperkirakan mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur *P. nicotianae* penyebab penyakit lanas pada tanaman tembakau secara *invitro*. Pengujian dilakukan dengan metode peracunan media. Cara meracuni pertumbuhan jamur *P. nicotianae* melalui media tumbuh CMA yang dicampur dengan fungisida nabati. Uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan konsentrasi minyak atsiri 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan kontrol. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter pertumbuhan miselium pada cawan petri. Dari hasil uji pendahuluan, selanjutnya dicari nilai EC_{50} (Effective Concentration) menggunakan

program SPSS 16.0 untuk menganalisis probit dari hasil uji pendaluan. Dari nilai EC₅₀ yang didapat digunakan sebagai patokan awal untuk menentukan konsentrasi perlakuan untuk diujikan secara *in vitro* dan *in vivo*.

3.4.5 Formulasi Minyak Atsiri

Pembuatan formulasi untuk diujikan secara *in vitro* dan *in vivo* berdasarkan perkalian dari nilai BJ dengan % area yang didapat dari analisis GC-MS *C. odorata*. Dari hasil perkalian tersebut dilakukan perhitungan untuk mendapatkan larutan stok. Pembuatan formulasi untuk pengujian secara *in vitro* dan *in vivo* dapat menggunakan rumus pengenceran yaitu

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Dimana V1 = volume minyak atsiri yang dibutuhkan (mL),

M1 = konsentrasi minyak atsiri (ppm),

V2 = volume larutan yang dibutuhkan (2000 mL),

M2 = konsentrasi 1000 ppm.

Setelah volume minyak atsiri didapatkan kemudian ambil minyak atsiri menggunakan pipet dan dimasukkan kedalam beaker glass ukuran 1000 mL dan dicampur dengan tween 80 sebanyak 0.1%, ditambahkan aquades steril hingga 1000 mL (dilakukan 2 kali larutan stok 1000 ppm sebanyak 2000 mL diencerkan menjadi konsentrasi setiap perlakuan 300; 400; 500; 600; 700ppm).

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pengujian Minyak Atsiri Daun kirinyuh secara *In vitro* Terhadap Pertumbuhan Jamur *P. nicotianae*.

Metode pertama yang digunakan pada pengujian fungisida nabati secara *in vitro* yaitu dengan metode peracunan media (poisoned food technique). Metode peracunan media yaitu metode yang digunakan dengan cara meracuni pertumbuhan jamur *P. nicotianae*. Melalui media tumbuh yang dicampur dengan fungisida nabati (Chaelani, 2011 dalam Kurniasih, 2014).

Minyak atsiri dari masing-masing konsentrasi perlakuan dicampurkan pada saat pembuatan media CMA. Aplikasi fungisida nabati pada cawan petri dilakukan dengan menuang media CMA cair yang mengandung minyak atsiri berbagai konsentrasi sebanyak 10 mL dan didiamkan hingga padat atau beku. Selanjutnya isolat murni *P. nicotianae* berdiameter 6 mm ditumbuhkan pada media CMA dan diinkubasi selama 14 hari.

Metode yang kedua menggunakan metode uap atau volatil. Metode uap yaitu metode digunakan dengan cara minyak atsiri kirinyuh dengan berbagai konsentrasi diletakkan pada tutup cawan petri bagian dalam menggunakan kertas saring sesuai perlakuan yang diuji (yaitu 300; 400; 500; 600; 700 ppm). Pada cawan petri yang satu lagi diisi medium CMA 15 mL. Potongan biakan jamur *P. nicotianae* yang dipotong dengan *corkbore steril* berukuran diameter 6 mm, diletakkan di tengah-tengah medium dan kemudian ditutupkan ke petridish yang sudah diberi perlakuan, sehingga posisi jamur uji berhadapan dengan minyak (Nurmansyah, 2010).

3.5.2 Pengujian Minyak Atsiri Daun Kirinyuh secara *In vivo* terhadap Pertumbuhan Jamur *P. nicotianae* pada Tanaman Tembakau

Dalam pengujian secara *in vivo* perbedaan perlakuan yang digunakan berdasarkan tingkat konsentrasi minyak atsiri. Dalam pengujian *in vivo* digunakan 5 konsentasi minyak atsiri yang berbeda, dan kontrol dengan air serta diulang sebanyak 4 kali. Setiap satuan perlakuan ulangan terdapat 10 tanaman sampel, sehingga total bibit yang dibutuhkan adalah 24 perlakuan \times 10 tanaman \times 3 ulangan = 240 bibit.

3.5.3 Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan adalah campuran tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1. Tanah yang telah dikeringanginkan selama 7 hari kemudian disterilisasi menggunakan formalin 4% dengan dosis 25 mL/Kg tanah (Askito, 2005). Kemudian tanah dicampurkan dengan pupuk kompos dan dimasukkan kedalam *tray* berukuran 6x6x11 cm.

3.5.4 Penanaman dan Pemeliharaan Tanaman

Penyemaian benih tembakau dilakukan menggunakan nampan. Media semai yang digunakan adalah tanah yang telah disterilkan. Benih yang akan disemai sebelumnya direndam air hangat selama 3 jam dan selanjutnya disebar dipermukaan media. Penyiraman dilakukan setiap hari menggunakan *spreyer* tangan. Penjarangan dilakukan setelah bibit berumur 5 mms. Bibit yang digunakan adalah bibit yang berumur 6 MSS (minggu setelah semai). Setelah 6 MSS bibit diberi perlakuan dan dipindahkan ke *tray*. Pengendalian OPT (Organisme Pengganggu Tanaman) dengan cara mekanis.

3.5.5 Pembuatan Suspensi Jamur *P. nicotianae* dan Inokulasi Penyakit

Inokulum *P. nicotianae* yang diperbanyak pada media CMA diinkubasi pada suhu 23°C selama 14 hari. Suspensi *P. nicotianae* dibuat dengan menambahkan 10 ml akuades steril pada tiap petri biakan *P. nicotianae*. Selanjutnya biakan dipanen menggunakan stik L. hasil panen dituang dalam tabung Erlenmeyer dihitung kerapatannya dibawah mikroskop menggunakan *haemasitometer*.

Inokulasi penyakit dilakukan dengan menuangkan suspensi *P. nicotianae* pada tanah steril dengan kerapatan zooprora 1×10^4 sebanyak 5 ml. Inokulasi dilakukan 3 hari sebelum penanaman bibit yang telah diberi perlakuan.

3.5.6 Aplikasi Fungisida Nabati Pada Tanaman.

Pengaplikasian fungisida dilakukan dengan perendaman akar bibit dan pangkal batang. Pengaplikasian dilakukan pada tanaman berumur 6 mss. bibit yang digunakan sebelumnya telah diseleksi berdasarkan ukuran tanaman dan jumlah daun pertanaman. Perendaman akar bibit kedalam larutan fungisida nabati dengan berbagai konsentrasi selama 60 menit (Yasman *et al.* 2002), selanjutnya bibit ditanam pada tanah yang telah diinokulasi suspensi penyakit.

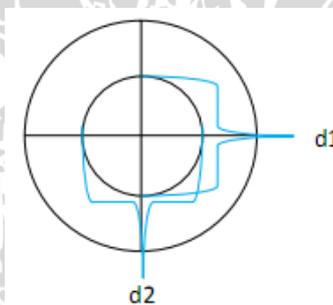
3.6. Parameter Pengamatan.

3.6.1 Penghambatan Pertumbuhan Koloni *P. nicotianae* pada Berbagai Konsentrasi.

Pengukuran diameter koloni jamur *P. nicotianae* didasarkan pada daya hambat minyak atsiri daun kirinyuh terhadap pertumbuhan *P. nicotianae*. Pengukuran diameter koloni jamur *P. nicotianae* berhenti dilakukan saat perlakuan kontrol (tanpa minyak atsiri daun kirinyuh) telah memenuhi cawan petri. Perhitungan diameter koloni dilakukan dengan cara membuat garis vertikal dan horizontal berpotongan tepat pada titik tengah koloni jamur di bagian luar alas cawan petri sesuai dengan rumus berikut (Istianto, 2009):

$$D = \frac{d1 + d2}{2}$$

Keterangan : D = diameter koloni jamur, d1 = diameter vertikal koloni jamur yang diamati, d2 = diameter horizontal koloni jamur yang diamati.



Gambar 4. Cara Pengukuran Diameter Koloni Jamur pada Media CMA

Setelah diketahui diameter koloni pada setiap perlakuan dan ulangan kemudian dihitung presentase penghambatan (Abd-lla *et al.*, 2013 dalam Nugraheni, 2014):

$$P = \frac{Dc - Dt}{Dc} \times 100\%$$

Keterangan: P = Persentase penghambatan, Dc = Diameter kontrol, Dt = Diameter setiap perlakuan (mm).

3.6.2 Berat Kering (Biomassa) Miselium *P. nicotianae*

Menghitung berat kering (biomassa) miselium jamur digunakan untuk mengetahui terhambatnya pertumbuhan jamur *P. nicotianae* oleh minyak atsiri daun kirinyuh melalui bobotnya. Rumus berat kering (biomassa) yaitu (Kurniasih, 2014):

$$M = m_1 - m_0$$

Keterangan: M = massa miselium *P. nicotianae*, m_0 = berat kertas saring kosong, m_1 = berat kertas saring + miselia *P. nicotianae*

Menurut (Hariyono, 2007) prosedur penimbangan berat kering (biomassa) miselia yaitu:

1. Kertas saring digunting bentuk bundar dengan diameter 9 cm sebanyak 48 lembar. Ditimbang dengan timbangan analitik. Kertas saring 48 lembar ditimbang untuk berat awal (m_0) dan kertas saring ini juga digunakan untuk menimbang berat miselium (m_1).
2. Media PDA yang tidak ditumbuhi jamur dipisahkan dengan cara memotong media pada bagian yang kosong.
3. Bagian media yang ditumbuhi jamur dilarutkan dengan cara menuangkan HCl 10% dalam cawan petri, ditunggu 10 menit sambil digoyang dan dihangatkan diatas lampu Bunsen agar media benar-benar larut.
4. Miselium dipisahkan dari media dengan cara disaring menggunakan kertas saring yang sebelumnya sudah ditimbang (langkah 1) setelah media benar-benar larut.
5. Miselium pada kertas saring dikeringkan dalam oven pada suhu 70°C selama 1-1,5 jam.
6. Penimbangan menggunakan neraca digital setelah pengeringan selesai. Didapatkan berat miselium dan kertas saring (m_1).
7. Perhitungan menggunakan rumus pada persamaan.

3.6.3 Intensitas Serangan Penyakit

Pengamatan kejadian penyakit dilakukan setiap 7 hari sekali sebanyak 4 kali pengamatan. Pengamatan pertama dilakukan saat gejala pertama

muncul pada bibit dan selanjutnya dilakukan setiap 7 hari sekali. Pengamatan yang dilakukan adalah pengamatan kejadian penyakit lanas. Kejadian penyakit diukur dengan rumus Abadi (2000) sebagai berikut :

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

Keterangan: I= Kejadian penyakit, a = jumlah bibit yang sakit, b= jumlah bibit yang diinokulasi.

3.6.4 Analisis Data

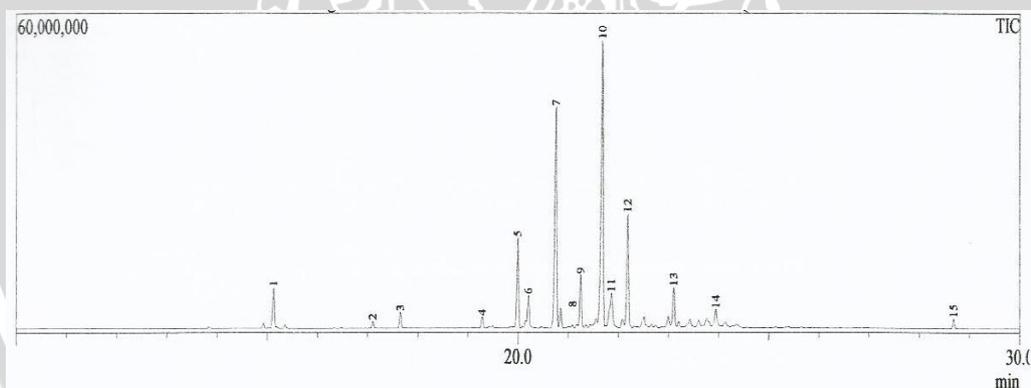
Data yang diperoleh diuji F taraf 5% dengan menggunakan program SPSS 16.0 dan apabila dalam pengujian sidik ragam diperoleh pengaruh perlakuan berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur 5% (BNJ 0,05).



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Analisa Komponen Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Menggunakan GC-MS

Minyak atsiri daun kirinyuh (*C. odorata*) segar diisolasi dengan metode destilasi uap air. Rendemen minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi uap air yaitu 0,21 % dari berat total daun segar 1300 g. Minyak yang dihasilkan berwarna kuning pucat dengan berat jenis 0,875 g/mL. Menurut Pisutthanan (2005), rendemen hasil destilasi daun kirinyuh segar menggunakan destilasi uap selama 6 jam yaitu 0,2% dengan hasil minyak atsiri berwarna kuning pucat. Minyak atsiri hasil destilasi dianalisa menggunakan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) agar dapat diketahui komponen senyawa kimia didalam minyak atsiri. Hasil analisis komponen senyawa dari GC-MS berupa kromatogram seperti pada Gambar 6 Data disajikan dalam bentuk persen (%) luas area (Lampiran 10). Data dapat digunakan sebagai acuan untuk mengetahui komponen senyawa kimia dominan yang ada dalam sampel uji.



Gambar 5. Kromatogram Analisis Komponen Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Menggunakan GC-MS.

Hasil identifikasi komponen senyawa kimia dengan GC-MS (Gambar 5) menunjukkan bahwa senyawa kimia yang teridentifikasi sebanyak 15 senyawa. Hal tersebut ditunjukkan dari puncak (peak) yang terbentuk dalam kromatogram. Persentase area komponen senyawa kimia dari hasil GC-MS minyak siri kirinyuh disajikan pada Tabel 2. Komponen senyawa kimia yang mendominasi dalam minyak atsiri yaitu Germacrene D (32,49%), *trans*-caryophyllene (24,49%), δ -cadinene (10,11%), α -copaene (8,09%), β -selinene (4,82%), Pregeijeren (3,68%), β -caryophyllene (3,38%). Komponen minyak

atsiri pada Tabel 2, secara kualitatif seperti hasil identifikasi minyak atsiri kirinyuh yang berasal dari Thailand, Benin, dan Nigeria namun terdapat perbedaan jika dibandingkan secara kuantitatif. Germacrane D, α -copaene, α -Humulene, trans-caryophyllene, δ -cadinene pada hasil penelitian menunjukkan persentase yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya dari Thailand, Benin dan Nigeria. Adanya perbedaan kandungan senyawa kimia dalam minyak atsiri disebabkan perbedaan kondisi stres lingkungan tanaman kirinyuh tumbuh, sehingga produksi metabolik sekunder dalam sel berbeda. Menurut Staba (1980) dalam produksi metabolik sekunder didalam sel tanaman dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, seperti faktor cahaya, suhu, pH, nutrisi, organisme pengganggu (jamur, bakteri, ganggang, serangga).

Tabel 2. Analisa GC-MS Komponen Senyawa Minyak Atsiri Daun Kirinyuh *C. odorata*.

No. Puncak	Senyawa	Berat Molekul	Presentase Komposisi (Hasil)	Persentase Komposisi (literatur)	Sumber
1	Pregeijeren	162	3,68 %	17,6 %	Pisutthanan <i>et al.</i> , 2005
2	β -Citronellol	156	0,62 %	-	-
3	Geraniol	154	1,45 %	-	-
4	1,5-heptadiene	204	1,03 %	-	-
5	α -copaene	204	8,09 %	1,6 %	Pisutthanan <i>et al.</i> , 2005
6	α -Humulene	204	2,18 %	1,2 %	Owolabi <i>et al.</i> , 2010
7	trans-caryophyllene	204	24,49 %	6,5 %	Felicien <i>et al.</i> , 2012
8	calarene	204	1,75 %	-	-
9	β -selinene	204	4,82 %	-	-
10	Germacrene D	204	32,49 %	11,1 %	Pisutthanan <i>et al.</i> , 2005
11	bicyclogermacrene	204	2,90 %	0,6 %	Felicien <i>et al.</i> , 2012
12	δ -cadinene	204	10,11 %	4,9 %	Pisutthanan <i>et al.</i> , 2005
13	β -Caryophyllene	220	3,38 %	7,3 %	Pisutthanan <i>et al.</i> , 2005
14	Veridiflorol	222	2,15 %	-	-
15	2-hexadecene	296	0,86 %	-	-

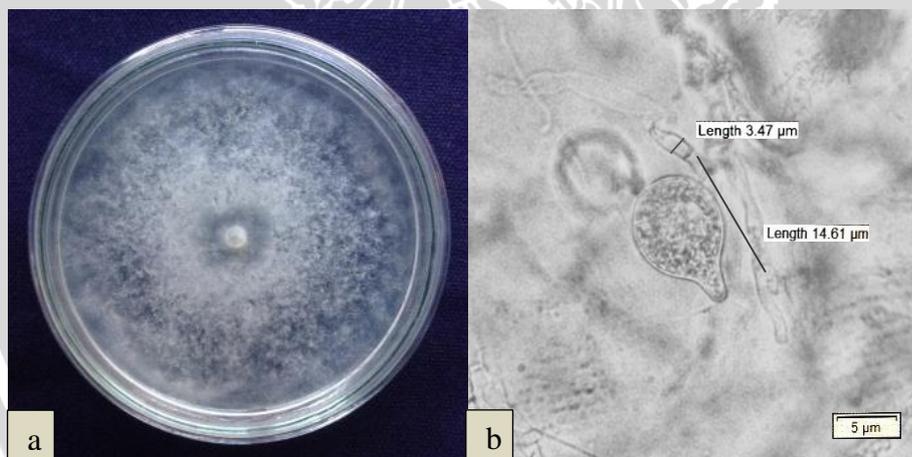
Keterangan : - : Tidak teridentifikasi pada penelitian sebelumnya.

