

**AKTIVITAS ANTIFUNGAL DARI SINTESIS HIJAU
NANOPARTIKEL PERAK YANG DIMEDIASI EKSTRAK
DAUN PALA (*Myristica fragrans* Houtt.) (NL-AgNPs) DAN
PENGARUHNYA TERHADAP POPULASI MIKROBA PADA
JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*)**

TUGAS AKHIR

**Karya tulis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknik dari Universitas Pasundan**

Oleh:

Irma Faustina Faizal

22.302.0001



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS PASUNDAN
2026**

**AKTIVITAS ANTIFUNGAL DARI SINTESIS HIJAU
NANOPARTIKEL PERAK YANG DIMEDIASI EKSTRAK
DAUN PALA (*Myristica fragrans* Houtt.) (NL-AgNPs) DAN
PENGARUHNYA TERHADAP POPULASI MIKROBA PADA
JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*)**

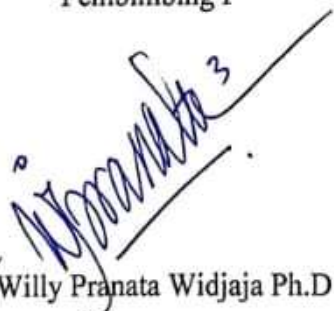
Oleh:
Irma Faustina Faizal
NPM: 223020001
(Program Studi Teknologi Pangan)

Fakultas Teknik
Universitas Pasundan

Menyetujui
Tim Pembimbing


Tanggal : 30 April 2026

Pembimbing I



Ir. Willy Pranata Widjaja Ph.D

Pembimbing II



Assoc. Prof. Dr. Yaya Rukayadi

**AKTIVITAS ANTIFUNGAL DARI SINTESIS HIJAU NANOPARTIKEL
PERAK YANG DIMEDIASI EKSTRAK DAUN PALA (*Myristica fragrans*
Houtt.) (NL-AgNPs) DAN PENGARUHNYA TERHADAP POPULASI
MIKROBA PADA JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*)**

LEMBAR PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**Karya ditulis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Teknik dari Universitas Pasundan**

Oleh

**IRMA FAUSTINA FAIZAL
NPM: 223020001**

Menyetujui:

Koordinator Tugas Akhir



(Rizal Maulana Ghafar, S.T., M.T.)

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIFUNGAL DARI SINTESIS HIJAU NANOPARTIKEL PERAK YANG DIMEDIASI EKSTRAK DAUN PALA (*Myristica fragrans* Houtt.) (NL-AgNPs) DAN PENGARUHNYA TERHADAP POPULASI MIKROBA PADA JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*)

Oleh:

Irma Faustina Faizal

NPM: 223020001

(Program Studi Teknologi Pangan)

Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) merupakan produk hortikultura yang mudah rusak (*perishable*) dan rentan terhadap kontaminasi mikroba, khususnya jamur, sehingga memiliki masa simpan yang relatif singkat. Penggunaan pengawet sintetis diketahui dapat menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan, sehingga diperlukan alternatif pengawet alami yang lebih aman. Salah satu bahan alami yang berpotensi digunakan adalah ekstrak daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.). Namun, ekstrak tumbuhan dilaporkan memiliki aktivitas antifungal yang lebih rendah dibandingkan pengawet sintetis, sehingga diperlukan metode untuk meningkatkan aktivitasnya, salah satunya melalui pendekatan nanoteknologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi sifat fisikokimia bubuk daun pala, mengekstraksi bubuk daun pala, mensintesis nanopartikel perak berbasis ekstrak daun pala (NL-AgNPs), serta mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak daun pala dan NL-AgNPs terhadap populasi mikroba pada jamur tiram selama penyimpanan. Daun pala dikeringkan dan dihaluskan menjadi bubuk, kemudian dianalisis sifat fisikokimianya yang meliputi kadar air, pH, aktivitas air (a_w), dan warna. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 99,5% untuk menghasilkan ekstrak kasar (*crude extract*). Setelah itu dilakukan sintesis NL-AgNPs dengan cara melarutkan 5 mL 10% ekstrak daun pala dengan 45 mL larutan AgNO_3 untuk menghasilkan 1% NL-AgNPs. Pengujian aktivitas antifungal dilakukan dengan metode *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) yang meliputi *Well Diffusion Assay* (WDA), *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), dan *Minimum Fungicidal Concentration* (MFC). Selanjutnya, pengaruh ekstrak dan nanopartikel terhadap populasi mikroba pada jamur tiram dilakukan dengan konsentrasi 0,0%, 0,1% dan 1,0% dengan kondisi penyimpanan suhu ruang ($25,00^\circ\text{C} \pm 2,00^\circ\text{C}$) serta suhu pendingin ($4,00 \pm 2,00^\circ\text{C}$). Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa bubuk daun pala memiliki kadar air sebesar $10,48 \pm 0,66\%$, pH $4,43 \pm 0,07$ (bersifat asam), aktivitas air (a_w) sebesar $0,61 \pm 0,01$ dan analisis warna $L^* 41,5 \pm 0,62$, $a^* 1,87 \pm 0,62$, $b^* 11,72 \pm 2,89$. Ekstraksi menghasilkan rendemen ekstrak kental

sebesar 11,32%. Uji aktivitas antifungal menggunakan metode WDA pada konsentrasi ekstrak daun pala 10,00% dan NL-AgNPs 1,00% terhadap empat jenis jamur perusak makanan, yaitu *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Rhizopus oligosporus*, dan *R. oryzae*. Zona hambat ekstrak daun pala terhadap jamur uji masing-masing berkisar antara $6,33 \pm 4,64$ mm hingga $11,16 \pm 3,18$ mm sedangkan NL-AgNPs berkisar antara $6,18 \pm 0,28$ mm hingga $9,23 \pm 1,25$ mm. Pertumbuhan fungi dapat dihambat oleh ekstrak daun pala dengan nilai MIC 0,40 hingga 6,25 mg/ml dan nilai MFC 6,25 hingga 12,50 mg/ml serta dapat dihambat oleh NL-AgNPs dengan nilai MIC 0,10 hingga $>50,00$ mg/ml dan nilai MIC 5,00 hingga 6,25 mg/ml. Aplikasi pada jamur tiram berdasarkan *Total Fungal Count* (TFC) pada konsentrasi ekstrak daun pala serta NL-AgNPs pada konsentrasi 1,0% dan 0,1% selama 7 hari pada suhu ruang ($25,00 \pm 2,00^\circ\text{C}$) dan suhu dingin ($4,00 \pm 2,00^\circ\text{C}$) menunjukkan bahwa pada suhu ruang, NL-AgNPs 0,1% memberikan efek fungisidal dengan menekan pertumbuhan jamur hingga tidak terdeteksi pada hari ke-7. Sementara itu, pada suhu dingin, ekstrak daun pala 0,1% menunjukkan hasil yang stabil dengan populasi mikroba terendah sebesar $6,32 \log_{10}$ CFU/mL. Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak daun pala dan NL-AgNPs berpotensi sebagai agen antifungal alami yang efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur serta memperpanjang masa simpan jamur tiram segar.

Kata Kunci: Aktivitas antifungal, pala (*Myristica fragrans* Houtt.), pengawet makanan alami, jamur tiram, nanoteknologi, NL-AgNPs.

SDG: 3 – Kehidupan Sehat dan Sejahtera

SDG: 12 – Konsumsi dan Produksi yang Bertanggung Jawab

ABSTRACT

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF GREEN-SYNTHESIZED SILVER NANOPARTICLES MEDIATED BY NUTMEG LEAF EXTRACT (*Myristica fragrans* Houtt.) (NL-AgNPs) AND ITS EFFECT ON MICROBIAL POPULATION IN OYSTER MUSHROOM (*Pleurotus ostreatus*)

By:

Irma Faustina Faizal

NPM: 223020001

(Department of Food Technology)

*Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) is a horticultural product that is highly perishable and susceptible to microbial contamination, particularly fungal growth, resulting in a relatively short shelf life. The use of synthetic preservatives is known to pose potential health risks; therefore, safer natural alternatives are needed. One promising natural material is nutmeg leaf extract (*Myristica fragrans* Houtt.). However, plant extracts generally exhibit lower antifungal activity compared to synthetic preservatives, necessitating strategies to enhance their effectiveness, such as through nanotechnology approaches. This study aimed to characterize the physicochemical properties of nutmeg leaf powder, extract the powder, synthesize silver nanoparticles mediated by nutmeg leaf extract (NL-AgNPs), and evaluate the effects of both the extract and NL-AgNPs on microbial populations in oyster mushrooms during storage. Nutmeg leaves were dried and ground into powder, followed by physicochemical analysis including moisture content, pH, water activity (*aw*), and color. Extraction was carried out using the maceration method with 99.5% ethanol to obtain a crude extract. NL-AgNPs were then synthesized by mixing 5 mL of 10% nutmeg leaf extract with 45 mL of AgNO₃ solution to produce 1% NL-AgNPs. Antifungal activity was evaluated using methods based on the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), including Well Diffusion Assay (WDA), Minimum Inhibitory Concentration (MIC), and Minimum Fungicidal Concentration (MFC). Furthermore, the effects of the extract and nanoparticles on microbial populations in oyster mushrooms were assessed at concentrations of 0.0%, 0.1%, and 1.0% under storage conditions at room temperature (25.00 ± 2.00°C) and refrigeration temperature (4.00 ± 2.00°C). The physicochemical analysis showed that nutmeg leaf powder had a moisture content of 10.48 ± 0.66%, pH of 4.43 ± 0.07 (acidic), water activity (*aw*) of 0.61 ± 0.01, and color values of L* 41.5 ± 0.62, a* 1.87 ± 0.62, and b* 11.72 ± 2.89. The extraction process yielded a crude extract with a yield of 11.32%. Antifungal activity testing using WDA at concentrations of 10.00% nutmeg leaf extract and 1.00% NL-AgNPs against four food spoilage fungi, namely *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus**

oligosporus, and *Rhizopus oryzae*, showed inhibition zones ranging from 6.33 ± 4.64 mm to 11.16 ± 3.18 mm for the extract and from 6.18 ± 0.28 mm to 9.23 ± 1.25 mm for NL-AgNPs. Fungal growth was inhibited by nutmeg leaf extract with MIC values ranging from 0.40 to 6.25 mg/mL and MFC values from 6.25 to 12.50 mg/mL. Meanwhile, NL-AgNPs showed MIC values ranging from 0.10 to >50.00 mg/mL and MFC values from 5.00 to 6.25 mg/mL. Application on oyster mushrooms based on Total Fungal Count (TFC) at extract and NL-AgNPs concentrations of 0.1% and 1.0% during 7 days of storage indicated that, at room temperature, NL-AgNPs at 0.1% exhibited a fungicidal effect by suppressing fungal growth to undetectable levels on day 7. In contrast, under refrigeration conditions, nutmeg leaf extract at 0.1% showed stable results with the lowest microbial population of $6.32 \log_{10}$ CFU/mL. In conclusion, nutmeg leaf extract and NL-AgNPs demonstrate potential as effective natural antifungal agents capable of inhibiting fungal growth and extending the shelf life of fresh oyster mushrooms.

Keywords: *Antifungal activity, Nutmeg(Myristica fragrans Houtt.), Nature food preservatives, Oyster mushroom, Nanotechnology, NL-AgNPs.*

SDG: 3 – Good Health and Well Being

SDG: 12 – Responsible Consumptions and Production



PEDOMAN PENGGUNAAN TUGAS AKHIR

Tugas akhir yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Fakultas dan Universitas, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Universitas Pasundan. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai dengan kaidah ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Sitasi hasil penelitian Tugas Akhir ini dapat di tulis dalam Bahasa Indonesia sebagai berikut:

Faizal, I. F. (2026) : *Aktivitas Antifungal dari Sintesis Hijau Nanopartikel Perak yang Dimediasi Ekstrak Daun Pala (Myristica fragrans Houtt.) (NL-AgNPs) dan Pengaruhnya Terhadap Populasi Mikroba pada Jamur Tiram, Tugas Akhir Program Sarjana, Univeristas Pasundan.*

Dan dalam Bahasa Inggris sebagai berikut:

Faizal, I. F. (2026) : *Antifungal Activity of Green Synthesized Silver Nanoparticles Mediated By Nutmeg Leaf Extract (Myristica fragrans Houtt.) (NL-AgNPs) And Its Effect On Microbial Population In Oyster Mushroom, Bachelor's Thesis, Universitas Pasundan.*

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh tugas akhir haruslah seizin Dekan Fakultas Teknik Universitas Pasundan.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan Syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan Rahmat dan karunia. *Alhamdulillah rabbi' alamin* atas izin yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menulis penelitian ini dengan judul “**Aktivitas Antifungi dari Sintesis Hijau Nanopartikel Perak yang Dimediasi Ekstrak Daun Pala [*Myristica fragrans* Houtt.] (NL-AgNPs) dan Pengaruhnya terhadap Populasi Mikroba pada Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)**”.

Penulis menyadari bahwa selama penyusunan tugas akhir ini tidak dapat terselesaikan tanpa dukungan, bantuan, dan masukan dari berbagai pihak. Maka dari itu saya ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ir Willy Pranata Widjaja, M.Si., Ph.D. sebagai Dosen pembimbing yang telah bersedia membantu penulis untuk memberi arahan dan bimbingan kepada penulis.
2. Assoc. Prof. Dr. Yaya Rukayadi. Selaku dosen pembimbing pendamping yang telah banyak meluangkan waktu. Tenaga. Dan arahan dalam penyusunan tugas akhir ini.
3. Kepada ibu Rini Triani S.Si., M.Sc., pH. D selaku penguji, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan dan penyempurnaan laporan tugas akhir ini.
4. Jaka Rukmana, S.T., M.T. sebagai Ketua Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan.
5. Rizal Maulana Ghaffar, S.T., M.T. selaku Koordinator BELMAWA Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan.

6. Kedua orang tua tercinta Faizal Noerdin dan Sri irine, serta Kakak Almer Fitrianto Faizal yang selalu memberi doa serta dukungan secara moral, dan menjadi semangat utama bagi penulis.
7. Kepada Dzakirah Asma Nurullah, Leonardus Calvin Wicaksana, Dandy Tiara Putra dan Azriel David Budiman sebagai teman seperjuangan selama proses penelitian di UPM.
8. Kepada Kamiliya Nailah Zain, Zahra Putri Alviena, Diandra Khansa, Raissa Rahmalia, Nazwa Dwi Safira, Istara Faraj, Rahmani Afifah dan Selvi Fetriyani sebagai teman dekat penulis yang senantiasa memberikan dukungan dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
9. Kepada Teman-teman seperjuangan di UPM Putri, Mia, Kung Wan Yuen, Hoi Yuan Xin, Haikal, Hayat, Elisya, dan Aisyah yang membantu penulis dalam melakukan penelitian ini.

Akhir kata, Semoga Allah SWT. Membalas semua kebaikan yang telah diberikan, penulis berharap laporan tugas akhir ini dapat berdampak positif serta bermanfaat bagi penulis dan semua pihak yang terkait dan juga para pembaca di kemudian hari.

*Dipersembahkan kepada orang tua, kakak, serta keluarga besarku tercinta yang
senantiasa mendukung lahir batin*



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xvii
BAB I PENDAHULUAN	18
1.1. Latar Belakang.....	18
1.2. Identifikasi Masalah.....	22
1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian.....	22
1.4. Manfaat Penelitian	23
1.5. Kerangka Pemikiran	23
1.6. Hipotesis Penelitian	26
1.7. Waktu dan Tempat Penelitian	26
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	27
1.8. Jamur Tiram (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	27
1.8.1 Overview Jamur Tiram.....	28
1.8.2 Kegunaan Jamur Tiram	29
1.8.3 Kontaminan Jamur Tiram.....	30
1.9. Antifungal.....	38
1.9.1 Antifungal Sintetik	38
1.9.2 Antifungal Alami	38
1.10. Daun Pala (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.).....	39
1.10.1 Morfologi Daun Pala	40
1.10.2 Fisikokimia Daun Pala	40
1.10.3 Bioaktivitas Daun Pala	41
1.11. Nanopartikel	41
1.11.1 Nanoperak	42
1.11.2 Sintesis Hijau	44
1.11.3 NL-AgNPs	46
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	50
1.12. Bahan dan Alat	50
1.12.1 Bahan – Bahan Penelitian.....	50
1.12.2 Alat Penelitian.....	51

1.13.	Metode Penelitian	51
1.13.1	Rancangan Percobaan.....	51
1.13.2	Respon Pengujian	52
1.13.3	Analisis Data	53
1.14.	Prosedur Penelitian	53
1.14.1	Analisis Fisikokimia Daun Pala	53
1.14.2	Ekstraksi Daun Pala.....	56
1.14.3	Sintesis Hijau Nanopartikel Perak Daun Pala.....	59
1.14.4	Prosedur <i>Well Diffusion Assay</i> (WDA)	61
1.14.5	Prosedur <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	64
1.14.6	Prosedur Minimum Fungicidal Concentration (MFC).....	66
1.14.7	Prosedur aplikasi NL-AgNPs terhadap Jamur Tiram (<i>Pleurotus ostreatus</i>) ..	68
1.15.	Jadwal Penelitian	70
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		70
1.16.	Penelitian Tahap I “Karakteristik Fitokimia dan Hasil Ekstrak Daun Pala (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.).....	71
1.16.1	Karakteristik Fisikokimia Bubuk Daun Pala (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.)	71
1.17.	Penelitian Tahap II “Aktivitas Antifungal Ekstrak Daun Pala (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.)”.....	77
1.17.1	Sintesis NL-AgNPs	77
1.17.2	<i>Well Diffusion Assay</i> (WDA)	78
1.17.3	Penentuan <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) dan <i>Minimum Fungicidal Concentration</i> (MFC)	86
1.18.	Penelitian Tahap III “Aplikasi Ekstrak Daun Pala dan NL-AgNPs (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.) Terhadap Jamur Tiram (<i>Pleurotus ostreatus</i>) Selama Penyimpanan .	90
1.18.1	Hasil analisis ekstrak daun pala (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.) terhadap populasi Fungi pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu ruang ($25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)	93
1.18.2	Hasil analisis ekstrak NL-AgNPs (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.) terhadap populasi mikroba pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu ruang ($25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)	97
1.18.3	Hasil analisis ekstrak daun pala (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.) terhadap populasi mikroba pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)	100
1.18.4	Hasil analisis ekstrak NL-AgNPs (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.) terhadap populasi mikroba pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)	103
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		106
1.19.	Kesimpulan.....	106
1.20.	Saran	107
DAFTAR PUSTAKA		109

LAMPIRAN.....125



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Jamur tiram (<i>Pleurotus ostreatus</i>).....	28
Gambar 2. <i>Aspergillus flavus</i>	33
Gambar 4. <i>Aspergillus niger</i>	34
Gambar 5. <i>Rhizopus oligosporus</i>	36
Gambar 6. <i>Rhizopus oryzae</i>	37
Gambar 7. Daun pala (<i>M. fragrans</i> Houtt.).....	40
Gambar 8. Metode sintesis nanopartikel.....	43
Gambar 9. Mekanisme kerja nanopartikel	44
Gambar 10. Mekanisme sintesis hijau nanopartikel menggunakan daun coriandrum sativum.....	46
Gambar 11. Prosedur analisis fitokimia bubuk daun pala.....	55
Gambar 12. Prosedur pembuatan ekstrak daun pala	58
Gambar 13. Prosedur pembuatan sintesis hijau nanopartikel perak daun pala	60
Gambar 14. Prosedur <i>Well Diffusion Assay</i> (WDA).....	63
Gambar 15. Prosedur <i>Minimum Inhibition Concentration</i> (MIC)	65
Gambar 16. Prosedur metode <i>Minimum Fungicidal Concentration</i> (MFC).....	67
Gambar 17. Prosedur aplikasi NL-AgNPs terhadap jamur tiram	69
Gambar 18. Bubuk daun pala (<i>M. fragrans</i> Houtt).....	73
Gambar 19. Ekstrak daun pala (<i>M. fragrans</i> Houtt)	75
Gambar 20. Larutan ekstrak DMSO 10% (a), larutan NL-AgNPs 10% (b)	78
Gambar 21. Zona hambat NL-AgNPs 1,00% dan ekstrak daun pala (<i>M. fragrans</i> Houtt) 10,00%; <i>A. flavus</i> (a), <i>R. oryzae</i> (b).....	79
Gambar 22. Hasil uji MIC dan MFC; <i>R. oligosporus</i> (a), <i>R. oryzae</i> (b).....	88
Gambar 23. Jumlah mikroba (TFC) yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi ekstrak daun pala dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu ruang ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$).....	93
Gambar 24. Jumlah mikroba (TFC) yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi NL-AgNPs dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu ruang ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$).....	97
Gambar 25. Jumlah mikroba (TFC) yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi ekstrak daun pala dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$).....	100
Gambar 26. Jumlah mikroba (TFC) yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi NL-AgNPs dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)	103

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Taksonomi <i>Aspergillus flavus</i>	33
Tabel 2. Taksonomi <i>Aspergillus niger</i>	35
Tabel 3. Taksonomi <i>Rhizopus oligosporus</i>	36
Tabel 4. Taksonomi <i>Rhizopus oryzae</i>	Error! Bookmark not defined.
Tabel 5. Strain jamur patogen	Error! Bookmark not defined.
Tabel 6. Jadwal penelitian	70
Tabel 7. Karakteristik fisikokimia bubuk daun pala (<i>M. fragrans</i> Houtt).....	Error! Bookmark not defined.
Tabel 8. Hasil ekstrak daun pala (<i>M. fragrans</i> Houtt).....	Error! Bookmark not defined.
Tabel 9. Zona penghambatan ekstrak daun pala (<i>M. fragrans</i> Houtt) terhadap patogen makanan.....	Error! Bookmark not defined.
Tabel 10. MIC dan MFC NL-AgNPs [1,00%], ekstrak daun pala (<i>M. fragrans</i> Houtt) [10,00%) terhadap patogen makanan	Error! Bookmark not defined.



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Layout 96 Well Plate	125
Lampiran 2. Two-way ANOVA: Inhibition Zone versus Fungi strands, Concentration	125
Lampiran 3. Analysis of Varians (Aplikasi Ekstrak)	127
Lampiran 4. Analysis of Varians (Aplikasi Ekstrak)	128
Lampiran 5. Analysis of Varians (Aplikasi Ekstrak)	130
Lampiran 6. Analysis of Varians (Aplikasi NL-AgNPs)	132
Lampiran 7. Dokumentasi Proses Pembuatan Ekstrak Daun Pala	135
Lampiran 8. Dokumentasi Proses Pembuatan NL-AgNPs	135
Lampiran 9. Dokumentasi Hasil Uji WDA	136
Lampiran 10. Dokumentasi Hasil uji MIC dan MFC	137
Lampiran 11. Dokumentasi Aplikasi Ekstrak	139
Lampiran 12. Dokumentasi TFC Day 1	140
Lampiran 13. Dokumentasi TFC Day 5	143
Lampiran 14. Dokumentasi Aplikasi Day 7	152



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	Nama	Pemakaian pertama kali pada halaman
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>	52
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>	49
a _w	Aktivitas air	70
CFU	<i>Colony Forming Unit</i>	52
CHX	<i>Chlorhexidine</i>	49
DMSO	<i>Dimethyl sulfoxide</i>	49
NA	<i>Not active</i>	78
PDA	<i>Potato Dextrose Agar</i>	34
PDB	<i>Potato Dextrose Broth</i>	49
WDA	<i>Well Diffusion Assay</i>	51
MIC	<i>Minimum Inhibitory Concentration</i>	51
MFC	<i>Minimum Fungicidal Concentration</i>	51
SD	<i>Standard Deviation</i>	52
pH	<i>Potential of hydrogen</i>	23
TFC	<i>Total Fungi Count</i>	67
TNTC	<i>Too Numerous To Count</i>	92
SDG	<i>Sustainable Development Goals</i>	4
AgNPs	Sintesis Nanopartikel Perak	21
NL-AgNPs	<i>Nutmeg leaf Silver Nanoparticles</i>	22
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>	21
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>	46
GRAS	<i>Generally Recognized as Safe</i>	32
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>	21
BSLT	<i>Brine Shrimp Lethality Assay</i>	47
BTP	Bahan Tambahan Pangan	46
GC-MS	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i>	24
LAMBANG		
±	<i>Standard Deviation</i>	52
μL	Mikroliter	50
a*	Warna kemerahan/kehijauan	52
b*	Warna kekuningan/kebiruan	52
L*	Kecerahan	52
p	<i>Probability value</i>	52
λ	Panjang gelombang	46

BAB I PENDAHULUAN

Bab ini akan menguraikan mengenai: (1.1) Latar Belakang, (1.2) Identifikasi Masalah, (1.3) Maksud dan Tujuan Penelitian, (1.4) Manfaat Penelitian, (1.5) Kerangka Pemikiran, (1.6) Hipotesis Penelitian, serta (1.7) Waktu dan Tempat Penelitian.

1.1 Latar Belakang

Keamanan pangan merupakan salah satu aspek esensial dan wajib dalam pemenuhan kebutuhan pangan masyarakat. Salah satu isu utama yang memengaruhi keamanan pangan, khususnya pada produk pangan olahan, adalah kerusakan akibat kontaminasi mikroba. Pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan terutama jamur perusak pangan dapat mengakibatkan perubahan fisik yang tidak diinginkan, meliputi perubahan pada rasa, aroma, dan tekstur. Jamur perusak, sebagai suatu kelompok, merupakan salah satu mikroorganisme pembusuk yang paling resilien dan mampu mengatasi berbagai strategi pengendalian yang diterapkan oleh industri pangan. Berbagai propagul jamur dapat terdispersi dengan cepat melalui air dan udara, mampu bertahan dalam kondisi ekstrem, dan secara terus-menerus meningkatkan biomasnya (Snyder & Worobo, 2018).

Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang populer dan bernilai ekonomi tinggi di Indonesia (Cahya et al., 2014). Jamur tiram merupakan produk pangan yang bersifat sangat mudah rusak (*perishable*), serupa dengan jenis sayuran lainnya. Kualitasnya akan menurun drastis beberapa hari pascapanen hingga tidak layak dikonsumsi apabila disimpan tanpa penanganan yang tepat dan memadai. Penanganan tersebut harus segera dilakukan setelah panen untuk mencegah kerugian ekonomi, yang umum terjadi karena jamur sebagai produk hortikultura tetap menjadi organisme hidup dan melanjutkan proses metabolisme serta respirasi pascapanen.

Kerusakan kualitas pada jamur tiram meliputi pelayuan, pencokelatan, pelunakan, dan perubahan cita rasa. Di Indonesia, pengawetan jamur pangan komersial belum

banyak diterapkan. Pada suhu ruang, jamur tiram hanya dapat bertahan selama 1–2 hari. Di supermarket, jamur ini biasanya disimpan pada suhu rendah 15–20°C. Pada kondisi tersebut, jamur tiram hanya tetap layak dikonsumsi selama 3–5 hari, meskipun telah dikemas dalam plastik polietilen (Fawwaz et al., 2017). Kandungan nutrisi jamur bervariasi tergantung pada komposisi substratnya. Jamur tiram kaya akan protein, lemak, abu, karbohidrat, serat, mineral, dan vitamin. Jamur ini juga mengandung metionin dan asam aspartat, yang terkandung dalam jamur pangan dan berperan sebagai senyawa antioksidan (Mahesh et al., 2021).

Jamur tiram (*P. ostreatus*) merupakan produk pangan kaya nutrisi yang sangat mendukung pertumbuhan mikroba. Komposisi nutrisinya meliputi karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral esensial yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Selain itu, jamur tiram memiliki kadar air yang sangat tinggi (± 85 –90%), menjadikannya lingkungan yang ideal untuk proliferasi mikroba (Fayssal et al., 2023). Kandungan proteinnya yang relatif tinggi juga berfungsi sebagai sumber nitrogen vital bagi mikroorganisme dalam sintesis asam amino, protein struktural, dan enzim mereka sendiri (Effiong et al., 2023).

Untuk mengatasi masalah ini dan memastikan bahwa pangan tetap aman serta layak dikonsumsi hingga akhir masa simpannya, penggunaan bahan pengawet telah menjadi praktik standar dan esensial dalam industri pengolahan pangan. Bahan pengawet berfungsi untuk menghambat, menunda, atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme, sehingga dapat memperpanjang umur simpan dan menjaga kualitas pangan. Namun, jenis pengawet yang digunakan kini telah menjadi perhatian utama seiring meningkatnya kesadaran masyarakat akan kesehatan dan preferensi terhadap alternatif alami. Hingga saat ini, industri pangan sangat bergantung pada pengawet kimia sintetis seperti kalium sorbat, natrium benzoat, dan kalsium propionat. Meskipun efektif dalam menekan pertumbuhan mikroba, meningkatnya kesadaran kesehatan telah memicu kekhawatiran mengenai potensi efek negatif dari pengawet sintetis. Menurut (Mandy, 2025) konsumsi

pengawet sintetis telah dikaitkan dengan reaksi alergi, gangguan pencernaan, dan bahkan potensi sifat karsinogenik.

Meskipun pengawet alami yang berasal dari ekstrak tumbuhan seperti daun pala memberikan alternatif yang lebih aman, kemampuan antijamurnya masih relatif lemah dan kurang kuat untuk digunakan secara luas di industri. Kekuatan penghambatannya terkadang tidak seefektif pengawet sintetis pada konsentrasi rendah (Tiwari et al., 2009). Oleh karena itu, diperlukan kolaborasi dengan dihasilkan agen antijamur yang jauh lebih superior.

Indonesia yang kaya akan keanekaragaman hayati memiliki potensi besar sebagai sumber pengawet alami. Salah satu tanaman yang menjanjikan adalah pala (*M. fragrans* Houtt.). Hingga saat ini, bagian pala yang paling umum dimanfaatkan adalah biji dan buahnya, padahal bagian daun juga memiliki aktivitas biologis yang signifikan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak daun pala mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, dan minyak atsiri (termasuk sabinene, α -pinene, dan myristicin), yang memiliki kemampuan untuk mereduksi oksidasi dan menghambat pertumbuhan mikroba (Gupta & Rajpurohit, 2013). Potensi ini menjadikan ekstrak daun pala sebagai kandidat kuat untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai pengawet alami berbasis hayati.

Pala (*M. fragrans* Houtt.) dikenal luas sebagai tanaman rempah yang bernilai ekonomi tinggi dan multifungsi, karena setiap bagian tanamannya dapat dimanfaatkan di berbagai industri. Daun pala merupakan salah satu bagian yang belum banyak dieksplorasi (Rastuti et al., 2013) melaporkan bahwa daun pala mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, tanin dan flavonoid. Menurut Putri et al., (2024) ekstrak ekstrak daun pala mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang cukup tinggi, serta minyak atsiri seperti sabinene dan α -pinene (Gupta & Rajpurohit, 2013). Minyak atsiri biji pala menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih baik terhadap bakteri Gram-positif daripada bakteri Gram-negatif (Nikolic et al., 2021). Komponen flavonoid yang terdapat pada daun pala

menunjukkan keberadaan senyawa fenolik, sehingga perlu untuk dilakukan penelitian mengenai kandungan fenolik total pada ekstrak daun pala. Komponen fenolik ini penting mengingat peranannya yang besar dalam pengobatan dan pencegahan timbulnya penyakit termasuk sebagai antioksidan (Fawwaz et al., 2017). Kandungan zat-zat dalam daun pala, terutama senyawa polifenolnya, tidak hanya bisa menjadi bahan pengurang alami yang bagus untuk membuat nanopartikel, tetapi juga terbukti bisa melawan jamur secara efektif. Karena itu, menggunakan daun pala sebagai sumber bahan aktif biologis adalah langkah yang bijaksana. Selain memberikan alternatif pengawet alami, langkah ini juga meningkatkan nilai ekonomi bagi bagian tanaman yang biasanya tidak digunakan. Nanoteknologi adalah bidang ilmu pengetahuan dan teknologi yang terus berkembang yang mempelajari objek-objek kecil. Ini adalah bidang penting yang berhubungan dengan sintesis, dan manipulasi struktur partikel dengan rentang ukuran 1 hingga 100 nm. Penggunaan baru dari bahan nano dan NPs berkembang pesat di berbagai bidang karena sifatnya yang sama sekali baru atau disempurnakan berdasarkan bentuk, ukuran dan distribusi.

Nanoteknologi telah mengubah banyak bidang ilmu pangan, terutama pengawetan dan keamanan pangan. Penerapan nanoteknologi dalam teknologi pengolahan dan pengemasan (Bermudes, 2025). Nanopartikel perak (AgNPs) adalah partikel dari logam perak yang dibuat sangat kecil, dengan ukuran antara 1 hingga 100 nanometer. Ukuran ini membuatnya memiliki luas permukaan yang sangat besar dan kemampuan membunuh mikroba yang jauh lebih kuat dibandingkan perak dalam bentuk biasa. Nanopartikel perak (AgNPs) telah dikenal secara luas karena aktivitas antimikrobanya yang kuat terhadap berbagai jenis bakteri dan jamur (Sukumaran & Poulouse, 2012). Mekanisme kerja AgNPs meliputi merusak integritas dinding dan membran sel jamur, interaksi dengan protein dan DNA, serta pembentukan spesi oksigen reaktif (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif dan kematian sel (Rai et al., 2009; Galdiero et al., 2011). Namun, sintesis AgNPs secara konvensional seringkali melibatkan penggunaan bahan kimia pengurang yang toksik dan tidak ramah lingkungan.

Sebagai solusi, metode sintesis hijau (*green synthesis*) muncul sebagai alternatif yang berkelanjutan, efisien, dan ramah lingkungan. Metode ini menggunakan ekstrak tumbuhan sebagai agen pengurang sekaligus penstabil (capping agent) dalam pembentukan nanopartikel (Kharissova et al., 2013). Senyawa fitokimia dalam ekstrak, seperti polifenol dan flavonoid yang terkandung dalam daun pala, berperan dalam mengurangi ion perak (Ag^+) menjadi nanopartikel perak (Ag^0). Kombinasi ini diharapkan dapat menghasilkan nanopartikel perak yang dimediasi ekstrak daun pala (NL-AgNPs) yang aman dan juga memiliki kemampuan anti-fungal yang jauh lebih superior dan juga secara spesifik dapat menguji efeknya terhadap populasi mikroba pada jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) untuk memvalidasi potensinya sebagai agen pengendali mikroba dalam aplikasi pangan.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka identifikasi masalah yang didapat yaitu:

1. Bagaimana karakteristik fisikokimia bubuk daun pala (*M. fragrans* Houtt.), serta apakah bubuk daun pala dapat diekstraksi menggunakan etanol 99,6%?
2. Bagaimana aktivitas antijamur NL-AgNPs dibandingkan dengan ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt)?
3. Bagaimana efektivitas ekstrak daun pala dan NL-AgNPs sebagai pengawet alami terhadap jamur tiram (*P. ostreatus*)?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk menguji potensi ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) sebagai sumber bahan alami dalam sintesis hijau nanopartikel perak (NI-AgNPs), serta mengevaluasi efektivitasnya sebagai agen antibakteri terhadap *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Rhizopus oligosporus* dan *R. oryzae* serta sebagai pengawet alami dalam upaya meningkatkan keamanan dan mutu jamur tiram selama penyimpanan.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengkarakterisasi fisikokimia bubuk daun pala (*M. fragrans* Houtt.), serta mengekstraksi bubuk daun pala (*M. fragrans* Houtt) menggunakan etanol 99,6%.
2. Menentukan aktivitas antijamur ekstrak daun pala dengan NL-AgNPs.
3. Mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak daun pala dan NL-AgNPs sebagai pengawet alami terhadap jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*).

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi tentang karakterisasi bubuk daun pala serta hasil ekstraksi menggunakan etanol 99,6%
2. Memberikan pengetahuan tentang proses nanosintesis serta menunjukkan bahwa nanopartikel memiliki aktivitas antijamur yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak daun pala konvensional.
3. Memberikan informasi mengenai potensi penggunaan NL-AgNPs sebagai alternatif pengawet alami.

1.5 Kerangka Pemikiran

Pala (*M. fragrans* Houtt) adalah tanaman penting yang endemik di Indonesia, berasal dari Kepulauan Banda, Provinsi Maluku (Muslimah et al., 2024). Di Indonesia, biji pala dan mace digunakan sebagai bumbu, obat-obatan, dan daging pala dapat diolah menjadi berbagai makanan seperti permen, acar, dodol, selai, dan sirup pala. Setiap bagian pala mengandung senyawa aktif sebagai antimikroba, antibakteri, antioksidan, antifungus, dan antiinflamasi (Sumberejo et al., 2020). Selain itu, tanaman pala memiliki nilai ekonomi tinggi dan merupakan sumber devisa untuk ekspor non-minyak dan gas (Lawalata et al., 2017). Rata-rata suhu tumbuh pala antara 27,8–30,9°C, kelembapan 61–80%, dan pH tanah 6,8–7,0, semuanya sangat ideal untuk pertumbuhan pala (Muslimah et al., 2024).

Daun pala (*M. fragrans* Houtt) merupakan produk sampingan perkebunan dari tanaman pala yang jarang untuk dimanfaatkan secara optimal namun mengandung senyawa bioaktif. Pemanfaatan tanaman pala dari waktu ke waktu hanya meliputi biji fuli pala sedangkan daun pala tidak dimanfaatkan oleh Masyarakat (Kakerissa et al., 2020). Menurut Gupta and Rajpurohit. (2013) penelitian-penelitian sebelumnya menyatakan bahwa daun pala memiliki kemampuan untuk melawan berbagai mikroba seperti bakteri dan jamur. Hal ini disebabkan adanya senyawa polifenol dan minyak atsirinya, yang membuat daun pala efektif sebagai bahan antibakteri dan anti jamur. Menurut Ashokkumar et al. (2022) analisis GC-MS menunjukkan bahwa komponen dominan pada daun pala yaitu asam miristat (myristic acid) terdapat sekitar 57%, serta hadir pula α -pinene, sabinene, β -pinene, dan eugenol yang berperan sebagai senyawa antimikroba utama. Mekanisme kerja anti mikroba pada daun pala yaitu senyawa seperti α -pinene dan sabinene memiliki sifat lipofilik yang dapat mengganggu sel mikroba dan menyebabkan kebocoran sel dan kematian seluler (Dorman & Deans, 2004).

Ekstraksi adalah suatu proses untuk mengambil zat dengan campuran dari terlarutan pelarut. Proses ekstraksi bertujuan untuk memperoleh ekstrak murni atau ekstrak yang hanya terdiri dari satu komponen tunggal (Sari et al., 2021). Pemilihan pelarut dilakukan dengan mempertimbangkan kemampuan polaritas yang tinggi atau semi polar agar dapat melarutkan berbagai macam komponen kimia pada sampel yang bersifat polar hingga non polar dengan jumlah yang optimal. Prinsip ekstraksi berlandaskan pada distribusi zat terlarut dalam senyawa aktif dengan memanfaatkan perbandingan dua pelarut yang tidak saling bercampur atau memiliki sifat polaritas yang berbeda (Handoyo, 2020). Dalam penelitian ini pelarut yang dipakai yaitu etanol karena sifatnya yang mampu menarik senyawa fenolik dan flavonoid secara efektif, sekaligus dianggap aman (food grade) dan ramah lingkungan dibandingkan pelarut organik lainnya (Azwanida, 2015; Do et al., 2014). Alasan lainnya mengapa memakai etanol yaitu karena etanol mudah untuk didapatkan dengan harga yang murah, etanol juga memiliki Tingkat ekstraksi yang tinggi.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi yang merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan secara dingin atau dalam suhu ruang tanpa ada peningkatan suhu atau pemanasan (Handoyo, 2020). Metode ini dilakukan dengan merendamkan suatu sampel terhadap bahan yang akan di ekstraksi dengan pelarut organik selama beberapa waktu. Dengan menggunakan pelarut etanol, sehingga dapat menarik senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan minyak atsiri atau terpenoid (Azhari et al., 2024).

Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) Adalah tanaman hortikultura yang banyak dibudayakan karena cepat tumbuh dan memiliki nilai gizi tinggi berupa protein, vitamin, dan senyawa bioaktif (Akçay et al., 2023). Nilai ekonominya yang tinggi menjadikan jamur tiram sebagai komoditas penting dalam industri pangan dan agro-industri. Namun, jika misalnya dinding media tumbuhnya tidak steril atau kondisi lingkungan tidak terjaga (kelembapan tinggi, ventilasi buruk), jamur tiram juga rentan terhadap serangan kontaminan jamur lain seperti *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp., dan *Penicillium* spp. (Biswas, 2016). Kontaminan ini tidak hanya menurunkan hasil produksi dan kualitas biologis jamur tiram, tetapi juga bisa menghasilkan metabolit sekunder (mikotoksin) yang merugikan keamanan pangan (Bellettini et al., 2018).

Ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt) merupakan alternatif yang bagus untuk dijadikan pengawet alami yang aman untuk digunakan dan ramah lingkungan. Dengan adanya pengawet alami dari daun pala ini bisa mengurangi penggunaan pengawet sintesis yang bisa berdampak negatif pada kesehatan dan lingkungan. Nanopartikel perak (AgNPs) telah dikenal karena memiliki aktivitas antimikroba yang sangat kuat termasuk terhadap jamur. Karena ukurannya yang sangat kecil (1-100 nm) memberikan rasio luas permukaan terhadap volume yang sangat besar, sehingga dapat meningkatkan interaksinya dengan sel mikroba.

1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah diuraikan diatas, maka dapat diambil hipotesis sebagai berikut:

1. Diduga bubuk daun pala dapat dikarakterisasi dan diekstraksi menggunakan etanol 99,6%
2. Diduga bahwa nanopartikel dapat disintesis dan memiliki antifungal lebih kuat dibandingkan ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt).
3. Diduga ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt) berpengaruh dalam menurunkan populasi mikroba dalam Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) selama penyimpanan.

1.7 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 12 Agustus sampai 9 September 2025 dan bertempat di Laboratorium-Laboratorium Fakultas Ilmu dan Teknologi Pangan Universiti Putra Malaysia, Selangor, Malaysia dengan rincian:

1. Laboratorium Pemrosesan Makanan untuk pembuatan bubuk daun pala serta karakterisasi fisikokimia, meliputi pengukuran pH, aktivitas air, kadar air dan warna pada bubuk daun pala.
2. Laboratorium Kimia Makanan untuk proses ekstraksi bubuk daun pala menggunakan etanol.
3. Laboratorium Mikrobiologi untuk pengujian aktivitas antijamur serta evaluasi aplikasi NL-AgNPs pada jamur tiram.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menguraikan mengenai: (2.1) Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*), (2.1.1) Overview Jamur tiram (2.1.2) kegunaan Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*), (2.1.3) kontaminan pada jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*), (2.1.3.1) Jamur *Aspergillus flavus*, *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* (2.2) Antifungal, (2.2.1) Sintetik antifungal, (2.2.2) Antifungal alami, (2.3) Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.), (2.3.1) Morfologi daun pala, (2.3.2) Fisikokimia daun pala, (2.3.3) Bioaktivitas daun pala, (2.4) Nanopartikel, (2.4.1) Nanoperak, (2.4.2) Sintesis hijau, dan (2.4.3) NL-AgNPs.

2.1 Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)

Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) (Gambar 1) merupakan salah satu jenis jamur pangan populer dari famili Pleurotaceae yang berasal dari hutan beriklim sedang, namun kini telah dibudidayakan secara luas di berbagai belahan dunia termasuk daerah tropis seperti Indonesia (Aminah & Hawalid, 2020). Jamur merupakan tubuh buah makrofungi yang sangat kaya rasa, rendah kalori, tetapi kaya akan vitamin, mineral, dan protein (Mubasshira et al., 2020). Jamur tiram adalah jenis jamur lignoselulolitik yang dapat dimakan dan memiliki unsur terapeutik seperti senyawa fenolik, serat pangan, mineral, serta berbagai senyawa bioaktif (Kumla et al., 2020). Penelitian menunjukkan bahwa mengonsumsi jamur tiram dapat menurunkan berbagai risiko penyakit seperti penyakit jantung, gangguan respons imun, hepatitis B, kadar kolesterol tinggi, kanker lambung dan diabetes (Chayakrit et al., 2021; Mubasshira et al., 2020). Oleh karena itu, jamur tiram dapat dijadikan sumber nutrisi alternatif yang dapat meningkatkan kesehatan.



Gambar 1. Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*)

2.1.1 Overview Jamur Tiram

Pleurotus ostreatus termasuk ke dalam Kingdom Fungi, Divisio Basidiomycota, Kelas Agaricomycetes, Ordo Agaricales, dan Famili Pleurotaceae. *Pleurotus ostreatus* adalah jamur saprofit yang tumbuh secara alami pada kayu lapuk atau sisa tanaman dengan kemampuan mendegradasi lignoselulosa berkat enzim ligninase, selulase, dan hemiselulase yang dimilikinya. Nama jamur tiram di berikan karena bentuk tudung jamur agak membulat, lonjong dan melengkung menyerupai cangkang hitam (*ostreatus*) sedangkan pertumbuhan tangkai jamur yang menyamping disebut *Pleurotus*. Tubuh buah jamur ini dicirikan oleh bentuk tudung yang berwarna putih hingga abu-abu dengan diameter berkisar antara 5-20 cm. Miseliumnya berwarna putih dengan tekstur halus, sementara batang relative pendek atau hamper tidak ada sehingga tudung tampak langsung melekat pada substrat (Mardiana et al., 2023; Aminah & Hawalid, 2020). Jamur tiram termasuk organisme heterotroph yang membutuhkan substrat kaya karbon dan nitrogen untuk pertumbuhannya. Substrat yang biasa digunakan adalah limbah pertanian seperti

serbuk gergaji, Jerami padi, tongkol jagung, hingga ampas tebu. Kandungan nutrisi substrat sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur, terutama rasio C/N, dimana kisaran ideal berada antara 10-20 untuk mendukung pertumbuhan miselium yang cepat (Riswan, 2023).

Lingkungan tumbuh jamur tiram sangat menentukan keberhasilan budidaya. Suhu optimal untuk pertumbuhan miselium adalah 25-28°C dengan kelembapan relative 70-90%. Produksi tubuh buah membutuhkan suhu sedikit lebih rendah, sekitar 22-26°C, dengan intensitas Cahaya rendah dan sirkulasi udara baik. Faktor aerasi berperan penting karena kekurangan oksigen dapat menghambat pertumbuhan dan menyebabkan miselium tidak mampu menghasilkan tubuh buah dengan baik (Mardiana et al., 2023). Nilai pH media tanam yang optimal Adalah berkisar 6,5-7,5 dan meskipun jamur toleran pada kisaran pH yang lebih luas, pertumbuhan dan pembentukan tubuh buah paling baik terjadi pada pH mendekati netral (Hasan et al., 2020).

Jamur tiram memiliki siklus hidup yang singkat, dimana fase pertumbuhan miselium hingga permbentukan tubuh buah berlangsung cepat sehingga dapat dipanen sekitar 3-4 minggu setelah inokulasi. Karena mudah untuk dibudidayakan, kemampuan adaptasi terhadap berbagai substrat, sertanilai ekonomis dan gizi yang tinggi menjadikan jamur tiram sebagai komoditas yang penting dalam bidang pangan serta objek kajian dalam penelitian terkait mutu dan keamanan pangan

2.1.2 Kegunaan Jamur Tiram

Jamur tiram mempunyai banyak kegunaan yang menjadikannya komoditas penting dalam berbagai aspek. Secara umum, jamur tiram merupakan jamur yang dapat dimakan, mudah diperoleh dengan biaya murah, dan kaya akan zat gizi (Effiong et al., 2023). Jamur mengandung banyak nutrisi seperti protein, karbohidrat, vitamin, asam amino, lipid, dan serat. Jamur merupakan makanan yang sehat, rendah kalori dan lemak sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pangan bergizi dan obat. Menurut (Aminah & Hawalid, 2020) Jamur mengandung 19-35% protein lebih tinggi dibandingkan pada beras (7,38%) dan gandum (13,2%), terdapat 9 asam

amino essensial dan teristimewa 72% lemaknya tidak jenuh serta kandungan serat mulai 7,4-24,6% sangat baik bagi pencernaan. Selain itu, dapat digunakan sebagai obat kolestrol, kanker dan AIDS.

Selain itu, jamur mengandung berbagai senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat terhadap Kesehatan manusia. Polisakarida, terutama β -glukan merupakan salah satu komponen utama yang memiliki aktivitas antioksidan dan prebiotic yang bisa melindungi sel dari stress oksidatif dan mendukung Kesehatan usus dengan merangsang pertumbuhan microbiota yang menguntungkan serta menghambat pathogen usus (El-Maradny et al., 2025). Selain itu, senyawa fenolik seperti flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas yang bisa merusak sel tubuh dan berkontribusi pada pencegahan penyakit degenerative (Tiupova et al., 2025). Menurut penelitian (Patricia, 2014) menunjukkan bahwa ekstrak dari jamur tiram dapat berfungsi sebagai imunostimulan yang dapat meningkatkan aktivitas system imun, seperti meningkatkan respon fagositik makrofag, yang mendukung pertahanan tubuh terhadap infeksi.

2.1.3 Kontaminan Jamur Tiram

Jamur tiram memiliki umur simpan yang cukup singkat karena kadar airnya yang cukup tinggi hingga mudah rusak. Menurut penelitian (Cahaya et al., 2014). Jamur tiram yang disimpan dalam kemasan plastic polypropylene menunjukkan pada suhu ruang dapat bertahan hingga 5 hari dan 14 hari pada suhu rendah. Kadar air yang tinggi pada jamur tiram menciptakan kondisi yang sangat mendukung pertumbuhan mikroorganisme, sehingga mempercepat proses kerusakan dan menurunkan mutu pada jamur tiram. Kerentanan jamur tiram terhadap kontaminasi mikroba juga menjadi tantangan dalam budidaya. Miselium jamur tiram sangat mudah tersaingi oleh kapang kontaminan seperti *Trichoderma* sp. atau *Aspergillus* sp, *Penicillium* spp., serta *Rhizopus* spp. yang dapat tumbuh cepat pada media dengan kelembapan tinggi atau pengendalian sterilisasi yang kurang optimal (Byasal et al., 2020).

2.1.3.1 Jamur *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae*

Jamur merupakan organisme eukariotik yang mempunyai spora, berinti, tidak berklorofi, dan berbentuk seperti benang dengan dinding sel yang tersusun atas selulosa dan kitin. Jamur merupakan mikroorganisme heterotrof yang bersifat saprofit atau parasit. Heterotrof adalah makhluk hidup yang tidak dapat membuat makanan mereka sendiri seperti tumbuhan dan ganggang. Jamur menyerap nutrisi dari lingkungan di luar tubuhnya. Beberapa jamur melakukan hal tersebut dengan mensekresikan enzim hidrolitik ke lingkungan sekelilingnya. Mekanisme kerja enzim tersebut memecah molekul kompleks menjadi senyawa organik yang lebih kecil sehingga mudah diserap oleh jamur. Jamur digolongkan menjadi 5 divisi yaitu Ascomycota, Basidiomycota, Critidiomycota, Zygomycota dan Deuteromycota. Jamur biasanya hidup pada tempat yang lembab, basah, pada sampah, sisa-sisa organisme, atau di dalam tubuh organisme lain dan dapat juga hidup di lingkungan asam. Jamur adalah salah satu organisme yang memiliki struktur sel berbentuk bola atau filamen yang disebut hifa. Struktur pada tubuh jamur yang paling umum yakni filamen multisel dan sel tunggal atau ragi.

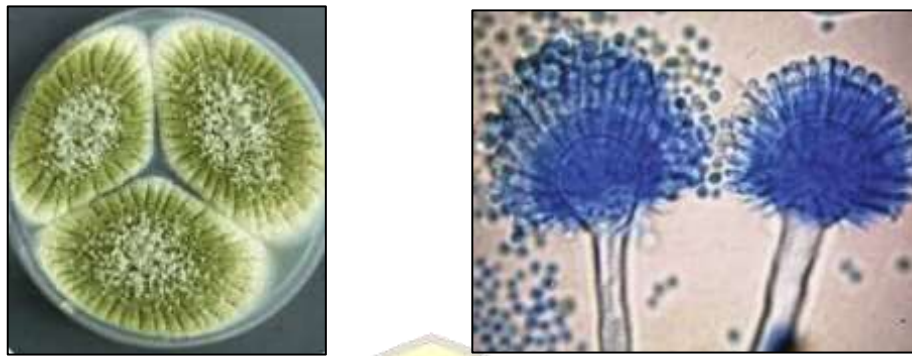
Beberapa spesies jamur dapat tumbuh membentuk filamen dan ragi, tetapi bahkan lebih berkembang hanya sebagai filamen; relatif sedikit spesies tumbuh hanya sebagai ragi. Tubuh jamur ini biasanya membentuk jaringan filamen kecil yang disebut hifa. Hifa merupakan suatu struktur benang – benang bercabang dan menyebar pada permukaan maupun di dalam substrat. Hifa dibedakan atas dua yaitu hifa fertile yang membentuk sel reproduktif dan pertumbuhan ke atas sebagai hifa udara serta hifa vegetatif yaitu hifa yang mencari makanan ke dalam substrat. Reproduksi yang terjadi pada jamur dapat secara seksual dan aseksual. dengan bentuk dan ukurannya uniseluler dan multiseluler. Kondisi tertentu, sifat jamur dapat berubah menjadi patogen dan menyebabkan berbagai penyakit (Putu & Paramita, 2021). Jamur bisa menjadi pathogen jika imun tubuh manusia sedang lemah. Salah satu sifat jamur pathogen yaitu oportunistik yang artinya mereka bisa tidak berbahaya bagi individu yang sehat namun jika kekebalan tubuh menurun,

mereka akan mengambil kesempatan untuk menginfeksi tubuh

A. flavus (Gambar 2) merupakan jamur kapang berfilamen dan tergolong dalam eukariota, yang umumnya tumbuh pada medium yang mengandung oksigen (bersifat aerob). *A. flavus* adalah salah satu jenis jamur yang sering mengkontaminasi makanan. Jamur jenis ini dapat menyebabkan infeksi pada manusia dan jamur yang paling banyak menghasilkan aflatoksin (Kurniawati et al., 2021). Jamur ini mudah untuk dikenali melalui koloninya yang berwarna kuning-hijau khas (Klich, 2007). *A. flavus* merupakan jamur saprofit yang tumbuh subur pada bahan organik mati di kondisi hangat dan lembap. Yang membuat jamur ini berbahaya yaitu dia memproduksi mikotoksi kuat bernama aflatoksin lebih spesifiknya Aflatoksin B1 (AFB1), sebuah senyawa yang diklasifikasikan sebagai karsinogen Grup 1 (terbukti menyebabkan kanker pada manusia) Dan sering mengontaminasi komoditas pertanian seperti kacang tanah, jagung dan sereal. Jika mengonsumsi makanan yang terkandung toksin akan menyebabkan kondisi serius yang disebut dengan aflatoksikosis yang bersifat akut atau menyebabkan kerusakan hati hingga memicu kanker hati (Kumar et al., 2017).

A. flavus tersusun atas hifa hialin (tidak berwarna) dan menghasilkan struktur reproduksi aseksual berupa kondiofor yang merupakan tangkai panjang serta kasar dan terdapat vesikel (pembengkakan) berbentuk bulat pada ujungnya. Konidia ini berfungsi sebagai alat penyebaran dan pertahanan, berbentuk bulat hingga lonjong dengan ukuran sekitar 3-6 μm , dan memiliki dinding permukaan yang kasar (Klich, 2007).

Gambar berikut menunjukkan strain *Aspergillus flavus* yang digunakan sebagai salah satu mikroorganisme uji dalam penelitian ini.



Gambar 2. *Aspergillus flavus* (Hassanien et al., 2021)

Klasifikasi taksonomi *A. flavus* disajikan pada Tabel 1. Sebagai berikut:

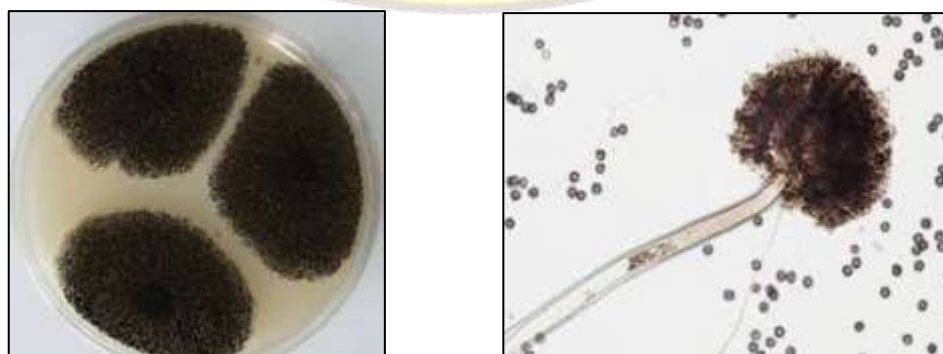
Tabel 1. Taksonomi *Aspergillus flavus*

Kingdom	Fungi
Filum	Ascomycota
Kelas	Eurotiomycetes
Ordo	Eurotiales
Famili	Aspergillaceae
Genus	<i>Aspergillus</i>
Spesies	<i>Aspergillus flavus</i>

Sumber: (Pitt & Hocking, 2009)

Aspergillus niger (Gambar 3) merupakan jamur *Trichocomaceae* yang berbentuk filame, mempunyai hifa bersepta dan dapat ditemukan di alam. Jamur ini biasanya diisolasi dari tanah, sisa tumbuhan, dan udara di dalam ruangan (Yuniarty & Rosanty, 2017). *A. niger* merupakan salah satu spesies *Aspergillus* yang tidak menghasilkan mikotoksin sehingga tidak membahayakan. *A. niger* dalam proses pertumbuhannya memerlukan oksigen yang cukup (aerobik). *A. niger* berstatus

GRAS (Generally Recognized As Safe) untuk banyak aplikasinya. Jamur ini adalah produsen utama asam sitrat yang digunakan sebagai pengawet dan penambah rasa untuk makanan dan minuman serta menghasilkan amilase, glukosa, oksidase dan pectinase yang sering kali digunakan dalam industri pangan, farmasi, hingga produksi deterjen. Spesies ini kosmopolit di daerah tropis dan subtropis dan mudah diisolasi dari tanah, udara, air, rempah-rempah, kapas, tebu, buah-buahan, ketimun, kopi, teh, coklat serta seresah tanah. *A. niger* mempunyai hifa berseptat, memiliki koloni atau bulu dasar berwarna putih atau kuning dengan lapisan konidiospora tebal berwarna coklat sampai hitam pada media agar dekstrosa kentang (PDA) 25°C (Sulistiyarsi & Ardhi, 2016). Meskipun demikian, *A. niger* tetap memiliki potensi sebagai patogen oportunistik pada manusia. Ia adalah penyebab umum otomycosis, yaitu infeksi jamur pada liang telinga, dan dalam kasus yang jarang terjadi, dapat menyebabkan aspergillosis paru invasif, terutama pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang sangat lemah (CDC, 2024). Selain itu, beberapa strain *A. niger* diketahui mampu memproduksi mikotoksin seperti ochratoxin A (OTA) pada kondisi tertentu, sehingga memerlukan pengawasan pada aplikasi tertentu untuk keamanan pangan (Perrone & Gallo, 2017). Gambar berikut menunjukkan strain *A. niger* yang digunakan sebagai salah satu mikroorganisme uji dalam penelitian ini.



Gambar 3. *Aspergillus niger* (Abdulzahra et al., 2021)

Klasifikasi taksonomi *A. niger* disajikan pada Tabel 2 sebagai berikut:

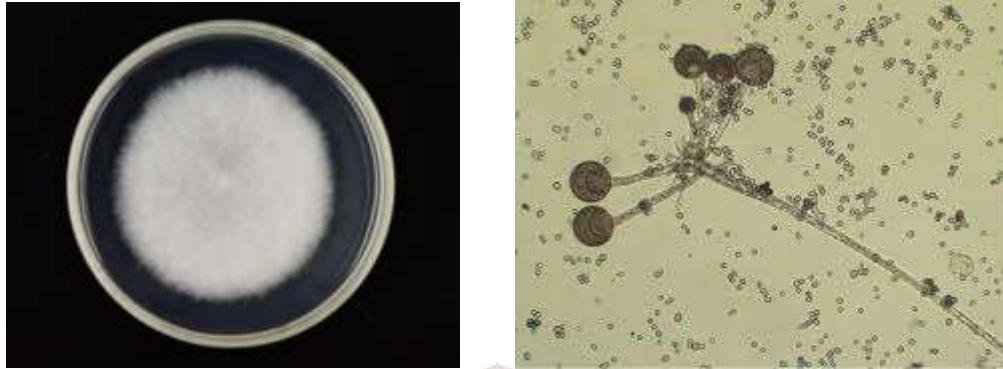
Tabel 2. Taksonomi *Aspergillus niger*

Kingdom	Fungi
Divisi	Ascomycota
Kelas	Eurotiomycetes
Ordo	Eurotiales
Famili	Trichocomaceae
Genus	<i>Aspergillus</i>
Spesies	<i>Aspergillus niger</i>

Sumber: (Xue et al., 2015)

Rhizopus oligosporus (Gambar 4) adalah jamur kapang berserat yang termasuk kelompok Zygomycota, yang telah dikenal secara luas di berbagai belahan dunia, terutama di Indonesia, sebagai ragi utama dalam pembuatan tempe. Jamur ini bersifat aerobik dan berkembang dengan baik pada suhu hangat (30-40°C), dimana ia menghasilkan miselium putih yang padar, menggabungkan substrat menjadi satu kesatuan padat yang merupakan ciri khas tempeh. Dalam pengamatan mikroskopis, *R. oligosporus* memiliki hifa yang tidak bersekat, sporangiofor yang tumbuh langsung dari rizoid, dan sporangium berwarna hitam saat matang yang berisi sporangiospora (Hesseltine, 1983). Pada *R. oligosporus* ini memiliki ciri-ciri seperti, warna dari kapang jenis ini yaitu putih dan putih keabu-abuan dan memiliki tinggi sekitar 1 mm, sporangiofor pada *R. oligosporus* dapat berbentuk tunggal atau bercabang berwarna subhialin sampai kecoklatan, arah tumbuhnya berlawanan dengan rhizoid, berdinding halus atau bisa juga agak kasar, panjang nya 1000 µm dengan diameter 10-18 µm. Lalu, sporangium berbentuk bulat dan berwarna hitam kecoklatan jika sudah matang dan memiliki diameter 100-180 µm. Collumela berbentuk bulat atau semi bulat berbentuk apofise seperti corong. Kemudian sporangiaspora berbentuk bulat, elips atau tidak teratur, panjang nya 7-10 mm, membentuk koloni berwarna kecoklatan, jika tunggal berwarna subhialin, dan berdinding halus. Klamidospora nya banyak, dengan wujud tunggal atau berantai pendek serta tidak berwarna, mengandung butir-butir granular, terdapat di daerah

hifa dan sporangiofor, berbentuk bulat elips atau silindris dan berukuran 7-30 μm (Rosidah et al., 2023). Gambar 4. berikut menunjukkan strain *R. oligosporus* yang digunakan sebagai salah satu mikroorganisme uji dalam penelitian ini.