Beberapa dari senyawa minyak atsiri daun kirinyuh termasuk dalam golongan seskuiterpen seperti Germacrane D, diduga memiliki potensi

antijamur. Menurut Pisutthanan (2005) beberapa jenis senyawa monoterpen dan seskuiterpen seperti α -pinene, β -pinene, Germacrane D, β -caryophyllene dan mycene terbukti memiliki kemampuan antijamur dan antibakteri.

4.2. Isolasi dan Identifikasi Jamur *P. nicotinae* Penyebab Penyakit Lanas pada Tanaman Tembakau.

Hasil pengamatan pertumbuhan koloni pada media CMA (*Corn Meal Agar*) (Gambar 6) menunjukkan bahwa warna koloni jamur *P. nicotinae* berwarna putih pucat dengan bentuk koloni tidak teratur. Koloni memiliki tekstur tipis dan menyebar di permukaan secara tidak merata (Gambar 6a). Hal ini sesuai dengan pernyataan Gallup (2006) yang menyatakan bahwa bentuk morfologi koloni *P. nicotiana* pada media CMA berbentuk bulat, tidak teratur. Koloni jamur *P. nicotiana* yang ditumbuhkan pada media CMA dapat memenuhi cawan petri ukuran diameter 9 cm dalam waktu 12 – 14 hari.



Gambar 6. Jamur *P. nicotiana* yang Diisolasi dari Tanaman Tembakau (a) Biakan Murni pada Cawan Petri 9 cm Berumur 17 hari (b) Mikroskopis Perbesaran 400x.

Pada identifikasi secara mikroskopis (Gambar 6b) menunjukkan bahwa hifa *P. nicotiana* tidak berwarna atau hialin, hifa tidak bersekat, bertuk hifa tabung tidak teratur dengan tebal 3,47 μm . Sporangium berbentuk bulat telur dan memiliki papilla pada bagian ujung sporangium. Sporangium berukuran 14,61 μm . Hal ini sesuai dengan pernyataan Gallup (2006), yang menyatakan bahwa sporangium *P. nicotiana* berbentuk bulat telur, berbentuk buah pir,

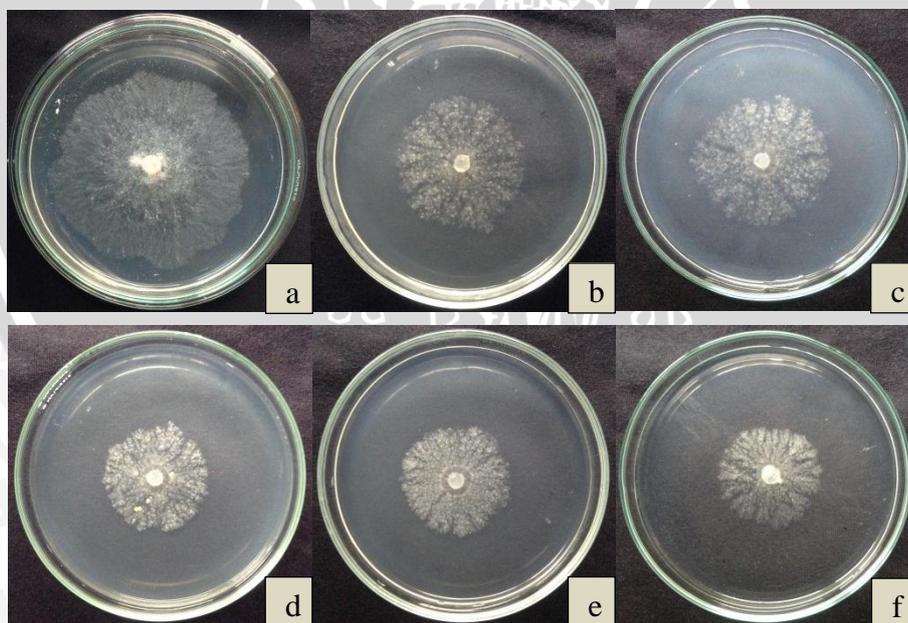
atau bulat, dan memiliki papilla yang menonjol, serta sporangium *P. nicotianae* memiliki ukuran bervariasi yaitu 14-39 μm dengan jumlah jumlah zoospora sebanyak 30 zoospora didalamnya.

4.3. Pengujian Minyak Atsiri Daun Kirinyuh terhadap Pertumbuhan Jamur *P. nicotianae* secara *In vitro*

Pengujian *In vitro* bertujuan untuk menguji kemampuan minyak atsiri dalam menekan pertumbuhan *P. nicotianae* pada media CMA. Pengukuran diameter koloni yang tumbuh pada cawan petri dengan media yang mengandung minyak atsiri dengan berbagai konsentrasi dilakukan selama 14 hari setelah inokulasi (HSI).

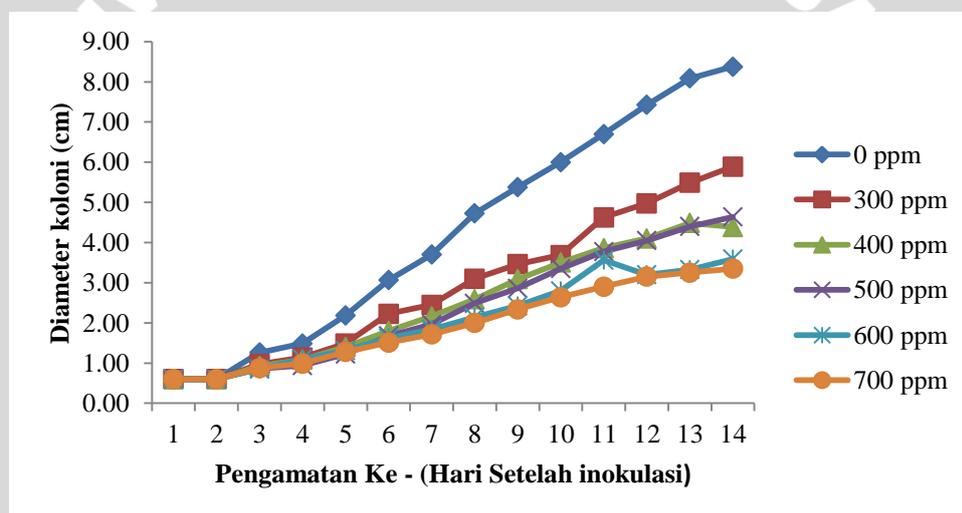
4.3.1 Pengaruh Minyak Asiri Daun Kirinyuh terhadap Pertumbuhan *P. nicotianae* dengan Metode Peracunan Media

Gambar 7 menunjukkan luas koloni pada kontrol (0 ppm minyak atsiri) lebih luas jika dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm yang telah ditambahkan dalam media tumbuh CMA.



Gambar 7. Pertumbuhan Koloni Jamur *P. nicotianae* pada Uji Toksisitas Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara *In vitro* dalam Cawan Petri saat Pengamatan 14 HSI Metode Peracunan Media. (a) kontrol, (b) 300 ppm, (c) 400 ppm, (d) 500 ppm, (e) 600 ppm, (f) 700 ppm.

Adanya penghambatan oleh minyak atsiri daun kirinyuh terhadap pertumbuhan jamur *P. nicotianae* dapat disebabkan adanya senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam minyak atsiri yang mempunyai sifat antijamur. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Fellicien *et al.* (2012), yang menyatakan bahwa golongan senyawa hydrogenated monoterpen dan seskuiterpen yang dimiliki oleh minyak atsiri *C. odorata* dapat bersifat sebagai antijamur, sifat anti jamur tersebut efektif menahan pertumbuhan *Penicillium digitatum* saat 3 HSI. Hal tersebut menunjukkan bahwa dengan minyak atsiri daun kirinyuh dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan jamur *P. nicotianae* secara *in vitro*.



Gambar 8. Pertumbuhan Diameter Jamur *P. nicotianae* pada Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh.

Pada Gambar 8 menunjukkan pengaruh konsentrasi pada setiap perlakuan minyak atsiri menunjukkan hasil yang beragam terhadap kontrol. Saat pengamatan ke-14 HSI pertumbuhan koloni paling rendah ditunjukkan pada perlakuan minyak atsiri konsentrasi 700 ppm (3.35 cm) selanjutnya 600 ppm (3.59 cm), 500 ppm (4.64 cm), 400 ppm (4.39 cm), 300 ppm (5.89 cm) secara berurutan, sedangkan pertumbuhan koloni pada perlakuan 0 ppm (kontrol) (8.38 cm) tanpa minyak atsiri menunjukkan diameter koloni yang paling besar. Pada perlakuan kontrol memiliki rata-rata diameter koloni terbesar dibandingkan dengan perlakuan yang lain dikarenakan media

tumbuh pada perlakuan kontrol 100% menggunakan media CMA sehingga koloni *P. nicotianae* dapat tumbuh dengan sangat baik. Sebaliknya dengan perlakuan dengan penambahan minyak atsiri 700 ppm pada media memiliki diameter terkecil hal ini dikarenakan konsentrasi minyak pada media paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang lain.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi yang berbeda berpengaruh nyata terhadap persentase penghambatan pertumbuhan koloni jamur *P. nicotianae* terjadi pada 6 HSI-14HSI (Lampiran 5. Tabel 1-12). Rerata persentase laju penghambatan pertumbuhan jamur *P. nicotianae* pada berbagai konsentrasi disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata Persentase Laju Penghambatan Pertumbuhan Jamur *P. nicotianae* (%) Akibat Perlakuan Penambahan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh dengan Metode Peracunan Makanan.

Hari Pengamatan (%)	Perlakuan				
	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm	700 ppm
3	22,40 a	26,29 a	30,63 a	31,51 a	32,31 a
4	22,85 a	26,06 a	36,88 a	25,04 a	33,36 a
5	31,05 a	35,21 a	43,10 a	38,85 a	40,46 a
6	27,47 a	40,98 ab	44,95 b	46,66 b	50,36 b
7	32,57 a	40,57 ab	46,05 ab	49,44 ab	52,10 b
8	33,89 a	44,97 ab	46,95 bc	54,37 bc	57,43 c
9	35,29 a	42,33 ab	46,36 abc	54,64 cb	56,38 c
10	38,62 a	41,47 a	43,10 a	53,25 b	55,97 b
11	30,92 a	42,40 b	43,62 b	46,78 b	56,67 c
12	32,95 a	44,73 b	45,46 b	56,89 c	57,58 c
13	32,10 a	44,43 b	45,54 b	58,89 c	59,83 c
14	34,59 a	48,47 b	51,25 bc	60,13 cd	62,78 d

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang bersesuaian menunjukkan hasil yang tidak nyata pada uji BNJ taraf 5%.

Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa saat pengamatan 14 HSI persentase penghambatan pertumbuhan tertinggi terhadap pertumbuhan koloni jamur *P. nicotianae*. Terjadi pada perlakuan dengan konsentrasi 700 ppm. Dengan konsentrasi 700 ppm mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur *P. nicotianae* sebesar 62,78%. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi 600 ppm, 500 ppm, 400 ppm, dan 300 ppm mengalami penurunan persentase penghambatan koloni jamur *P. nicotianae* secara

berurutan. Sehingga dengan adanya penambahan konsentrasi minyak atsiri daun kirinyuh pada media uji, mengakibatkan peningkatan kemampuan penghambatan pertumbuhan koloni jamur *P. nicotinae*. Hal ini dikarenakan semakin besar konsentrasi minyak atsiri daun kirinyuh yang terdapat dalam media uji, maka jumlah senyawa yang terakumulasi semakin besar dan kemampuan jamur untuk tumbuh akan semakin berkurang. Hal yang sama dijelaskan oleh Wasilah (2007) yang menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak tanaman yang terdapat dalam medium, maka jumlah ekstrak yang berdifusi ke dalam sel jamur semakin meningkat yang mengakibatkan sel jamur menjadi hipertonik dan terjadi berbagai mekanisme gangguan di dalam sel jamur yang menyebabkan terganggunya pertumbuhan jamur bahkan menyebabkan kematian.

Perhitungan berat biomassa miselium dilakukan untuk mengetahui perkembangan jamur *P. nicotiana* setelah perlakuan. Perkembangan jamur *P. nicotiana* dinilai dari panjang diameter koloni dan berat biomassa koloni yang tumbuh. Biomassa miselium didapatkan dari pengukuran berat miselium saat pengamatan berakhir yaitu pada 14 HSI. Hasil analisis ragam berat biomassa miselium jamur *P. nicotiana* menunjukkan bahwa perlakuan dengan pemberian minyak atsiri daun kirinyuh memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (Lampiran 5. Tabel 13). Rerata biomassa miselium jamur *P. nicotiana* setelah perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Berat Biomassa Miselium Jamur *P. nicotiana* Setelah Penambahan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Metode Peracunan Media.

Perlakuan	Berat Biomassa Miselium (g)
Kontrol	0,03497 b
300 ppm	0,01732 ab
400 ppm	0,01750 ab
500 ppm	0,01632 ab
600 ppm	0,01457 ab
700 ppm	0,00777 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang bersesuaian menunjukkan hasil yang tidak nyata pada uji BNJ taraf 5%.

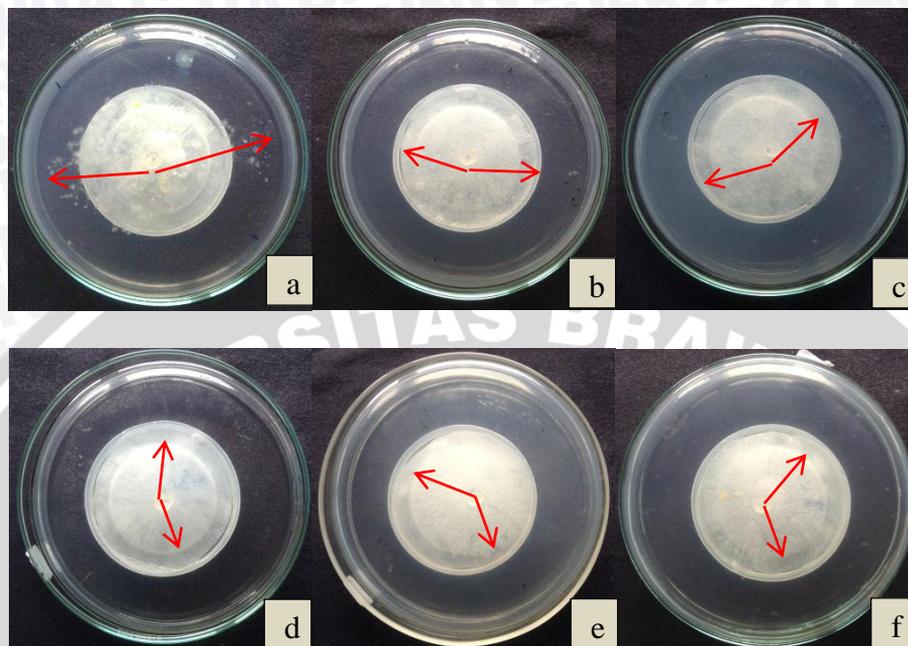
Dari Tabel 4 menunjukkan bahwa berat biomassa miselium dengan perlakuan 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, dan 700 ppm lebih kecil dibandingkan dengan berat biomassa miselium perlakuan kontrol. Koloni jamur yang memiliki berat biomassa miselium paling rendah adalah koloni dengan perlakuan minyak atsiri konsentrasi 700 ppm kemudian disusul dengan konsentrasi 600 ppm, 500 ppm, 300 ppm, dan 400 ppm secara berurutan. Dari Tabel 3 menunjukkan berat biomassa miselium terbesar yaitu pada perlakuan kontrol yaitu sebesar 0.03497 g dan yang terkecil dengan konsentrasi 700 ppm sebesar 0.00777 g. Semakin tinggi konsentrasi mengakibatkan menurunnya berat miselium jamur *P. nicotianae*. Diduga hal tersebut terjadi karena senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri seperti Germacrane D, *trans*-caryophyllene, δ -cadinene memiliki sifat antijamur sehingga jamur tidak dapat tumbuh dengan normal seperti pada kontrol. Menurut Kurniasih (2014) pertumbuhan suatu mikroorganisme umumnya tergantung pada kondisi ketersediaan nutrisi dan juga lingkungan. Apabila kondisi makanan atau nutrisi tercukupi maka mikroorganisme akan tumbuh dengan baik.