Gambar 4. *Rhizopus oligosporus* (Feng, 2006)

Klasifikasi taksonomi *R. oligosporus* disajikan pada Tabel 3 sebagai berikut:

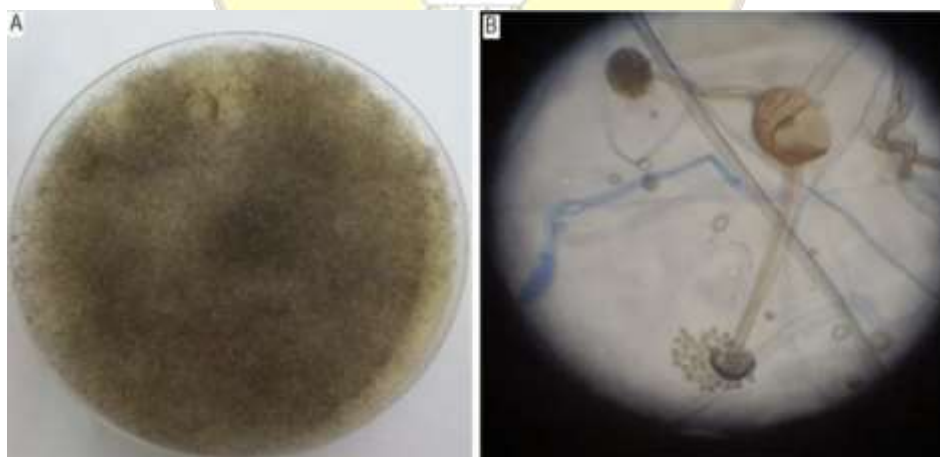
Tabel 3. Taksonomi *Rhizopus oligosporus*

Kingdom	Fungi
Divisi	Mucoromycota
Kelas	Mucoromycetes
Ordo	Mucorales
Famili	Mucoraceae
Genus	<i>Rhizopus</i>
Spesies	<i>Rhizopus oligosporus</i>

Sumber: (Pitt & Hocking, 2009)

Rhizopus oryzae (Gambar 5) adalah kapang filamen dari famili Mucoraceae yang banyak dimanfaatkan dalam bioteknologi pangan dan industry karena kemampuannya menghasilkan berbagai enzim hidrolitik seperti protease, amilase, dan lipase (Benabda et al., 2019). Koloni jamur *R. oryzae* pada awal pertumbuhannya berwarna keputihan kemudian akan berubah menjadi abu-abu kecoklatan dengan bertambahnya usia serta dapat mencapai tinggi sekitar 10 mm. Stolon berdinding halus dapat juga bertekstur agak kasar, stolon hamper tidak

berwarna atau coklat kekuningan. Rhizoid berwarna kecoklatan, serta tumbuh bercabang berlawanan arah dengan sporangiofor, atau sporangiofor dapat muncul langsung dari stolon tanpa adanya rhizoid. Sporangia memiliki dinding berbentuk bulat hingga semibulat dengan permukaan dinding berduri, berwarna coklat gelap hingga kehitaman. Kolumela berbentuk ovoid atau bulat dengan permukaan yang halus atau agak kasar (Septiana et al., 2023). *R. oryzae* tumbuh dengan baik pada substrat yang kaya karbohidrat seperti kedelai, dedak padi dan produk sampingan singkong (Prasasti et al., 2024). Pertumbuhan optimal *R. oryzae* sangat dipengaruhi oleh suhu dan tingkat keasaman (pH). Suhu ideal untuk pertumbuhan miseliumnya berada pada rentang 30°C hingga 35°C, yang mengklasifikasikannya sebagai jamur mesofilik yang menyukai kehangatan (Hidayat et al., 2022). Selain suhu, jamur ini menunjukkan preferensi kuat terhadap lingkungan yang bersifat asam, dengan pertumbuhannya akan menurun secara signifikan pada kondisi basa (pH diatas 7). Kebutuhan akan oksigen juga menjadi factor krusial, karena sifatnya yang aerobik memerlukan sirkulasi udara yang memadai untuk metabolisme dan perkembangbiakan (Lanza et al., 2021). Berikut gambar strain *R. oryzae* yang digunakan sebagai salah satu mikroorganisme uji dalam penelitian ini.



Gambar 5. *Rhizopus oryzae* (Hanen et al., 2019)

Klasifikasi taksonomi *R. oryzae* disajikan pada Tabel 4 sebagai berikut:

Tabel 4. Taksonomi *Rhizopus oryzae*

Kingdom	Fungi
Divisi	Zygomycota
Classis	Zygomycetes
Ordo	Mucorales
Familia	Murocaceae
Genus	<i>Rhizopus</i>
Species	<i>Rhizopus oryzae</i>

2.2 Antifungal

Agen antifungi adalah obat yang mampu menghambat pertumbuhan (fungistatik) atau membunuh jamur beserta sporanya (fungisidal) dengan cara memengaruhi struktur dan fungsi sel jamur. Agen ini dapat bekerja dengan cara menghentikan pembentukan ergosterol, merusak membrane sel atau penghambatan komponen dinding sel jamur yang esensial, yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan jamur atau menyebabkan kematian pada sel jamur (Hossain et al., 2022).

2.2.1 Antifungal Sintetik

Antifungal sintetik merupakan senyawa kimia yang dirancang secara laboratorium untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh jamur. Dalam industri pangan, agen antifungi digunakan sebagai pengawet untuk menghambat pertumbuhan kapang dan khamir yang menyebabkan pembusukan.. Beberapa contoh antifungi sintesis seperti asam sorbat, benzoat dan propionat sudah lama diandalkan karena efektivitasnya yang tinggi (Sofos & Busta, 1981). Walaupun efektivitas nya tinggi antifungi sintesis ini dapat membahayakan kesehatan dan itu sudah menjadi kekhawatiran masyarakat karena kesadaran mereka akan kesehatan.

2.2.2 Antifungal Alami

Antifungal alami adalah senyawa atau ekstrak yang berasal dari sumber alam seperti tumbuhan yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur pathogen. Seiring dengan tumbuhnya kekhawatiran mengenai efek negatif dan resistensi akibat penggunaan antifungal sintetik, focus para peneliti dalam

beberapa tahun terakhir semakin bergeser ke pencarian zat antifungal yang alami. Kini penelitian intensif pada pencarian agen antifungi dari sumber alami, terutama ekstrak tanaman yang kaya akan senyawa seperti fenolik dan terpenoid yang mampu merusak membran sel dan mendenaturasi protein mikroba. Akan tetapi tantangan yang dihadapi yaitu keterbatasan signifikan dimana anti fungi dari sumber alami ini lebih lemah daripada pengawet sintesis dan jika digunakan dalam konsentrasi yang tinggi seringkali menimbulkan *off flavor* pada produk pangan. Maka dibutuhkan pengembangan mengenai agen antifungi yang aman dan juga efektif jika digunakan dalam konsentrasi rendah. Salah satu cara yang paling menjanjikan yaitu dengan meningkatkan efikasi dari senyawa alami melalui teknologi canggih salah satunya nanoteknologi (Sofos & Busta, 1981).

2.3 Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Daun pala (*M. fragrans* Houtt.) (Gambar 6) merupakan tanaman asli Indonesia yang berasal dari Kepulauan Banda dan Maluku, Indonesia. Tanaman ini termasuk dalam famili Myristicaceae (Asfiah, 2020). Salah satu bahan alami yang berfungsi sebagai bumbu, flavor, dan sekaligus sebagai pengawet dalam pangan adalah pala. Daun pala merupakan salah satu bagian tanaman pala yang belum banyak dimanfaatkan. Kandungan yang terdapat pada daun pala di antaranya: saponin, triterpenoid, tanin dan flavonoid yang bermanfaat bagi kesehatan. Daun pala dapat dimanfaatkan menjadi ekstrak sebagai pengawet alami (Widyawati et al., 2020).



Gambar 6. Daun pala (*M. fragrans* Houtt.)

2.3.1 Morfologi Daun Pala

Daun pala (Gambar 6) memiliki warna hijau muda dan hijau tua mengkilat. Karakter bentuk daun pala didasarkan pada perbandingan antara ukuran panjang dan lebar daun. Namun, rata-rata daun pala memiliki panjang 5-15 cm dengan lebar 2-7 cm (Legoh et al., 2020). Daun berbentuk lonjong hingga elips dengan ujung meruncing dan pangkal membulat. Tepi daun rata dan tidak bergerigi. Permukaan atas daun licin dan mengilap, sedangkan permukaan bawahnya berwarna lebih pucat. Selain itu, daun pala bertangkai pendek dan memiliki tekstur yang agak tebal.

2.3.2 Fisikokimia Daun Pala

Daun pala (*M. fragrans* Houtt.) memiliki karakteristik fisikokimia yang ditentukan oleh minyak atsiri dan metabolit sekundernya. Minyak atsiri yang merupakan elemen utama bertanggung jawab untuk memberikan aroma dan profil rasa unik pala. Minyak atsiri daun pala bersifat volatile dan mudah menguap, serta bersifat lipofilik sehingga lebih mudah larut dalam pelarut organik (Gupta & Rajpurohit, 2013). Komposisi minyak esensial ini menunjukkan variasi yang bergantung pada bagian tertentu dari tanaman yang diperiksa. Teknik analitik seperti kromatografi gas spektrometri massa (GC-MS) telah mengungkapkan bahwa minyak esensial yang berasal dari daun pala sebagian besar terdiri dari senyawa monoterpena dan

fenilpropanoid. Konstituen penting termasuk sabinene, α -pinene, β -pinene, dan 4-terpineol. Selain itu, senyawa fenilpropanoid, termasuk myristicin, safrole, dan eugenol, juga hadir dalam jumlah yang cukup besar (Piaru et al., 2012).

2.3.3 Bioaktivitas Daun Pala

Daun pala (*M. fragrans* Houtt.) memiliki berbagai bioaktivitas yang berkaitan erat dengan kandungan metabolit sekundernya, terutama dari golongan terpenoid, fenolik, flavonoid, saponin, dan alkaloid. Senyawa terpenoid seperti α -pinene, sabinene, dan komponen minyak atsiri lainnya diketahui memiliki aktivitas antimikroba yang kuat dengan mekanisme kerja utama berupa sifat lipofiliknya yang memungkinkan senyawa tersebut menembus membrane sel mikroba, mengganggu integritas struktur membran, serta menyebabkan kebocoran komponen intraseluler yang berujung pada kematian sel (Dorman & Deans, 2004). Selain itu, daun pala juga mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan tinggi melalui mekanisme donasi atom hydrogen untuk menetralkan radikal bebas serta kemampuan mengkelat ion logam transisi seperti Fe^{2+} dan Cu^{2+} yang berperan dalam pembentukan radikal bebas (Dinakar kumar et al., 2022). Flavonoid juga berperan sebagai agen antimikroba dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sitoplasma, dan menekan metabolisme energi sel mikroba. Sementara itu, saponin bekerja dengan berinteraksi dengan sterol membran (misalnya ergosterol pada jamur) sehingga membentuk pori-pori yang merusak integritas membran dan menyebabkan kebocoran isi sel (Francis et al., 2002). Alkaloid dalam daun pala juga menunjukkan aktivitas antimikroba melalui mekanisme interkalasi ke dalam DNA, sehingga mengganggu proses replikasi dan transkripsi sel mikroorganisme (Cowan, 1999).

2.4 Nanopartikel

Nanopartikel adalah teknologi yang memiliki ukuran 10-1000 nm sehingga menunjukkan sifat fisik dan kimia yang berbeda dibandingkan material dalam skala makro (Windy et al., 2022). Ukuran yang sangat kecil ini menyebabkan peningkatan luas permukaan terhadap volume, sehingga reaktivitas, kelarutan, dan kemampuan interaksi dengan system biologis menjadi lebih tinggi. Nanoteknologi

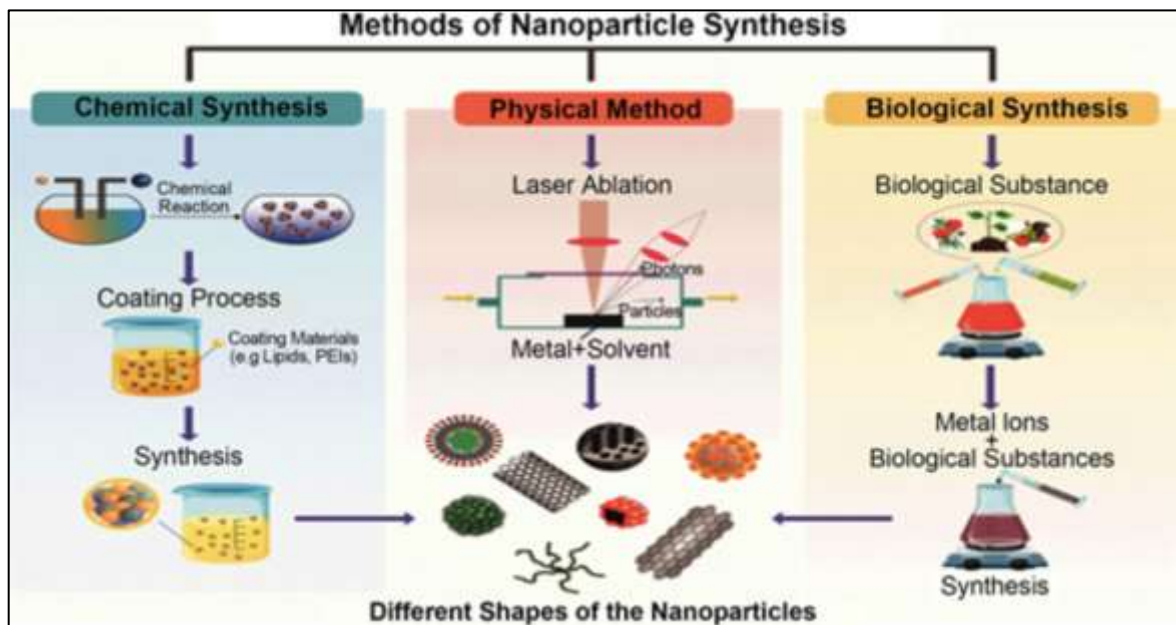
berperan penting dalam kemajuan inovasi industri pangan dimana zat gizi mikro atau senyawa bioaktif yang tidak dapat diaplikasikan dalam bentuk murni karena sifat fisik, kimia dan biologinya dapat diupayakan teraplikasi (Ningrum et al., 2023).

2.4.1 Nanoperak

Nanopartikel perak (AgNPs) adalah salah satu nanomaterial yang paling banyak dipelajari karena stabilitasnya yang tinggi dan reaktivitas kimia yang rendah dibandingkan dengan logam lain (Willian et al., 2023). Nanopartikel perak memiliki sifat yang unik sehingga dapat diaplikasikan pada bidang nanomedicine, energy, biomaterials, dan makanan. Selain itu, nanopartikel perak merupakan agen antibakteri anorganik non-toksik karena memiliki sifat bahan yang biocidal. Banyak pemanfaatan dari koloid nanopartikel perak sebagai pengawet pada kayu, pemurnian limbah cair di rumah sakit, penetral balutan luka atau luka bakar dan lain-lain (Zulaicha et al., 2021). Nanopartikel perak memiliki sifat toksik pada jamur dan bakteri sehingga dapat diaplikasikan sebagai antifungal dan antibakteri. Keberhasilan dalam sintesis nanopartikel perak dipengaruhi oleh metode-metode yang digunakan. Salah satu metode yang digunakan adalah metode biologi atau green synthesis (ramah lingkungan) yang dapat dilihat pada Gambar 7. Sintesis nanopartikel perak menggunakan metode yang ramah lingkungan menjadi semakin populer pada bidang kimia dan teknologi material. Keunggulan metode green synthesis adalah ramah lingkungan, biaya murah, dan membutuhkan energi yang tidak terlalu tinggi (Willian et al., 2023). Namun, terdapat metode sintesis nanopartikel perak lainnya, yaitu metode fisika dan kimia (Gambar 7).

Sintesis melalui metode fisika biasanya dilakukan tanpa bahan kimia tambahan, tetapi melalui proses mekanik atau energi tinggi seperti *evaporation-condensation* dan *laser ablation*. Metode ini bisa menghasilkan nanopartikel dengan kemurnian tinggi tanpa kontaminan kimia, namun diperlukan energi yang besar serta peralatan yang canggih (Iravani, 2011). Sementara itu, metode kimia merupakan metode yang umum digunakan dalam sintesis nanopartikel perak karena relatif sederhana dan efisien. Pada metode ini, ion perak (Ag^+) direduksi menjadi atom perak (Ag^0)

menggunakan agen pereduksi seperti natrium borohidriat (NaBH_4), natrium sitrat, atau asam askorbat. Proses ini biasanya disertai dengan penambahan agen penstabil untuk mencegah agregasi nanopartikel yang terbentuk (Alarjani et al., 2022).

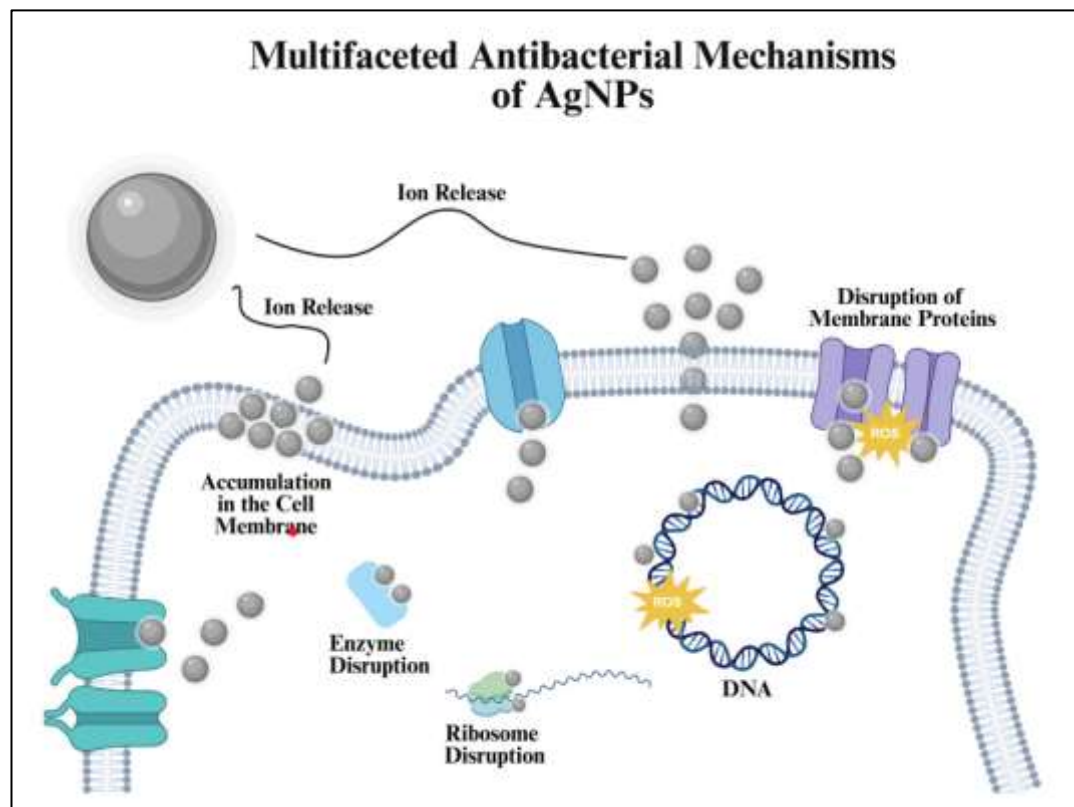


Gambar 7. Metode sintesis nanopartikel (Falola et al., 2022)

Nanopartikel perak (AgNPs) menunjukkan aktivitas antimikroba melalui kombinasi mekanisme yang melibatkan interaksi langsung dengan membran sel, pelepasan ion perak (Ag^+), serta gangguan terhadap komponen intraseluler. Berdasarkan Gambar 8, AgNPs pertama kali berinteraksi dan terakumulasi pada permukaan sel mikroorganisme akibat adanya perbedaan muatan, yang menyebabkan peningkatan permeabilitas dan kerusakan struktur membran. Selanjutnya AgNPs maupun ion Ag^+ yang dilepaskan dari permukaan nanopartikel dapat menembus ke dalam sel melalui jalur difusi.

Di dalam sel, ion Ag^+ berinteraksi dengan protein membran, enzim sitosolik serta komponen genetik seperti DNA, sehingga menghambat fungsi enzimatik, sintesis protein, dan replikasi DNA. selain itu, AgNPs juga memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif, inhibisi fungsi enzim,

kerusakan materi genetik, serta stres oksidatif ini mengakibatkan terganggunya homeostasis sel dan akhirnya menyebabkan kematian sel mikroorganisme (Karatas et al., 2026).



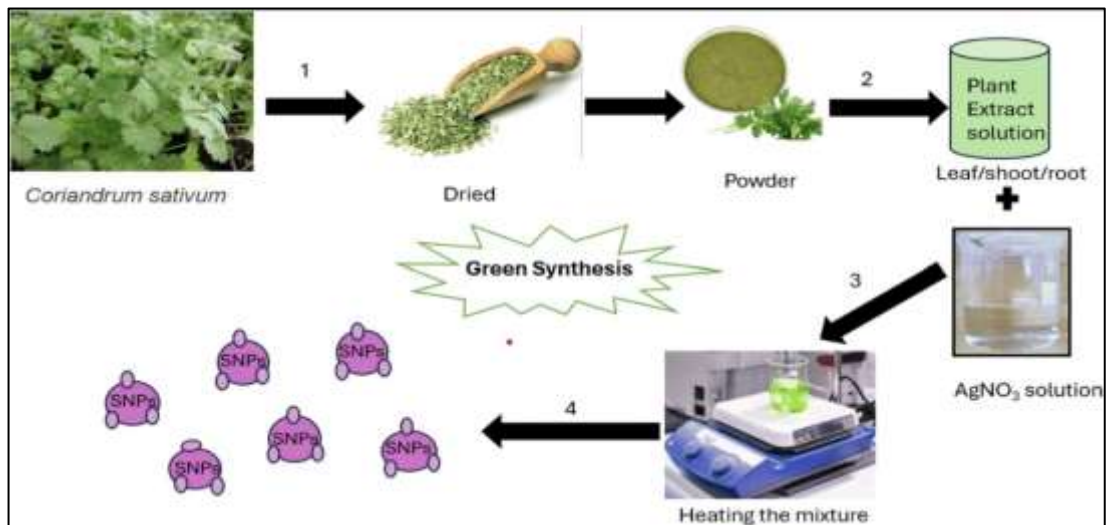
Gambar 8. Mekanisme kerja nanopartikel (Karatas et al., 2026)

2.4.2 Sintesis Hijau

Potensi nanopartikel perak (AgNPs) yang luas dalam berbagai bidang menimbulkan tantangan pada proses produksinya, terutama karena sintesis kimia dan fisika menghasilkan produk samping yang dapat memicu aktivitas oksidatif dan pencemaran lingkungan. Aktivitas oksidatif tersebut berpotensi menimbulkan efek sitotoksik, genotoksik, respons imunologis, dan apoptosis yang berkaitan dengan risiko penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular, katarak, dan gangguan fungsi otak. Selain itu, penggunaan AgNPs hasil sintesis kimia meningkatkan paparan lingkungan yang bersifat toksik bagi mamalia, invertebrata, dan mikroorganisme, serta dapat mengubah komposisi komunitas mikroba tanah

dan perairan (Tortella et al., 2020).

Perkembangan metode sintesis nanopartikel yang lebih aman mengarah pada produksi nanopartikel dengan memanfaatkan senyawa bioaktif sebagai pereduksi, diantaranya dengan enzim bakteri, enzim jamur, dan ekstrak tanaman (Behravan et al., 2019). Metode itu disebut sintesis hijau yaitu sintesis ramah lingkungan yang memanfaatkan metabolit sekunder tanaman (Qurrataayun et al., 2022). Ekstrak tanaman lebih menguntungkan karena aksesibilitas yang lebih mudah, baik dari segi proses memperoleh senyawa bioaktifnya maupun pada saat proses sintesis, dan dalam banyak kasus penggunaan senyawa bioaktif tanaman relative tidak beracun sehingga dapat membantu mengurangi resiko terpapar ion perak (Behravan et al., 2019). Prinsip dasar dalam sintesis hijau nanopartikel perak (AgNPs) adalah pemanfaatan biomolekul yang terdapat dalam ekstrak dari organisme hidup, baik tumbuhan maupun mikroorganisme yang berfungsi sebagai agen untuk bioreduksi dan penstabil secara bersamaan (Mittal et al., 2013). Proses ini melibatkan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, terpenoid, dan alkaloid yang kaya akan kelompok fungsional seperti hidroksil (-OH) atau karbonil (C=O). Kelompok ini berperan dalam mendonorkan elektron guna mereduksi ion perak (Ag^+) dari larutan prekursor, contohnya, perak nitrat menjadi atom perak netral (Ag^0). Atom atom yang dihasilkan kemudian mengalami agregasi membentuk inti nanopartikel, yang kemudian distabilkan oleh biomolekul yang sama untuk mencegah terjadinya aglomerasi dan mengatur ukuran partikel tersebut (Shah et al., 2023). Contoh ilustrasi mekanisme pembentukan nanopartikel perak melalui metode sintesis hijau menggunakan daun *Coriandrum sativum* disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Mekanisme sintesis hijau nanopartikel menggunakan daun *coriandrum sativum* (Shahzadi et al., 2025)

Gambar 9 menunjukkan mekanisme sintesis hijau nanopartikel perak yang diawali dari preparasi bahan tanaman, yaitu daun yang dikeringkan dan dihaluskan menjadi bubuk, kemudian diekstraksi untuk memperoleh larutan ekstrak. Ekstrak tanaman selanjutnya dicampurkan dengan larutan AgNO_3 dan dipanaskan, sehingga senyawa bioaktif dalam ekstrak berperan dalam mereduksi ion perak (Ag^+) menjadi nanopartikel perak (Ag^0) serta menstabilkannya hingga terbentuk nanopartikel (Shahzadi et al., 2025).

2.4.3 NL-AgNPs

Nanopartikel perak (AgNPs) yang disintesis menggunakan metode hijau (*green synthesis*) merupakan pendekatan ramah lingkungan yang memanfaatkan ekstrak tumbuhan sebagai agen pereduksi dan penstabil. Dalam metode sintesis hijau, senyawa sekunder dari tumbuhan seperti flavonoid, fenolik, terpenoid, dan alkaloid berfungsi untuk mengubah ion perak positif menjadi perak netral serta mempertahankan bentuk partikel yang terbentuk. Secara khusus, ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) memiliki kandungan senyawa aktif alami seperti senyawa fenolik, flavonoid, terpenoid dan alkaloid. Oleh karena itu, ekstrak daun pala sangat cocok digunakan sebagai bahan baku sintesis hijau dalam pembuatan nanopartikel perak (NL-AgNPs) (Gupta & Rajpurohit, 2013).

Metode ini lebih aman dibandingkan metode sintesis kimia karena tidak menghasilkan limbah beracun dan lebih cocok digunakan dalam bidang pangan serta biomedis, seperti yang ditulis oleh (Irvani, 2011b). Proses biosintesis AgNPs biasanya ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi coklat kekuningan akibat fenomena *surface plasmon resonance*, yang mengindikasikan terbentuknya nanopartikel perak dan selanjutnya dikarakterisasi menggunakan UV-Vis, FTIR dan SEM (Oktavia & Sutoyo, 2021; Zulaicha et al., 2021).

2.4.3.1 Karakterisasi NL-AgNPs

Karakterisasi pada NL-AgNPs dilakukan untuk mengetahui keberhasilan proses sintesis nanopartikel serta menentukan sifat fisikokimia yang meliputi ukuran partikel, bentuk, distribusi ukuran, stabilitas, serta karakteristik optik nanopartikel yang dihasilkan. Berdasarkan penelitian Komar (2026) karakterisasi NL-AgNPs dilakukan menggunakan spektroskopi UV-Vis dan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

Spektroskopi UV-Vis menginformasikan keberhasilan sintesis nanopartikel perak melalui pengamatan puncak serapan khas yang dihasilkan oleh fenomena *surface plasmon resonance* (SPR). Berdasarkan hasil analisis UV-Vis, puncak serapan maksimum (λ_{max}) untuk larutan $AgNO_3$, ekstrak daun pala, dan NL-AgNPs masing-masing terdeteksi pada panjang gelombang sekitar 340 nm, 660 nm, dan 420 nm. Munculnya puncak serapan pada kisaran 420 nm pada NL-AgNPs menunjukkan adanya fenomena *surface plasmon resonance* (SPR) yang merupakan karakteristik khas dari nanopartikel perak. Hasil ini menunjukkan bahwa ion perak (Ag^+) telah berhasil direduksi menjadi nanopartikel perak (Ag^0). Selain itu, posisi puncak yang berada dalam rentang 400-480 nm juga sesuai dengan karakteristik umum AgNPs, sehingga memperkuat keberhasilan proses sintesis nanopartikel.

Analisis FTIR mengidentifikasi gugus fungsi yang berperan dalam proses reduksi dan stabilisasi nanopartikel yang berperan dalam proses reduksi dan stabilisasi nanopartikel. Spektrum FTIR menunjukkan adanya pita serapan pada daerah sekitar $3300-3400\text{ cm}^{-1}$ yang mengindikasikan keberadaan gugus hidroksi (-

OH), serta pita pada sekitar 1600 cm^{-1} yang berkaitan dengan gugus karbonil (C=O) atau ikatan rangkap C=C aromatic. Selain itu, terdapat pita serapan pada daerah $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan keberadaan gugus C-O. Perubahan intensitas dan pergeseran pita serapan antara ekstrak daun pala dan NL-AgNPs mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif seperti flavonoid berperan sebagai agen pereduksi dan penstabil dalam sintesis nanopartikel. Maka berdasarkan penelitian tersebut, hasil analisis FTIR mendukung bahwa proses sintesis hijau nanopartikel perak berhasil terjadi melalui interaksi antara ion perak dan senyawa aktif dalam ekstrak daun pala.

2.4.3.2 Toksisitas NL-AgNPs

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) merupakan salah satu metode bioassay sederhana yang banyak digunakan sebagai uji pendahuluan untuk mengevaluasi potensi toksisitas suatu senyawa bioaktif. Metode ini memanfaatkan larva udang air asin *Athemia salina* sebagai organisme uji karena mudah diperoleh, sensitif terhadap berbagai senyawa kimia, serta memiliki prosedur pengujian yang relatif cepat dan ekonomis. Tingkat toksisitas suatu sampel dalam metode ini ditentukan berdasarkan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*), yaitu konsentrasi senyawa yang mampu menyebabkan kematian 50% larva uji dalam periode inkubasi tertentu (Meyer et al., 1982).

Toksisitas nanopartikel perak yang disintesis menggunakan ekstrak daun pala (NL-AgNPs) dievaluasi menggunakan metode BLST, di mana pada pengujian ini, telur *Athemia salina* ditetaskan menggunakan air laut buatan dan diinkubasi selama 24 jam hingga menghasilkan larva. Larva yang telah menetas kemudian dipindahkan ke dalam tabung uji yang berisi air laut buatan dengan berbagai konsentrasi NL-AgNPs. Setelah proses inkubasi selama 24 jam, jumlah larva yang masih hidup pada masing-masing perlakuan dihitung untuk menentukan nilai LC_{50} (*Lethal Concentration 50%*), yaitu konsentrasi yang mampu menyebabkan kematian 50% organisme uji.

Hasil penelitian Komar (2025) menginformasikan bahwa nilai LC_{50} untuk NL-AgNPs adalah 8,8857 mg/mL, sedangkan senyawa pembanding kalium dikromat ($K_2Cr_2O_7$) memiliki nilai LC_{50} sebesar 0,0478 mg/mL. Berdasarkan indeks toksisitas menurut (Meyer et al., 1982), suatu ekstrak bersifat toksik apabila memiliki nilai LC_{50} kurang dari 1 mg/mL, sedangkan hasil dari penelitian memiliki nilai LC_{50} lebih dari 1 mg/mL yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut tidak toksik, sehingga aman untuk digunakan sebagai aplikasi yang lebih lanjut, khususnya seperti bidang pengawetan pangan



BAB III BAB III METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini menguraikan mengenai: (3.1) Bahan dan Alat, (3.2) Metode Penelitian, (3.3) Prosedur Penelitian, serta (3.4) Jadwal Penelitian.

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan – Bahan Penelitian

Bahan – bahan yang digunakan dalam proses penelitian ini meliputi bubuk daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dan jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*). Daun pala diambil dari Taman Pertanian Putra, Universiti Putra Malaysia, Serdang, Selangor, Malaysia. Daun yang dipakai yaitu daun pala tua berwarna hijau gelap. Jamur tiram didapatkan dari Centrum, Malaysia.

Jamur yang digunakan dalam penelitian ini merupakan jamur perusak makanan (*food spoilage*) yang di dapatkan dari *Laboratory of Microbiology Faculty of Science and Technology* Universiti Putra Malaysia. Jenis-jenis Jamur yang digunakan dalam penelitian ini terdapat pada Tabel 5:

Tabel 5. Strain jamur patogen

Strains	Source	Cultivation Media
<i>Aspergillus flavus</i>	ATCC 22546	Potato Dextrose Agar
<i>A. niger</i>	ATCC 9029	Potato Dextrose Agar
<i>Rhizopus oligosporus</i>	ATCC 22959	Potato Dextrose Agar
<i>R. oryzae</i>	ATCC 20344	Potato Dextrose Agar

Keterangan: ATCC: American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA)

Bahan kimia dan media mikrobiologi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi etanol 99,6%, air distilasi (*distilled water*), *Dimethyl sulfoxide* (DMSO) (Institute, *Chlorhexidine* (CHX) (Oxoid Ltd., United Kingdom). *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Oxoid LTD., United Kingdom), *Potato Dextrose Broth* (PDB) (Oxoid LTd., United Kingdom), larutan perak nitrat (AgNO_3), garam buffer fosfat (Hampshire, England) dan pembanding (Standar McFarland 0,5).

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan meliputi: pisau, oven, Electric Oven Dryer YXD2A BDO-10 (Shanghai Yiheng Scientific Instruments Co., Ltd., China), blender (Panasonic MK-5087M, Panasonic Corporation, Osaka, Jepang), penggaris, hand sealer machine, plastik, botol steril, universal bottle, refrigerator, neraca digital (Mettler Toledo, Ohio, USA), A&D MX-50 moisture analyser (A&D Co. Ltd., Tokyo, Japan), CR400 Chroma meter (Konica Minolta, Inc., Tokyo, Japan), 3510 Jenway pH meter (Cole-Parmer Instrument Co., Staffordshire, United Kingdom), Aqualab Water Activity Analyzer (Decagon Devices, Inc., Pullman, Washington, USA), tarred dish, kertas saring Whatman No. 2 steril (Whatman International Ltd., Middlesex, Inggris), erlenmeyer, corong, labu Buchner, labu didih, pompa aspirator (Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Jepang), Rotary Vacuum Evaporator Heidolph Laborota 4000 (Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Jerman), C24 incubator shaker (Edison, NJ, USA), inkubator, autoclave, cawan Petri, cotton bud, mikropipet (10 μ L, 100 μ L, 1000 μ L), pipette tips (10 μ L, 100 μ L, 1000 μ L), glass Pasteur pipette 6 mm, magnetic stirrer, 96 well plate, pinset, Eppendorf tube, media plate, vortex, dan aluminium foil.

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian terdiri dari tiga tahap penelitian, yaitu **Tahap I**: Analisis fisikokimia dan pembuatan ekstrak daun pala. **Tahap II**: Pembuatan Sintesis NL-AgNPs dan penentuan aktivitas antifungal serta **Tahap III**: aplikasi ekstrak dan NL-AgNPs terhadap jamur tiram (*P. ostreatus*).

3.2.1 Rancangan Percobaan

Tahap I. Terdiri dari analisis fitokimia bubuk daun pala meliputi kadar air dengan menggunakan alat *Moisture Analyzer* MA3M untuk mengetahui kandungan air dalam bubuk daun pala, analisis warna menggunakan alat *Chroma meter* CR-400 untuk mengidentifikasi karakteristik visual bubuk daun pala, analisis pH menggunakan alat *Bench Top pH Meter* BP3001 untuk mengetahui tingkat keasaman atau kebasahan bubuk daun pala, dan analisis aktivitas air menggunakan alat *Aqualab Pre* untuk mengetahui ketersediaan air bebas dalam bubuk daun pala.

Pembuatan ekstrak daun pala dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol yang bertujuan untuk memperoleh ekstrak daun pala yang mengandung senyawa bioaktif yang dapat digunakan dalam proses sintesis nanopartikel perak.

Tahap II. Sintesis NL-AgNPs, menentukan aktivitas antifungal yang terdapat pada 3 prosedur, yaitu Well Diffusion Assay (WDA) untuk menentukan aktivitas antifungal pada ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt) dengan menghitung zona bersih 3×3, *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) di mana nilai MIC ditentukan oleh konsentrasi terendah dalam menghambat fungi, dan *Minimum Fungicidal Concentration* (MFC) yang ditentukan oleh konsentrasi terendah dalam membunuh fungi.

Tahap III. Aplikasi ekstrak dan NL-AgNPs (*M. fragrans* Houtt.) terhadap jamur tiram (*P. ostreatus*). Prosedur ini dilakukan dengan cara merendam Jamur tiram ke dalam ekstrak daun pala dan NL-AgNPs sebagai zat antifungal. Selanjutnya, dilakukan analisis menggunakan metode *Total Fungi Count* (TFC) dengan *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk mengetahui berapa banyak jamur yang tumbuh secara alami pada jamur tiram (*P. ostreatus*).

3.2.2 Respon Pengujian

Tahap I. Analisis fisikokimia bubuk daun pala yang meliputi kadar air, warna, pH dan aktivitas air. Serta pembuatan ekstrak dari bubuk daun pala (*M. fragrans* Houtt).

Tahap II. Sintesis NL-AgNPs, WDA dengan menghitung zona bersih yang muncul akibat aktivitas senyawa antifungal. MIC berdasarkan pertumbuhan minimal jamur yang tumbuh. MFC berdasarkan tidak adanya pertumbuhan jamur yang tumbuh.

Tahap III. Aplikasi ekstrak daun pala dan NL-AgNPs terhadap jamur tiram terhadap berbagai konsentrasi dan suhu yang berbeda menggunakan metode perhitungan \log_{10} CFU/g dari pengolahan data hasil perhitungan jumlah fungi yang terdapat pada PDA

3.2.3 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan pendekatan kuantitatif, meliputi statistik deskriptif, analisis varians (ANOVA), dan uji lanjut menggunakan metode Tukey untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan antar perlakuan. Seluruh pengolahan data dilakukan menggunakan perangkat lunak Minitab dan Microsoft Excel. Statistik deskriptif digunakan untuk menggambarkan karakteristik data melalui parameter numerik seperti nilai rata-rata (mean) dan standar deviasi (SD). Analisis ini bertujuan memberikan gambaran awal mengenai distribusi dan kecenderungan data sebelum dilakukan pengujian hipotesis secara inferensial.

Untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diamati, digunakan analisis varians dua arah (Two-Way ANOVA). Analisis ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh faktor konsentrasi dan suhu penyimpanan, serta interaksi antara kedua faktor tersebut terhadap jumlah fungi pada jamur tiram. Apabila hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji Tukey pada tingkat signifikansi 5% untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan secara spesifik. Seluruh hasil pengujian disajikan dalam bentuk nilai rata-rata \pm standar deviasi dari pengulangan percobaan yang dilakukan.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Analisis Fisikokimia Daun Pala

Prosedur analisis fisikokimia daun pala adalah sebagai berikut:

1. Analisis warna (*Color Analysis*)

Analisis warna bubuk daun pala dilakukan menggunakan chroma meter tipe CR-400. Sampel ditempatkan pada piring sampel hingga permukaannya merata, kemudian dilakukan pengukuran sebanyak tiga kali. Parameter yang diamati meliputi nilai L^* (kecerahan), a^* (hijau–merah), dan b^* (biru–kuning).

2. Analisis kadar air (*Moisture Content*)

Analisis kadar air dilakukan menggunakan moisture analyzer tipe Sartorius MA35M. Sebanyak 1 gram bubuk daun pala ditempatkan pada piring sampel yang telah ditera, kemudian dilakukan pengukuran sebanyak 3 kali hingga diperoleh nilai kadar air.

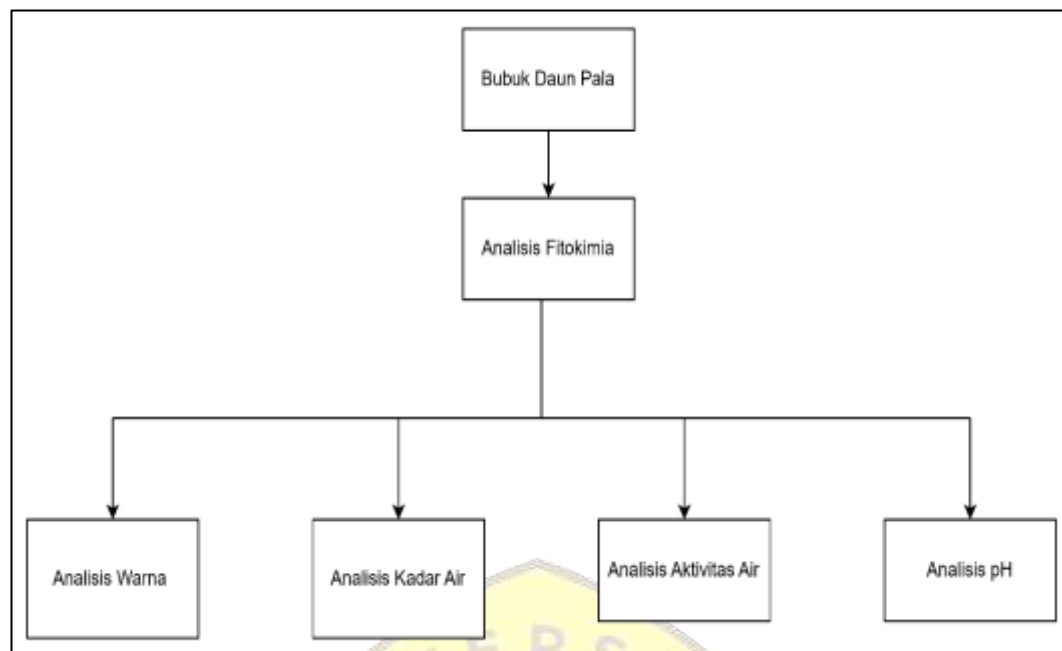
3. Analisis aktivitas air (a_w)

Analisis aktivitas air bubuk daun pala dilakukan menggunakan water activity meter tipe AquaLab Pre. Sampel bubuk daun pala dimasukkan ke dalam cup sampel hingga mencapai batas volume yang ditentukan. Cup yang berisi sampel kemudian dimasukkan ke dalam alat water activity meter untuk dilakukan pengukuran hingga diperoleh nilai aktivitas air. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali ulangan, kemudian nilai yang diperoleh dihitung rata-ratanya.

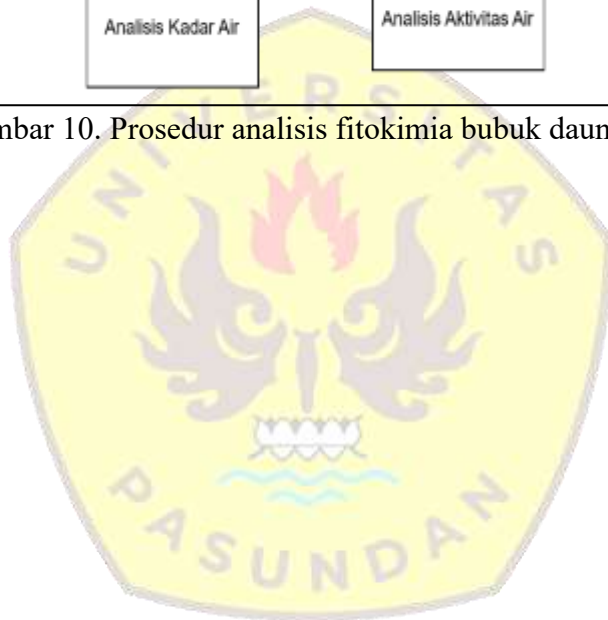
4. Analisis pH

Pengukuran pH bubuk daun pala dilakukan menggunakan bench top pH meter tipe BP3001. Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi menggunakan aquades untuk memastikan keakuratan hasil pengukuran. Sebanyak 1 gram bubuk daun pala dilarutkan dalam 10 mL air distilasi, kemudian dihomogenkan hingga tercampur merata. Elektroda pH meter dicelupkan ke dalam larutan sampel hingga diperoleh nilai pH. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan, kemudian hasil yang diperoleh dihitung nilai rata-ratanya.

Secara skematik, prosedur dijelaskan pada Gambar 10:



Gambar 10. Prosedur analisis fitokimia bubuk daun pala



3.3.2 Ekstraksi Daun Pala

Prosedur pembuatan ekstrak daun pala adalah sebagai berikut:

1. Persiapan sampel

Bubuk daun pala yang telah dipreparasi digunakan sebagai bahan baku dalam proses ekstraksi.

2. Penimbangan

Sebanyak 100 gram bubuk daun pala ditimbang menggunakan timbangan elektronik untuk memperoleh jumlah bahan yang sesuai.

3. Ekstraksi daun pala

Proses ekstraksi dilakukan dengan mencampurkan bubuk daun pala dan etanol 99,5% (absolut) dengan perbandingan 1:3 (b/v) ke dalam erlenmeyer yang ditutup menggunakan aluminium foil. Campuran kemudian diekstraksi menggunakan *waterbath shaker* pada suhu 30°C dengan kecepatan 75 rpm selama 24 jam untuk mengekstraksi senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun pala menggunakan pelarut etanol.

4. Penyaringan

Ekstrak daun pala yang diperoleh kemudian disaring menggunakan metode filtrasi vakum dengan kertas saring Whatman No. 2 dan pompa aspirator. Proses penyaringan bertujuan untuk memisahkan filtrat dari ampas. Ampas yang diperoleh kemudian dapat diekstraksi kembali untuk memperoleh ekstrak daun pala secara maksimal.

5. Pemekatan ekstrak

Filtrat hasil penyaringan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C dengan kecepatan putaran 80 rpm selama 28 menit hingga diperoleh ekstrak kental daun pala untuk menguapkan pelarut sehingga diperoleh ekstrak dalam bentuk kental dengan konsentrasi senyawa bioaktif yang lebih tinggi.

6. Penyimpanan dan Menghitung rendemen

Ekstrak daun pala dipindahkan ke dalam botol universal, kemudian ditimbang untuk menentukan berat akhir dan menghitung rendemen ekstrak

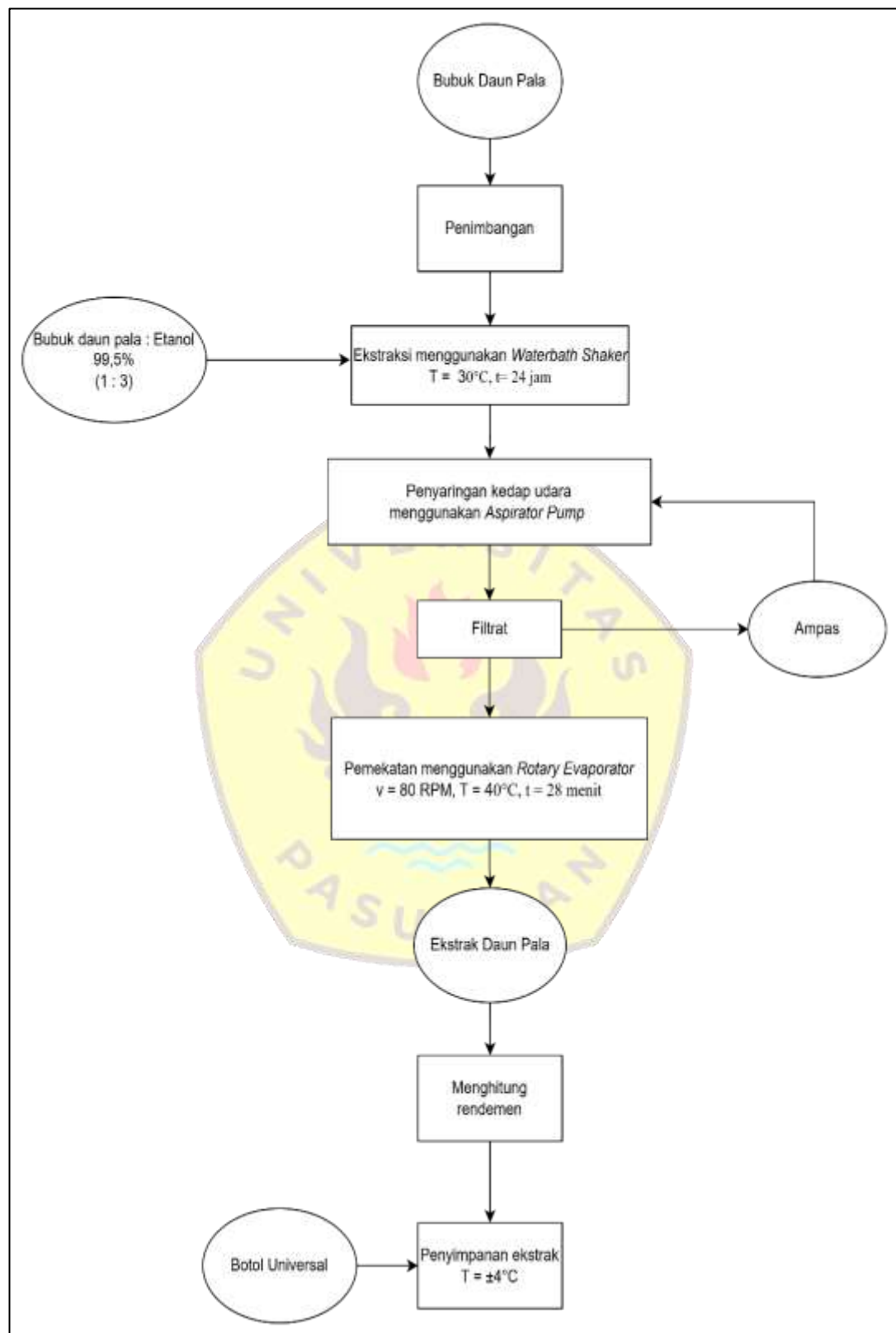
daun pala (Rumus 1). Ekstrak disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ untuk menjaga kestabilan dan kualitas ekstrak selama penyimpanan.

Secara skematik rumus rendemen disajikan pada Rumus 1, sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)}: \frac{\text{Berat ekstrak daun pala (g)}}{\text{Berat basis (g)}} \times 100$$

Secara skematik, prosedur ekstraksi daun pala dijelaskan pada Gambar 11 sebagai berikut:





Gambar 11. Prosedur pembuatan ekstrak daun pala

3.3.3 Sintesis Hijau Nanopartikel Perak Daun Pala

Prosedur sintesis hijau nanopartikel perak daun pala adalah sebagai berikut:

1. Persiapan bahan sintesis

Tahap persiapan bahan sintesis dilakukan dengan menyiapkan ekstrak daun pala *Dimethyl sulfoxidine* (DMSO) 10% dan larutan perak nitrat (AgNO_3) 1 mM.

2. Penimbangan

Ekstrak daun pala ditimbang sebanyak 1g, kemudian dilarutkan ke dalam 10 mL DMSO 10% lalu dicampurkan hingga diperoleh larutan ekstrak daun pala dengan konsentrasi 10%

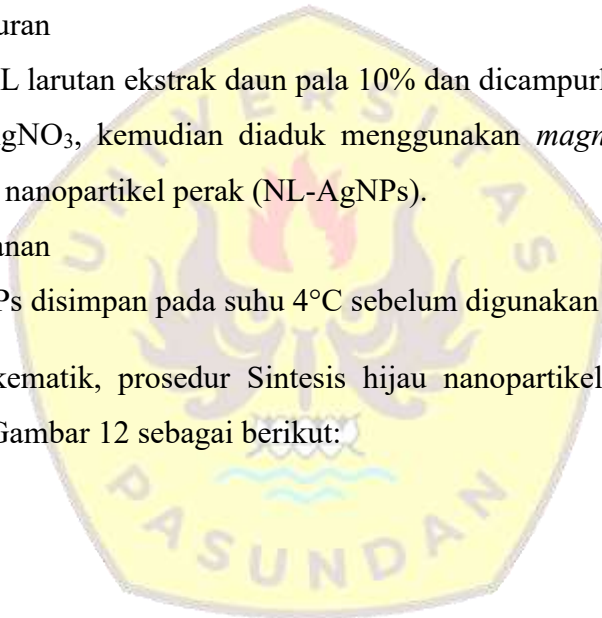
3. Pencampuran

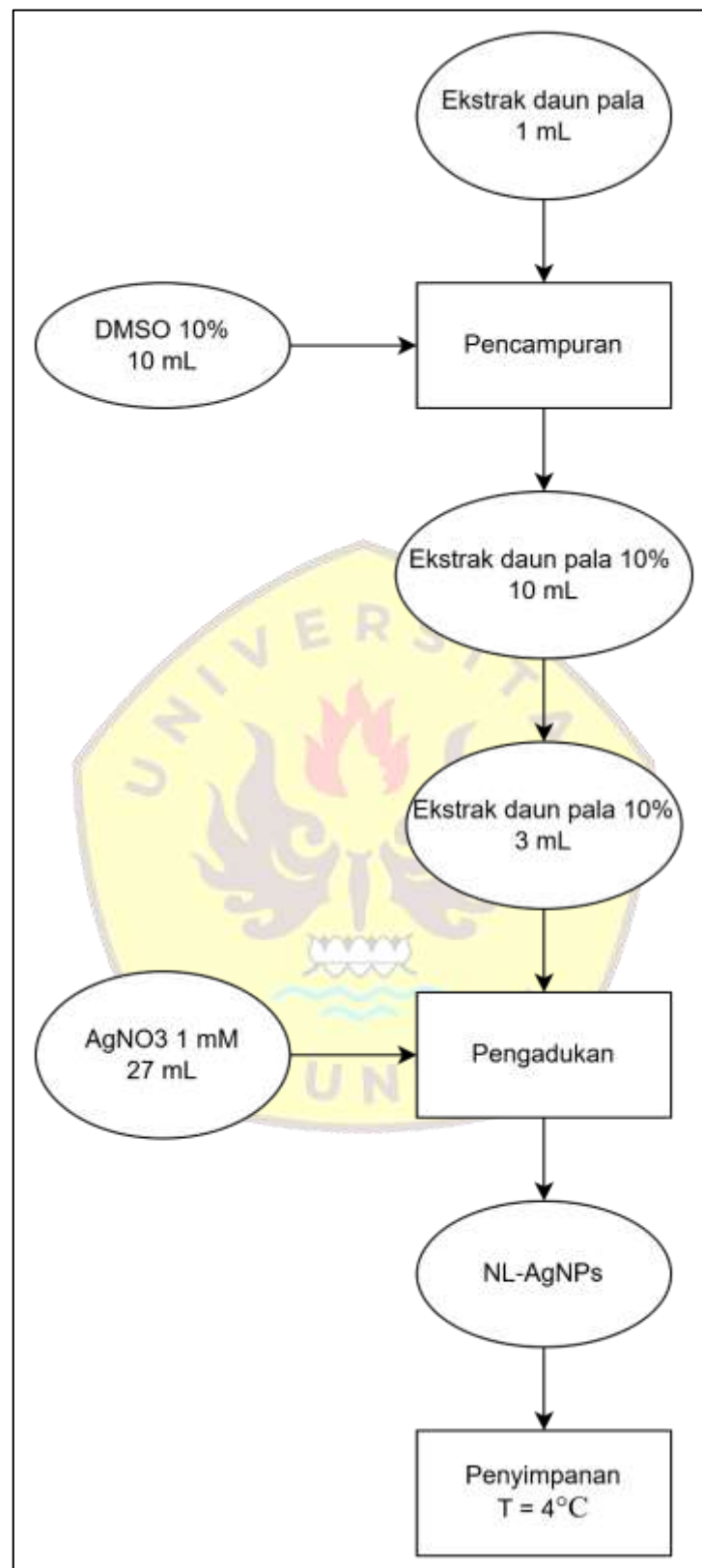
Pipet 3 mL larutan ekstrak daun pala 10% dan dicampurkan dengan 27 mL larutan AgNO_3 , kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga terbentuk nanopartikel perak (NL-AgNPs).

4. Penyimpanan

NL-AgNPs disimpan pada suhu 4°C sebelum digunakan untuk pengujian.

Secara skematik, prosedur Sintesis hijau nanopartikel perak daun pala dijelaskan pada Gambar 12 sebagai berikut:





Gambar 12. Prosedur pembuatan sintesis hijau nanopartikel perak daun pala

3.3.4 Prosedur Well Diffusion Assay (WDA)

Prosedur metode WDA adalah sebagai berikut:

1. Persiapan inoculum (spora)

Suspensi spora (inokulum) kapang diperoleh dari kultur yang telah diremajakan pada media PDA selama 4-7 hari pada suhu 30°C. Kemudian jamur yang sudah tumbuh dipanen dengan cara dirajang, selanjutnya dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer steril yang berisi larutan PBS 100 mililiter pada pH 7. Suspensi dikocok selama 1 jam menggunakan shaker pada kecepatan 200 rpm. Suspensi yang dihasilkan kemudian disaring menggunakan kapas steril, lalu filtrat yang diperoleh dipindahkan ke dalam botol erlenmeyer steril yang baru. Setelah itu suspensi spora diencerkan dengan menggunakan PBS sampai mendapatkan 10^4 spora/mL menggunakan spektrofotometer. Kapang yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *A. flavus*, *A. niger*, *R. oryzae* dan *R. oligosporus*. Tahap ini untuk memperoleh suspensi kapang dengan konsentrasi yang seragam sehingga hasil pengujian lebih akurat dan dapat dibandingkan.

2. Persiapan media dan larutan uji

Media yang digunakan adalah Potato Dextrose Agar (PDA). Larutan uji yang digunakan meliputi amphotericin B 0,1% sebagai kontrol positif, DMSO 10% sebagai kontrol negatif, nanopartikel perak daun pala (NL-AgNPs) 1%, dan ekstrak daun pala 10%.

3. Inokulasi kapang

Suspensi kapang diinokulasikan pada permukaan media PDA dengan cara diratakan menggunakan cotton bud steril hingga menutupi seluruh permukaan media untuk memastikan pertumbuhan kapang yang merata pada media.

4. Pembuatan sumuran

Sumuran dibuat pada media PDA yang telah diinokulasi menggunakan glass Pasteur pipette berdiameter 6 mm untuk menyediakan ruang bagi larutan uji agar dapat berdifusi ke dalam media dan berinteraksi dengan kapang.

Selanjutnya, masing-masing larutan uji dimasukkan ke dalam sumuran yang telah dibuat.

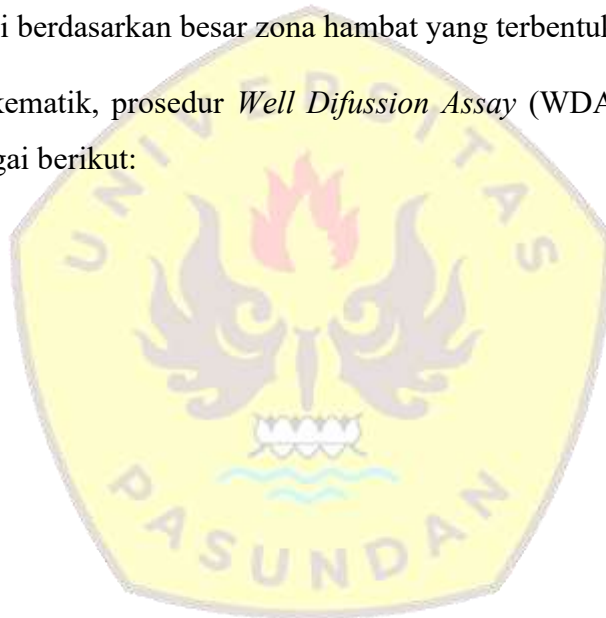
5. Inkubasi

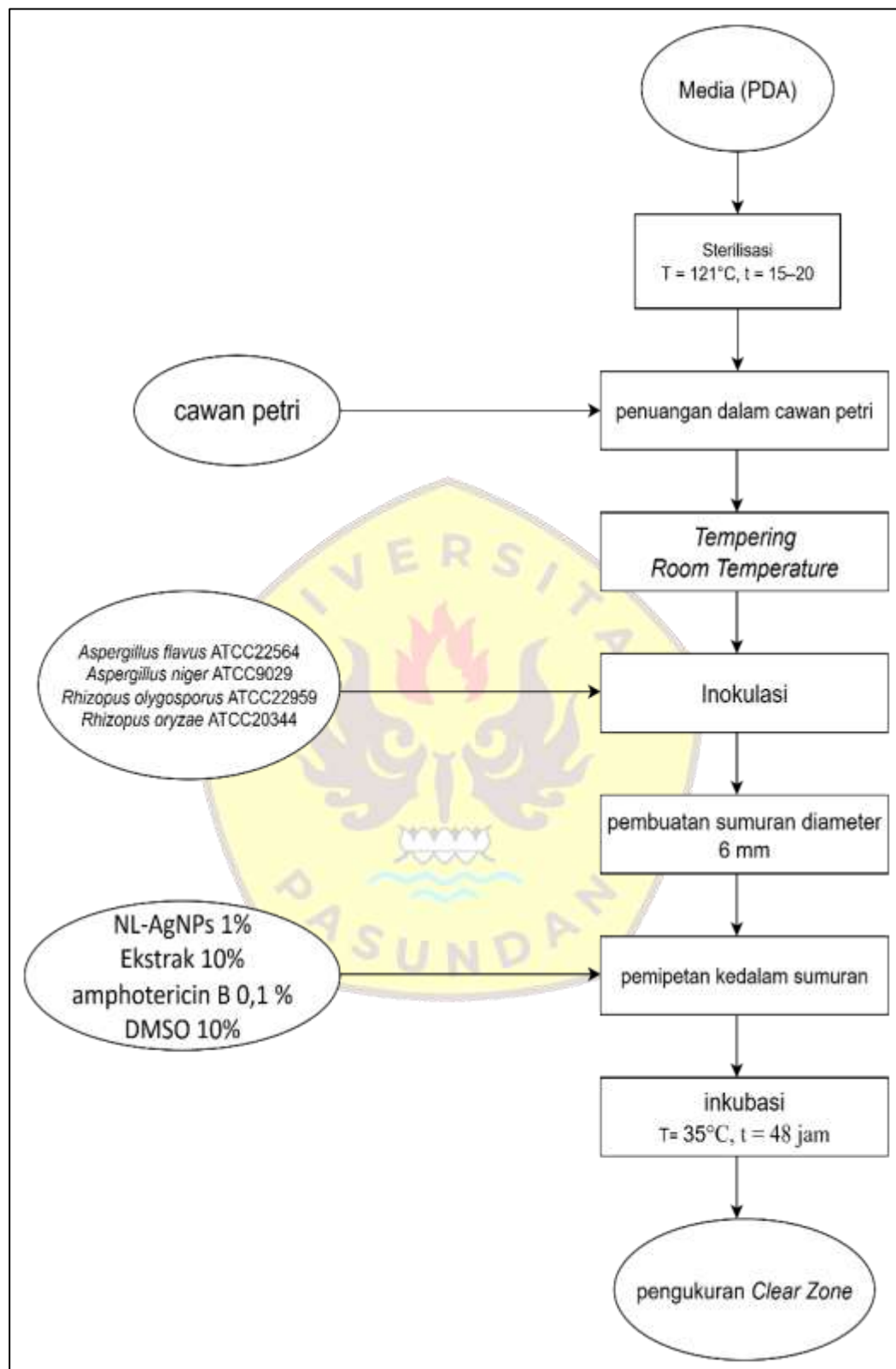
Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 48 jam untuk memberikan kondisi yang optimal bagi pertumbuhan kapang.