4.3.2 Pengaruh Minyak Asiri Daun Kirinyuh terhadap Pertumbuhan *P. nicotianae* dengan Metode Volatil

Pengujian minyak atsiri terhadap jamur *P. nicotianae* dengan metode volatil dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan penghambatan volatil atau uap yang dihasilkan oleh minyak atsiri daun kirinyuh. Diameter koloni yang tumbuh dari setiap perlakuan (0 ppm, 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm, 700 ppm) dihitung untuk mendapatkan persentase laju penghambatan minyak atsiri terhadap pertumbuhan koloni jamur *P. nicotianae*. Pengamatan panjang diameter koloni dilakukan selama 14 hari setelah inokulasi (HSI).

Pada Gambar 9 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan panjang diameter koloni jamur *P. nicotianae* pada setiap perlakuan. Koloni jamur yang memiliki diameter tertinggi yaitu pada perlakuan kontrol sebaliknya pada konsentrasi 700 ppm (Gambar 9f) memiliki diameter koloni yang terendah kemudian disusul oleh perlakuan 600 ppm (Gambar 9e), 500 ppm

(Gambar 9d), 400 ppm (Gambar 9c) ,dan 300 ppm (Gambar 9b). Hal tersebut memiliki arti bahwa volatil minyak atsiri daun kirinyuh memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan koloni jamur *P. nicotianae* secara *in vitro*.



Gambar 9. Pertumbuhan Koloni Jamur *P. nicotianae* Pada Uji Toksisitas Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara *In vitro* dalam Cawan Petri saat Pengamatan 14 HSI dengan Metode volatil. (a) kontrol, (b) 300 ppm, (c) 400 ppm, (d) 500 ppm, (e) 600 ppm, (f)700 ppm.

Penambahan konsentrasi minyak atsiri daun kirinyuh dalam pengujian metode volatil mengakibatkan terjadi penghambatan pertumbuhan koloni jamur *P. nicotianae*. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pada pengamatan ke-3 dan ke-5 HSI tingkat konsentrasi yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap persentase penghambatan koloni *P. nicotianae*, namun pada saat 6 HSI, 9 HSI, 11-14 HSI menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi berpengaruh nyata terhadap persentase penghambatan koloni jamur *P. nicotianae* (Lampiran 5. Tabel 14-25). Rerata hasil persentase daya hambat pertumbuhan miselium yang disajikan pada Tabel 5 tidak terjadi pengaruh yang nyata pada pengamatan 3 HSI-5 HSI diduga dikarenakan uap minyak atsiri yang terbentuk didalam cawan petri belum menguap secara penuh sehingga uap belum dapat menekan pertumbuhan koloni jamur *P. nicotianae*, namun pada pengamatan selanjutnya hingga akhir pengamatan

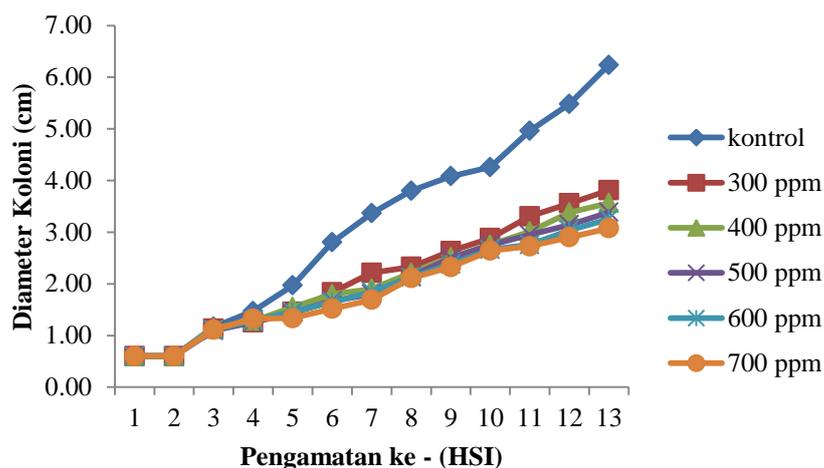
hasil menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap perlakuan kontrol. Menurut Ketaren (1985) minyak atsiri dapat menguap pada suhu kamar dan penguapan akan terjadi semakin banyak seiring dengan kenaikan suhu.

Tabel 5. Persentase Laju Penghambatan Pertumbuhan Jamur *P. nicotianae* (%) Akibat Perlakuan penambahan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh dengan Metode Volatil.

Hari Pengamatan (%)	Perlakuan				
	300 ppm	400 ppm	500 ppm	600 ppm	700 ppm
3	3,93 a	4,01 a	4,59 a	4,71 a	6,58 a
4	14,93 a	12,73 a	14,43 a	12,59 a	10,14 a
5	21,56 a	17,99 a	22,42 a	22,05 a	28,48 a
6	34,28 a	35,65 a	40,35 ab	41,03 ab	45,72 b
7	33,16 a	42,50 a	45,65 a	44,55 a	49,04 a
8	38,75 a	41,74 a	43,53 a	44,05 a	44,42 a
9	35,43 a	38,45 ab	38,72 ab	41,68 b	42,99 b
10	32,26 a	35,20 a	35,34 a	37,38 a	37,89 a
11	33,30 a	39,20 ab	40,47 ab	44,32 b	45,05 b
12	35,04 a	38,13 ab	42,58 ab	44,40 b	46,98 b
13	38,78 a	42,73 ab	45,57 ab	47,63 b	50,66 b
14	36,33 a	43,28 b	47,83 bc	48,15 cb	52,07 c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang bersesuaian menunjukkan hasil yang tidak nyata pada uji BNJ taraf 5%.

Pada hasil analisis GC – MS sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa utama yang terdapat minyak atsiri daun kirinyuh sebagian besar merupakan senyawa golongan seskuiterpen (Germacrane D, Pregeijerene, Geijeren, δ -cadinene, *trans*-caryophyllene, α -copaene) yang memiliki atom karbon sebanyak 15 atom sehingga minyak atsiri daun kirinyuh yang digunakan cenderung lebih lama menguap jika dibandingkan dengan senyawa golongan monoterpen lainnya. Hal yang sama dijelaskan oleh Robinson (1995) golongan senyawa seskuiterpen berasal dari tiga satuan isopren dengan 15 atom karbon sehingga memiliki titik didih yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa monoterpen, serta seskuiterpen terdapat sebagai minyak atsiri yang tersuling uap dan berperan penting dalam memberi aroma.



Gambar 10. Pertumbuhan Diameter Jamur *P. nicotianae* pada Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh.

Pada Gambar 10 menunjukkan bahwa pengaruh uap yang timbulkan oleh minyak atsiri saat pengamatan 6 HSI secara signifikan mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur *P. nicotianae* dan penghambatan koloni semakin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu pengamatan hingga 14 HSI. Diduga hal tersebut terjadi dikarenakan semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri yang digunakan maka volatil minyak atsiri yang dihasilkan semakin banyak dan sifat antijamur akan semakin kuat, sehingga pertumbuhan jamur semakin melemah. Hal yang sama dijelaskan oleh Boukhatem *et al.* (2014) bahwa fase uap suatu minyak atsiri akan meningkat sejalan dengan meningkatnya kuantitas minyak atsiri tersebut. Selain itu volatile minyak atsiri dapat memiliki efek penghambatan yang kuat terhadap pertumbuhan jamur serta racun yang dimiliki dapat merubah struktur morfologi permukaan jamur dan menurunkan virulensi penyakit. Menurut Pina- Vaz *et al.* (2004) senyawa yang terkandung pada minyak atsiri dapat mengakibatkan perubahan pada morfologi hifa. Hifa menjadi rusak, terpelintir, dan struktur permukaan berubah.

Pengukuran berat biomassa miselium dilakukan untuk mengetahui perbedaan berat biomassa jamur *P. nicotianae* akibat pengaruh pemberian minyak atsiri daun kirinyuh. Hasil analisis ragam berat biomassa miselium *P. nicotianae* menunjukkan bahwa dengan tingkat konsentrasi minyak atsiri yang berbeda berpengaruh nyata terhadap berat biomassa miselium jamur

P. nicotianae (Lampiran 5. Tabel 26). Rerata berat biomassa jamur *P. nicotianae* setelah perlakuan dapat disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Rerata Berat Biomassa Miselium Jamur *P. nicotianae* Setelah Penambahan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Metode Volatil.

Perlakuan	Berat Biomassa Miselium (g)
kontrol	0,04632 b
300 ppm	0,01165 ab
400 ppm	0,01455 ab
500 ppm	0,02030 ab
600 ppm	0,00747 a
700 ppm	0,01575 ab

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang bersesuaian menunjukkan hasil yang tidak nyata pada uji BNJ taraf 5%.

Berat biomassa tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol sebesar 0,04632 g dan terendah pada konsentrasi 600 ppm sebesar 0,00747 g. Hasil ini berbeda dengan hasil sebelumnya pada berat biomassa miselium jamur *P. nicotianae* uji peracunan media. Pada uji volatile rerata berat biomassa miselium *P. nicotianae* lebih berat dibandingkan dengan metode peracunan media, sehingga secara umum metode peracunan makan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *P. nicotianae* dibandingkan dengan metode volatil.

4.4. Pengujian Minyak Atsiri Daun Kirinyuh terhadap Pertumbuhan Jamur *P. nicotianae* pada Tanaman Tembakau secara *In vivo*

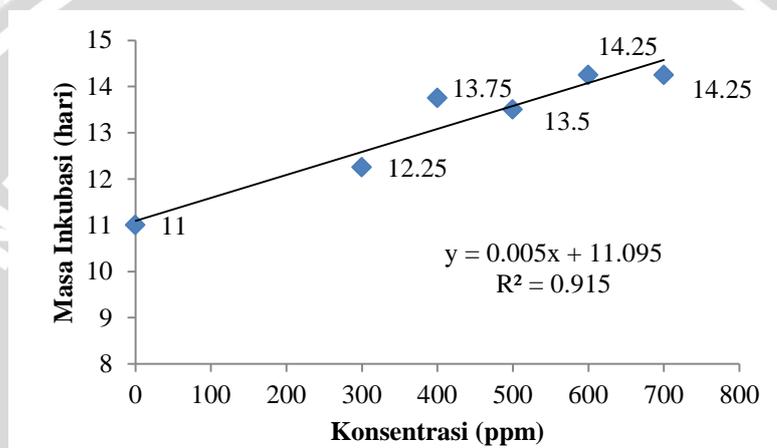
Pengujian minyak atsiri secara *in vivo* dilakukan dengan tujuan untuk menguji pengaruh aplikasi minyak atsiri daun kirinyuh secara preventif terhadap serangan penyakit lanas oleh jamur *P. nicotinae* pada bibit tanaman tembakau.

4.4.1 Masa Inkubasi Penyakit Lanas oleh Jamur *P. nicotianae* Setelah Aplikasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

Aplikasi minyak atsiri dengan berbagai konsentrasi pada bibit tanaman tembakau dilakukan secara preventif dengan perendaman akar dan pangkal bibit kedalam suspensi minyak atsiri. Hal ini dilakukan dengan

tujuan agar bagian akar bibit yang luka akibat pemindahan dari tempat persemai dapat dilapisi dengan minyak atsiri sebelum ditanam dilahan.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata antara perlakuan dosis yang diujikan terhadap masa inkubasi serangan penyakit lanas pada tembakau yang disebabkan oleh *P. nicotianae* (Lampiran 5. Tabel 27). Grafik hubungan antara konsentrasi minyak atsiri daun segar kirinyuh dengan masa inkubasi penyakit lanas disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Hubungan Konsentrasi Minyak Atsiri daun Kirinyuh dengan Masa Inkubasi Penyakit Lanas Pada Bibit Tembakau.

Hubungan antara konsentrasi minyak atsiri daun kirinyuh dengan masa inkubasi penyakit lanas yang disebabkan oleh *P. nicotianae* yang disajikan pada Gambar 11 menunjukkan terdapat hubungan linier positif antara konsentrasi minyak atsiri daun kirinyuh dengan masa inkubasi penyakit lanas pada bibit tembakau dengan bentuk persamaan $y = 0,005x + 11,095$ ($R^2 = 0,915$). Persamaan tersebut memiliki makna setiap penambahan konsentrasi sebesar 100 (x) ppm pada larutan perendaman, maka terjadi peningkatan masa inkubasi penyakit lanas pada bibit tembakau selama 0,5 hari.

Secara keseluruhan semakin besar konsentrasi yang ditambahkan pada pengujian, maka masa inkubasi penyakit lanas semakin terhambat. Hal tersebut disebabkan adanya pelapisan minyak atsiri pada permukaan akar dengan minyak atsiri akan menambah ketahanan tanaman terhadap serangan patogen yang berada di dalam tanah. Hal ini dikarenakan luka pada akar

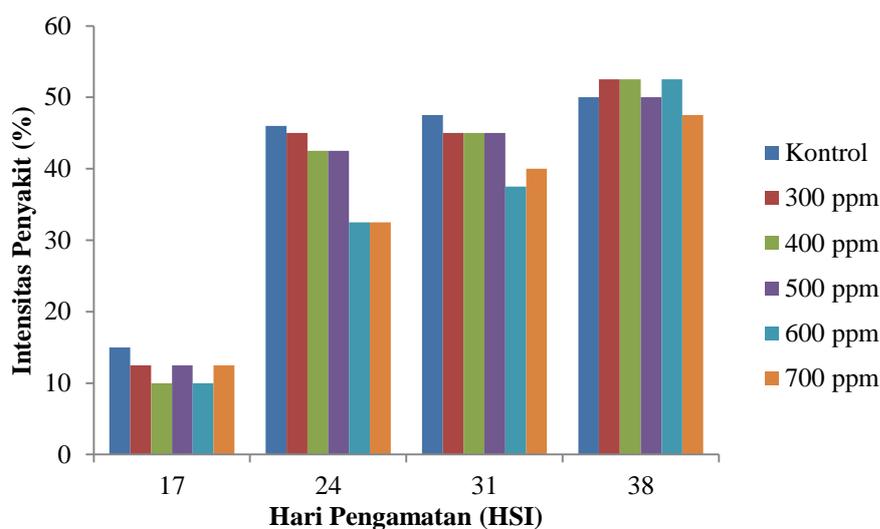
terselubungi oleh minyak atsiri daun kirinyuh dan patogen terhambat untuk menginfeksi pada bagian akar yang sakit tersebut. Menurut Umarella (2006) pelapisan benih menggunakan minyak sereh dapat mengendalikan penyakit lodoh yang disebabkan oleh *F. solani*. Hal tersebut ditunjang oleh Armenrout *et al.* (1987) yang mengemukakan bahwa bila infeksi hanya mencapai ekstraseluler maka jaringan tersebut akan melakukan penutupan luka, sehingga gangguan proses fisiologis jaringan tidak berlanjut meluas dan hanya terjadi gejala nekrotik lokal saja.

4.4.2 Intensitas Penyakit Lanas oleh Jamur *P. nicotianae* Setelah Aplikasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

Gejala serangan patogen *P. nicotianae* pada bibit uji diawali dengan tanaman layu daun menguning dari pangkal batang selanjutnya batang busuk dan berwarna coklat kehitaman (Lampiran 11. Gambar 6.) Dari Gambar 12 menunjukkan bahwa dengan penambahan tingkat konsentrasi minyak atsiri daun kirinyuh pada bibit tembakau mengakibatkan penghambatan serangan penyakit yang beragam. Pada perlakuan kontrol bibit tembakau menunjukkan gejala serangan penyakit lanas tertinggi, sebaliknya pada perlakuan 700 ppm minyak atsiri gejala serangan penyakit lanas pada bibit lebih rendah.



Gambar 12. Serangan Penyakit Lanas Pada Bibit Tembakau Setelah Perlakuan Perendaman Larutan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh dengan Berbagai Konsentrasi pada Uji *In vivo* saat 24 HSI.



Gambar 13. Perkembangan Persentase Intensitas Penyakit Lanas pada Bibit setelah Aplikasi Minyak Atsiri dengan Berbagai Konsentrasi.

Kemampuan minyak atsiri dalam menghambat perkembangan penyakit lanas dapat dilihat dari nilai persentase intensitas penyakit lanas pada bibit. Pengujian kemampuan minyak atsiri daun kirinyuh secara *in vivo* menunjukkan bahwa dengan penambahan konsentrasi minyak atsiri dapat menurunkan tingkat intensitas penyakit (Gambar 13). Pada Gambar 13 terlihat pada pengamatan 24 HSI dengan perlakuan 700 ppm intensitas penyakit sebesar 32,0% sedangkan pada kontrol (tanpa minyak atsiri) persentase intensitas penyakit lebih tinggi yaitu sebesar 45%. Namun pada pengamatan selanjutnya tidak terjadi pengaruh yang signifikan dari perlakuan konsentrasi minyak atsiri daun kirinyuh. Keefektifan pengaplikasian minyak atsiri juga tergantung pada kondisi lingkungan. Karena kondisi lingkungan sangat mempengaruhi kemampuan minyak atsiri tertahan pada akar. Selain itu patogenitas penyakit juga sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Menurut Koesmaryono (1999), perubahan lingkungan fisik iklim atau cuaca akan sangat berpengaruh terhadap perkembangan penyakit pada saat patogen masih berada di luar jaringan tanaman (pra-penetrasi).

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terjadi pengaruh yang nyata pada pengamatan 24 HSI. Selanjutnya tidak terjadi pengaruh nyata pada saat pengamatan 17, 31, dan 38 HSI (Lampiran 5. Tabel 28-31). Rerata persentase intensitas penyakit disajikan pada Tabel 7. Tidak adanya

pengaruh nyata pada pengamatan ke-17 HSI diakibatkan persentase intensitas penyakit relatif rendah hanya berkisar antara 10% sampai 15% pada semua perlakuan. Namun pada tabel analisis ragam masa inkubasi terdapat pengaruh yang nyata saat pengamatan dilakukan hari ke-10 hingga 16 hari. Sedangkan pada pengamatan 31 HSI dan 38 HSI tidak terjadi pengaruh nyata diduga disebabkan efektifitas minyak atsiri menurun akibat pengaruh lingkungan.

Tabel 7. Rerata Persentase Intensitas Penyakit Lanas Setelah Perlakuan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh pada Tanaman Tembakau.

Perlakuan	Intensitas Penyakit (%)			
	17 HSI	24 HSI	31 HSI	38 HSI
kontrol	15,0 a	45,0 a	47,5 a	50,0 a
300 ppm	12,5 a	40,0 ab	45,0 a	52,5 a
400 ppm	10,0 a	42,5 ab	45,0 a	52,5 a
500 ppm	12,5 a	42,5 ab	45,0 a	50,0 a
600 ppm	10,0 a	32,5 b	37,5 a	52,5 a
700 ppm	12,5 a	32,5 b	40,0 a	47,5 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang bersesuaian menunjukkan hasil yang tidak nyata pada uji BNJ taraf 5%

Pada Tabel 8 menunjukkan bahwa persentase efektifitas penghambatan minyak atsiri daun kirinyuh terhadap kejadian penyakit lanas yang disebabkan oleh *P. nicotianae* semakin lama efektifitasnya semakin menurun. Pada pengamatan ke-31 HSI efektifitas minyak atsiri sebesar 0 % pada perlakuan 300 ppm, 400 ppm, 500 ppm, dan 600 ppm sedangkan pada perlakuan dengan konsentrasi tertinggi yaitu 700 ppm persentase efektifitas penghambatan sebesar 5%.

Hal tersebut terjadi akibatnya penurunan efektifitas senyawa yang terkandung didalam minyak atsiri daun kirinyuh. Hal ini disebabkan senyawa minyak atsiri daun kirinyuh merupakan senyawa organik sehingga akan lebih mudah terurai di alam dan tidak dapat bertahan lama jika diaplikasikan. Menurut Syakir (2011), pengaplikasian fungisida nabati pada tanaman tidak akan bertahan lama karena bersifat *bio-degradable* atau mudah terurai oleh lingkungan.

Tabel 8. Rerata Persentase Efektifitas Penghambatan Penyakit Lanas Setelah Perlakuan Minyak Atsiri Daun Kirinyuh pada Tanaman Tembakau.

Perlakuan	Intensitas Penyakit (%)			
	17 HSI	24 HSI	31 HSI	38 HSI
kontrol	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
300 ppm	16.67 a	2.17 ab	5.26 a	0.00 a
400 ppm	33.33 a	7.61 ab	5.26 a	0.00 a
500 ppm	16.67 a	7.61 ab	5.26 a	0.00 a
600 ppm	33.33 a	29.35 b	21.05 a	0.00 a
700 ppm	16.67 a	29.35 b	15.79 a	5.00 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang bersesuaian menunjukkan hasil yang tidak nyata pada uji BNJ taraf 5%

Pada pengamatan 17- 38 HSI menunjukkan penurunan efektifitas minyak atsiri terhadap pertumbuhan penyakit lanas karena senyawa yang berfungsi untuk melindungi akar dan batang tanaman dari serangan patogen *P. nicotinae* mulai hilang, sehingga patogen dapat langsung menginveksi bagian tanaman tembakau dan mengakibatkan tanaman sakit. Menurut Yulianti (2012) mengemukakan bahwa pada tembakau varietas rentan *gen* yang terdapat pada tanaman kurang adaptif terhadap serangan patogen sehingga tanaman kurang tanggap dalam pengenalan senyawa yang dikeluarkan oleh patogen serta tanaman cenderung lambat dalam memproduksi senyawa metabolit sekunder untuk menangkal serangan patogen dan berakibat patogen tetap dapat mengkoloni pada tubuh tanaman.

Fungisida nabati berbahan minyak atsiri daun kirinyuh dapat diaplikasikan secara preventif pada tanaman, sehingga pengaplikasian dapat bersifat mencegah terjadinya serangan patogen pada tanaman. Mekanisme yang terjadi pada akar adalah menghambat proses penetrasi dan perkecambahan pada bagian yang luka, sehingga saat terdapat patogen yang menyerang bagian yang luka akan dihambat oleh minyak atsiri daun kirinyuh.

4.4.3 Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Terhadap Penghambatan Pertumbuhan (EC₅₀) Jamur *P. nicotianae*

Effective Concentration (EC₅₀) merupakan konsentrasi yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan jamur sebesar 50%. Untuk mengetahui EC₅₀ minyak atsiri daun kirinyuh secara *in vitro* (uji peracunan media dan uji volatil) dan *in vivo* digunakan data pertumbuhan *P. nicotianae* pada cawan petri dan efektivitas penghambatan penyakit lanas pada bibit tembakau. Penentuan nilai EC₅₀ menggunakan analisa probit program SPSS 16.0. Nilai EC₅₀ dari minyak atsiri daun kirinyuh terhadap jamur *P. nicotianae* disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Nilai EC₅₀ Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

Metode	Persamaan	EC ₅₀ (ppm)
Peracunan Media	$y = -0,831 + 0,002x$	478,70
Uji Volatil	$y = -0,574 + 0,001x$	622,78
Uji <i>In vivo</i>	$y = -2,031 + 0,002x$	855,56

Keterangan : dihitung dengan program SPSS 16.0.

Nilai EC₅₀ minyak atsiri daun kirinyuh pada metode uji peracunan media dan metode uji volatil memiliki nilai yang berbeda (Lampiran 6-8). EC₅₀ metode volatil lebih besar dibandingkan dengan metode peracunan media, sehingga metode peracunan media lebih efektif dibandingkan dengan menggunakan metode volatil. Pada nilai uji *in vivo* nilai EC₅₀ menunjukkan hasil terbesar yaitu 855,56 ppm. Nilai EC₅₀ tersebut berada diatas perlakuan konsentrasi tertinggi (700 ppm) yang digunakan, dengan persentase penghambatan sebesar 33,33%. Sehingga dalam pengujian secara *in vivo* dengan konsentrasi 700 ppm hanya dapat diketahui nilai EC₃₅ sebesar 693,25 ppm. Hal ini disebabkan hasil uji efektifitas tertinggi minyak atsiri daun kirinyuh pada bibit tembakau secara *in vivo* tidak mencapai nilai minimal untuk penentuan EC₅₀ yaitu sebesar 50%, sehingga saat dianalisa probit dengan program SPSS 16.0 nilai EC₅₀ secara otomatis berada di atas konsentrasi perlakuan. Nilai EC₅₀ berbanding terbalik dengan aktivitas antijamur suatu senyawa. Semakin besar nilai EC₅₀ maka aktivitas antifungi semakin kecil, artinya konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan aktivitas antijamur sebesar 50% semakin besar (Widyaningsih, 2010).

V. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

- Senyawa utama yang terkandung dalam minyak atsiri daun kirinyuh (*C. odorata*) berdasarkan hasil GC-MS yaitu Germacrene-D, *trans*-caryophyllene, δ -cadinene, α -copaene, β -silinene, Geraniol.
- Pengujian secara *in vitro* metode peracunan dengan minyak atsiri konsentrasi 300ppm, 400ppm, 500ppm, 600ppm, 700ppm dapat menghambatan pertumbuhan jamur *P. nicotianae* dengan nilai EC₅₀ 458,55 ppm.
- Pengujian secara *in vitro* metode volatil dengan minyak atsiri konsentrasi 300ppm, 400ppm, 500ppm, 600ppm, 700ppm dapat menghambatan pertumbuhan jamur *P. nicotianae* dengan nilai EC₅₀ 617,05ppm.
- Pada pengujian secara *In vivo*, dengan metode perendaman bagian akar dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri dapat menekan pertumbuhan penyakit lanas pada bibit dan secara statistik berbeda nyata dengan kontrol dengan nilai EC₃₅ 693,25 ppm dan EC₅₀ 855,56 ppm.
- Minyak atsiri daun kirinyuh memiliki sifat antijamur terhadap patogen *P. nicotianae*.

5.2. Saran

- Minyak atsiri daun kirinyuh (*C. odorata*) berpotensi dikembangkan sebagai fungisida nabati yang ramah lingkungan.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi *C. odorata* terhadap patogen tanaman yang lain secara *in vitro* dan *in vivo*.
- Perlu dilakukan penelitian tentang tingkat keberhasilan hidup bibit tanaman tembakau setelah perlakuan pencabutan bibit dari tray semai. Sehingga dapat diketahui pengaruh proses pencabutan bibit tanaman terhadap tingkat kematian bibit pasca replantasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadi, A. L. 2000. Ilmu Penyakit Tumbuhan 3. Bayumedia Publishing. Malang.
- Abdullah, A. dan Soedarmanto, 1990. Budidaya Tembakau. Yasaguna, Jakarta. Hal. 9–33.
- Agrios, N. G. 2005. Plant Pathology Fifth Edition. Departemen of Plant Pathology. University of Florida. United States of America.
- Alexopoulos, C. J., C.W.Mims, dan M. Blackwell. 1996. Introductory Mycology. Fourth Edition. John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Armenrout, V. N. and A. J. Downer. 1987. Infection Cushion Development by *Rhizoctonia solani* on Cotton. Phytopathology. Vol. 77 Hal. 619-623.
- Askito, W. 2005. Pengaruh Pemupukan Terhadap Pertumbuhan Hasil dan Tanaman di Lahan Kering. Universitas Mataram. Mataram.
- Binggeli, P. 1997. *Chromolaena odorata*. Woody Plant Ecology. Tersedia pada <http://members.lycos.co.uk/WoodyPlantEcology/docs/web-sp4.htm>. Diunduh tanggal 6 Januari 2015.
- Boukhatem, M. N., M. A. Ferhat, A. Kameli, F. Saidi, dan H. T. Kebir. 2014. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. Libyan Journal of Medicine. Vol. 9.
- Bremer, K. (1994). Asteraceae – Cladistics and Classification. Timber Press. Portland.
- Cahyadi, R. (2009). Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). [Skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Cahyono, B., 1998. Tembakau Budidaya dan Analisis Usaha Tani. Kanisius. Yogyakarta. Hal. 11–13.
- Chaelani, S.R. 2011. Metode Penelitian Penyakit Tumbuhan. Universitas Brawijaya Press. Malang
- Chupp C., dan A. F. Sherf. 1960. Vegetables Disease and Their Control. Ronal Pr. New York (US).
- Cirio, A. T., V. M.R. Galindo, R. S. Aranda, dan N. W. Torres. 2011 Activity against *Streptococcus pneumoniae* of the Essential Oil and δ -Cadinene Isolated from *Schinus molle* Fruit. Journal of Essential Oil Research. Vol. 23 No. 5 Hal.25-28

- Csinos, A. S. 1999. Stem and Root Resistance to Tobacco Black Shank. *Plant Disease* Vol. 83 No. 8 Hal. 777-780.
- Daniati, C. 2013. Penyakit Lanas Serang Tembakau di Kuningan. dari Direktorat Jenderal Perkebunan. Tersedia pada <http://ditjenbun.pertanian.go.id/perlindungan/berita-221-penyakit-lanas-serang-tembakau-petani-di-kuningan.html>. diunduh 20 Februari 2015.
- Department of Agriculture. 2013. Siam Weed *Chromolaena odorata*. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry Biosecurity. Queensland Hal. 1-4.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2012. Komoditas Tembakau Tahun 2011-2013. Jakarta. Direktorat Jenderal Perkebunan.
- Erwin, D. C., dan O. K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* Disease Worldwide. APS Press. St. Paul, Minnesota.
- Felicien A., A. G. Alain, D. T. Sebastien, T. Fidele, Y. Boniface, M. Chantal dan S. Dominique. 2012. Chemical composition and Biological activities of the Essential oil extracted from the Fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) Growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences*. Vol. 1 No. 3 Hal 1-13.
- Gallup, C.A., M.J. Sullivan, dan H.D. Shew. 2006. Black Shank of Tobacco. The Plant Health Instructor. North Carolina State University.
- Ginting, Sentosa. 2004. Pengaruh Lama Penyulingan terhadap Rendemen dan Mutu Minyak Atsiri Daun Sereh Wangi. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Hadi, M. 2008. Pembuatan Kertas Anti Rayap Ramah Lingkungan dengan Memanfaatkan Ekstrak Daun Kirinyuh (*Eupatorium odoratum*). *BIOMA*. Vol. 6 No. 2 Hal. 12-18.
- Hamijaya, M.Z. dan A. Asikin. 2005. Teknologi "Indigenous" dalam mengendalikan hama padi di Kalimantan Selatan. Dalam Simposium Nasional, Ketahanan dan Keamanan Pangan pada Era Otonomi dan Globalisasi. Bogor
- Haryono. 2007. Uji Antagonis Beberapa Isolat *Trichodema* sp. Secara *In vitro* terhadap *Ganoderma* sp. Penyebab Penyakit Akar Merah pada (*Acacia manilum*) [Skripsi]. FP-UB. Malang
- Hausbeck, M.K., dan K.H. Lamour. 2004. *Phytophthora capsici* on Vegetable Crops: Research Progress and Management Challenges. *Plant Disease*. Vol. 88 No. 12

- Hickman, C.J. 1970. Biology of *Phytophthora* Zoospores. Phytopathology. [Dalam] Gallup, C.A., M.J. Sullivan, dan H.D. Shew. 2006. Black Shank of Tobacco. The Plant Health Instructor. North Carolina State University.
- Hwang, B. K., C. H. Kim. 1995. *Phytophthora* Blight of Pepper and its Control in Korea. Plant Dis. Vol. 79 No. 3 Hal. 221-227.
- Istianto, M. dan Eliza. 2009. Aktivitas Antijamur Minyak Atsiri terhadap Penyakit Antraknosa Buah Pisang di Penyimpanan pada Kondisi Laboratorium. Balai penelitian Tanaman buah Tropika. Hort. Vol.19 No. 2 Hal. 192-198.
- Kardinan, A. 2002. Pestisida Nabati Ramuan dan Aplikasinya. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ketaren, S. 1985. Pengantar Teknologi Minyak Atsiri. UI-Press. Jakarta. Dalam Pengambilan Oleoresin dari limbah Ampas Jahe Industri Jamu (PT. Sido Muncul) dengan Metode Ekstraksi. Jurnal Teknologi Kimia Industri. Vol. 2 No. 3 Hal. 88-95.
- King, R. M. dan H. Robinson. 1987. The genera of the Eupatorieae (Asteraceae). Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden.
- Kirana, S. R., K. Bhavanib, P. S. Devib, B. R. R. Raoc, K. J. Reddya. 2006. Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of *Chloroxylon swietenia* DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. Bioresource Technology. Vol. 97 No. 18 Hal. 2481-2484.
- Koesmaryono Y, Sugiarto Y. 2011. Dampak Variabilitas dan Perubahan Iklim terhadap Perkembangan Hama dan Penyakit Tanaman Padi. dalam Prosiding Seminar Ilmiah Hasil Penelitian Padi Nasional 2010. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. Badan Litbang Pertanian. Kementerian Pertanian.
- Kurniasih, R. 2014. Pengaruh Sitronelal Serai Wangi (*Cymbopogon winterianus* Linn) terhadap Penekanan Serangan *Colletotrichum* sp. pada Tanaman Bawang Daun (*Allium fistulosum* L.). [Skripsi]. Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Legault, J., dan A. Pichette. 2007. Potentiating effect of beta-caryophyllene on anticancer activity of alpha-humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. Pharm Pharmacol. Vol. 59 No. 12 Hal. 7.
- Margaret, L.V. dan brian, V. 1981. Secondary Plant Metabolism: The Macmillan Press Ltd. London.
- Moekasan, 2004. Kelayakan Teknis dan Ekonomis Penerapan Teknologi Pengendalian Hama Terpadu pada Sistem Tanaman Tumpang Gilir Bawang Merah dan Cabai. Jurnal Hortikultura Vol. 14 No.3 Hal. 188-203.