6. Pengukuran zona hambat

Aktivitas antifungal ditentukan berdasarkan terbentuknya zona bening (clear zone) di sekitar sumuran. Diameter zona hambat diukur menggunakan alat ukur panjang, kemudian dicatat sebagai hasil pengujian. Tahap ini untuk mengevaluasi kemampuan antifungal dari masing-masing larutan uji berdasarkan besar zona hambat yang terbentuk.

Secara skematik, prosedur *Well Difussion Assay* (WDA) dijelaskan pada Gambar 13 sebagai berikut:





Gambar 13. Prosedur *Well Diffusion Assay* (WDA)

3.3.5 Prosedur Minimum Inhibitory Concentration (MIC)

Prosedur MIC adalah sebagai berikut:

1. Persiapan media dan sampel

Media yang digunakan adalah Potato Dextrose Broth (PDB). Sebanyak 100 μL ekstrak sampel dimasukkan ke dalam sumur pada 96 well microtiter plate steril.

2. Penambahan inoculum jamur

Sebanyak 100 μL media PDB yang telah ditambahkan suspensi jamur dimasukkan ke dalam masing-masing sumur pada 96 well microtiter plate steril untuk menginokulasikan jamur ke dalam media sehingga dapat diamati pertumbuhannya setelah perlakuan sampel.

3. Pengenceran bertingkat sampel

Sebanyak 100 μL larutan nanoekstrak daun pala konsentrasi 10% dimasukkan ke dalam kolom ke-12, kemudian dihomogenkan dengan cara pipetting sebanyak tiga kali. Selanjutnya, sebanyak 100 μL larutan dari kolom ke-12 dipindahkan ke kolom ke-11 dan dihomogenkan kembali dengan cara yang sama. Proses pengenceran bertingkat dilakukan hingga kolom ke-3. Untuk mengetahui variasi konsentrasi sampel sehingga dapat diketahui konsentrasi minimum yang mampu menghambat pertumbuhan jamur

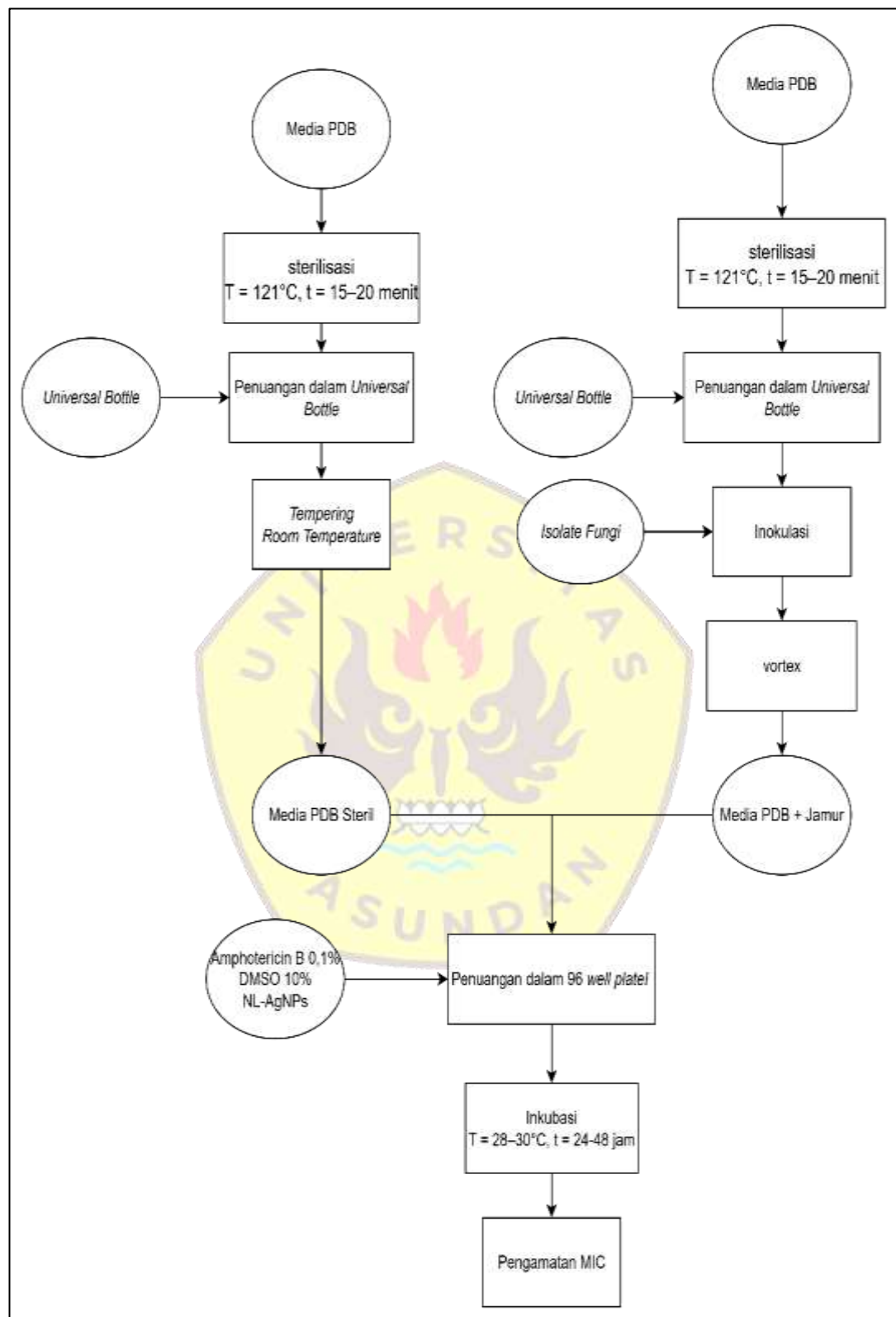
4. Inkubasi

96 well microtiter plate kemudian diinkubasi pada suhu 28–30°C selama 24–48 jam.

5. Penentuan nilai MIC

Nilai MIC ditentukan berdasarkan konsentrasi sampel terendah yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan jamur secara visual pada sumur setelah proses inkubasi.

Secara skematik, prosedur *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dijelaskan pada Gambar 14 sebagai berikut:



Gambar 14. Prosedur *Minimum Inhibition Concentration* (MIC)

3.3.6 Prosedur Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

Prosedur metode MFC adalah sebagai berikut:

1. Persiapan media

Media Potato Dextrose Agar (PDA) disiapkan dalam cawan petri steril.

2. Penandaan cawan petri

Bagian bawah cawan petri diberi penomoran dari 1 hingga 12 searah jarum jam untuk menyesuaikan posisi sampel dari *96 well microtiter plate* untuk mempermudah identifikasi dan pencocokan posisi sampel dari uji MIC ke media PDA.

3. Inokulasi sampel

Sebanyak 10 μ L larutan dari masing-masing sumur pada *96 well plate microtiter plate* dipipet dan diteteskan pada permukaan media PDA sesuai dengan nomor yang telah ditentukan. Sampel dari kolom nomor 1 pada *96 well plate* diteteskan pada nomor 1 pada media PDA, dan seterusnya hingga seluruh nomor terisi. Tahap ini untuk menguji kemampuan sampel dalam membunuh jamur dengan mengamati pertumbuhan kembali pada media padat.

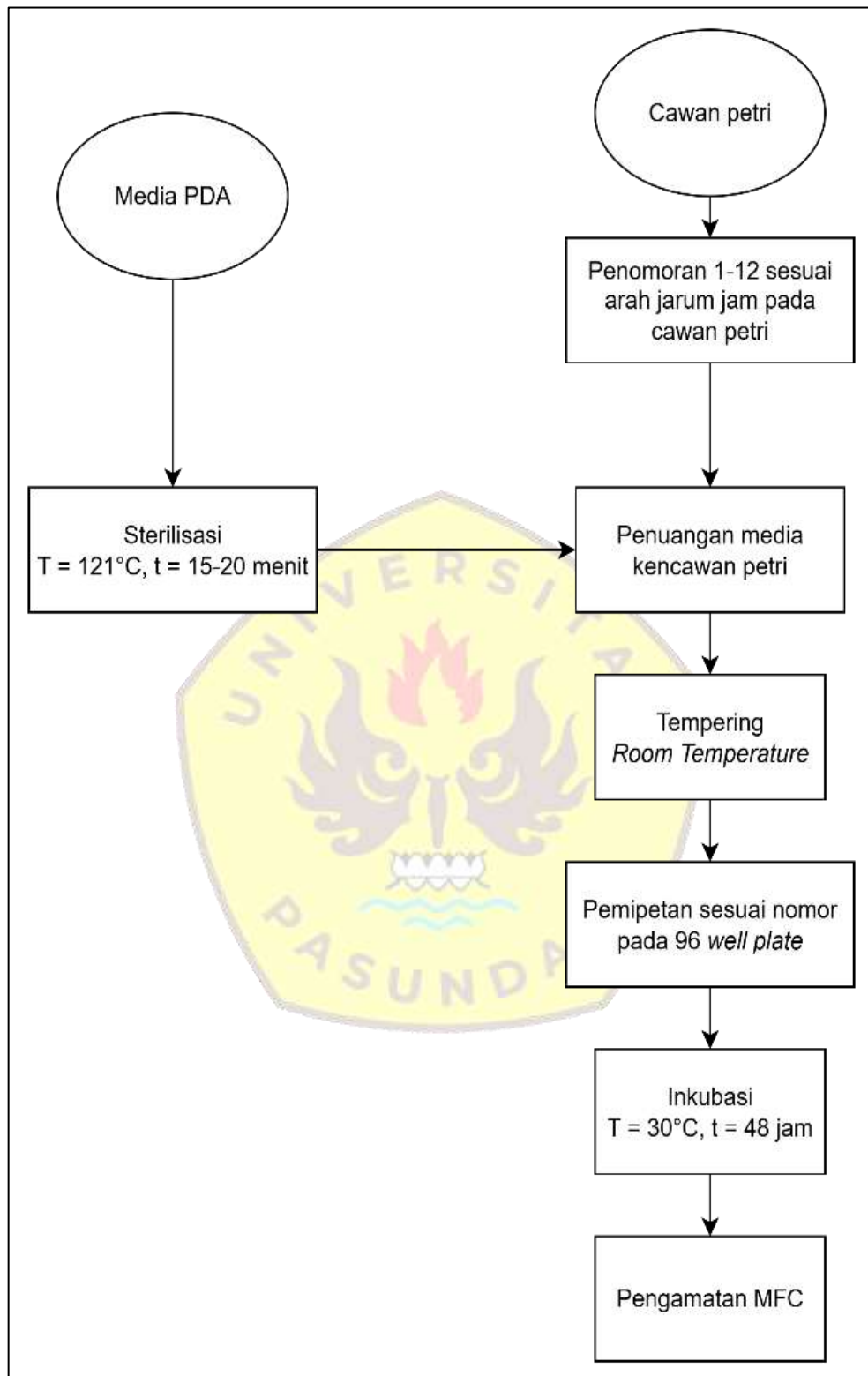
4. Inkubasi

Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam.

5. Penentuan nilai MFC

Nilai MFC ditentukan berdasarkan konsentrasi sampel terendah yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan jamur pada permukaan media PDA setelah inkubasi. Konsentrasi terendah yang mampu membunuh pertumbuhan jamur dinyatakan sebagai nilai MFC.

Secara skematik, prosedur *Minimum Fungicidal Concentration* dijelaskan pada Gambar 15 sebagai berikut:



Gambar 15. Prosedur metode Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

3.3.7 Prosedur aplikasi NL-AgNPs terhadap Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)

Prosedur aplikasi NL-AgNPs terhadap Jamur Tiram adalah sebagai berikut:

1. Persiapan sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur tiram segar yang disiapkan untuk dua perlakuan yang berbeda.

2. Perlakuan sampel

Jamur tiram dimarinasi untuk mengaplikasikan perlakuan yang berbeda sehingga dapat membandingkan efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan jamur menggunakan larutan ekstrak daun pala dengan konsentrasi 1% dan 0,1%, serta larutan nanopartikel perak daun pala (NL-AgNPs) dengan konsentrasi 1% dan 0,1%

3. Penyimpanan sampel

Sampel yang telah diberi perlakuan kemudian disimpan selama 7 hari pada dua kondisi suhu yang berbeda, yaitu suhu ruang ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) dan suhu refrigerator ($4 \pm 2^\circ\text{C}$). Tahap ini untuk mengevaluasi pengaruh kondisi penyimpanan terhadap pertumbuhan jamur dan efektivitas perlakuan.

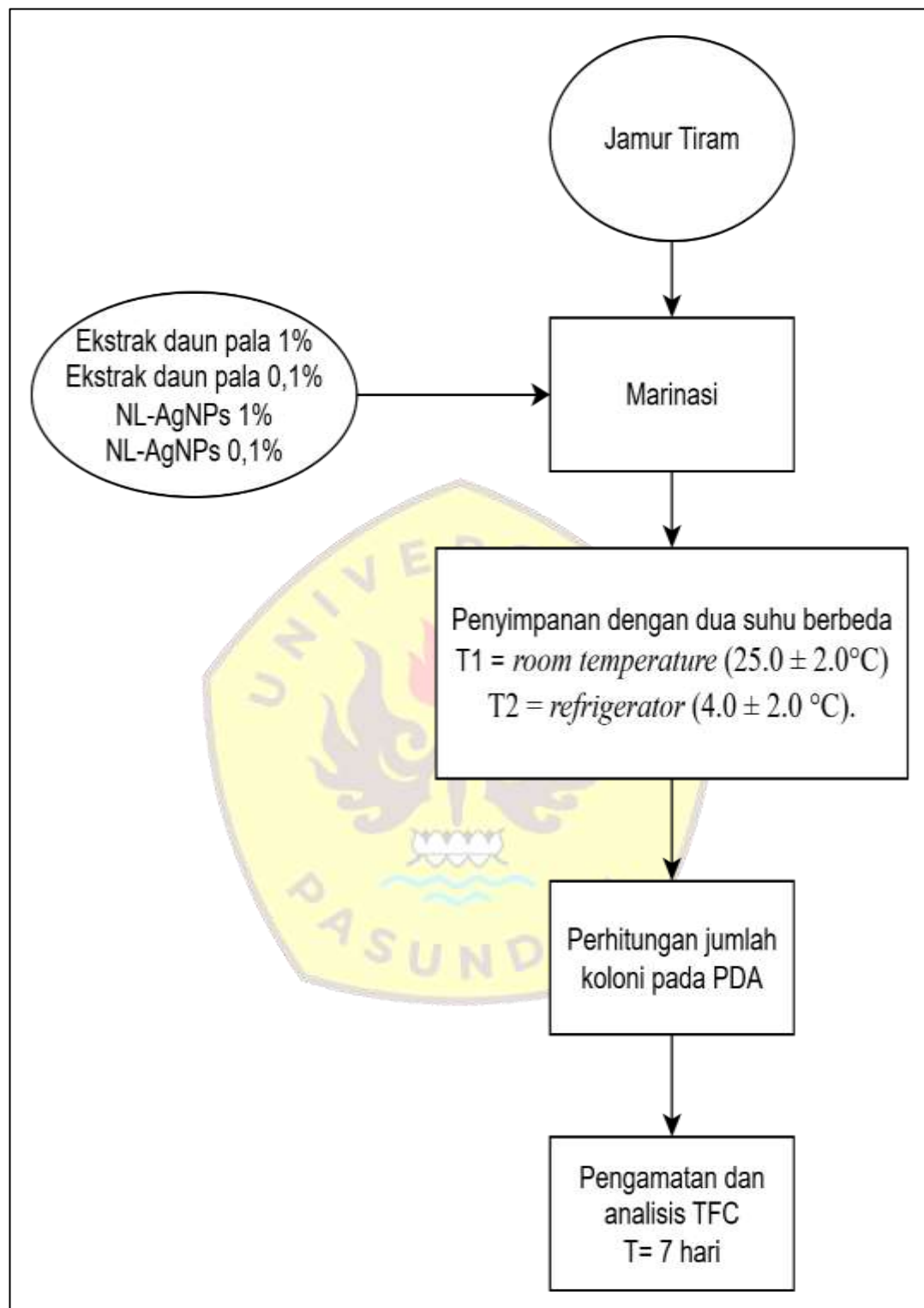
4. Pengamatan dan analisis total jamur (TFC)

Perubahan yang terjadi selama penyimpanan diamati dan dianalisis berdasarkan nilai Total Fungal Count (TFC) menggunakan media Potato Dextrose Agar (PDA). Pengujian dilakukan pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-5, dan hari ke-7. Tahap ini untuk mengetahui total jamur yang tumbuh selama penyimpanan.

5. Perhitungan jumlah koloni

Jumlah koloni jamur yang tumbuh pada media dihitung menggunakan alat *colony counter*, kemudian dicatat sebagai nilai Total Fungal Count (TFC) untuk memperoleh data mengenai jumlah koloni jamur sebagai dasar analisis efektivitas perlakuan.

Secara skematik, prosedur aplikasi NL-AgNPs terhadap jamur tiram dijelaskan pada Gambar 16 sebagai berikut:



Gambar 16. Prosedur aplikasi NL-AgNPs terhadap jamur tiram

3.4 Jadwal Penelitian

Jadwal penelitian dilakukan pada bulan Agustus hingga awal September, secara rinci disajikan pada Tabel 6 sebagai berikut:

Tabel 6. Jadwal penelitian

Kegiatan	2025						2026				
	<i>Jul.</i>	<i>Agu.</i>	<i>Sept.</i>	<i>Okt.</i>	<i>Nov.</i>	<i>Des.</i>	<i>Jan.</i>	<i>Feb.</i>	<i>Mar.</i>	<i>Apr.</i>	<i>Mei.</i>
Penyusunan proposal dan bimbingan											
Seminar Usulan Penelitian											
Pelaksanaan Penelitian											
Pengolahan Data dan Penyusunan Tugas Akhir											
Bimbingan dan Diskusi Laporan Tugas Akhir											
Daftar Sidang Tugas Akhir											
Sidang Tugas Akhir											
Revisi Pasca Sidang											

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini menguraikan dan menyajikan data yang telah diolah untuk selanjutnya dilakukan pembahasan yang terdiri dari: (4.1) Penelitian Tahap I, (4.2) Penelitian Tahap II, dan (4.3) Penelitian Tahap III.

4.1 Penelitian Tahap I “Karakteristik Fitokimia dan Hasil Ekstrak Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

4.1.1 Karakteristik Fisikokimia Bubuk Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Dalam penelitian ini, bubuk daun pala (*M. fragrans* Houtt.) dianalisis untuk berbagai parameter fisik dan kimia. Analisis terhadap bubuk tersebut mencakup pengukuran warna, kadar air, pH, dan aktivitas air (a_w). Hasil analisis tersebut dapat dilihat pada (Tabel 7) yang menunjukkan karakteristik utama bubuk daun pala.

Tabel 7. Karakteristik fisikokimia bubuk daun pala (*M. fragrans* Houtt.)

Karakteristik fisikokimia bubuk daun pala (<i>Myristica Fragrans</i> Houtt.)	Nilai	
Kadar Air (%)	10,48 ± 0,66	
Warna	L^*	41,5 ± 0,62
	a^*	1,87 ± 0,62
	b^*	11,72 ± 2,89
pH	4,43 ± 0,07	
Aktivitas Air	0,61 ± 0,01	

Keterangan: Hasil dinyatakan sebagai rata-rata ± standar deviasi (SD)

4.1.1.1 Kadar Air Bubuk Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Berdasarkan Tabel (7) karakteristik fisikokimia bubuk daun pala (*M. fragrans* Houtt.) didapatkan hasil kadar air 10,48 ± 0,66% (b/b), kadar air dalam bahan pangan dapat menentukan kesegaran dan tingkat keawetan bahan pangan. Bahan pangan dengan kadar air rendah umur simpan lebih panjang daripada bahan pangan dengan kadar air tinggi (Nadia et al., 2023). Kadar air yang tinggi menyediakan lingkungan ideal bagi bakteri, kapang, dan khamir untuk berkembang biak, yang menyebabkan perubahan kualitas seperti bau tidak sedap, tekstur melemah, perubahan warna hingga potensi timbulnya mikotoksin (Marion et al., 2022). Kadar air yang rendah mempunyai peran penting dalam menghambat adanya

mikroorganisme yang tumbuh karena menurunkan ketersediaan air untuk pertumbuhan aktivitas metabolisme mikroba. Untuk mencegah pertumbuhan mikroba, kadar air pada simplisia (bahan baku herbal kering) umumnya disyaratkan tidak lebih dari 10% (Maslahah, 2024). Selain itu, sangat penting untuk memastikan bahwa kandungan air dalam bubuk daun pala rendah karena penting untuk stabilitas bubuk serta perlindungan pada senyawa biokimia yang dapat merusak senyawa bioaktif, karena rendahnya kandungan air dapat meningkatkan umur simpan dan mempertahankan bioaktivitas yang terdapat pada bubuk daun pala (Polanco et al., 2024).

4.1.1.2 Warna Bubuk Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Analisis warna ditentukan oleh tiga parameter, yaitu L^* (kecerahan), a^* (kemerahan/kehijauan), dan b^* (kekuningan/kebiruan). Koordinat L^* menandakan terang-gelap warna mulai dari hitam (0) hingga putih (100), sedangkan a^* dan b^* menunjukkan arah warna: a^* bernilai positif menunjukkan merah, negatif menunjukkan hijau; b^* bernilai positif menunjukkan kuning, negatif menunjukkan biru (Aguilera et al., 2024). Parameter warna bubuk daun pala (*M. fragrans* Houtt.) ditunjukkan pada Tabel 7, dengan nilai L^* , a^* , dan b^* nilai masing-masing rata-rata sebesar $41,5 \pm 0,62$, $1,87 \pm 0,62$, dan $11,72 \pm 2,89$. Nilai L^* untuk bubuk daun pala (Gambar 17) menunjukkan bubuk cenderung lebih gelap dengan warna hijau kecoklatan. Nilai a^* positif menunjukkan bahwa bubuk lebih cenderung berwarna merah kecoklatan, sedangkan nilai b^* positif menunjukkan bahwa bubuk lebih cenderung berwarna kuning kecoklatan.



Gambar 17. Bubuk daun pala (*M. fragrans* Houtt)

4.1.1.3 pH Bubuk Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Skala pH berkisar dari 0 hingga 14 yang menunjukkan tingkat keasaman atau kebasaan suatu bahan pangan. Bahan dengan pH di bawah 7 digolongkan sebagai asam, sedangkan pH di atas 7 digolongkan sebagai basa (Alizadeh-Sani et al., 2020). Pada Tabel 7 bubuk daun pala memiliki pH $4,43 \pm 0,07$. sehingga termasuk kategori asam. Kondisi asam yang tinggi dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme pembusuk maupun patogen sehingga membantu menjaga kualitas produk pangan (Lund et al., 2020). Selain itu, tingkat keasaman juga berhubungan erat dengan kandungan senyawa fenolik dan asam organik yang terdapat dalam daun pala, yang dapat meningkatkan aktivitas antimikroba melalui mekanisme kerusakan membran sel maupun penghambatan metabolisme mikroba (Rodríguez et al., 2020). Selain itu, stabilitas senyawa fenolik juga dipengaruhi oleh tingkat pH. Senyawa-senyawa ini cenderung terurai dan menjadi kurang stabil ketika pH tinggi

yang menyebabkan senyawa fenolik tidak bekerja dengan maksimal terhadap metabolisme mikroba sehingga lebih stabil dan dapat mempertahankan aktivitas biologisnya dalam kondisi asam (Pasquet et al., 2024).

4.1.1.4 Aktivitas Air Bubuk Daun Pala (*M. fragrans* Houtt.)

Water Activity (a_w) adalah faktor penting yang berperan dalam mengendalikan mikroba pada pangan, di mana *water activity* yang rendah sangat berkontribusi terhadap inaktivasi mikroba (Lima et al., 2023). Bubuk daun pala memiliki aktivitas air (a_w) sebesar $0,61 \pm 0,01$, di mana nilai tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Aktivitas air (a_w) adalah parameter penting dalam bahan pangan yang menunjukkan jumlah air bebas yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme maupun memicu reaksi kimia. Nilai a_w berbeda dengan kadar air karena aktivitas air mempresentasikan ketersediaan air, bukan total kandungan air dalam bahan (Chen, 2019). Aktivitas air memiliki rentang 0 hingga 1, di mana nilai mendekati 1 menandakan ketersediaan air bebas yang tinggi dan meningkatkan risiko pertumbuhan mikroorganisme. Sebaliknya, a_w yang rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, khamir, dan kapang sehingga memperpanjang umur simpan serta menjaga kualitas pangan (Madhumathy S, 2012).

4.1.1.5 Ekstrak Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Pada penelitian ini, 100 gram bubuk daun pala diekstrak menggunakan waterbath shaker menggunakan pelarut etanol 99,5%. Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi bubuk daun pala, tercantum pada Tabel 8. di bawah ini. Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak yang berwarna hijau gelap dan kental seperti yang ditunjukkan pada Gambar (18).



Gambar 18. Ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt)

Tabel 8. Hasil ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt)

Sampel Bubuk Daun Pala	100 g ± 0,00
Pelarut Ekstrak	300 mL ± 0,00
Hasil Ekstrak yang Didapat	11,32 g
Presentase Hasil Ekstrak	11,32% (b/b)

Tabel 8 merupakan hasil ekstraksi menggunakan water bath shaker dengan pelarut etanol absolut. Etanol merupakan pelarut yang bersifat semipolar sehingga memiliki kemampuan menyari atau mengekstraksi dengan rentang polaritas yang lebar mulai dari senyawa polar hingga nonpolar (Haryanto, 2023). Etanol, sebagai pelarut almpofilik (memiliki sifat hidrofilik dan lipofilik), menunjukkan efisiensi dalam mengekstraksi komponen bioaktif dari material tumbuhan, termasuk senyawa polar dan semipolar. Etanol dapat mengekstraksi lipid, asam lemak, dan

senyawa bioaktif dari bahan alami karena kemampuannya untuk melarutkan berbagai jenis molekul yang memiliki gugus polar maupun apolar (Lee et al., 2024). Ekstraksi ini dilakukan dengan perbandingan bahan baku dan pelarut 1:3 (b/v). Dalam penelitian ini menggunakan sampel daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) seberat 100 gram dan etanol 300 mL lalu di ekstrak dengan bantuan *Waterbath shaker* dengan suhu 30°C selama 24 jam dan kecepatan 75 rpm. Pengocokan dilakukan untuk mempercepat kontak antara sampel dan pelarut. Kemudian larutan disaring dengan *whatmann paper* no. 2 dan dibantu mesin *aspirator pump* untuk mempercepat proses penyaringan. Prinsip kerja mesin tersebut adalah memanfaatkan aliran air bertekanan melalui nozzle sempit sehingga menciptakan aliran jet. Aliran jet ini menurunkan tekanan di dalam tabung (efek venturi), menghasilkan kondisi vakum. Vakum tersebut lalu menarik udara dari dalam corong *Buchner* sehingga cairan ekstrak bisa tersedot lebih cepat melalui kertas saring dan terpisah dari ampasnya. Filtrat yang didapat dilanjutkan dengan pemekatan proses menggunakan alat *vacuum rotary evaporator* dengan kecepatan sebesar 80 rpm dengan suhu 40°C selama 28 menit. Proses evaporasi bertujuan untuk menghilangkan pelarutnya, sehingga didapatkan hasil ekstrak daun pala seberat 11,32 gram.

4.2 Penelitian Tahap II “Aktivitas Antifungal Ekstrak Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)”

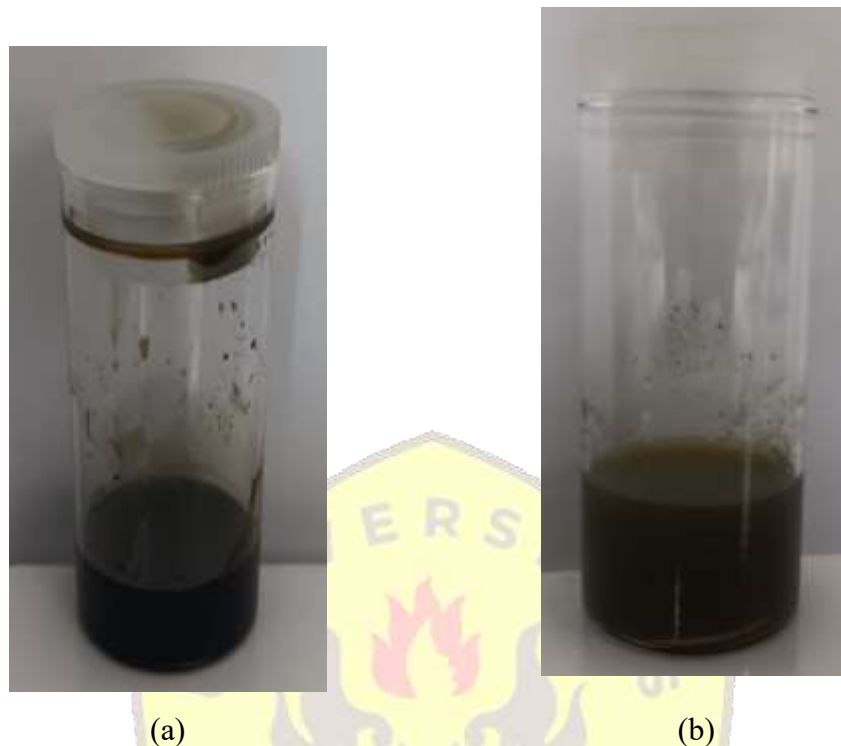
4.2.1 Sintesis NL-AgNPs

Sintesis nanopartikel perak berbasis ekstrak daun pala (NL-AgNPs) dilakukan dengan memanfaatkan beberapa bahan utama yang berperan dalam proses reduksi dan stabilisasi. Larutan perak nitrat (AgNO_3) digunakan sebagai sumber ion perak (Ag^+), yang selanjutnya akan direduksi menjadi perak elemental (Ag^0) oleh senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak daun pala. Senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenol, dan tanin berperan sebagai agen pereduksi sekaligus penstabil dalam pembentukan nanopartikel perak (Tarannum et al., 2019). Dimetil sulfoksida (DMSO) digunakan dalam penelitian ini sebagai pelarut untuk membantu melarutkan ekstrak daun pala hingga mencapai konsentrasi yang diinginkan. DMSO merupakan pelarut polar aprotic yang mampu melarutkan senyawa organik maupun anorganik serta memiliki Tingkat toksisitas yang relative rendah sehingga sering digunakan dalam proses ekstraksi bahan alami.