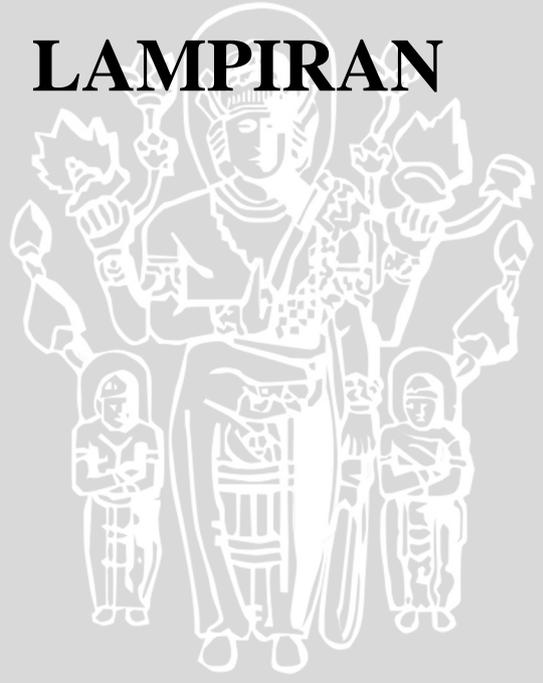
- Matnawi, H. 1997. Budidaya Tembakau Bawah Naungan. Kanisius. Yogyakarta.
- Moore, B. A. 2005. Forest Health and Biosecurity Working Papers Impacts on Forests and Forestry. Forestry Department. Pierre Sigaud. Hal. 49-50.
- Naidoo, K. K., R. M. Coopoosamy, dan G. Naidoo. 2011. Screening of *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson for Antibacterial and Antifungal Properties. Journal of Medical Plants Research. Vol. 5 No. 19 Hal. 4859-4862.
- Nurmansyah. 2010. Efektivitas Minyak Seraiwangi dan Fraksi Sitronellal Terhadap Pertumbuhan Jamur *Phytophthora palmivora* Penyebab Penyakit Busuk Buah Kakao. Littro. Vol. 21. No. 1 Hal 43 - 52
- Owolabi, M. S., A. Ogunjado, K. O. Yusuf, L. Lajide, H. E. Villeanueva, J.A. Tuten dan W.N. Setzer. 2010. Chemical Composition and Bioactivity of The Essential Oil of *Chromolaena odorata* from Nigeria. Academy of Chemictry of Globe Pulication. Vol 4 No. 1 Hal 72-78.
- Panggabean, I. R. 2009. Pengaruh Tingkat Konsentrasi Ekstrak Gulma Siam (*Chromolaena odorata*) yang Diaplikasikan dengan Cara Semprot dan Oles dalam Menghambat Perkembangan Gejala Penyakit Busuk Buah Kakao di Lapang. [Dalam] Sudding. 2012. Studi Awal Penggunaan Ekstrak Air Daun Gulma Siam /i (L.) King and Robinson dalam Mencegah Pembusukan Sayuran. Jurnal Chemica Vol. 13 No. 1 Hal 23-30.
- Pearce, B., A. Bailey, K. Seebold, dan L. Townsend. 2011. Management of Tobacco Float Systems. The University of Kentucky College of Agriculture. Vol. 1 No. 99 Hal 14-24.
- Pina-Vaz, C., A. G. Rodrigues, E. Pinto, S. C. Oliveira, C. Tavares, L. Salgueiro, C. Cavaleiro, M. J. Goncalves, dan J. M. Oliveira. 2004. Antifungal activity of Thymus Oils and Their Major Compounds. Dermatol Venereol. Vol. 18 No. 1 Hal. 73-78.
- Pisutthanan, N., B. Liawruangrath, S. Liawruangrath, A. Baramée, A. Apisariyakul, J. Korth dan J. B Bremner. 2005. Constituen of the essential oil from aerial part of *Chromolaena odorata* from Thailand. Chiang Mai University. Thailand. Vol. 20 No. 6 Hal. 636-640.
- Prasad, S., K. Narayana, K. Jayakumar dan K. G. Srikanth. 2005. Phytochemical Analysis of Toxic Plant *Chromolaena odorata* (*Eupatorium odoratum*). Journal of the Indian Society of Toxicology. Vol. 1 No. 1 Hal 17-19.
- Prawiradiputra, B.R. 2007. Ki Rinyuh (*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King dan H. Robinson): Gulma Padang Rumput yang Merugikan. Balai Penelitian Ternak. Bogor.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

- Rita, W. S., N. M. Puspawati., N. P. Marlin Wijayanti. 2008. Aktivitas Antijamur dan Antioksi dan Minyak Atsiri Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Rosc.).
- Rivas da Silva, A. C., P. M. Lopes, M. M. B. Azevedo, D. C. M. Costa, C. S. Alviano dan D. S. Alviano. 2012. Biological Activities of α -Pinene and β -Pinene Enantiomers. *Molecules*. Vol. 17 Hal. 6305-6316.
- Roeswitawati, D., I. R. Sastrahidayat, Suwarsi, dan A. L. Abadi. 2004. Pengaruh Tanah Suppressive terhadap Patogen *P. Parasitica* Var *nicotianae* Penyebab Penyakit Lanas pada Tanaman Tembakau. Prosiding Sidang Fitopatologi. Malang. Hal 59-77.
- Semangun, H. 2000. Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Staba, E. J. 1980. Secondary Metabolism ana Biotransformation, In Plant Tissue Culture as a Source of Biochemicals. CRC Press. Boca Raton.
- Suradji, M., Suprama, Widodo dan Bony purnomo. 1992. Kemungkinan Pengendalian Hayati Bagi *C. capsici* (Syd) Bult. Et Bisby Penyebab Penyakit Antraknose pada Tanaman Cabai. Cisarua Bogor. Hal. 135-140.
- Surjadi, H. 2005. Potensi keanekaragaman hayati Indonesia harus menjadi unggulan pembangunan ekonomi. Tersedia pada <http://www.depkes.go.id/downloads/pestisida.pdf>. Diunduh 14 Desember 2014.
- Syagir. M. 2011. Status Penelitian Pestisida Nabati Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Perkebunan. Badan Litbang Pertanian. Bogor.
- Torres, D. O., dan E. C. Paller. 1989. The Devil Weed *Chromolaena odorata* R.M. King and H. Robinson and its Management. Vol. 4 Tersedia pada https://books.google.co.id/books/about/The_Devil_Weed_Chromolaena_Odorata_R_M_K.html. Diunduh 16 Desember 2014.
- Tunwari, B.A. dan H. Nahunnaro. 2014. Effects of Botanical Extracts and Asynthetic Fungicide on Severity of *Cercospora* Leaf Spot (*Cercospora sesame* Zimm.) on Sesame (*Sesamum indicum* L.) Yield Attributes Under Screen House Condition In Ardo-Kola, Taraba State, Nigeria. Vol. 3 No. 1
- Turkez, H., B. Togar, A. Tatar, F. Geyikoglu, A. Hacimuftuoglu. 2014. Cytotoxic and cytogenetic Effects of α copaene on Rat Neuron and N₂ a Neuroblastoma Cell Lines. *Biologia*. Vol. 69 No. 7 Hal. 936-942.
- Umarella, U. 2006. Pemanfaatan Minyak Sereh dan Filtrat *Trichoderma* sp. untuk Mengendalikan Cendawan Patogen Terbawa Benih *Acacia Mangium* Willd. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Unnithan, A. R., S. Patil, G. Unnikrishnan dan J. Varghese. 2014. Long Chain Fatty Alcohols from *Eupatorium Odoratum* as Anti- Candida Agents. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol 6, No.3 Hal 263-266.
- Van Steenis, C.G.G.J. 1987. Flora untuk Sekolah di Indonesia. Pradnya Paramita. Jakarta.
- Wasilah, F., A. Syulasmii, Y. Hamdiyati. 2007. Pengaruh Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val) terhadap Pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum* Schlect secara *In vitro*. [Skripsi]. FMIPA. Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Widyaningsih, W. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura procumbens*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil). Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.
- Yasma, I., Hermawan, A. Priadjati. 2002. Manual persemaian Dipterocarpaceae. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Departemen Kehutanan. Jakarta. Hal 105.
- Yunita, E. A., H. S. Nanik., dan W. H. Jafron (2009). Pengaruh Ekstrak Daun Teklan (*Eupatorium riparium*) Terhadap Mortalitas dan Perkembangan Larva *Aedes aegypti*. BIOMA. Vol. 1 No. 1 Hal 11-17.
- Zachariades, C., M. Day, R. Muniappan, and G. V. P. Reddy., 2009. *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson (Asteraceae). Biological Control of Tropical Weeds using Arthropods. Cambridge University Press. Cambridge. No. 8 Hal 130-162.
- Zitter, T. A. 1989. *Phytophthora* Blight of Cucurbits, Pepper, Tomato and Eggplant. New York. Cornell University. Tersedia pada <http://vegetablemndonline.ppath.cornell.edu/factsheetsCucurbitPhytoph.htm>. Diunduh 14 Desember 2014.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LAMPIRAN



Lampiran 1. Perhitungan Formulasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

- [C] = Kandungan Germacrene D x BJ minyak
= 32,49 % x 0,875
= 0,284 gr /ml

Setiap 1 ml \approx 0,284 gr \approx 284 mg

Setiap 1000 ml \approx 284000 mg \approx 284.10³ mg

- Perhitungan Larutan Stok dengan Konsentrasi 100 ppm

$$V1 \times X1 = V2 \times X2$$

$$V1 \times 284.10^3 = 1000 \text{ ml} \times 1000 \text{ ppm}$$

$$V1 = (1000 \times 1000) : 284.10^3$$

$$V1 = 3,52 \text{ ml minyak}$$

Keterangan : M1 = konsentrasi minyak atsiri

V1 = volume minyak atsiri yang dibutuhkan

M2 = konsentrasi larutan stok minyak atsiri (1000 ppm)

V2 = volume larutan stok yang akan dibuat (1000 ml)

Lampiran 2. Perhitungan formulasi minyak atsiri daun kirinyuh dalam pembuatan CMA 1000 ml.

1. Konsentrasi 300 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 300 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml}$$

$$= 300 \times 100 / 1000$$

$$= 30 \text{ ml}$$

2. Konsentrasi 400 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 400 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml}$$

$$= 400 \times 100 / 1000$$

$$= 40 \text{ ml}$$

3. Konsentrasi 500 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 500 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml}$$

$$= 500 \times 100 / 1000$$

$$= 50 \text{ ml}$$

4. Konsentrasi 600 ppm

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V1 = 600 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml}$$

$$= 600 \times 100 / 1000$$

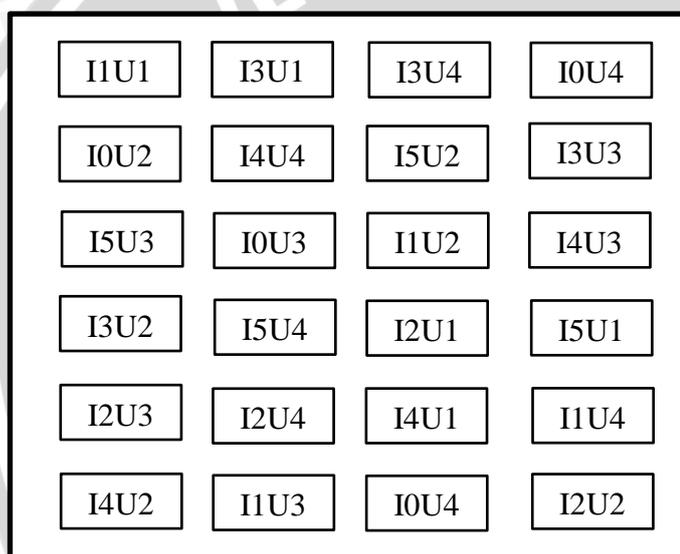
$$= 60 \text{ ml}$$

5. Konsentrasi 700 ppm
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $1000 \text{ ppm} \times V_1 = 700 \text{ ppm} \times 100 \text{ ml}$
 $= 700 \times 100 / 1000$
 $= 70 \text{ ml}$

Lampiran 3. Komposisi Media CMA (Corn Meal Agar) Produk SIGMA-ALDAICH

Bahan	Takaran/Liter
Agar	15 g
Tepung Ekstrak Jagung	2 g (setara 50 g Tepung Jagung)
pH	6.0±0.2

Lampiran 4. Denah Percobaan Rumah Kawat.



Keterangan : I0 = Kontrol
 I1 = Konsentrasi 300 ppm
 I2 = Konsentrasi 400 ppm
 I3 = Konsentrasi 500 ppm
 I4 = Konsentrasi 600 ppm
 I5 = Konsentrasi 700 ppm

Lampiran 5. Hasil Uji Statistika

Tabel 1. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 3

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	125,88	31,47	1,59	3,06
Galat	15	296,96	19,79		
Total	19	422,85			



Tabel 2. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 4

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	286,67	71,67	1,11	3,06
Galat	15	967,53	64,50		
Total	19	1254,20			

Tabel 3. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Makanan pada hari ke - 5

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	131,23	32,80	0,80	3,06
Galat	15	614,32	40,95		
Total	19	745,55			

Tabel 4. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 6

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	492,59	123,14	5,11	3,06
Galat	15	361,28	24,08		
Total	19	853,87			

Tabel 5. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 7

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	365,14	91,28	3,27	3,06
Galat	15	418,26	27,88		
Total	19	783,40			

Tabel 6. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 8

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	462,67	115,66	11,08	3,06
Galat	15	156,49	10,43		
Total	19	619,17			

Tabel 7. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 9

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	413,08	103,27	8,86	3,06
Galat	15	174,71	11,64		
Total	19	587,79			

Tabel 8. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 10

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	304,61	76,15	14,57	3,06
Galat	15	78,39	5,22		
Total	19	383,00			

Tabel 9. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 11

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	468,47	117,11	43,40	3,06
Galat	15	40,47	2,69		
Total	19	508,95			

Tabel 10. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 12

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	558,97	139,74	55,92	3,06
Galat	15	37,48	2,49		
Total	19	596,45			

Tabel 11. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 13

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	718,54	179,63	52,82	3,06
Galat	15	51,01	3,40		
Total	19	76,55			

Tabel 12. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Peracunan Media pada hari ke - 14

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	790,31	197,58	19,08	3,06
Galat	15	155,27	10,35		
Total	19	945,59			

Tabel 13. Analisis Ragam Berat Biomassa Jamur *P. nicotianae* pada Uji Peracunan Media.

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	0,71	0,14	3,67	2,77
Galat	18	0,69	0,39		
Total	23	1,40			

Tabel 14. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 3

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	17,53	4,38	0,06	3,06
Galat	15	991,70	66,11		
Total	19	1009,23			

Tabel 15. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 4

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	108,07	27,02	0,96	3,06
Galat	15	424,01	28,26		
Total	19	532,08			

Tabel 16. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 5

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	231,53	57,88	1,26	3,06
Galat	15	3731,06	248,74		
Total	19	3962,59			

Tabel 17. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 6

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	116,79	29,19	4,95	3,06
Galat	15	88,41	5,89		
Total	19	205,20			

Tabel 18. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 7

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	210,29	52,57	1,86	3,06
Galat	15	422,87	28,19		
Total	19	633,16			

Tabel 19. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 8

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	29,51	7,37	1,42	3,06
Galat	15	77,50	5,16		
Total	19	107,01			

Tabel 20. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 9

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	48,58	12,14	4,28	3,06
Galat	15	42,53	2,83		
Total	19	91,12			

Tabel 21. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 10

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	28,99	7,24	1,42	3,06
Galat	15	76,35	5,09		
Total	19	105,34			

Tabel 22. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 11

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	123,29	30,82	5,32	3,06
Galat	15	86,90	5,79		
Total	19	210,20			

Tabel 23. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 12

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	126,62	31,65	5,46	3,06
Galat	15	86,90	5,79		
Total	19	213,52			

Tabel 24. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 13

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	111,21	27,80	5,23	3,06
Galat	15	79,73	5,31		
Total	19	190,94			

Tabel 25. Analisis Ragam Daya Hambat Pertumbuhan Miselium *P. nicotianae* Uji Volatil pada hari ke - 14

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	194,61	48,65	18,19	3,06
Galat	15	40,11	2,67		
Total	19	234,72			

Tabel 26. Analisis Ragam Berat Biomassa Jamur *P. nicotianae* pada Uji Volatil.

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	1,22	0,245	3,67	2,77
Galat	18	1,65	0,92		
Total	23	2,87			

Tabel 27. Analisis Ragam Regresi Masa Inkubasi Penyakit Lanas oleh *P. nicotianae*.

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Regresi	1	7,63	7,63	43,07	7,71
Galat	4	0,71	0,18		
Total	5	8,34			

Tabel 28. Analisis Ragam Intenstas Penyakit Lanas oleh *P. nicotianae* pada Hari Ke – 17 setelah Inokulasi Patogen.

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	46,93	9,38	0,68	2,90
Kelompok	3	8,28	2,76	0,20	3,29
Galat	15	207,06	13,80		
Total	23	262,27			

Tabel 29. Analisis Ragam Intenstas Penyakit Lanas oleh *P. nicotianae* pada Hari Ke – 24 setelah Inokulasi Patogen.

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	204,95	40,99	5,59	2,90
Kelompok	3	97,98	32,66	4,46	3,29
Galat	15	109,84	7,32		
Total	23	412,78			

Tabel 30. Analisis Ragam Intenstas Penyakit Lanas oleh *P. nicotianae* pada Hari Ke – 31 setelah Inokulasi Patogen.