Untuk memperoleh larutan NL-AgNPs dengan konsentrasi 1%, terlebih dahulu disiapkan larutan DMSO 10% dengan mencampurkan 2 mL DMSO 100% ke dalam 18 mL air steril (perbandingan 1:9, v/v). Selanjutnya, sebanyak 1 gram ekstrak daun pala dilarutkan dalam 10 mL larutan DMSO 10% sehingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 10% (b/v). Larutan NL-AgNPs kemudian dibuat dengan mencampurkan 3 mL larutan ekstrak 10% dengan 27 mL larutan AgNO_3 , sehingga dihasilkan larutan NL-AgNPs dengan konsentrasi 1%.

Keberhasilan sintesis ditandai dengan adanya perubahan warna larutan dari hijau menjadi coklat, yang menunjukkan terbentuknya nanopartikel perak akibat fenomena *Surface Plasmon Resonance* (SPR) (Liaqat et al., 2022). Perubahan warna tersebut merupakan indikasi awal terbentuknya nanopartikel, yang kemudian dapat dikonfirmasi lebih lanjut melalui analisis spektrofotometri UV-Vis. Pada penelitian ini, ekstrak daun pala yang awalnya berwarna hijau tua Gambar 19 (a)

berubah menjadi warna hijau kecoklatan Gambar 19 (b).



Gambar 19. Larutan ekstrak DMSO 10% (a), larutan NL-AgNPs 10% (b)

4.2.2 Well Diffusion Assay (WDA)

Untuk mengevaluasi aktivitas antifungi, metode yang umum digunakan adalah *Well Diffusion Assay* (WDA) karena metode ini sudah banyak diterapkan dalam bidang mikrobiologi. Metode ini memungkinkan evaluasi kemampuan senyawa antifungal dalam berdifusi ke dalam media agar yang ditunjukkan melalui terbentuknya zona hambat di sekitar sumur. Besarnya diameter zona hambat menyatakan tingkat efektivitas senyawa dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada penelitian ini, aktivitas antifungal ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) pada konsentrasi 1% dan 10% terhadap empat strain fungi pathogen dianalisis menggunakan metode WDA. Hasil pengukuran diameter zona hambat ditunjukkan pada Tabel (9) dan Gambar (20).

Tabel 9. Zona penghambatan ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt) terhadap patogen makanan

Strain Jamur	Rata-rata zona hambat (mm)			
	NL-AgNPs [1,00% (b/v)]	Ekstrak [10,00% (b/v)]	Amphotericin [1,00% (b/v)]	DMSO [10,00% (b/v)]
<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 22546	8,56 ± 4,00 ^a	11,16 ± 3,18 ^a	11,00 ± 0,00 ^a	N.A
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9029	6,18 ± 0,28 ^a	6,33 ± 4,64 ^a	9,50 ± 0,00 ^a	N.A
<i>Rhizopus oligosporus</i> ATCC 22959	7,66 ± 1,60 ^a	10,16 ± 1,60 ^a	14,00 ± 0,00 ^a	N.A
<i>Rhizopus oryzae</i> ATCC 20344	9,23 ± 1,25 ^a	8,83 ± 0,76 ^a	12,00 ± 0,00 ^a	N.A

Keterangan:

ATCC: American Type Culture (Rockville, MD, USA); NA: no activity (tidak ada zona hambat); Diameter zona hambat dinyatakan dalam mm; Kontrol positif (CHX 1,00%); Kontrol negatif (DMSO 10,00%); Hasil dinyatakan sebagai standar deviasi (SD); n = 3×3;



(a)

(b)

Gambar 20. Zona hambat NL-AgNPs 1,00% dan ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt) 10,00%; *A. flavus* (a), *R. oryzae* (b)

Ekstrak daun pala menunjukkan aktivitas antifungal yang signifikan terhadap 4 jenis strain jamur yang diuji. Aktivitas antijamur diuji menggunakan ekstrak dengan

konsentrasi 10% (100 mg/mL) dan NL-AgNPs 1% (10 mg/mL) menggunakan agar PDA yang bisa dilihat pada Tabel 9. Hasil yang diperoleh menunjukkan zona bening (Gambar 20) yang mengindikasikan kerentanan terhadap bakteri berkisar antara $8,83 \pm 0,76$ hingga $11,16 \pm 3,18$ mm. Pada konsentrasi ekstrak 10%, zona hambat tertinggi diperoleh terhadap *A. flavus* dengan zona hambat sebesar $10,16 \pm 1,60$ mm, diikuti oleh *R. oligosporus*, *R. oryzae*, dan *A. niger*, masing-masing dengan zona hambat sebesar $10,16 \pm 1,60$, $8,83 \pm 0,76$, dan $6,33 \pm 4,64$. Sementara pada NL-AgNPs 1% menunjukkan efek antijamur yang cukup baik pada 4 jamur yang diuji, dimana zona hambat tertinggi diperoleh pada *Rhizopus oryzae* dengan zona hambat $9,23 \pm 1,25$ dan diikuti oleh *A. flavus*, *R. oligosporus* dan *A. niger*, masing-masing dengan zona hambat sebesar $8,56 \pm 4,00$, $7,66 \pm 1,60$, dan $6,18 \pm 0,28$. Sementara itu, tidak ada bakteri yang terpengaruh oleh penggunaan DMSO 10% sebagai control negatif, sehingga aktivitas antifungal yang teramati benar-benar berasal dari perlakuan ekstrak maupun NL-AgNPs (Mardiana et al., 2023b).

Dengan pemberian perlakuan ekstrak daun pala yang berbeda, yaitu ekstrak 10% dan NL-AgNPs 1%, terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, yang mengindikasikan peningkatan aktivitas antifungal. Pada penelitian ini, ekstrak daun pala 10% menghasilkan zona hambat tertinggi sebesar $11,16 \pm 3,18$ mm terhadap *A. flavus*, sedangkan NL-AgNPs 1% hanya menghasilkan zona hambat maksimum $9,23 \pm 1,25$ mm terhadap *R. oryzae*. Hal ini menegaskan bahwa konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi memiliki kemampuan penghambatan yang lebih kuat terhadap jamur uji. Penelitian Kursu et al. (2022) juga menunjukkan hasil yang serupa dimana ekstrak daun tanaman seperti *yarrow*, *sage*, *tensy*, dan *wormwood* dengan konsentrasi 20% menghasilkan penghambatan paling besar terhadap *Fusarium spp.* dibandingkan dengan konsentrasi 10% dan 5%. Peningkatan konsentrasi ekstrak dalam medium menyebabkan lebih banyak senyawa bioaktif yang berdifusi ke dalam sel jamur, sehingga mengganggu pertumbuhan dan menghambat pembentukan koloni (Kursu et al., 2022).

Jika dibandingkan dengan Amphotericin B 1%, baik ekstrak daun pala 10% maupun NL-AgNPs 1% menunjukkan diameter zona hambat yang umumnya lebih kecil terhadap Sebagian besar strain jamur uji. Amphotericin B 1% memperlihatkan aktivitas paling tinggi dengan zona hambat berkisar antara 9,5-14 mm pada *A. flavus*, *A. niger*, *R. oligosporus* dan *R. oryzae*. Sementara itu, ekstrak daun pala 10% menghasilkan zona hambat yang cukup baik, misalnya sebesar $11,16 \pm 3,18$ mm terhadap *A. flavus* dan $10,16 \pm 1,60$ mm terhadap *R. oligosporus*, meskipun masih lebih rendah dibandingkan Amphotericin B. Tetapi, NL-AgNPs 1% juga menunjukkan daya hambat yang nyata, misalnya $8,56 \pm 4,00$ mm terhadap *A. flavus* dan $9,23 \pm 1,25$ mm terhadap *R. oryzae*, meskipun diuji pada konsentrasi yang jauh lebih rendah dibandingkan ekstrak.

Hal ini menegaskan bahwa meskipun ekstrak daun pala lebih dominan pada konsentrasi tinggi, NL-AgNPs memiliki efisiensi yang menjanjikan karena tetap mampu menghasilkan zona hambat pada konsentrasi rendah. Temuan ini mendukung laporan bahwa ekstrak tanaman, meskipun sering menunjukkan aktivitas antijamur yang sedang dibandingkan dengan agen sintesis, tetap dianggap sebagai kandidat yang potensial untuk pengawet alami. Misalnya, penelitian *A. marina* menunjukkan bahwa bagian akar dan buahnya memiliki aktivitas antijamur yang nyata terhadap *A. fumigatus* dan *C. albicans* meskipun tidak sekuat kontrol antifungal standar (Okla et al., 2021). Maka dari itu, kombinasi antara ekstrak daun pala dan teknologi nanopartikel perak berpotensi menghasilkan agen antimikroba alami yang lebih unggul. Hasil ini mendukung penelitian yang dilakukan oleh Rathod et al. (2024) yang melaporkan bahwa nanopartikel perak hasil sintesis hijau dari ekstrak daun *A. indica* mampu menghambat pertumbuhan jamur secara signifikan pada konsentrasi rendah, menunjukkan potensi besar sebagai agen antijamur alami yang efektif (J. Singh et al., 2024).

Pada pengujian antifungal, variasi diameter zona hambat menunjukkan bahwa setiap jenis jamur memiliki tingkat sensitivitas yang berbeda terhadap ekstrak daun pala dan NL-AgNPs. Nilai zona hambat terbesar ditemukan pada *A. flavus* sedangkan NL-AgNPs 1% hanya menghasilkan zona hambat maksimum $9,23 \pm$

1,25 mm terhadap *Rhizopus oryzae*. Hal ini menegaskan bahwa konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi memiliki kemampuan penghambatan yang lebih kuat terhadap jamur uji. Penelitian Kursa et al. (2022) juga menunjukkan hasil yang serupa dimana ekstrak daun tanaman seperti *yarrow*, *sage*, *tenzy*, dan *wormwood* dengan konsentrasi 20% menghasilkan penghambatan paling besar terhadap *Fusarium spp.* dibandingkan dengan konsentrasi 10% dan 5%. Peningkatan konsentrasi ekstrak dalam medium menyebabkan lebih banyak senyawa bioaktif yang berdifusi ke dalam sel jamur, sehingga mengganggu pertumbuhan dan menghambat pembentukan koloni (Kursa et al., 2022).

Jika dibandingkan dengan Amphotericin B 1%, baik ekstrak daun pala 10% maupun NL-AgNPs 1% menunjukkan diameter zona hambat yang umumnya lebih kecil terhadap Sebagian besar strain jamur uji. Amphotericin B 1% memperlihatkan aktivitas paling tinggi dengan zona hambat berkisar antara 9,5-14 mm pada *A. flavus*, *A. niger*, *R. oligosporus* dan *R. oryzae*. Sementara itu, ekstrak daun pala 10% menghasilkan zona hambat yang cukup baik, misalnya sebesar $11,16 \pm 3,18$ mm terhadap *A. flavus* dan $10,16 \pm 1,60$ mm terhadap *R. oligosporus*, meskipun masih lebih rendah dibandingkan Amphotericin B. Tetapi, NL-AgNPs 1% juga menunjukkan daya hambat yang nyata, misalnya $8,56 \pm 4,00$ mm terhadap *A. flavus* dan $9,23 \pm 1,25$ mm terhadap *R. oryzae*, meskipun diuji pada konsentrasi yang jauh lebih rendah dibandingkan ekstrak. Hal ini menegaskan bahwa meskipun ekstrak daun pala lebih dominan pada konsentrasi tinggi, NL-AgNPs memiliki efisiensi yang menjanjikan karena tetap mampu menghasilkan zona hambat pada konsentrasi rendah. Temuan ini mendukung laporan bahwa ekstrak tanaman, meskipun sering menunjukkan aktivitas antijamur sedang dibandingkan agen sintesis, tetap dianggap sebagai kandidat yang potensial untuk pengawet alami. Misalnya, penelitian *Avicennia marina* menunjukkan bahwa bagian akar dan buahnya memiliki aktivitas antijamur yang nyata terhadap *A. fumigatus* dan *C. albicans* meskipun tidak sekuat kontrol antifungal standar (Okla et al., 2021). Maka dari itu, kombinasi antara ekstrak daun pala dan teknologi nanopartikel perak berpotensi menghasilkan agen antimikroba alami yang lebih unggul. Hasil ini

mendukung penelitian yang dilakukan oleh Rathod et al. (2024) yang melaporkan bahwa nanopartikel perak hasil sintesis hijau dari ekstrak daun *Azadirachta indica* mampu menghambat pertumbuhan jamur secara signifikan pada konsentrasi rendah, menunjukkan potensi besar sebagai agen antijamur alami yang efektif (J. Singh et al., 2024).

Pada pengujian antifungal, variasi diameter zona hambat menunjukkan bahwa setiap jenis jamur memiliki tingkat sensitivitas yang berbeda terhadap ekstrak daun pala dan NL-AgNPs. Nilai zona hambat terbesar ditemukan pada *A. flavus* dengan diameter $11,16 \pm 3,18$ mm, sedangkan zona terkecil terlihat pada *A. niger* sebesar $6,33 \pm 4,64$ mm. Perbedaan ini disebabkan oleh variasi struktur dinding sel antar spesies jamur, di mana komposisi kitin dan β -glukan yang lebih tinggi pada *A. niger* dapat meningkatkan ketahanan terhadap penetrasi senyawa antijamur. Nilai ini menunjukkan bahwa *A. flavus* lebih sensitif terhadap senyawa antijamur dibanding *A. niger*. Hal ini dapat dikaitkan dengan perbedaan komposisi dan ketebalan dinding sel. Dinding sel *A. niger* diketahui memiliki lapisan kitin dan β -glukan yang lebih padat dan tebal, sehingga lebih tahan terhadap penetrasi senyawa aktif dan nanopartikel perak. Sebaliknya, *A. flavus* memiliki dinding sel yang relatif lebih tipis dan struktur hifa yang lebih permeabel terhadap senyawa bioaktif (Hashem et al., 2022). Perbedaan sensitivitas antar strain jamur kemungkinan besar dipengaruhi oleh karakteristik morfologi dinding sel, termasuk ketebalan kitin dan β -glukan, serta ukuran pori-pori yang ada.

Sementara itu, *R. oligosporus* dan *R. oryzae* menunjukkan zona hambat yang cukup tinggi, masing-masing sebesar $10,16 \pm 1,60$ mm dan $9,23 \pm 1,25$ mm. Kedua spesies ini memiliki struktur hifa koenositik (tidak bersekat), yang menyebabkan dinding selnya lebih mudah ditembus oleh nanopartikel perak maupun senyawa fenolik dari ekstrak daun pala. Kondisi tersebut memungkinkan terjadinya penetrasi senyawa antijamur ke dalam sel dengan lebih efisien. Penelitian oleh Hashem et al. (2022) juga menunjukkan bahwa nanopartikel perak hasil biosintesis menyebabkan gangguan integritas dinding sel dan pelepasan membran plasma pada *Aspergillus* spp., disertai dengan vakuolisasi dan kerusakan sitoplasma (Hashem et al., 2022).

Fenomena serupa dilaporkan oleh P. Singh (2022), yang menemukan bahwa *Rhizopus* spp. lebih rentan terhadap AgNPs dibanding *Aspergillus*, karena karakteristik dinding selnya yang lebih tipis dan tidak memiliki septa, sehingga proses penetrasi dan kerusakan intraseluler terjadi lebih cepat (P. Singh, 2022).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perbedaan respons antifungal antar spesies jamur sangat dipengaruhi oleh morfologi dinding sel dan struktur hifa. Jamur dengan dinding sel tebal seperti *A. niger* menunjukkan resistensi yang lebih tinggi, sementara jamur dengan struktur hifa tipis seperti *Rhizopus* spp. Lebih mudah terpengaruh oleh senyawa aktif. Temuan ini sejalan dengan ulasan oleh Slavin & Bach (2022), yang menyatakan bahwa efektivitas nanopartikel logam ditentukan oleh ukuran partikel, muatan, serta kemampuan menembus dinding sel jamur yang bervariasi tergantung komposisi kitin, β -glukan, dan mannoprotein (Slavin & Bach, 2022).

Ekstrak daun pala dengan konsentrasi 10% menunjukkan efek antifungal yang cukup kuat terhadap *A. flavus* dengan zona hambat mencapai $11,16 \pm 3,18$ mm, diikuti oleh *R. oligosporus* sebesar $10,16 \pm 1,60$ mm, serta *R. oryzae* sebesar $8,83 \pm 0,76$ mm. Aktivitas antifungal yang moderat terlihat pada *A. niger* dengan zona hambat $6,33 \pm 4,64$ mm. Sementara itu, NL-AgNPs pada konsentrasi 1% juga menunjukkan aktivitas antifungal yang signifikan dengan zona hambat $9,23 \pm 1,25$ mm terhadap *R. oryzae* dan $8,56 \pm 4,00$ mm terhadap *A. flavus*, meskipun diuji pada tingkat konsentrasi yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak. Berdasarkan klasifikasi respons zona hambat pertumbuhan mikroba hambat menurut Susanto dan Ruga dalam *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* (2022), respon dengan diameter < 5 mm tergolong lemah, 6-10 mm tergolong sedang, 11-20 mm tergolong kuat dan > 20 mm tergolong sangat kuat (Aryasa & Artini, 2022). Sebagian besar aktivitas antifungal dari ekstrak daun pala dan NL-AgNPs termasuk dalam kategori kuat hingga sedang.

Berdasarkan cara kerjanya, zat antijamur bisa dikelompokkan ke beberapa kategori, yakni substansi yang mengganggu pembentukan dinding sel, meningkatkan permeabilitas membran sel, menghalangi sintesis protein dan asam nukleat, serta

memicu stress oksidatif yang mengarah pada kematian sel jamur. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak daun pala seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan triterpenoid berperan penting dalam memberikan dampak antifungal terhadap berbagai spektrum jamur pathogen. Secara umum, cara kerja antifungal dari senyawa ini melibatkan gangguan pada struktur dinding sel jamur, peningkatan permeabilitas membrane sel, penghambatan produksi protein dan asam nukleat, serta menyebabkan stress oksidatif yang berujung pada kematian sel jamur (Dantas et al., 2025). Alkaloid berfungsi dengan menekan pembentukan elemen structural penting dalam dinding sel jamur, seperti kitin dan β -glukan, yang berakibatkan pada melemahnya integritas sel serta lisis (Dozio et al., 2025). Flavonoid terbukti dapat berikatan dengan protein membrane dan mengganggu permeabilitas dinding sel jamur, yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan hifa dan pembentukan spora. Selain itu, flavonoid juga mampu menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) di dalam sel jamur yang memicu kerusakan membrane dan organel (Dantas et al., 2025). Tanin memiliki aktivitas antifungal melalui kemampuannya untuk mengendapkan protein, berikatan dengan ion logam penting, dan menghambat enzim metabolic jamur, sehingga mengganggu proses pertumbuhan dan kolonisasi (Albasher, 2024). Saponin berfungsi dengan mengurangi tegangan permukaan membrane sel jamur dan menyebabkan kebocoran isi sel yang mengganggu keseimbangan ion intraseluler (Choudhary et al., 2022a). Triterpenoid, di sisi lain, berinteraksi secara langsung dengan ergosterol yang terdapat pada membrane sel jamur senyawa lipid penting yang menjaga kestabilan membrane sehingga menyebabkan disorganisasi membrane, kebocoran komponen intraseluler, dan akhirnya kematian sel jamur (Dozio et al., 2025).

Aktivitas antifungal yang terdapat pada ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) berasal dari kandungan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid, dan senyawa fenolik yang ada di dalamnya (Dinakar kumar et al., 2022; Srinivasan, 2021). Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa ekstrak dari daun pala memiliki potensi yang sangat besar sebagai agen antimikroba dan antijamur, berkat keberadaan berbagai metabolit sekunder yang bersifat merusak terhadap sel jamur (Choudhary et al., 2022). Uji fitokimia yang dilakukan Dinakar

Kumar et al. (2022) mengidentifikasi bahwa daun pala kaya akan flavonoid dan tanin, dua senyawa yang dikenal memiliki aktivitas antifungal dominan. Selain itu, ekstrak daun pala juga mengandung alkaloid dan saponin dalam jumlah yang lebih rendah, yang turut memperkuat aktivitas penghambatan pertumbuhan jamur melalui mekanisme sinergis. Sejumlah penelitian memberikan dukungan terhadap temuan tersebut. Penelitian oleh Choudhary et al. (2022) memperlihatkan bahwa ekstrak etanol dari daun pala mampu menghambat pertumbuhan *A. niger* dan *C. albicans* dengan zona hambat masing-masing sebesar $12,4 \pm 0,58$ mm dan $10,7 \pm 0,42$ mm. Di sisi lain (Dinakar Kumar et al., 2022) mengungkapkan bahwa aktivitas antijamur dari ekstrak daun pala lebih kuat dibandingkan dengan bagian biji, karena kandungan flavonoidnya yang lebih tinggi. Penelitian lain yang dilakukan oleh Hameed et al 2021 mengenai nanopartikel perak berbasis pala juga melaporkan hasil yang serupa, dimana gabungan antara ekstrak pala dan ion perak menunjukkan peningkatan zona hambat hingga 15,6 mm terhadap *A. niger* dan *Fusarium oxysporum*. Untuk memperoleh pemahaman yang lebih komprehensif mengenai efektivitasnya, pengujian lebih lanjut seperti *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Fungicidal Concentration* (MFC) sangat diperlukan untuk mengevaluasi potensi ekstrak daun terhadap jamur yang menyebabkan kontaminasi pada makanan.

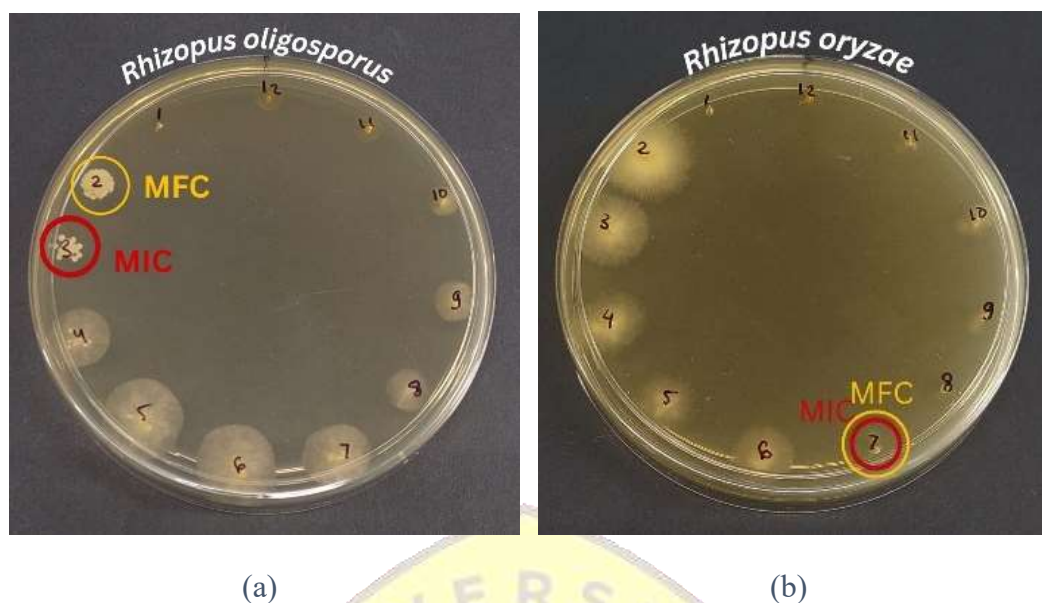
4.2.3 Penentuan Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dan Minimum Fungicidal Concentration (MFC)

MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) merupakan konsentrasi terendah dari suatu agen antimikroba yang masih mampu menghambat pertumbuhan jamur tanpa membunuhnya, sedangkan MFC (*Minimum Fungicidal Concentration*) merupakan konsentrasi terendah yang dapat membunuh seluruh sel jamur secara efektif (Franconi & Lupetti, 2023). Nilai MIC dan MFC digunakan untuk menilai potensi antifungal suatu bahan alami atau senyawa sintesis dalam menekan pertumbuhan mikroorganisme. Amphotericin B 1% digunakan dalam penelitian ini sebagai control positif karena merupakan antijamur standar yang bekerja dengan berikatan pada ergosterol di membrane sel jamur, sehingga menyebabkan kebocoran isi sel dan kematian sel jamur (Maurya et al., 2019).

Hasil uji NL-AgNPs dan ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) MIC dan MFC terhadap fungi ditunjukkan dalam tabel 10 sebagai berikut:

Tabel 10. MIC dan MFC NL-AgNPs [1,00%], ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt) [10,00%) terhadap patogen makanan

Strain Fungi	Ekstrak Daun Pala [10,00% (b/v)]			NL-AgNPs [1,00% (b/v)]			Amphotericin [1,00% (b/v)]		Ket	Enhancement MIC	Enhancement MFC
	MIC	MFC	Ket	MIC	MFC	Ket	MIC	MIC			
	(mg/ml)	(mg/ml)		(mg/ml)	(mg/ml)		(mg/ml)	(mg/ml)			
<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 22546	6,25	12,50	Fungicidal	0,62	0,62	fungicidal	0,15	0,31	Fungistatik	10×	20,16×
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9029	6,25	12,50	Fungicidal	0,010	5,00	fungistatik	0,07	0,31	Fungistatik	62,5×	2,5×
<i>Rhizopus oligosporus</i> ATCC 22959	3,13	6,25	fungicidal	0,31	5,00	fungistatik	0,07	0,15	Fungistatik	10×	1,25×
<i>Rhizopus oryzae</i> ATCC 20344	0,40	6,25	fungistatik	5,00	5,00	fungicidal	2,5	5,00	Fungistatik	0,08×	1,25×



Gambar 21. Hasil uji MIC dan MFC; *R. oligosporus* (a), *R. oryzae* (b)

96 well plate untuk penentuan MIC dan MFC ekstrak daun pala 10% (*M. fragrans* Houtt.) dan NL-AgNPs terhadap jamur pathogen; kolom 1: media PDB (*Potato Dextrose Broth*) (a), kolom 2: Media PDB + inoculum (b), kolom 3: 0,009 mg/mL (c), kolom 4: 0,20 mg/mL (d), kolom 5: 0,40 (e), kolom 6: 0,79 (f), kolom 7: 1,56 mg/mL (g), kolom 8: 3,13 mg/mL (h), kolom 9: 6,25 mg/mL (i), kolom 10: 12,50 mg/mL (j), kolom 11: 25,00 mg/mL (k) dan kolom 12: 50,00 mg/mL. Pada kolom A-D diisi dengan Ekstrak daun pala 10% dan kolom E-F diisi dengan NL-AgNPs 1%.

Berdasarkan Tabel 10, ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) dan NL-AgNPs menunjukkan aktivitas fungistatik dan fungisidal terhadap semua spesies jamur yang diuji. Berdasarkan sifat toksisitasnya, agen antijamur dapat dibedakan menjadi fungistatik, yaitu hanya menghambat pertumbuhan atau reproduksi jamur, dan fungisida, yaitu yang mampu menyebabkan kematian total sel jamur (Franconi & Lupetti, 2023). Berdasarkan hasil uji, ekstrak pala menunjukkan nilai MIC antara 0,40 hingga 6,25 mg/mL dan MFC antara 6,25 hingga 12,50 mg/mL. Aktivitas tertinggi diperoleh terhadap *R. oryzae* dengan MIC = 0,40 mg/mL dan MFC = 6,25 mg/mL, menandakan bahwa ekstrak pada konsentrasi rendah sudah mampu

membunuh jamur tersebut secara efektif. Sementara itu, *R. oligosporus* menunjukkan efek fungistatic sedang dengan nilai MIC = 3,13 mg/mL dan MFC = 6,25 mg/mL, sedangkan *A. flavus* dan *A. niger* memiliki nilai MIC dan MFC yang lebih tinggi (6,25-12,50 mg/mL), menunjukkan tingkat ketahanan yang lebih besar terhadap senyawa aktif dalam ekstrak. Untuk perlakuan NL-AgNPs, diperoleh nilai MIC antara 0,010 hingga 5,00 mg/mL dan MFC antara 0,62 hingga 5,00 mg/mL. Aktivitas antifungal tertinggi ditunjukkan terhadap *A. flavus* dan *R. oryzae*, yang keduanya menunjukkan efek fungisidal karena memiliki nilai MFC yang sama. Sebaliknya, pada *A. niger* dan *R. oligosporus*, nilai yang dihasilkan oleh MFC jauh lebih tinggi dibandingkan dengan MIC, menunjukkan bahwa aktivitas NL-AgNPs bersifat fungistatik. Gambar 22 menunjukkan aktivitas antibakteri dari ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) dan NL-AgNPs terhadap jamur patogen pangan *R. oligosporus* dan *R. oryzae*. Kedua perlakuan menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur dengan efektivitas yang berbeda. Pada gambar (a), perlakuan NL-AgNPs 1% terhadap *R. oligosporus* menghasilkan zona hambat yang cukup besar dengan nilai MIC = 0,31 mg/mL dan MFC = 5,00 mg/mL, yang menunjukkan efek fungistatik karena nilai MIC lebih kecil daripada MFC. Sementara pada gambar (b), ekstrak daun pala 10% terhadap *R. oryzae* memperlihatkan MIC = 0,40 mg/mL dan MFC = 6,25 mg/mL, menandakan efek fungistatik karena rasio MFC/MIC yang tinggi.

Hasil dari studi ini konsisten dengan apa yang ditemukan dalam berbagai penelitian sebelumnya yang menyatakan adanya kekuatan aktivitas antifungal dari senyawa alami serta nanopartikel perak pada jamur patogen yang mengganggu pangan. Penelitian yang dilakukan oleh Hashem et al. (2022) mengungkapkan bahwa nanopartikel perak yang dibuat secara biosintesis menunjukkan dampak fungisida yang signifikan terhadap *A. flavus* dan *A. niger*, dengan nilai MIC masing-masing 0,25 mg/mL dan 0,50 mg/mL, yang berakibat pada kerusakan morfologi serta kebocoran sitoplasma pada hifa dari jamur tersebut. Selanjutnya, penelitian oleh Yuan (2023) menunjukkan bahwa kombinasi senyawa bioaktif dari tumbuhan dengan AgNPs dapat meningkatkan efek antifungal melalui mekanisme sinergis,

dengan nilai MFC yang lebih rendah dibandingkan jika hanya menggunakan ekstrak tunggal. Selain itu, Saharan (2020) melaporkan bahwa ekstrak tanaman beraroma seperti pala, cengkeh, dan kayu manis mengandung senyawa fenolik serta flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan *Rhizopus* spp. dan *Aspergillus* spp. pada konsentrasi antara 0,5 hingga 1,0 mg/mL. Aktivitas ini diyakini terkait dengan kemampuan senyawa aktif dalam merusak dinding sel serta membran plasma dari jamur. Penelitian lain yang dilakukan oleh Saggaf et al. (2022) juga menunjukkan bahwa ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) memiliki efek antifungal terhadap *C. albicans* dan *A. niger*, dengan nilai MIC sebesar 1,56 mg/mL dan MFC sebesar 3,12 mg/mL. Temuan ini memberikan dukungan bagi hasil penelitian ini, di mana ekstrak daun pala dan NL-AgNPs menunjukkan aktivitas antifungal yang kuat terhadap *R. oryzae* dan *R. oligosporus* dengan cara menghambat pertumbuhan serta merusak struktur sel jamur.

Selain itu, kombinasi antara senyawa bioaktif dalam daun pala seperti flavonoid, tanin, dan saponin dengan ion perak dalam NL-AgNPs berperan dalam meningkatkan daya antifungal melalui mekanisme sinergis. Ion perak diketahui dapat menempel pada membrane sel, menembus ke dalam sitoplasma, dan menyebabkan kerusakan protein serta kebocoran komponen intraseluler jamur (Hashem et al., 2022; Yuan, 2023). Hasil ini menegaskan bahwa baik ekstrak daun pala maupun NL-AgNPs memiliki potensi besar sebagai agen antifungal alami, meskipun efektivitasnya dapat bervariasi antar spesies jamur uji.

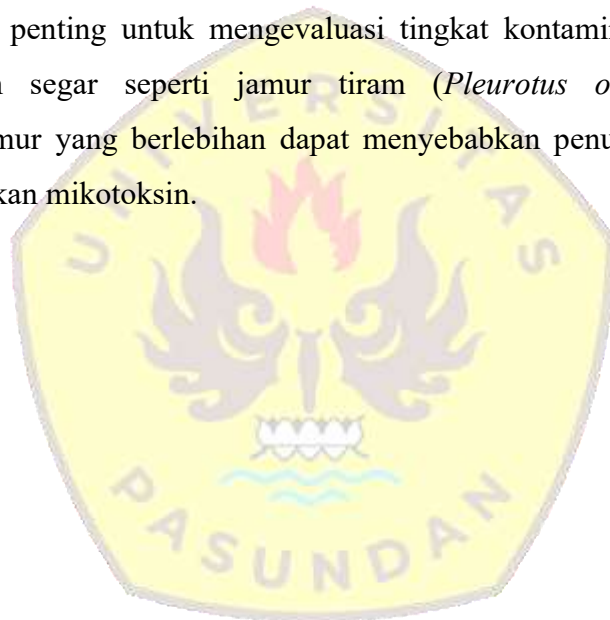
4.3 Penelitian Tahap III “Aplikasi Ekstrak Daun Pala dan NL-AgNPs (*M. fragrans* Houtt.) Terhadap Jamur Tiram (*P. ostreatus*) Selama Penyimpanan

Berbagai mikroorganisme yang terkontaminasi dalam bahan pangan tidak hanya menyebabkan kerusakan atau pembusukan, tetapi juga dapat bersifat patogen dan menimbulkan ancaman serius bagi keamanan pangan serta kesehatan masyarakat. Mikroorganisme tersebut berpotensi memicu penyakit bawaan makanan (*Foodborne diseases*) yang dapat mempengaruhi konsumen, maupun lingkungan sekitarnya. Maka dari itu, pemantauan dan deteksi mikroorganisme pembusuk maupun pathogen dalam bahan pangan mentah dan olahan menjadi Langkah

penting untuk memastikan mutu dan keamanan pangan tetap terjaga (Bintsis, 2017). Saat ini, berbagai metode pengujian mikrobiologi seperti metode kultur, uji imunologis seperti ELISA, serta Teknik molekuler modern seperti PCR dan sekuensing DNA banyak digunakan untuk mengidentifikasi pathogen pangan dengan lebih cepat, akurat, dan sensitive. Penerapan pengujian rutin tersebut sangat penting untuk mencegah kontaminasi silang dan menekan risiko wabah penyakit akibat pangan (Aladhadh, 2023).

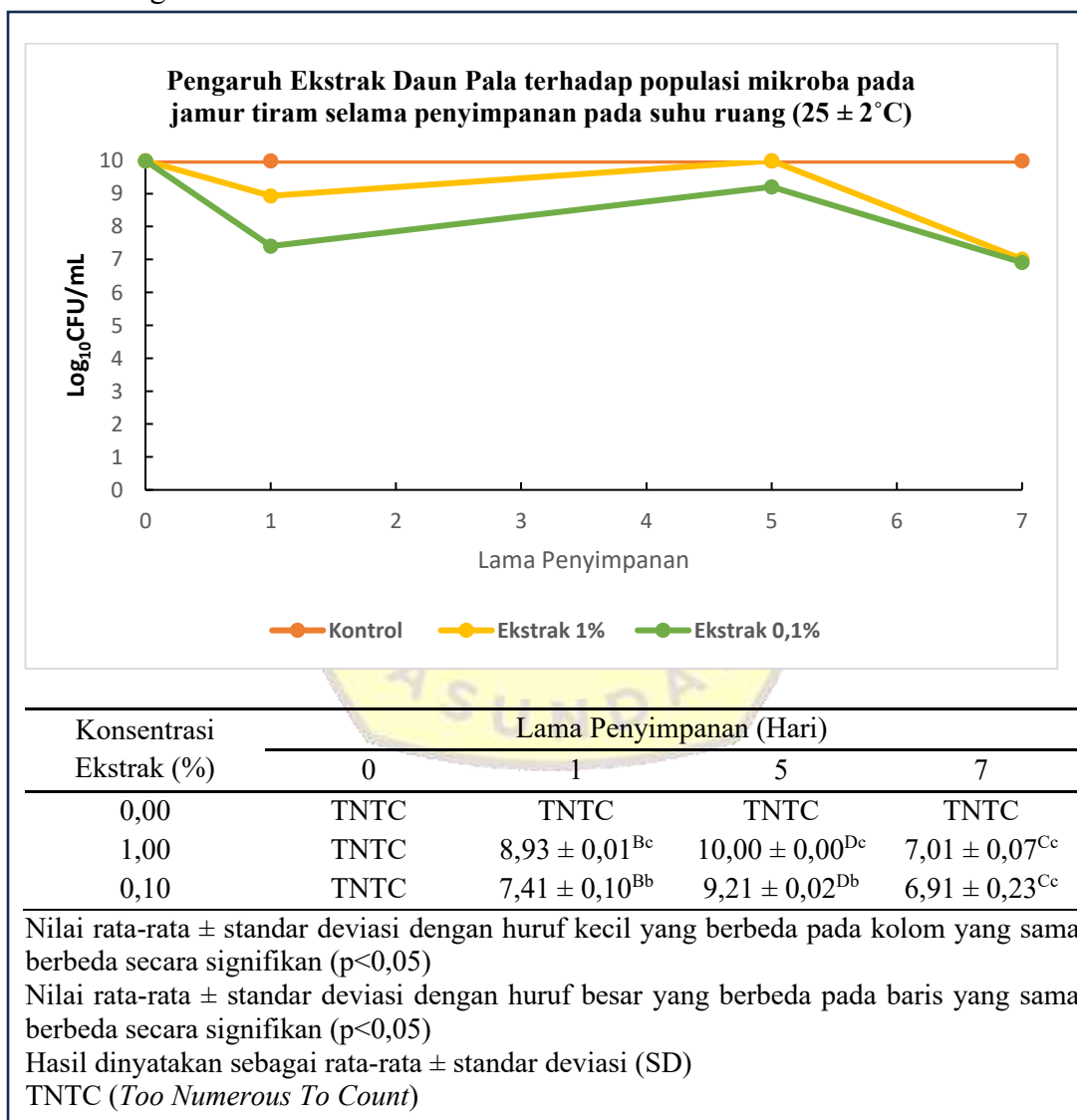
Metode yang dilakukan pada penelitian ini yaitu metode deteksi dan perhitungan yang umum digunakan pada analisis mikrobiologi pangan. Pada penelitian ini, menganalisis pengaruh ekstrak daun pala 1% dan 0,1% dengan NL-AgNPs 1% dan 0,1% pada penyimpanan sampel jamur tiram pada dua kondisi suhu yang berbeda yaitu suhu ruangan ($25 \pm 2,0$ °C) dan suhu dingin ($4,0 \pm 2,0$ °C) dan untuk waktu penyimpanan yang berbeda (1 hari, 5 hari dan 7 hari). Salah satu metode yang umum digunakan untuk mengevaluasi aktivitas mikrobiologis pada bahan pangan, khususnya yang berhubungan dengan pertumbuhan kapang dan ragi, adalah *Total Fungi Count* (TFC). Metode ini dilakukan dengan menghitung jumlah koloni jamur yang tumbuh pada media selektif setelah proses inkubasi dalam kondisi tertentu. TFC difokuskan pada enumerasi spesifik mikroorganisme eukariotik seperti kapang dan khamir (Mendonca et al., 2020). Pengujian TFC umumnya memanfaatkan media seperti *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang mendukung pertumbuhan *fungi*, serta dilakukan dengan metode *pour plate* atau *spread plate*. Pengujian Total Fungi Count memiliki peranan penting dalam menentukan tingkat kontaminasi mikroba eukariotik pada produk pangan karena jumlah koloni jamur yang tinggi dapat menurunkan kualitas dan umur simpan pangan, serta menimbulkan risiko kontaminasi mikotoksin (Mendonca et al., 2020). Metode ini menjadi indikator penting dalam evaluasi keamanan dan mutu mikrobiologis pangan segar seperti jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) yang sangat mudah rusak akibat aktivitas metabolik pascapanen dan pertumbuhan mikroba permukaan.

Pertumbuhan dan reproduksi mikroba, terutama kapang dan khamir, berfungsi sebagai indikator signifikan dalam evaluasi keamanan dan mutu makanan. Untuk menilai jumlah total koloni jamur dalam bahan makanan, diterapkan metode *Total Fungi Count* (TFC), yaitu pengujian yang menghitung jumlah koloni jamur viable yang tumbuh pada media selektif setelah inkubasi. Media yang umum digunakan adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang ideal untuk mendukung pertumbuhan optimal fungi pada suhu inkubasi antara 25 hingga 30°C (Monisha & Mariyanancyarputha, 2022). Metode ini memberikan hasil jumlah koloni yang dihitung dalam satuan *colony-forming units* (CFU) per gram atau mililiter dari sampel, menggambarkan jumlah jamur yang dapat hidup dalam bahan makanan. Uji TFC sangat penting untuk mengevaluasi tingkat kontaminasi jamur dalam bahan makanan segar seperti jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*), karena pertumbuhan jamur yang berlebihan dapat menyebabkan penurunan mutu serta risiko pembentukan mikotoksin.



4.3.1 Hasil analisis ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) terhadap populasi Fungi pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu ruang ($25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Gambar 22 menunjukkan tren TFC pada jamur tiram yang diberi perlakuan dengan ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) 0%, 1% dan 0,1% selama 7 hari penyimpanan pada suhu ruang ($25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$). Data menunjukkan bahwa baik ekstrak 1% maupun 0,1% kurang efektif dalam mengendalikan pertumbuhan mikroba pada suhu ruang.



Gambar 22. Jumlah mikroba (TFC) yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi ekstrak daun pala dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu ruang ($25,0 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Hasil yang terdapat pada Gambar 22 menunjukkan pengaruh Ekstrak Daun Pala terhadap *Total Fungi Count* pada jamur tiram yang disimpan pada suhu ruang ($25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$) selama 7 hari. Penelitian ini menyelidiki pengaruh konsentrasi daun pala (1% dan 0,1%) serta larutan *buffered peptone water* sebagai control, serta potensi sifat *antifungal* selama masa penyimpanan. Jamur tiram sangat cepat rusak karena laju respirasi dan kandungan air yang tinggi. Pembusukan awal jamur tiram ditandai dengan kehilangan berat (*water loss*), pelepasan air, pelunakan (*texture softening*), perubahan warna, hilangnya rasa dan nutrisi (Sharma et al., 2024). Hasil pengujian pengaruh ekstrak daun pala terhadap populasi mikroba pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu ruang menunjukkan adanya fluktuasi jumlah mikroba pada setiap konsentrasi perlakuan. Pola ini menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba dari ekstrak daun pala bersifat sementara dan dapat mengalami penurunan efektivitas seiring lamanya waktu penyimpanan. Aktivitas antimikroba dari daun pala dihasilkan oleh adanya senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenolik dan minyak atsiri (terutama myristicin dan eugenol) yang dapat merusak membrane sel mikroba serta menghentikan proses metabolisme di dalamnya (Hafid et al., 2023; El Moussaoui et al., 2022). Kandungan fenolik diketahui mampu mendenaturasi protein serta mengganggu permeabilitas dinding sel mikroba, sedangkan flavonoid berfungsi untuk menghambat sintesis asam nukleat dan memicu kebocoran membrane yang akhirnya menyebabkan kematian sel (Rahayu et al., 2024).

Ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, fenolik, tanin, saponin dan triterpenoid yang secara sinergis berperan dalam aktivitas antimikroba dan antifungalnya. Senyawa alkaloid berfungsi dengan menghambat pembentukan dinding sel jamur melalui gangguan pada proses pembentukan jembatan silang kitin, sehingga struktur daging sel menjadi lemah dan menyebabkan lisis (Akinyemi et al., 2020). Komponen fenolik diketahui bekerja melalui interaksi antara gugus hidroksilnya dengan protein dan lipid pada membrane sel mikroba, yang menyebabkan gangguan permeabilitas membrane dan kebocoran isi sel (Trifan et al., 2023). Selain itu, flavonoid dalam ekstrak daun pala dapat menghambat pertumbuhan mikroba dengan membentuk

kompleks bersama protein dan enzim pada membran sel, yang berujung pada terganggunya proses metabolisme dan sintesis protein jamur (Adibuduge & Senevirathne, 2023). Senyawa tanin berperan sebagai agen antimikroba melalui mekanisme pengendapan protein, pembentukan kompleks dengan ion logam, serta gangguan terhadap permeabilitas membran dan aktivitas enzimatik pada sel mikroba (Al-Qahtani et al., 2022). Sementara itu, saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sel mikroba dengan menurunkan tegangan permukaannya, sehingga menyebabkan keluarnya komponen intraseluler yang penting bagi kelangsungan hidup sel. Senyawa triterpenoid dalam ekstrak daun pala juga berperan dalam merusak lapisan lipid pada membran luar sel jamur, menurunkan kestabilan membran, serta menghambat proses transpor nutrisi dan metabolit penting yang berujung pada kematian sel mikroba (Saleem et al., 2022).

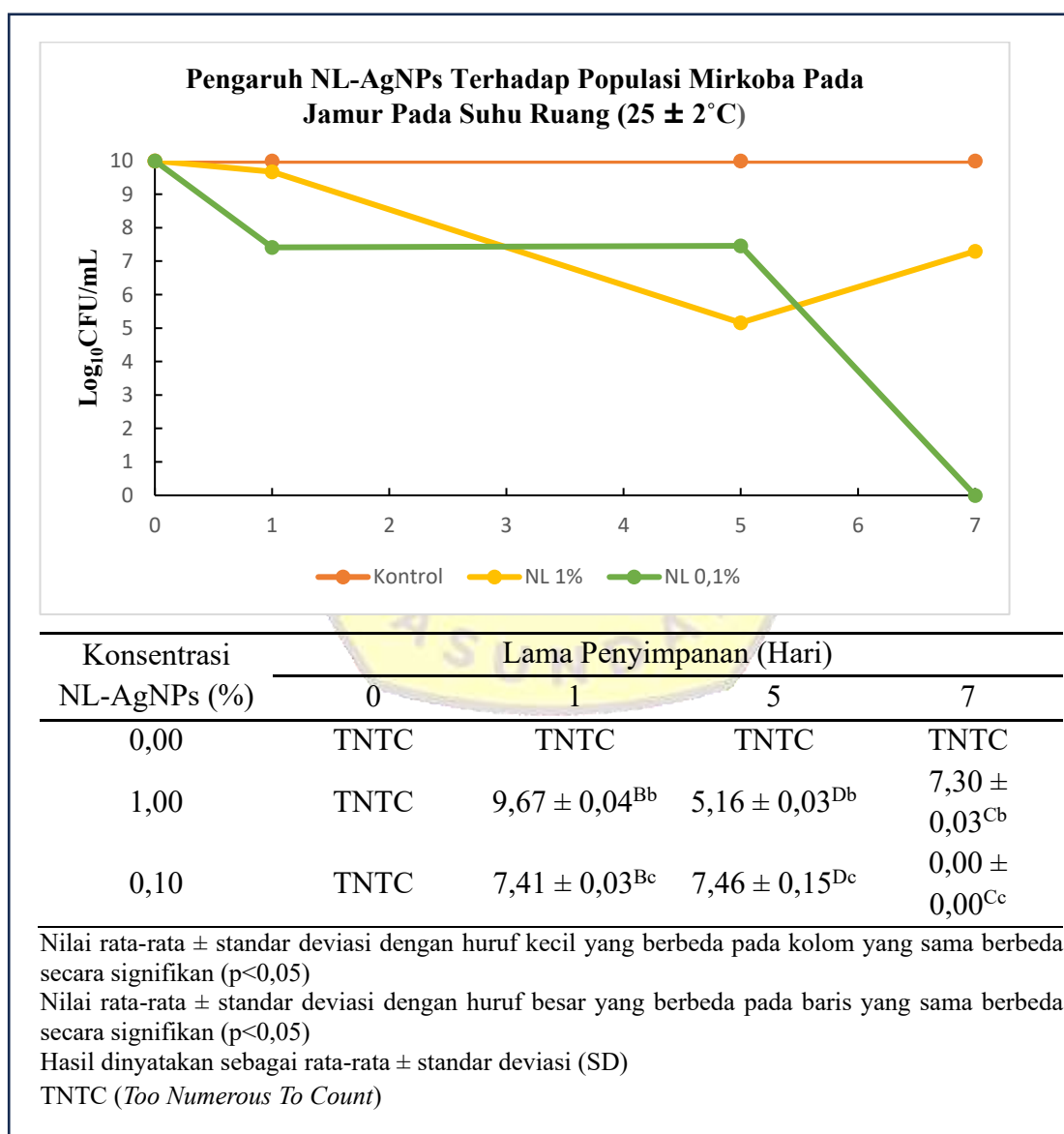
Ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) menunjukkan aktivitas antifungal yang bersifat fungistatic terhadap pertumbuhan mikroba pada jamur tiram (*P. ostreatus*) selama penyimpanan pada suhu ruang (25 ± 2 °C). Populasi mikroba awal pada hari ke-0 menunjukkan jumlah yang sama untuk seluruh perlakuan, yaitu $10,00 \log_{10}$ CFU/mL. Pada hari ke-1, terjadi penurunan signifikan jumlah mikroba pada perlakuan ekstrak daun pala 1% dan 0,1% masing-masing menjadi $8,93 \pm 0,01 \log_{10}$ CFU/mL dan $7,41 \pm 0,10 \log_{10}$ CFU/mL, sedangkan control tetap stabil pada $10,00 \pm 0,14 \log_{10}$ CFU/mL. Penurunan ini menandakan bahwa senyawa aktif dalam daun pala mulai bekerja menghambat pertumbuhan mikroba sejak awal penyimpanan. Senyawa fenolik, flavonoid, dan saponin yang terdapat dalam daun pala mampu merusak integritas membran sel jamur melalui peningkatan permeabilitas, denaturasi protein, dan gangguan pada system enzimatik (Trifan et al., 2023). Memasuki hari ke-5, jumlah mikroba mengalami peningkatan Kembali, terutama pada konsentrasi 1%, yang mencapai $10,00 \pm 0,00 \log_{10}$ CFU/mL, sementara pada konsentrasi 0,1% meningkat menjadi $9,21 \pm 0,02 \log_{10}$ CFU/mL. Kenaikan ini memungkinkan besar disebabkan oleh berkurangnya stabilitas senyawa bioaktif akibat degradasi oksidatif selama penyimpanan serta adanya adaptasi mikroba terhadap senyawa antifungal. Senyawa fenolik dan flavonoid rentan terhadap

oksidasi pada suhu ruang, sehingga efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan mikroba dapat menurun seiring waktu (Al-Qahtani et al., 2022). Selain itu, aktivitas metabolic jamur tiram pascapanen yang masih berlangsung dapat meningkatkan kelembapan permukaan, menciptakan kondisi ideal bagi pertumbuhan mikroorganisme (Adibuduge & Senevirathne, 2023). Pada akhir penyimpanan di hari ke-7, populasi mikroba pada kedua perlakuan Kembali menurun signifikan menjadi $7,01 \pm 0,07 \log_{10}$ CFU/mL untuk ekstrak 1% dan $6,91 \pm 0,23 \log_{10}$ CFU/mL untuk ekstrak 0,1%. Penurunan kembali di akhir masa penyimpanan ini dapat disebabkan oleh berkurangnya nutrisi yang tersedia bagi mikroba serta efek residu dari senyawa antimikroba daun pala yang masih aktif, seperti myristicin dan eugenol, yang dikenal memiliki aktivitas antifungal kuat (Al-Qahtani et al., 2022). Selain itu pada suhu ruang, aktivitas metabolisme jamur tiram dan mikroorganisme kontaminan masih berlangsung secara aktif, sehingga interaksi antara senyawa bioaktif dalam ekstrak dengan sel mikroba terjadi lebih intensif. Kondisi ini memungkinkan mekanisme kerja senyawa antifungal, seperti gangguan membran sel, denaturasi protein, dan hambatan aktivitas enzim berlangsung lebih optimal. Prescott et al., (2002) menginformasikan bahwa suhu dalam kisaran optimum dapat meningkatkan aktivitas metabolisme mikroba sekaligus meningkatkan efektivitas agen antimikroba karena interaksi yang lebih intensif antara senyawa aktif dan sel target.

Fluktuasi jumlah mikroba selama penyimpanan menunjukkan bahwa aktivitas antifungal ekstrak daun pala pada suhu ruang tidak bersifat konstan, melainkan dipengaruhi oleh beberapa factor, kestabilan senyawa bioaktif terhadap suhu dan oksigen, kondisi lingkungan seperti kelembapan dan suhu ruang yang memengaruhi metabolisme jamur dan mikroba, serta kemampuan mikroba beradaptasi terhadap tekanan antimikroba. Hasil ini menunjukkan bahwa baik ekstrak daun pala 1% maupun 0,1% memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan mikroba selama penyimpanan, namun ekstrak 0,1% menunjukkan efektivitas penghambatan yang lebih stabil, ditunjukkan oleh penurunan mikroba yang konsisten hingga akhir penyimpanan.

4.3.2 Hasil analisis ekstrak NL-AgNPs (*M. fragrans* Houtt.) terhadap populasi mikroba pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu ruang ($25 \pm 2,0^\circ\text{C}$)

Analisis mikrobiologi jamur tiram yang ditambahkan dengan ekstrak NL-AgNPs pada konsentrasi 0%, 1% dan 0,1% pada suhu ruang ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 7 hari ditunjukkan pada gambar 23. Data menunjukkan bahwa NL-AgNPs terlihat lebih efektif dalam menurunkan populasi mikroba hingga hari ke-7 dibandingkan hanya dengan ekstrak daun pala.



Gambar 23. Jumlah mikroba (TFC) yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi NL-AgNPs dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu ruang ($25,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$)

(*M. fragrans* Houtt.) terhadap jumlah total mikroba (Total Fungi Count/TFC) pada jamur tiram (*P. ostreatus*) yang disimpan pada suhu ruang ($25,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$) selama 7 hari. Berdasarkan data pengamatan, terjadi penurunan jumlah mikroba pada semua perlakuan, terutama pada konsentrasi 0,1% yang menunjukkan nilai \log_{10} CFU/mL $7,41 \pm 0,03$ pada hari pertama dan mencapai $0,00 \pm 0,00$ pada hari ke-7. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan NL-AgNPs 0,1% memiliki efek fungisidal, mampu menekan pertumbuhan jamur hingga tidak terdeteksi pada akhir penyimpanan. Sebaliknya, pada perlakuan NL-AgNPs 1%, jumlah mikroba menurun dari $9,67 \pm 0,04$ pada hari pertama menjadi $5,16 \pm 0,03$ pada hari kelima, kemudian sedikit meningkat menjadi $7,30 \pm 0,03$ pada hari ketujuh, menunjukkan efek fungistatik atau penghambatan pertumbuhan tanpa membunuh seluruh mikroba.

Perbedaan tingkat efektivitas antara dua konsentrasi ini dapat dikaitkan dengan peran nanopartikel perak (AgNPs) yang berukuran sangat kecil dan memiliki luas permukaan tinggi, sehingga mampu menembus dinding sel jamur, menghasilkan radikal bebas, dan mengganggu integritas membran sel melalui pelepasan ion Ag^+ (Hashem et al., 2022). Ion ini berikatan dengan gugus tiol pada protein serta basa nitrogen pada DNA, yang akhirnya menghambat respirasi sel dan menyebabkan kematian mikroba (Zhou et al., 2021). Selain itu, keberadaan senyawa bioaktif dari daun pala, seperti flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid, turut memperkuat efek antifungal melalui mekanisme sinergis dengan nanopartikel logam (Hassan et al., 2021). Kombinasi keduanya menghasilkan sistem antimikroba yang lebih kuat dan stabil selama penyimpanan. Selain itu penyimpanan pada suhu ruang juga dapat mempengaruhi aktivitas antifungal yang dimana bekerja lebih optimal dibandingkan pada suhu dingin. Pada suhu ruang, aktivitas metabolisme mikroorganisme yang masih tinggi memungkinkan interaksi antara NL-AgNPs dan sel mikroba berlangsung lebih intensif. Suhu yang lebih tinggi juga dapat meningkatkan difusi nanopartikel serta mempercepat pelepasan ion Ag^+ . Hal ini sejalan dengan penelitian Rai et al., (2009) dan Morones et al., (2005) yang melaporkan bahwa efektivitas nanopartikel perak sebagai agen antimikroba

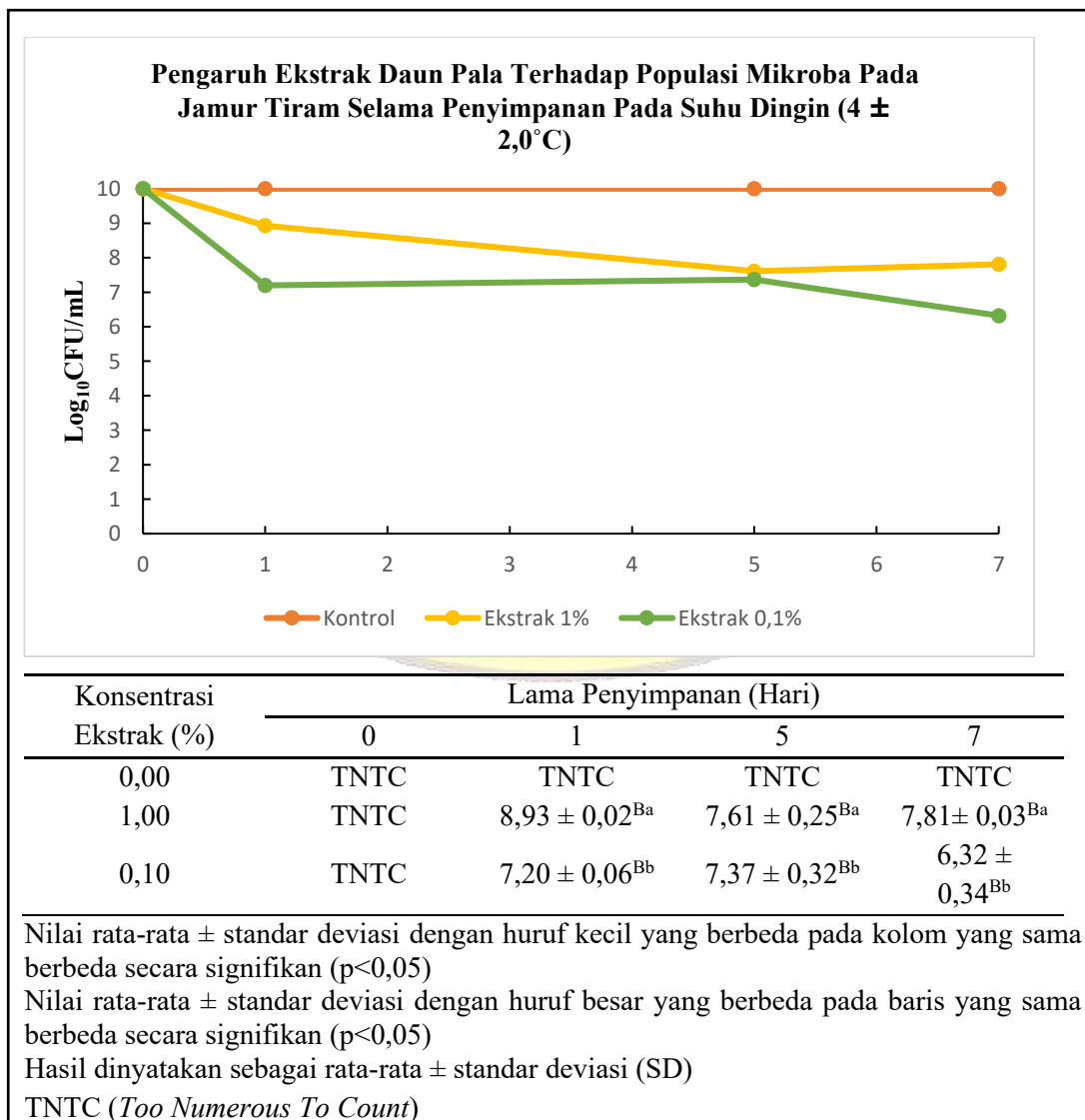
dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, termasuk suhu, yang dapat memodulasi pelepasan ion dan interaksi dengan sel mikroba.

Penggunaan NL-AgNPs daun pala terlihat lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak daun pala biasa dalam menekan pertumbuhan mikroba jamur tiram pada suhu ruang, meskipun diperlukan penelitian lanjutan dengan waktu penyimpanan yang lebih lama untuk memastikan kestabilan efek antifungalnya.