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	98,71	19,74	1,41	2,90
Kelompok	3	148,14	49,38	3,54	3,29
Galat	15	208,75	13,91		
Total	23	455,60			

Tabel 31. Analisis Ragam Intenstas Penyakit Lanas oleh *P. nicotianae* pada Hari Ke – 38 setelah Inokulasi Patogen.

Sumber	db	JK	KT	F hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	5	40,22	8,04	0,28	2,90
Kelompok	3	104,04	34,68	1,23	3,29
Galat	15	420,32	28,02		
Total	23	564,59			

Lampiran 6. Analisa Probit Penentuan EC₅₀ Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara *In vitro* Metode Peracunan Media dengan Program SPSS 16.0.

Probabilitas		Kepercayaan 95% pada Konsentrasi		
		Nilai Estimasi	Nilai Terendah	Nilai Tertinggi
PROBIT	0.01	-861.57	-2006.43	-431.93
	0.02	-704.52	-1718.08	-323.64
	0.03	-604.88	-1535.19	-254.88
	0.04	-529.92	-1397.65	-203.11
	0.05	-468.94	-1285.81	-160.97
	0.06	-417.05	-1190.64	-125.07
	0.07	-371.54	-1107.22	-93.56
	0.08	-330.80	-1032.56	-65.33
	0.09	-293.74	-964.67	-39.64
	0.1	-259.63	-902.20	-15.97
	0.15	-118.41	-643.85	82.33
	0.2	-6.18	-439.03	160.97
	0.25	90.11	-263.95	229.07
	0.3	176.58	-107.65	291.15
	0.35	256.71	35.69	350.17
	0.4	332.74	168.96	408.92
	0.45	406.31	292.10	471.56
	0.5*	478.71*	400.35	546.16
	0.55	551.10	486.84	642.50
	0.6	624.67	555.71	759.41
0.65	700.70	617.16	889.99	
0.7	780.83	677.45	1032.06	
0.75	867.30	740.20	1187.69	
0.8	963.59	808.69	1362.38	
0.85	1075.83	887.58	1566.95	
0.9	1217.05	986.05	1825.13	
0.91	1251.16	1009.75	1887.57	
0.92	1288.21	1035.47	1955.43	
0.93	1328.95	1063.73	2030.07	
0.94	1374.46	1095.25	2113.46	
0.95	1426.36	1131.18	2208.61	
0.96	1487.33	1173.35	2320.42	
0.97	1562.29	1225.14	2457.94	
0.98	1661.93	1293.93	2640.80	
0.99	1818.99	1402.24	2929.12	

Keterangan : * Nilai EC₅₀ Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

Lampiran 7. Analisa Probit Penentuan EC₅₀ Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara *In vitro* Metode Volatil dengan Program SPSS 16.0.

Kepercayaan 95% pada Konsentrasi

Probilitas		Kepercayaan 95% pada Konsentrasi		
		Nilai Estimasi	Nilai Terendah	Nilai Tertinggi
PROBIT	0.01	-1899.40	-15423.00	-793.27
	0.02	-1603.85	-13463.75	-632.95
	0.03	-1416.34	-12220.75	-531.15
	0.04	-1275.28	-11285.74	-454.52
	0.05	-1160.54	-10525.23	-392.15
	0.06	-1062.87	-9877.95	-339.02
	0.07	-977.24	-9310.45	-292.40
	0.08	-900.57	-8802.35	-250.62
	0.09	-830.84	-8340.29	-212.60
	0.1	-766.65	-7914.99	-177.57
	0.15	-500.90	-6154.57	-32.10
	0.2	-289.69	-4756.28	84.36
	0.25	-108.49	-3557.89	185.49
	0.3	54.24	-2483.84	278.44
	0.35	205.03	-1493.27	369.27
	0.4	348.11	-568.55	470.71
	0.45	486.54	216.10	678.86
	0.5*	622.78*	503.03	1369.00
	0.55	759.02	608.68	2240.41
	0.6	897.46	694.55	3147.36
	0.65	1040.54	777.47	4090.58
	0.7	1191.33	862.40	5087.05
	0.75	1354.05	952.72	6163.74
	0.8	1535.25	1052.44	7363.54
	0.85	1746.46	1168.04	8762.68
	0.9	2012.22	1312.94	10523.67
	0.91	2076.40	1347.88	10949.06
	0.92	2146.13	1385.82	11411.21
	0.93	2222.81	1427.51	11919.40
	0.94	2308.44	1474.05	12486.98
	0.95	2406.10	1527.10	13134.33
	0.96	2520.84	1589.40	13894.92
	0.97	2661.90	1665.96	14830.01
	0.98	2849.42	1767.67	16073.09
	0.99	3144.96	1927.90	18032.43

Keterangan : * Nilai EC₅₀ Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

Lampiran 8. Analisa Probit Penentuan EC 35 dan EC₅₀ Minyak Atsiri Daun Kirinyuh Secara *In vivo* pada Bibit Tembakau dengan Program SPSS 16.0.

Probilitas	Kepercayaan 95% pada Konsentrasi		
	Nilai Estimasi	Nilai Terendah	Nilai Tertinggi
PROBIT 0.01	-124.40	-547.53	64.50
0.02	-9.57	-360.51	148.28
0.03	63.29	-242.13	201.72
0.04	118.09	-153.31	242.14
0.05	162.68	-81.25	275.22
0.06	200.62	-20.12	303.57
0.07	233.89	33.29	328.63
0.08	263.68	80.90	351.27
0.09	290.78	123.98	372.08
0.1	315.72	163.39	391.48
0.15	418.97	322.13	476.24
0.2	501.03	436.53	555.37
0.25	571.44	517.86	640.06
0.3	634.66	578.02	729.01
0.35**	693.25**	627.57	817.61
0.4	748.84	671.83	904.46
0.45	802.63	713.27	989.86
0.5*	855.57*	753.28	1074.69
0.55	908.50	792.80	1160.00
0.6	962.29	832.62	1247.02
0.65	1017.88	873.53	1337.21
0.7	1076.47	916.45	1432.45
0.75	1139.69	962.62	1535.39
0.8	1210.10	1013.88	1650.16
0.85	1292.16	1073.49	1784.07
0.9	1395.42	1148.35	1952.71
0.91	1420.35	1166.41	1993.46
0.92	1447.45	1186.03	2037.74
0.93	1477.24	1207.58	2086.43
0.94	1510.51	1231.65	2140.83
0.95	1548.46	1259.10	2202.87
0.96	1593.04	1291.32	2275.78
0.97	1647.84	1330.93	2365.42
0.98	1720.70	1383.55	2484.61
0.99	1835.53	1466.44	2672.52

Keterangan : * : Nilai EC₅₀ Minyak Atsiri Daun Kirinyuh
 ** : Nilai EC₃₅ Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

Lampiran 9. Surat Keterangan Identifikasi Bahan Uji



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
JURUSAN BIOLOGI
LABORATORIUM TAKSONOMI, STRUKTUR DAN
PERKEMBANGAN TUMBUHAN

Jalan Veteran, Malang 65145, Indonesia, Telepon/Fax.: +62-341-575841, <http://biologi.ub.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0157/Takso.Identifikasi/03/2015

Kepala Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, menerangkan bahwa spesimen yang dibawa oleh:

Nama : Mukti Budi Waluyo (NIM 11504020111206)

Instansi : Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya

Berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi pada Flora of Java (Backer dan Van den Brink, 1968), volume II, halaman 379, diidentifikasi sebagai:

Familia : Asteraceae
Genus : *Chromolaena*
Species : *Chromolaena odorata* (L.) King & H.E. Robins
Syn. *Eupatorium odoratum* L. Koster
Nama lokal : Kirinyuh

Berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi pada Flora of Java (Backer dan Van den Brink, 1968), volume II, halaman 405, diidentifikasi sebagai:

Familia : Asteraceae
Genus : *Tithonia*
Species : *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray
Nama lokal : Paitan

Demikian surat keterangan identifikasi ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Malang, 22 Januari 2015

Kepala Laboratorium

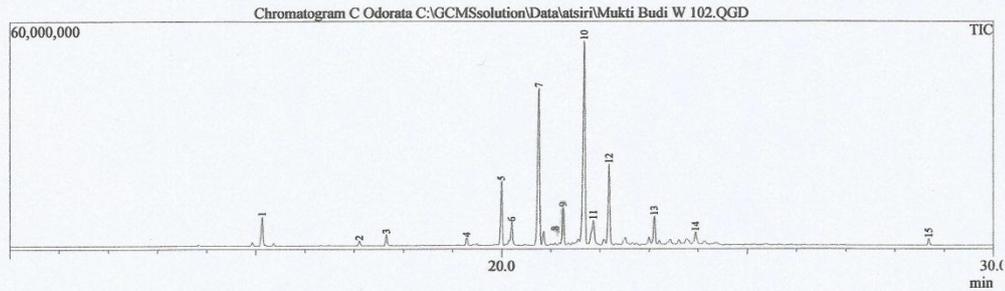

 LABORATORIUM TAKSONOMI
 Dr. Serafinah Indriyani, M.Si
 NIP. 19630909.198802.2.001

Lampiran 10. Hasil Analisa Kandungan Senyawa Minyak Atsiri Daun Kirinyuh

3/20/2015 14:17:18

Admin Analyzed by : Admin
 Sample Name : C Odorata
 Sample ID : 12 03 15
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\atsiri\Mukti Budi W 102.QGD
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\atsiri\M.Atsiri.qgm
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\tuning-17-02-2015.qgt

Lab.KIMIA FMIPA - UB



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Height%	A/H	Mark	Name
1	15.130	15.083	15.175	18054721	3.68	7399020	4.01	2.44		
2	17.110	17.058	17.158	3047985	0.62	1331106	0.72	2.28	MI	
3	17.658	17.592	17.742	7100585	1.45	2993594	1.62	2.37	MI	
4	19.290	19.217	19.367	5030927	1.03	2136142	1.16	2.35	MI	
5	19.998	19.942	20.050	39699696	8.09	17082763	9.26	2.32		
6	20.210	20.175	20.258	10715110	2.18	5281413	2.86	2.02		
7	20.763	20.683	20.808	120125216	24.49	41765450	22.63	2.87		
8	20.855	20.808	20.900	8581346	1.75	3559767	1.93	2.41		
9	21.255	21.208	21.308	23627062	4.82	9812582	5.32	2.40		
10	21.686	21.592	21.733	159362514	32.49	54156553	29.35	2.94		
11	21.867	21.842	21.917	14246815	2.90	5879629	3.19	2.42	V	
12	22.190	22.133	22.242	49606710	10.11	21258055	11.52	2.33		
13	23.110	23.067	23.158	16592920	3.38	6976284	3.78	2.37		
14	23.946	23.858	24.033	10526884	2.15	3114183	1.69	3.38	MI	
15	28.689	28.625	28.758	4235656	0.86	1791781	0.97	2.36	MI	
				490554147	100.00	184538322	100.00			

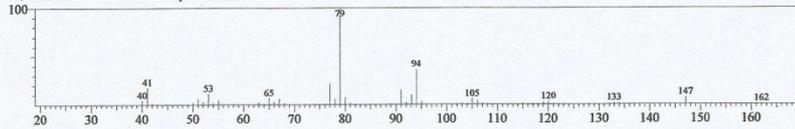
Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:15.133(Scan#:1217) MassPeaks:75

RawMode:Averaged 15.125-15.142(1216-1218) BasePeak:79.00(2196192)

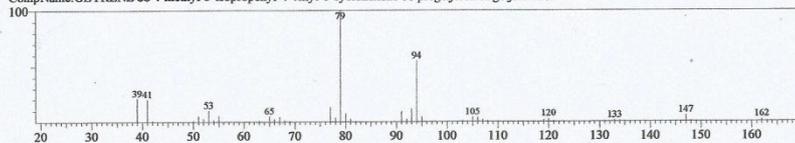
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:51763 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C12 H18 CAS:0-00-0 MolWeight:162 RetIndex:0

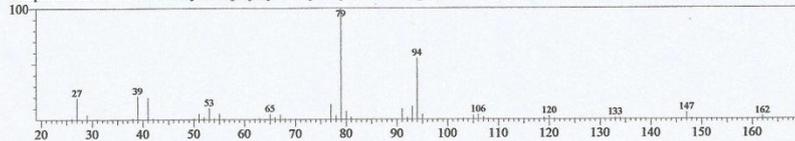
CompName:GEYRENE \$\$ 4-methyl-3-isopropenyl-4-vinyl-1-cyclohexene \$\$ pregejeren or gejeren \$\$



Hit#:2 Entry:51764 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C12 H18 CAS:0-00-0 MolWeight:162 RetIndex:0

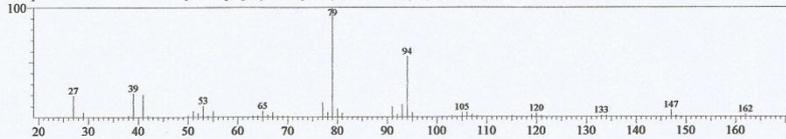
CompName:GEYRENE \$\$ 4-methyl-3-isopropenyl-4-vinyl-1-cyclohexene \$\$ pregejeren or gejeren \$\$



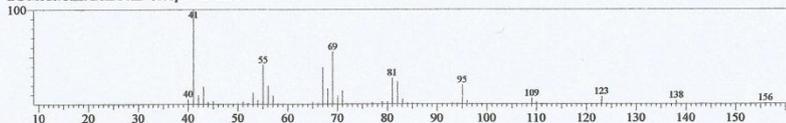
Lanjutan Lampiran 10.

3/20/2015 14:17:16

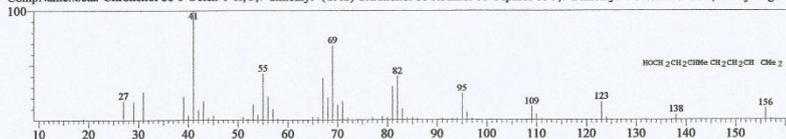
Hit#:3 Entry:51765 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C12 H18 CAS:0-00-0 MolWeight:162 RetIndex:0
 CompName:GEYRENE \$\$ 4-methyl-3-isopropenyl-4-vinyl-1-cyclohexene \$\$ pregejeren or geijeren \$\$



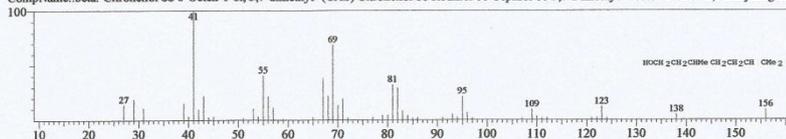
<< Target >>
 Line#:2 R.Time:17.108(Scan#:1454) MassPeaks:54
 RawMode:Averaged 17.100-17.117(1453-1455) BasePeak:41.05(239037)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



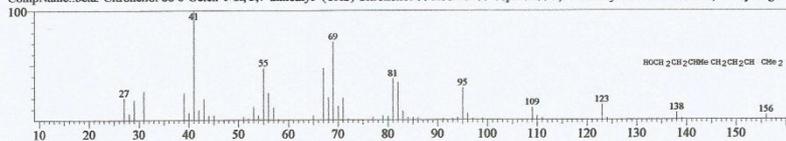
Hit#:1 Entry:46131 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C10 H20 O CAS:106-22-9 MolWeight:156 RetIndex:0
 CompName:beta.-Citronellol \$\$ 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Citronellol \$\$ Rodinol \$\$ Cephrol \$\$ 3,7-Dimethyl-6-octen-1-ol \$\$ 2,3-Dihydrogeraniol



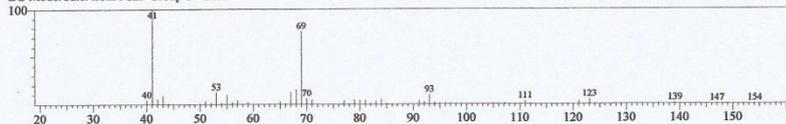
Hit#:2 Entry:46139 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C10 H20 O CAS:106-22-9 MolWeight:156 RetIndex:0
 CompName:beta.-Citronellol \$\$ 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Citronellol \$\$ Rodinol \$\$ Cephrol \$\$ 3,7-Dimethyl-6-octen-1-ol \$\$ 2,3-Dihydrogeraniol



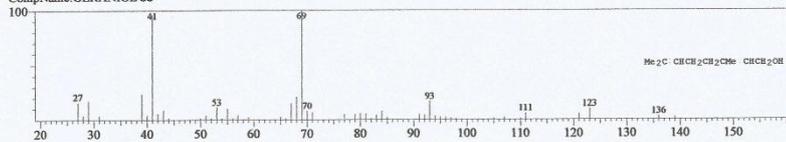
Hit#:3 Entry:46128 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C10 H20 O CAS:106-22-9 MolWeight:156 RetIndex:0
 CompName:beta.-Citronellol \$\$ 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Citronellol \$\$ Rodinol \$\$ Cephrol \$\$ 3,7-Dimethyl-6-octen-1-ol \$\$ 2,3-Dihydrogeraniol



<< Target >>
 Line#:3 R.Time:17.658(Scan#:1520) MassPeaks:70
 RawMode:Averaged 17.650-17.667(1519-1521) BasePeak:41.05(747125)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:42946 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C10 H18 O CAS:106-24-1 MolWeight:154 RetIndex:0
 CompName:GERANIOL \$\$



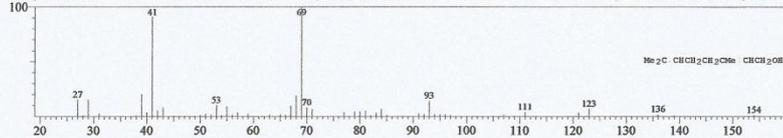
Lampiran 10. (Lanjutan)

3/20/2015 14:17:16

Hit#:2 Entry:43665 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10 H18 O CAS:106-24-1 MolWeight:154 RetIndex:0

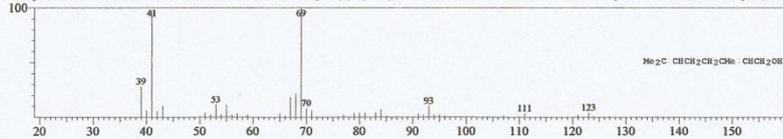
CompName:trans-Geraniol SS 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS) Guaniol SS Lemonal SS Geraniol SS Geranyl alcohol SS 2,6-Dimethyl-2,6-oct



Hit#:3 Entry:43669 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10 H18 O CAS:106-24-1 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName:trans-Geraniol SS 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS) Guaniol SS Lemonal SS Geraniol SS Geranyl alcohol SS 2,6-Dimethyl-2,6-oct

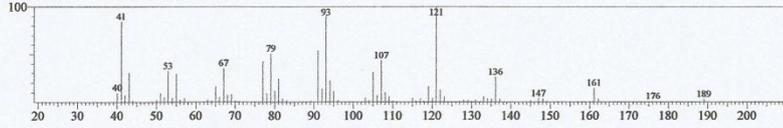


<< Target >>

Line#:4 R.Time:19.292(Scan#:1716) MassPeaks:78

RawMode:Averaged 19.283-19.300(1715-1717) BasePeak:121.05(200883)

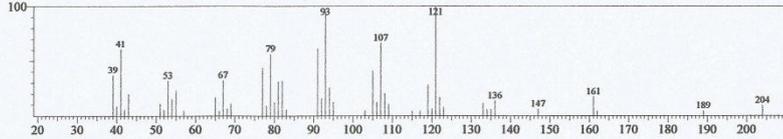
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:101112 Library:WILEY7.LIB

SI:93 Formula:C15 H24 CAS:100762-46-7 MolWeight:204 RetIndex:0

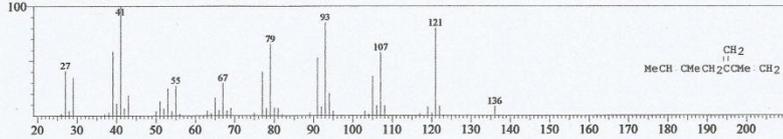
CompName:bicyclogermacrene SS Bicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene, 3,7,11,11-tetramethyl-, (1R*,2Z,6E,10R*)(-,)- (CAS) (-,)-Lepidozene SS



Hit#:2 Entry:25422 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C10 H16 CAS:74663-83-5 MolWeight:136 RetIndex:0

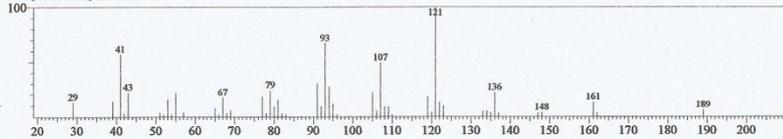
CompName:1,5-Heptadiene, 2,5-dimethyl-3-methylene- (CAS)



Hit#:3 Entry:100255 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C15 H24 CAS:9-00-0 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:Bicycloolemene SS

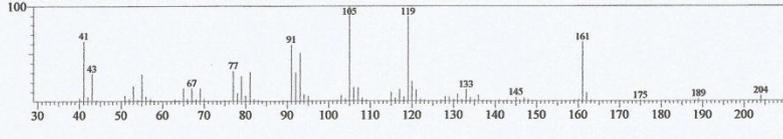


<< Target >>

Line#:5 R.Time:20.000(Scan#:1801) MassPeaks:120

RawMode:Averaged 19.992-20.008(1800-1802) BasePeak:105.00(1648791)

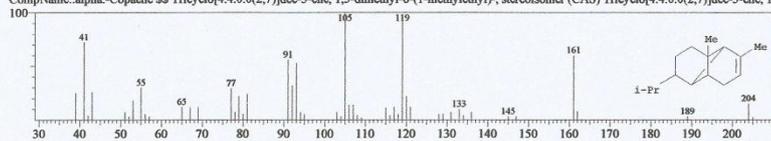
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



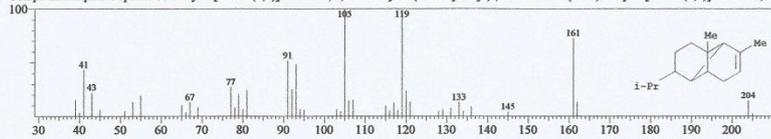
Lampiran 10. (Lanjutan)

3/20/2015 14:17:16

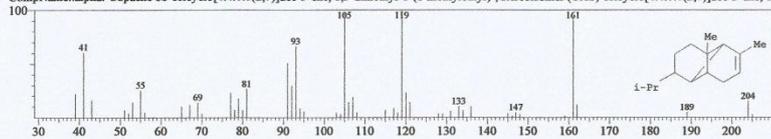
Hit# 1 Entry:101059 Library:WILEY7.LIB
 SI:97 Formula:C15 H24 CAS:3856-25-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-, stereoisomer (CAS) Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,



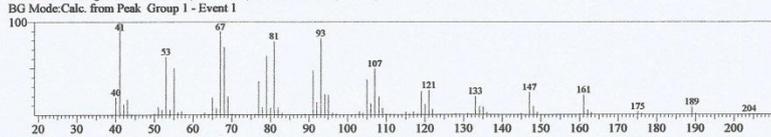
Hit# 2 Entry:101061 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C15 H24 CAS:3856-25-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-, stereoisomer (CAS) Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,



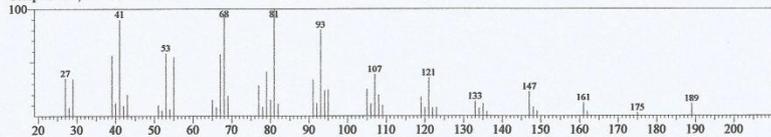
Hit# 3 Entry:101060 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C15 H24 CAS:3856-25-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:alpha.-Copaene \$\$ Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-, stereoisomer (CAS) Tricyclo[4.4.0.0(2,7)]dec-3-ene, 1,



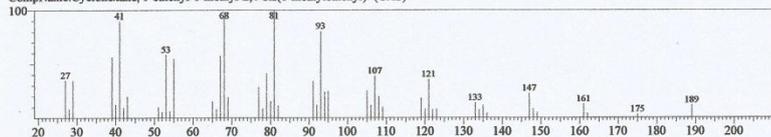
<<Target>>
 Line# 6 R Time:20.208(Scan# 1826) MassPeak:97
 Raw Mode:Averaged 20.200-20.217(1825-1827) BasePeak:41.05(384341)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



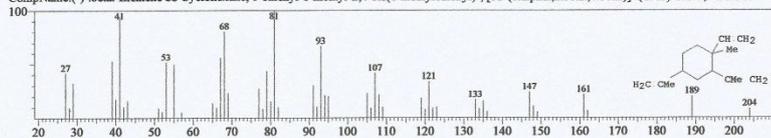
Hit# 1 Entry:100181 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C15 H24 CAS:33880-83-0 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:2,4-DIISOPROPENYL-1-METHYL-1-VINYLCYCLOHEXANE \$\$



Hit# 2 Entry:100367 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C15 H24 CAS:110823-68-2 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)- (CAS)

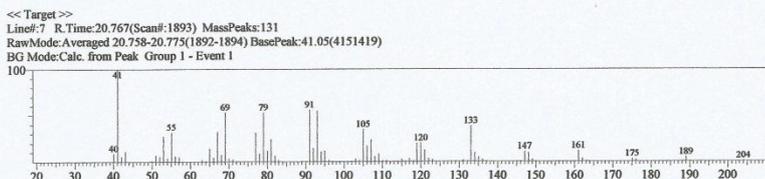


Hit# 3 Entry:100724 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C15 H24 CAS:515-13-9 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:(-)-beta.-Elemene \$\$ Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [(1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.))-] (CAS) CIS-1,3-DIISOPROPI

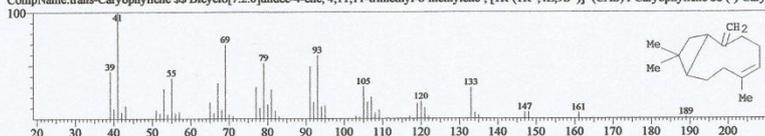


Lampiran 10. (Lanjutan)

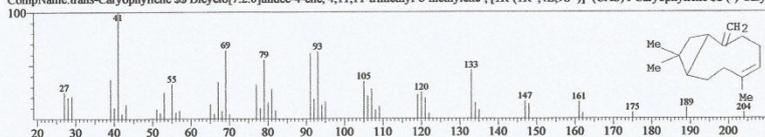
3/20/2015 14:17:16



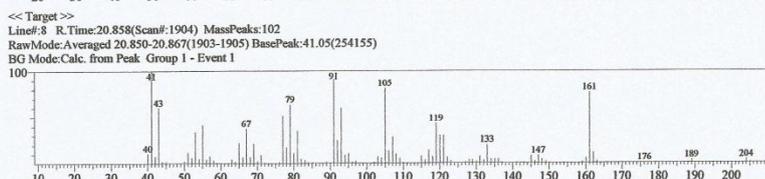
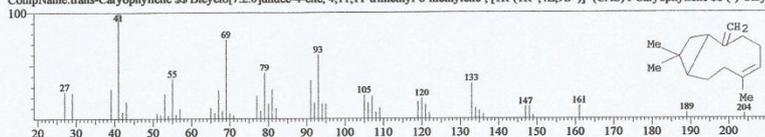
Hit#:1 Entry:100789 Library:WILEY7.LIB
 SI:96 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:trans-Caryophyllene S5 Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]- (CAS) I-Caryophyllene S5 (-)-Caryc



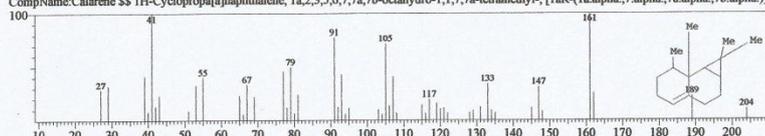
Hit#:2 Entry:100788 Library:WILEY7.LIB
 SI:96 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:trans-Caryophyllene S5 Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]- (CAS) I-Caryophyllene S5 (-)-Caryc



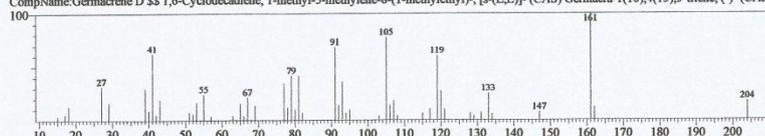
Hit#:3 Entry:100786 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:trans-Caryophyllene S5 Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]- (CAS) I-Caryophyllene S5 (-)-Caryc



Hit#:1 Entry:101028 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C15 H24 CAS:17334-55-3 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:Calarene S5 1H-Cyclopropa[naphthalene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,7.alpha.,7a.alpha.,7b.alpha.)]-



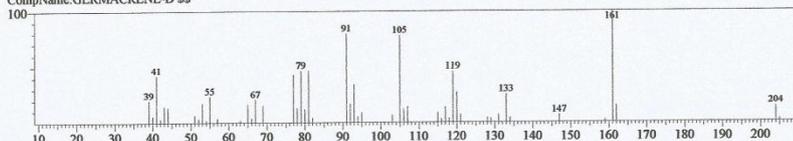
Hit#:2 Entry:101085 Library:WILEY7.LIB
 SI:86 Formula:C15 H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:Germacrene D S5 1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]- (CAS) Germacrene-1(10),4(15),5-triene, (-) (CAS)



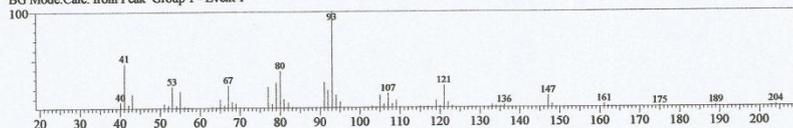
Lampiran 10. (Lanjutan)

3/20/2015 14:17:16

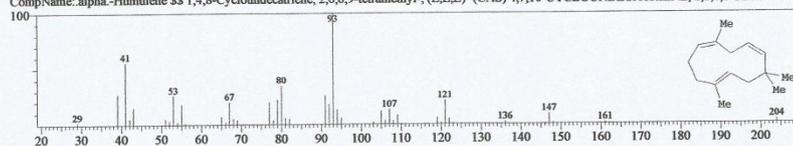
Hit#:3 Entry:100276 Library:WILEY7.LIB
 SI:86 Formula:C15 H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:GERMACRENE-D SS



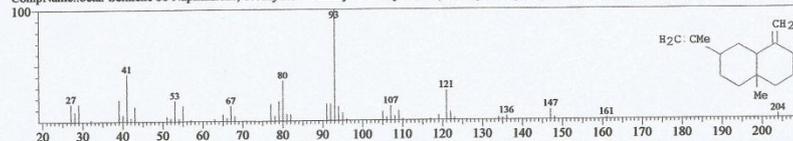
<< Target >>
 Line#:9 R.Time:21.258(Scan#:1952) MassPeaks:101
 RawMode:Averaged 21.250-21.267(1951-1953) BasePeak:93.05(1580398)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



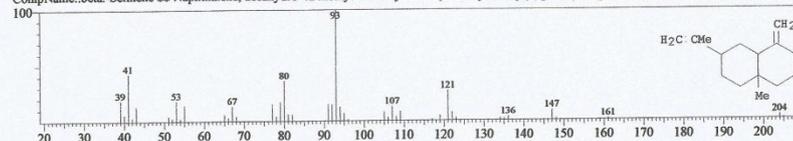
Hit#:1 Entry:100747 Library:WILEY7.LIB
 SI:96 Formula:C15 H24 CAS:6753-98-6 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:alpha-Humulene SS 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)- (CAS) 4,7,10-CYCLOUNDECATRIENE, 1,1,4,8-TETRAMET



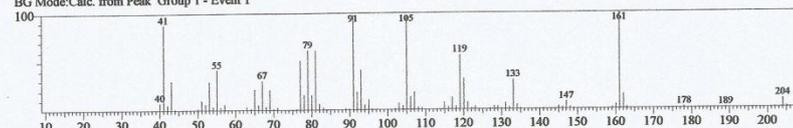
Hit#:2 Entry:100910 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C15 H24 CAS:17066-67-0 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:beta-Selinene SS Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]- (CAS) Eudesma



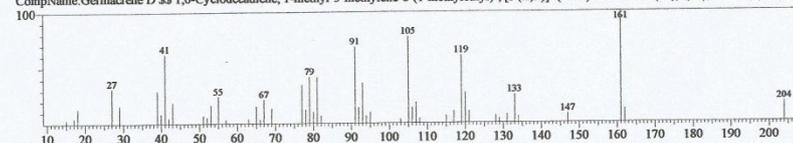
Hit#:3 Entry:100913 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C15 H24 CAS:17066-67-0 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:beta-Selinene SS Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]- (CAS) Eudesma



<< Target >>
 Line#:10 R.Time:21.683(Scan#:2003) MassPeaks:138
 RawMode:Averaged 21.675-21.692(2002-2004) BasePeak:161.10(4266849)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



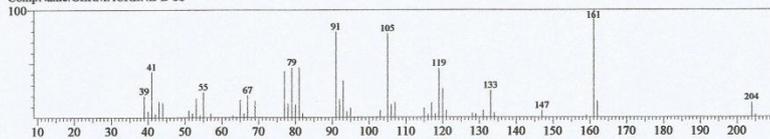
Hit#:1 Entry:101085 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C15 H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:Germacrene D SS 1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]- (CAS) Germacra-1(10),4(15),5-triene, (-)- (CAS)



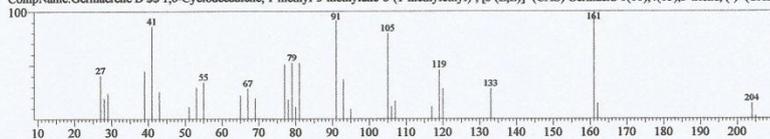
Lampiran 10. (Lanjutan)

3/20/2015 14:17:16

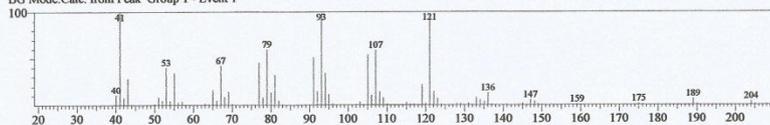
Hit# 2 Entry: 100276 Library: WILEY7.LIB
 SI: 92 Formula: C15 H24 CAS: 23986-74-5 MolWeight: 204 RetIndex: 0
 CompName: GERMACRENE-D \$\$



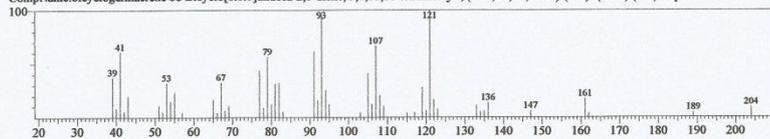
Hit# 3 Entry: 101067 Library: WILEY7.LIB
 SI: 91 Formula: C15 H24 CAS: 23986-74-5 MolWeight: 204 RetIndex: 0
 CompName: Germacrene D \$ 1,6-Cyclododecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]- (CAS) Germacrene-1(10),4(15),5-triene, (-)- (CAS)



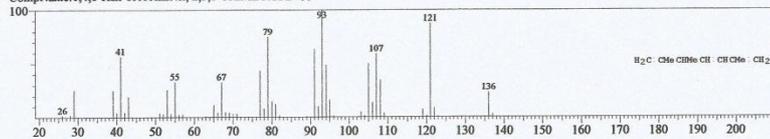
<< Target >>
 Line# 11 R.Time: 21.867(Scan#: 2025) MassPeaks: 102
 RawMode: Averaged 21.858-21.875(2024-2026) BasePeak: 41.05(301720)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



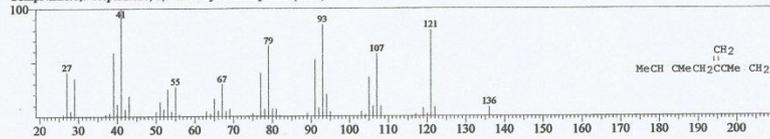
Hit# 1 Entry: 101112 Library: WILEY7.LIB
 SI: 93 Formula: C15 H24 CAS: 100762-46-7 MolWeight: 204 RetIndex: 0
 CompName: bicyclogermacrene \$\$ Bicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene, 3,7,11,11-tetramethyl-, (1R*,2Z,6E,10R*)-(+,-)- (CAS) (+,-)-Lepidozane \$\$



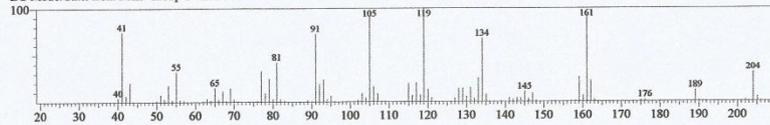
Hit# 2 Entry: 25421 Library: WILEY7.LIB
 SI: 90 Formula: C10 H16 CAS: 42123-66-0 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: 1,4,6-HEPTATRIENE, 2,3,6-TRIMETHYL- \$\$



Hit# 3 Entry: 25422 Library: WILEY7.LIB
 SI: 90 Formula: C10 H16 CAS: 74663-83-5 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: 1,5-Heptadiene, 2,5-dimethyl-3-methylene- (CAS)



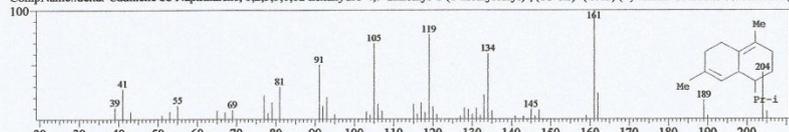
<< Target >>
 Line# 12 R.Time: 22.192(Scan#: 2064) MassPeaks: 128
 RawMode: Averaged 22.183-22.200(2063-2065) BasePeak: 119.00(1598103)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



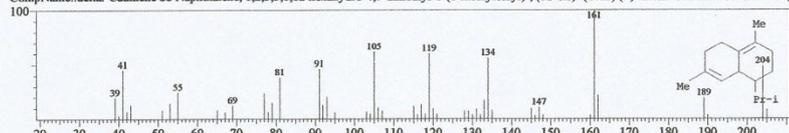
Lampiran 10. (Lanjutan)

3/20/2015 14:17:16

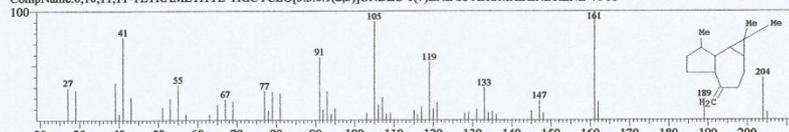
Hit#:1 Entry:100891 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C15 H24 CAS:483-76-1 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:delta-Cadinene SS Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)- (CAS) (+)-.delta.-Cadinene SS Cadinina-1



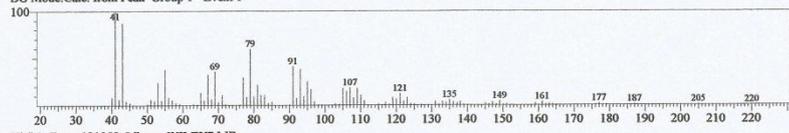
Hit#:2 Entry:100888 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C15 H24 CAS:483-76-1 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:delta-Cadinene SS Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)- (CAS) (+)-.delta.-Cadinene SS Cadinina-1



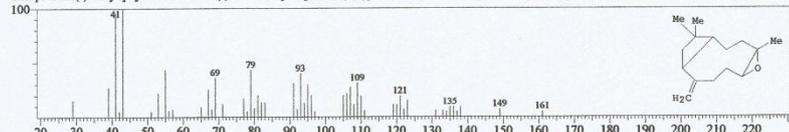
Hit#:3 Entry:101010 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C15 H24 CAS:489-39-4 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:6,10,11,11-TETRAMETHYL-TRICYCLO[5.3.0.1(2,3)]UNDEC-1(7)ENE SS AROMADENDRENE VI SS



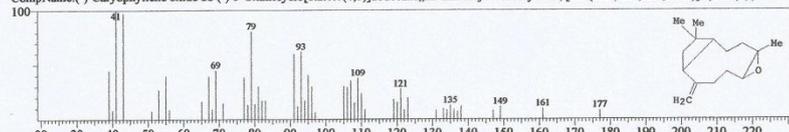
<< Target >>
 Line#:13 RTime:23.108(Scan#:2174) MassPeaks:131
 RawMode:Averaged 23.100-23.117(2173-2175) BasePeak:41.00(694753)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



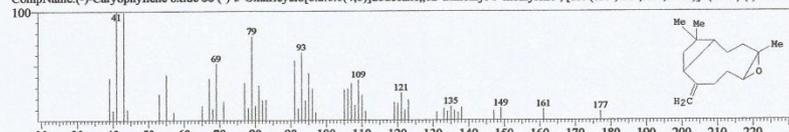
Hit#:1 Entry:121058 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C15 H24 O CAS:1139-30-6 MolWeight:220 RetIndex:0
 CompName:(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,,12-trimethyl-9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]- (CAS) (-)-.beta.-



Hit#:2 Entry:121057 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C15 H24 O CAS:1139-30-6 MolWeight:220 RetIndex:0
 CompName:(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,,12-trimethyl-9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]- (CAS) (-)-.beta.-



Hit#:3 Entry:121056 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C15 H24 O CAS:1139-30-6 MolWeight:220 RetIndex:0
 CompName:(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane,,12-trimethyl-9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]- (CAS) (-)-.beta.-

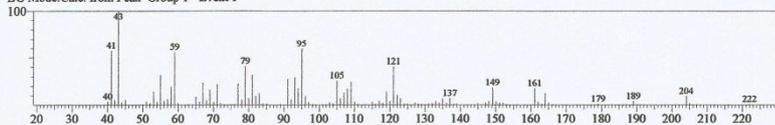


Lampiran 10. (Lanjutan)

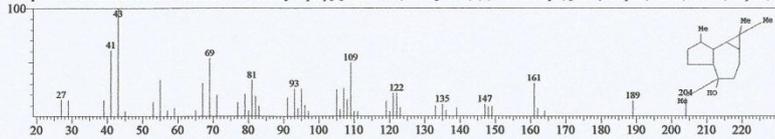
3/20/2015 14:17:16

<< Target >>

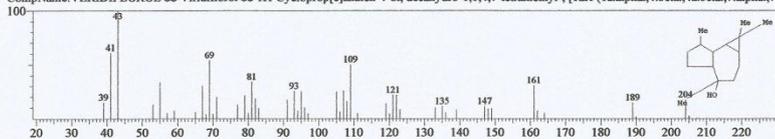
Line#:14 R.Time:23.942(Scan#:2274) MassPeaks:125
 RawMode:Averaged 23.933-23.950(2273-2275) BasePeak:43.00(292449)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



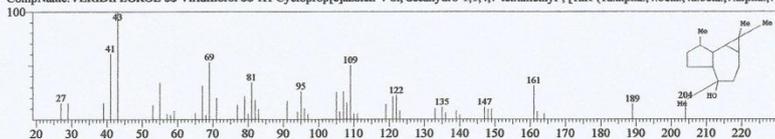
Hit#:1 Entry:124086 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:C15 H26 O CAS:552-02-3 MolWeight:222 RetIndex:0
 CompName:VERIDIFLOROL \$\$ Viridiflorol \$\$ 1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,4.beta.,4a.beta.,7.alpha.,7a



Hit#:2 Entry:124091 Library:WILEY7.LIB
 SI:84 Formula:C15 H26 O CAS:552-02-3 MolWeight:222 RetIndex:0
 CompName:VERIDIFLOROL \$\$ Viridiflorol \$\$ 1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,4.beta.,4a.beta.,7.alpha.,7a

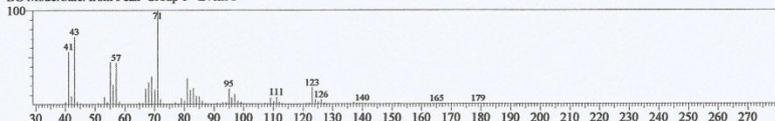


Hit#:3 Entry:124087 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C15 H26 O CAS:552-02-3 MolWeight:222 RetIndex:0
 CompName:VERIDIFLOROL \$\$ Viridiflorol \$\$ 1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,4.beta.,4a.beta.,7.alpha.,7a

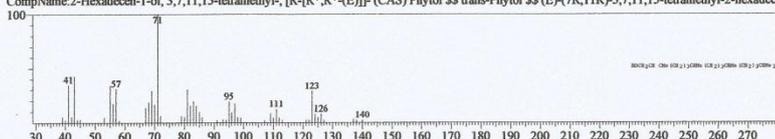


<< Target >>

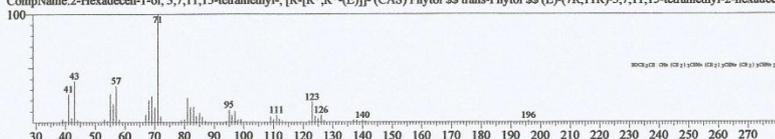
Line#:15 R.Time:28.692(Scan#:2844) MassPeaks:70
 RawMode:Averaged 28.683-28.700(2843-2845) BasePeak:71.00(243629)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:207902 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C20 H40 O CAS:150-86-7 MolWeight:296 RetIndex:0
 CompName:2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-(R*,R*-(E))]-(CAS) Phytol \$\$ trans-Phytol \$\$ (E)-(7R,11R)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadec



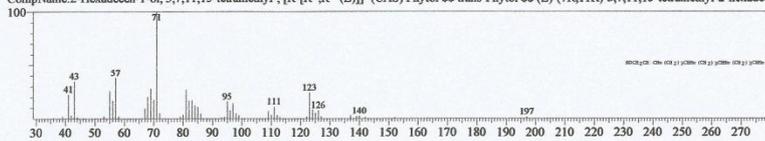
Hit#:2 Entry:207907 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C20 H40 O CAS:150-86-7 MolWeight:296 RetIndex:0
 CompName:2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-(R*,R*-(E))]-(CAS) Phytol \$\$ trans-Phytol \$\$ (E)-(7R,11R)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadec



Lampiran 10. (Lanjutan)

3/20/2015 14:17:16

Hit#3 Entry:207905 Library:WILEY7.LIB
 SI:91 Formula:C20H40O CAS:150-86-7 MolWeight:296 RetIndex:0
 CompName:2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]-, (CAS) Phytol \$\$ trans-Phytol \$\$ (E)-(7R,11R)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadec



Method

Analytical Line 1

[GC-2010]			
Column Oven Temp.	:70.0 °C		
Injection Temp.	:310.00 °C		
Injection Mode	:Split		
Flow Control Mode	:Pressure		
Pressure	:28.0 kPa		
Total Flow	:91.5 mL/min		
Column Flow	:0.63 mL/min		
Linear Velocity	:29.2 cm/sec		
Purge Flow	:3.0 mL/min		
Split Ratio	:139.0		
High Pressure Injection	:OFF		
Carrier Gas Saver	:OFF		
Splitter Hold	:OFF		
Oven Temp. Program			
Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)	
-	70.0	10.00	
	310.0	25.00	

[GCMS-QP2010]

IonSourceTemp	:250.00 °C
Interface Temp.	:300.00 °C
Solvent Cut Time	:2.00 min
Detector Gain Mode	:Relative
Detector Gain	:0.00 kV
Threshold	:1000

[MS Table]

--Group 1 - Event 1--

Start Time	:5.00min
End Time	:35.00min
ACQ Mode	:Scan
Event Time	:0.50sec
Scan Speed	:1250
Start m/z	:40.00
End m/z	:600.00

Sample Inlet Unit :GC

< Ready Check Heat Unit >

- Column Oven : Yes
- SPL1 : Yes
- MS : Yes

< Ready Check Detector(FTD) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

- SPL1 Carrier : No
- SPL1 Purge : Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

- External Wait : No
- Equilibrium Time :3.0 min



Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Aplikasi Minyak Atsiri Daun Kirinyuh dengan Perendaman Bibit pada larutan Minyak.



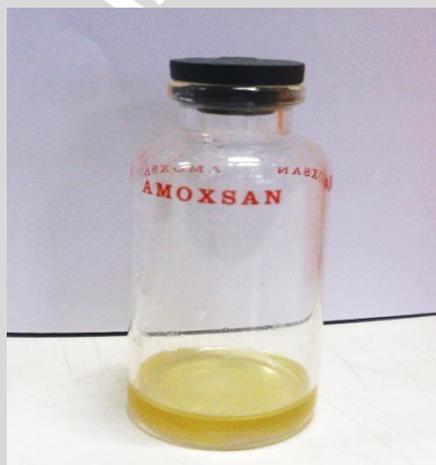
Gambar 2. Uji Minyak Atsiri secara *In vivo* di Rumah Kawat saat 24 HSI



a.

b.

Gambar 3. Bahan untuk Penyulingan. (a) Tanaman Kirinyuh (b). Daun Kirinyuh yang akan disuling dengan Menggunakan Destilator Uap.

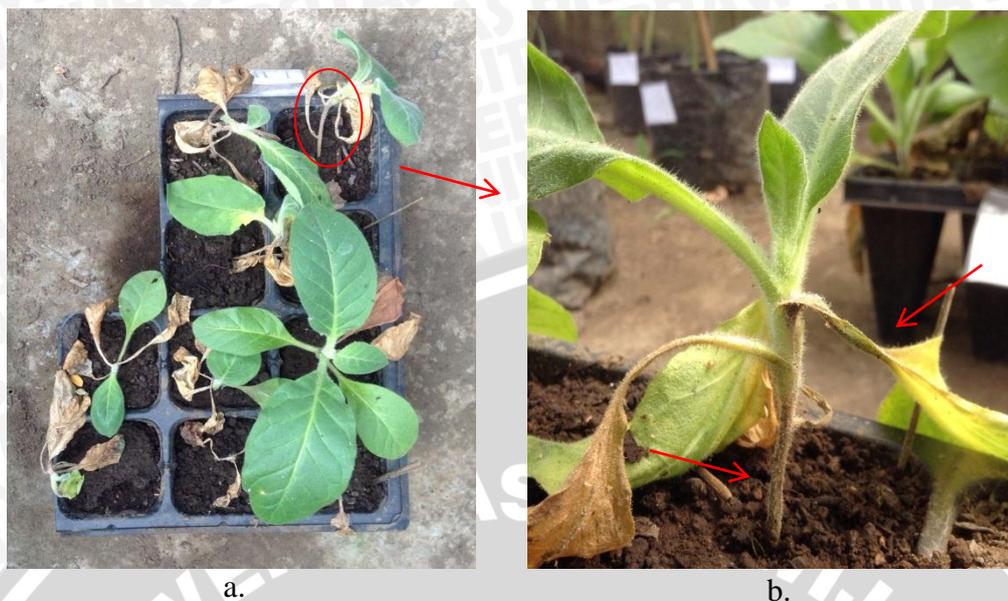


a.



b.

Gambar 4. Minyak Atsiri Hasil Penyulingan Daun Kirinyuh (a) Minyak Atsiri Sebelum dimurnikan, (b) Minyak Atsiri Setelah Pemurnian dengan $MgSO_4 \cdot xH_2O$.



Gambar 5. Gejala Serangan Penyakit Lanang (*P. nicotianae*) pada Bibit Tembakau Uji Saat Pengamatan 38 HSI. (a) Kenampakan Gejala Tampak Atas, (b) Kenampakan Gejala pada Pangkal Batang dan Pangkal Daun.