4.3.3 Hasil analisis ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) terhadap populasi mikroba pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Gambar 24 menunjukkan hasil analisis mikrobiologi pada jamur tiram yang diberi perlakuan ekstrak daun pala dengan konsentrasi 0%, 1% dan 0,1% serta disimpan pada suhu dingin ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 7 hari. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa terjadi penurunan pertumbuhan mikroba pada hari ke-1. Namun, selama masa penyimpanan hingga hari ke-7, jumlah mikroba mengalami fluktuasi yang ditandai dengan adanya sedikit peningkatan dan penurunan



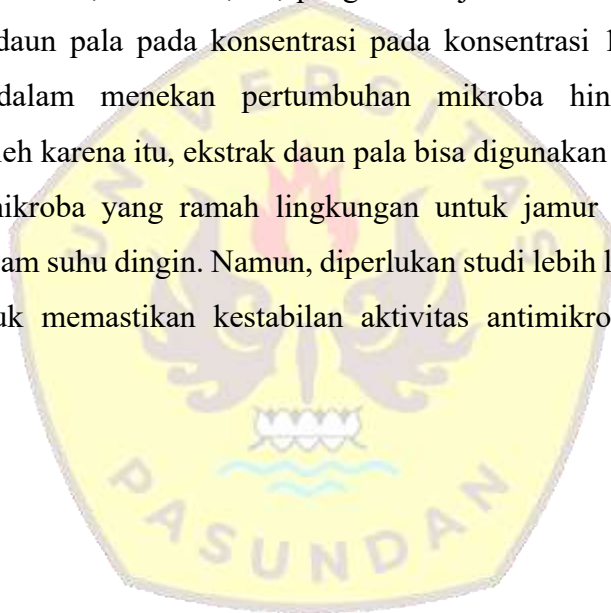
Gambar 24. Jumlah mikroba (TFC) yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi ekstrak daun pala dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Pada hari ke-1, populasi mikroba untuk perlakuan 1,0% tercatat sebesar $8,93 \pm 0,02 \log_{10}$ CFU/mL, sedangkan pada konsentrasi 0,1 % sebesar $7,20 \pm 0,06 \log_{10}$ CFU/mL (Gambar 24). Jika dibandingkan dengan kontrol, ekstrak menunjukkan senyawa bioaktif dari daun pala mulai berinteraksi dengan membran sel mikroba, menghambat laju pertumbuhannya. Pada hari ke-5, populasi mikroba pada konsentrasi 1% sempat turun menjadi $7,61 \pm 0,12 \log_{10}$ CFU/mL, meskipun terjadi beberapa fluktuasi karena beberapa mikroba yang resisten mulai beradaptasi terhadap tekanan ekstrak tersebut. Sementara itu, pada konsentrasi 0,1%, jumlah mikroba cenderung stabil di angka $7,37 \pm 0,08 \log_{10}$ CFU/mL yang menunjukkan bahwa efek antimikroba tetap berlangsung, meski dengan laju yang lebih rendah. Hal itu terjadi karena pada suhu yang lebih rendah, aktivitas metabolisme mikroba cenderung melambat, sehingga proses interaksi antara agen antifungal dan sel target juga menjadi kurang efektif. Selain itu, suhu rendah dapat memperlambat difusi senyawa bioaktif dalam matriks jaringan jamur tiram, sehingga efektivitas penghambatan pertumbuhan mikroba menjadi lebih rendah dibandingkan pada suhu ruang. Penelitian Madigan et al., (2018) menginformasikan bahwa suhu rendah dapat menurunkan sensitivitas mikroorganisme terhadap agen antimikroba serta memperlambat laju inaktivasi mikroba. Pada hari ke-7, jumlah mikroba menurun signifikan menjadi $7,81 \pm 0,03 \log_{10}$ CFU/mL untuk perlakuan 1 % dan $6,32 \pm 0,34 \log_{10}$ CFU/mL pada perlakuan 0,1 %. Penurunan yang paling mencolok terjadi pada konsentrasi 0,1% mengindikasikan bahwa efek penghambatan lebih stabil sepanjang waktu.

Fluktuasi yang muncul selama masa penyimpanan berasal dari aktivitas enzimatik yang tersisa pada mikroba serta ketahanan spesifik dari beberapa strain terhadap senyawa bioaktif. Daun pala kaya akan berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, saponin, dan terpenoid yang saling bekerja sama dalam menghambat pembentukan dinding sel, meningkatkan permeabilitas membrane, serta mengintervensi fungsi enzim respirasi (Aboody & Mickymaray, 2020; Redondo-Blanco et al., 2020). Senyawa fenolik flavonoid memiliki gugus hidroksil yang dapat membentuk ikatan hydrogen dengan protein membrane mikroba, sehingga menyebabkan kebocoran isi sel dan kematian mikroba (Sari et al., 2021).

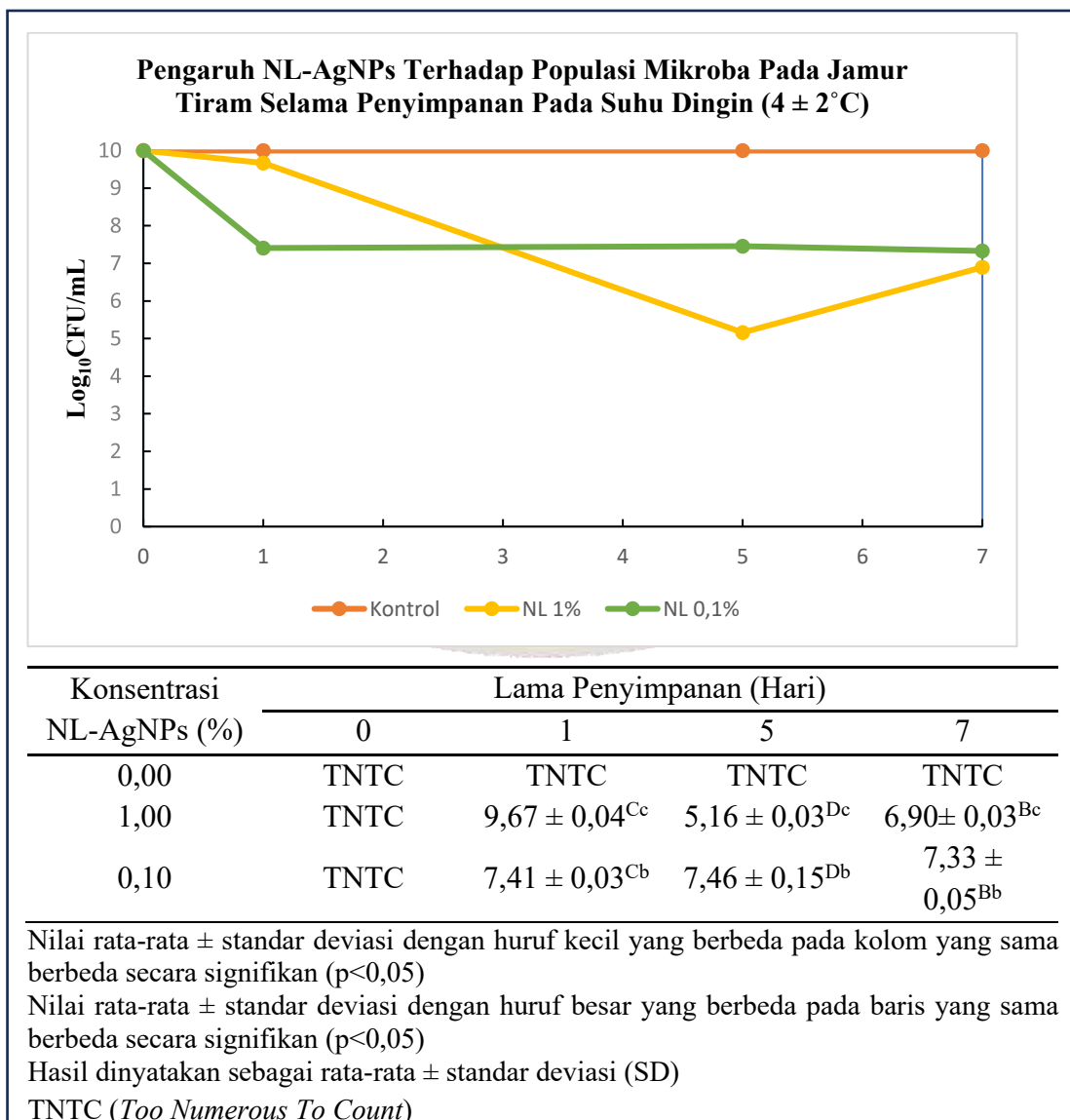
Di samping kandungan bioaktif, faktor penyimpanan juga berpengaruh besar dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Penyimpanan dalam wadah tertutup menciptakan suasana dengan minimal oksigen, yang menghambat perkembangan mikroba aerob, sementara hanya sejumlah kecil mikroba anaerob fakultatif yang bisa bertahan. Suhu rendah ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$) juga berfungsi memperlambat proses metabolisme serta reaksi biokimia mikroba, yang pada gilirannya memperpanjang umur simpan dan meningkatkan efek antimikroba dari ekstrak daun pala (Khan et al., 2022; Deresa et al., 2023).

Mengingat hasil menunjukkan efek yang serupa antara penggunaan ekstrak daun pala pada konsentrasi 1,0% dan 0,1%, pengawetan jamur tiram cukup dilakukan dengan ekstrak daun pala pada konsentrasi 1%, karena sudah cukup efektif dalam menekan pertumbuhan mikroba hingga akhir masa penyimpanan. Oleh karena itu, ekstrak daun pala bisa digunakan sebagai pengawet alami dan antimikroba yang ramah lingkungan untuk jamur tiram segar pada penyimpanan dalam suhu dingin. Namun, diperlukan studi lebih lanjut hingga lebih dari 7 hari untuk memastikan kestabilan aktivitas antimikroba dalam jangka Panjang.



4.3.4 Hasil analisis ekstrak NL-AgNPs (*M. fragrans* Houtt.) terhadap populasi mikroba pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Gambar 25 menunjukkan hasil TFC pada jamur tiram yang diberi perlakuan 0%, 1% dan 0,1% NL-AgNPs dan disimpan pada suhu dingin ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 7 hari. Perlakuan NL-AgNPs 1% menunjukkan aktivitas antifungal yang cukup baik, yang ditandai dengan adanya penurunan jumlah mikroba pada hari ke-5. Sedangkan pada perlakuan NL-AgNPs 0,1% terlihat adanya penurunan jumlah mikroba yang relative stabil selama masa penyimpanan.



Gambar 25. Jumlah mikroba (TFC) yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi NL-AgNPs dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Hasil dari Gambar 25 menunjukkan bahwa kedua konsentrasi NL-AgNPs menunjukkan kemampuan dalam menekan laju pertumbuhan mikroba selama penyimpanan pada suhu dingin. Perlakuan dengan konsentrasi 0,1% berhasil menurunkan populasi mikroba menjadi $7,41 \pm 0,03 \log_{10}$ CFU/mL pada hari ke-1 dan cenderung menjaga populasi tetap stabil di angka $7,33 \log_{10}$ CFU/mL hingga hari ke-7. Sementara itu, konsentrasi 1% menunjukkan pola penghambatan yang lebih kuat namun tidak stabil. Pada hari ke-1, jumlah mikroba masih relatif tinggi yaitu $9,67 \pm 0,04 \log_{10}$ CFU/mL, kemudian mengalami penurunan signifikan hingga mencapai $5,16 \pm 0,03 \log_{10}$ CFU/mL pada hari ke-5 yang merupakan nilai terendah selama pengamatan. Namun, pada hari ke-7, jumlah mikroba kembali meningkat menjadi $6,90 \pm 0,03 \log_{10}$ CFU/mL. Hal ini bersifat fluktuatif pada suhu dingin.

Efektivitas NL-AgNPs dalam menghambat pertumbuhan mikroba berkaitan dengan mekanisme kerja nanopartikel perak yang melibatkan pelepasan ion Ag^+ , pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), serta interaksi langsung dengan membran sel mikroba yang menyebabkan kerusakan daun pala yang berperan sebagai agen pereduksi dan penstabil juga dapat memberikan efek sinergis terhadap aktivitas antimikroba. Namun, pada suhu dingin, efektivitas ini dapat menurun karena berkurangnya aktivitas metabolisme mikroorganisme serta melambatnya difusi dan pelepasan ion Ag^+ dari nanopartikel sehingga interaksi dengan sel mikroba menjadi kurang optimal (Madigan et al., 2018).

Jika dibandingkan dengan hasil penyimpanan pada suhu ruang ($25 \pm 2,0^\circ\text{C}$), terlihat jelas bahwa suhu memiliki pengaruh signifikan terhadap efektivitas ekstrak NL-AgNPs. Suhu merupakan elemen penting yang bisa mempengaruhi kemampuan antimikroba dari nanopartikel perak (Poorti Tamboli & Jha, 2021). Saat suhu ruangan lebih tinggi, laju pelepasan ion perak (Ag^+) dari nanopartikel mungkin meningkat, dan dengan metabolisme mikroba yang lebih aktif, sel-sel tersebut menjadi lebih rentan terhadap kerusakan. Ini memberikan penjelasan mengapa pada suhu ruangan, konsentrasi 0,1% menunjukkan kemampuan bakterisida yang lebih unggul dimana populasi mikroba berhasil ditekan hingga tidak terdeteksi pada hari

ke-7. Sementara itu pada konsentrasi 1% yang lebih tinggi, ada kemungkinan terjadi penggumpalan atau agregasi nanopartikel pada suhu ruangan yang lebih tinggi. Agregasi ini dapat mengurangi area permukaan efektif dari nanopartikel sehingga mengurangi efisiensi hambatnya seiring waktu (Alarjani et al., 2022). Hal ini terlihat dari peningkatan jumlah mikroba Kembali menjadi $7,30 \pm 0,03 \log_{10}$ CFU/mL pada hari ke-7 saat diinkubasi pada suhu ruangan. Perbedaan ini menunjukkan bahwa pada suhu ruangan, konsentrasi 0,1% lebih stabil dan efektif, sedangkan konsentrasi 1% menunjukkan daya hambat lebih konsisten pada suhu dingin di mana stabilitas partikel lebih terjaga.

Berdasarkan keseluruhan hasil penelitian, efektivitas perlakuan dipengaruhi oleh kombinasi antara jenis agen antifungal, konsentrasi, dan suhu penyimpanan. NL-AgNPs pada konsentrasi 0,1% pada suhu ruang menunjukkan kemampuan penghambatan yang baik, yang ditandai dengan penurunan jumlah mikroba secara signifikan selama penyimpanan. Namun, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memastikan berapa lama sampai mikroba tumbuh kembali. Di sisi lain, ekstrak daun pala 0,1% pada suhu dingin menunjukkan efektivitas yang relative stabil dalam menekan pertumbuhan mikroba dengan jumlah populasi yang lebih rendah. Dan jika fokusnya adalah pada biasa dan kemudahan penggunaan, maka ekstrak daun pala 0,1% pada suhu dingin dapat dijadikan pilihan. Kelebihan dari metode ini terletak pada proses produksinya yang jauh lebih sederhana dan lebih ekonomis dibandingkan dengan sintesis NL-AgNPs yang memerlukan bahan nitrat perak mahal serta proses yang lebih kompleks. Oleh karena itu, NL-AgNPs 0,1% memberikan pilihan yang paling seimbang antara biaya dan keuntungan untuk pengawetan makanan dalam kondisi dingin.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini akan menguraikan tentang (5.1) Kesimpulan dan (5.2) Saran

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan diperoleh beberapa Kesimpulan antara lain:

1. Sebanyak 100 gram bubuk halus daun pala (*M. fragrans* Houtt.) dilakukan analisis fisikimia dan didapatkan hasil kadar air bubuk daun pala sebesar $10,48 \pm 0,66$ (b/b), dengan hasil analisis warna $L^* 41,05 \pm 0,62$, $a^* 1,87 \pm 0,22$, $b^* 11,72 \pm 2,89$. pH bubuk daun pala didapatkan $4,43 \pm 0,07$, dan aktivitas air (A_w) sebesar $0,61 \pm 0,01$. Bubuk daun pala diekstraksi menggunakan *waterbath incubator shaker* dengan pelarut etanol 99,5% dengan perbandingan bahan baku dan pelarut 1:3 (b/v), yaitu 100 gram bubuk daun pala dalam 300 mL larutan etanol, proses ekstraksi ini menghasilkan rendemen ekstrak sebesar 11,32%. Sehingga etanol dapat digunakan untuk pelarut efektif dalam mengekstrak daun pala.
2. Ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) dan NL-AgNPs menunjukkan aktivitas antijamur yang signifikan terhadap empat patogen uji, yaitu *A. flavus*, *A. niger*, *R. oligosporus*, dan *R. oryzae*. Hal ini ditunjukkan oleh terbentuknya zona hambat yang nyata pada uji WDA, serta dikonfirmasi oleh nilai MIC dan MFC yang efektif. Secara khusus, perlakuan NL-AgNPs menunjukkan aktivitas penghambatan terkuat terhadap *A. niger* dan bahkan bersifat fungisida (membunuh jamur) terhadap *A. flavus* dan *R. oryzae*.
3. Aplikasi ekstrak daun pala (*M. fragrans* Houtt.) dan NL-AgNPs dengan konsentrasi 1% dan 0,1% pada jamur tiram selama penyimpanan pada suhu ruang ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) dan suhu dingin ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) menunjukkan bahwa secara signifikan kedua perlakuan berpengaruh dalam menurunkan populasi mikroba pada jamur tiram selama 7 hari penyimpanan. NL-AgNPs 0,1% pada suhu ruang menunjukkan efektivitas lebih baik karena mampu menekan pertumbuhan mikroba hingga tidak terdeteksi pada hari ke-7. Meskipun demikian, ekstrak daun pala tetap menunjukkan aktivitas

antimikroba dan berpotensi sebagai alternatif pengawet alami yang lebih sederhana dan ekonomis.

5.2 Saran

Berdasarkan Kesimpulan dari hasil penelitian yang telah dilakukan, beberapa saran yang dapat diberikan adalah sebagai berikut:

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengolahan bubuk daun pala dengan perlakuan yang berbeda, seperti penggunaan ukuran mesh yang bervariasi atau penggunaan pelarut yang berbeda, termasuk variasi konsentrasi etanol, guna mengetahui pengaruhnya terhadap karakteristik dan kandungan senyawa bioaktif bubuk daun pala.
2. Pada proses sintesis nanopartikel, pada penelitian selanjutnya dapat mempertimbangkan penggunaan jenis nanopartikel lain, seperti nanopartikel emas (*gold nanoparticles*), serta memperluas jenis mikroorganisme uji dengan menggunakan berbagai spesies jamur untuk memperoleh informasi yang lebih komprehensif mengenai aktivitas antifungal.
3. Disarankan untuk menggunakan variasi konsentrasi sampel yang lebih banyak serta memperpanjang waktu penyimpanan (misalnya 10, 14, 21, hingga 30 hari) dengan kondisi penyimpanan yang lebih bervariasi. Selain itu, aplikasi nanopartikel dapat diuji pada berbagai produk pangan lainnya untuk mengevaluasi potensi penggunaan secara lebih luas, serta disarankan untuk melakukan uji sensoris terhadap jamur tiram yang diberi perlakuan ekstrak daun pala dan NL-AgNPs, meliputi parameter warna, aroma, tekstur, dan Tingkat kesukaan serta mengevaluasi potensi aplikasinya dalam produk pangan.
4. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan karakterisasi yang lebih mendalam terhadap nanopartikel yang dihasilkan, seperti pengukuran ukuran partikel, distribusi ion Ag^+ , serta pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), dan analisis morfologi menggunakan SEM. Selain itu diperlukan uji toksisitas untuk memastikan keamanan penggunaan NL-AgNPs, terutama

jika akan diaplikasikan lebih lanjut atau dikomersialisasikan sebagai bahan pengawet pangan.

5. Penelitian selanjutnya juga perlu mengkaji secara mendalam faktor-faktor yang menyebabkan perlakuan belum mampu mencapai tingkat control mikroba yang optimal pada kondisi penyimpanan yang realistis. Selain itu, analisis biaya dan manfaat perlu dilakukan untuk membandingkan efektivitas dan efisiensi penggunaan ekstrak daun pala dan NL-AgNPs, sehingga dapat ditentukan perlakuan yang paling optimal dari segi performa, stabilitas, serta aspek ekonomi dalam aplikasinya.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdulzahra, B., Mohammed, A., Raed, H. K., Alkhursan, N., Abbas, B. A., Khudor, M. H., & Alkhursan, R. N. (2021). poultry feed fungi a practical guide polutry feed fungi a practical guide.
- Aboody, M. S. Al, & Mickymaray, S. (2020). Anti-fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. In *Antibiotics* (Vol. 9, Number 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020045>
- Abou Fayssal, S., El Sebaaly, Z., & Sassine, Y. N. (2023). *Pleurotus ostreatus* Grown on Agro-Industrial Residues: Studies on Microbial Contamination and Shelf-Life Prediction under Different Packaging Types and Storage Temperatures. *Foods*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/foods12030524>
- Adibuduge, Y., & Senevirathne, M. (2023). Potential of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) Leaf Extracts as a Source of Functional Ingredients with Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Activities. *Journal of Agricultural Sciences - Sri Lanka*, 18(2), 221–236. <https://doi.org/10.4038/jas.v18i2.10255>
- Aguilera, J., Cárdenas-González, D., Sánchez-Roldán, C., González, S., Bosch-García, R., Herrera-Ceballos, E., & de Gálvez, M. V. (2024). Qualitative and quantitative analysis of colorimetric response in different UV solar radiation level indicator bracelets based on photochromic substances. *Frontiers in Photobiology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fphbi.2024.1281474>
- Akcay, C., Ceylan, F., & Arslan, R. (2023). Production of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) from some waste lignocellulosic materials and FTIR characterization of structural changes. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40200-x>
- Aladhadh, M. (2023). A Review of Modern Methods for the Detection of Foodborne Pathogens. In *Microorganisms* (Vol. 11, Number 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051111>
- Alarjani, K. M., Huessien, D., Rasheed, R. A., & Kalaiyarasi, M. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles by *Pisum sativum* L. (pea) pod against multidrug resistant foodborne pathogens. *Journal of King Saud University -*

- Science*, 34(3). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2022.101897>
- Albasher, G. (2024). Plant-Derived Polyphenols and Their Antifungal Mechanisms: Insights for Biomedical and Food Applications. *13*(3), 418.
- Alizadeh-Sani, M., Mohammadian, E., & McClements, D. J. (2020). Eco-friendly active packaging consisting of nanostructured biopolymer matrix reinforced with TiO₂ and essential oil: Application for preservation of refrigerated meat. *Food Chemistry*, 322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126782>
- Al-Qahtani, W. H., Dinakarkumar, Y., Arokiyaraj, S., Saravanakumar, V., Rajabathar, J. R., Arjun, K., Gayathri, P. K., & Nelson Appaturi, J. (2022). Phyto-chemical and biological activity of *Myristica fragrans*, an ayurvedic medicinal plant in Southern India and its ingredient analysis: Phyto-chemical and biological activity of *Myristica fragrans*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3815–3821. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.02.043>
- Aryasa, I. W. T., & Artini, N. P. R. (2022). Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Kayu tulak Leaf (*Schefflera Elliptica* Harms) Infusion as a Bio-reductant and Its Antibacterial Activity. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 25(6), 212–217. <https://doi.org/10.14710/jksa.25.6.212-217>
- Ashokkumar, K., Simal-Gandara, J., Murugan, M., Dhanya, M. K., & Pandian, A. (2022). Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) essential oil: A review on its composition, biological, and pharmacological activities. In *Phytotherapy Research* (Vol. 36, Number 7, pp. 2839–2851). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/ptr.7491>
- Azhari, S., Kurniaty, R., Yusuf, M., Zulyani, R., Mustika, W., & Farida, M. (2024). Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanolic extract of nutmeg flesh (*Myristica fragrans*) from southern Aceh Province, Indonesia. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(4).
- Azwanida, N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 04(03), 2–3. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>
- Behravan, M., Hossein Panahi, A., Naghizadeh, A., Ziaee, M., Mahdavi, R., & Mirzapour, A. (2019). Facile green synthesis of silver nanoparticles using

- Berberis vulgaris leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.101>
- Bellettini, M. B., Bellettini, S., Fiorda, F. A., Pedro, A. C., Bach, F., Fabela-Morón, M. F., & Hoffmann-Ribani, R. (2018). Diseases and pests noxious to *Pleurotus spp.* mushroom crops. *Revista Argentina de Microbiologia*, 50(2), 216–226. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.08.007>
- Benabda, O., M'Hir, S., Kasmi, M., Mnif, W., & Hamdi, M. (2019). Optimization of Protease and Amylase Production by *Rhizopus oryzae* Cultivated on Bread Waste Using Solid-State Fermentation. *Journal of Chemistry*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3738181>
- Bermudes, A. (2025). innovative food packaging and processing technologies.
- Bintsis, T. (2017). Foodborne pathogens. In *AIMS Microbiology* (Vol. 3, Number 3, pp. 529–563). AIMS Press. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.529>
- Byasal, E., Yigitbasi, O., & Ayaz, F. (2020). Contamination problems in *Pleurotus cultivation and control methods*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 104(11), 1–12.
- Cahya, M., Hartanto, R., & Novita, D. D. (2014). [the study of decreasing of quality and shelf life of fresh white oyster mushroom (*pleurotus ostreatus*) in the polypropylene packaging at room and low temperature]. In *Jurnal Teknik Pertanian Lampung* (Vol. 3, Number 1).
- CDC. (2024). *About Aspergillosis*. U.S. Department of Health & Human Services. <https://www.google.com/search?q=https://www.cdc.gov/fungal/diseases/aspergillosis/definition.html>
- Chayakrit, K., Ameesh, I., Joshua, H., Zhen, W., Sonya, F., & Dhruvajyoti, B. (2021). *Mushroom Consumption and Cardiovascular Health: A Systematic Review*. 5(134).
- Chen, C. (2019). Relationship between water activity and moisture content in floral honey. *Foods*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/foods8010030>
- Choudhary, M., Kumar, V., Naik, B., Verma, A., Saris, P. E. J., Kumar, V., & Gupta, S. (2022a). Antifungal metabolites, their novel sources, and targets to

- combat drug resistance. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1061603>
- Choudhary, M., Kumar, V., Naik, B., Verma, A., Saris, P. E. J., Kumar, V., & Gupta, S. (2022b). Antifungal metabolites, their novel sources, and targets to combat drug resistance. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1061603>
- Dantas, T. dos S., Machado, J. C. B., Ferreira, M. R. A., & Soares, L. A. L. (2025). Bioactive Plant Compounds as Alternatives Against Antifungal Resistance in the *Candida* Strains. In *Pharmaceutics* (Vol. 17, Number 6). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17060687>
- Dinakar kumar, Y., Arokiyaraj, S., Saravanakumar, V., Rajabathar, J. R., Arjun, K., Gayathri, P. K., & Nelson Appaturi, J. (2022). Phyto-chemical and biological activity of *Myristica fragrans*, an ayurvedic medicinal plant in Southern India and its ingredient analysis: Phyto-chemical and biological activity of *Myristica fragrans*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3815–3821. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.02.043>
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
- Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2004). Chemical composition, antimicrobial and in vitro antioxidant properties of monarda citriodora var. citriodora, *myristica fragrans*, *origanum vulgare ssp. hirtum*, *pelargonium sp.* and *thymus zygis* oils. *Journal of Essential Oil Research*, 16(2), 145–150. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698679>
- Dozio, D., Sacchi, F., Pinto, A., Dallavalle, S., Annunziata, F., & Princiotta, S. (2025). Natural Antifungal Alkaloids for Crop Protection: An Overview of the Latest Synthetic Approaches. In *Pharmaceutics* (Vol. 18, Number 4). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).

<https://doi.org/10.3390/ph18040589>

- Effiong, M. E., Umeokwochi, C. P., Afolabi, I. S., & Chinedu, S. N. (2023). Assessing the nutritional quality of *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom). *Frontiers in Nutrition*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1279208>
- El-Maradny, Y. A., Abouakkada, A. S., Abbass, A. A. G., Abaza, A. F., & El-Fakharany, E. M. (2025). Prebiotic properties and antioxidant effect of crude extracts and polysaccharides from *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *Scientific Reports*, *15*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-025-16152-9>
- Fawwaz, M., Nurdiansyah, S., & Baits, M. (2017). Potensi daun pala (*myristica fragrans* Houtt) sebagai sumber fenolik. In *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* (Vol. 4, Number 1).
- Feng, X.-Mei. (2006). *Microbial dynamics during barley tempeh fermentation*. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Franconi, I., & Lupetti, A. (2023). In Vitro Susceptibility Tests in the Context of Antifungal Resistance: Beyond Minimum Inhibitory Concentration in *Candida spp.* In *Journal of Fungi* (Vol. 9, Number 12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/jof9121188>
- galappaththi Mahesh, Madawala, S., Dauner, L., & Karunarathna, S. (2021). Nutritional and medicinal benefits of Oyster (*Pleurotus*) mushrooms: a review. *Fungal Biotech*, *1*(2), 65–87. <https://doi.org/10.5943/funbiotec/1/2/5>
- Gupta, A., & Rajpurohit, D. (2013). Antimicrobial activity of acetone extract of *Myristica fragrans* Houtt. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *2*(2), 117–122.
- Hanen, Z., Sevastianos, R., Mohamed Hamza, A., & Ali, R. (2019). Biodiversity and biotechnological potential of filamentous fungi isolated from Tunisian olive mill biotope. *International Journal of Biosciences (IJB)*, 1–15. <https://doi.org/10.12692/ijb/14.5.1-15>
- Hasan, M., Rahman, M., & Jahan, N. (2020). Effect of pH and temperature on the growth and yield of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Journal of Advanced Biotechnology and Experimental Therapeutics*, *3*(1), 59–64.

- Hashem, A. H., Saied, E., Amin, B. H., Alotibi, F. O., Al-Askar, A. A., Arishi, A. A., Elkady, F. M., & Elbahasawy, M. A. (2022). Antifungal Activity of Biosynthesized Silver Nanoparticles (AgNPs) against Aspergilli Causing Aspergillosis: Ultrastructure Study. *Journal of Functional Biomaterials*, *13*(4). <https://doi.org/10.3390/jfb13040242>
- Hassanien, A. A., Shaker, E. M., El-Sharkawy, E. E., & Elsherif, W. M. (2021). Antifungal and antitoxin effects of propolis and its nanoemulsion formulation against *Aspergillus flavus* isolated from human sputum and milk powder samples. *Veterinary World*, *14*(9), 2306–2312. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2306-2312>
- Hidayat, P., Sari, N., & Rahmat, A. (2022). Pengaruh pH dan Suhu terhadap Pertumbuhan Miselium Jamur Makroskopis Asal Taman Nasional Bukit Duabelas. *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya. Jurnal Biologi Dan Pembelajarannya*, *18*(1), 1–8.
- Hossain, C. M., Ryan, L. K., Gera, M., Choudhuri, S., Lyle, N., Ali, K. A., & Diamond, G. (2022). Antifungals and Drug Resistance. *Encyclopedia*, *2*(4), 1722–1737. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia2040118>
- Iravani, S. (2011a). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, *13*(10), 2638–2650. <https://doi.org/10.1039/c1gc15386b>
- Iravani, S. (2011b). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, (10).
- Karataş, H., Eker, F., Akdaşçı, E., Bechelany, M., & Karav, S. (2026). Silver Nanoparticles in Antibacterial Research: Mechanisms, Applications, and Emerging Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, *27*(2), 927. <https://doi.org/10.3390/ijms27020927>
- Kharissova, O. V., Dias, H. V. R., Kharisov, B. I., Pérez, B. O., & Pérez, V. M. J. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. In *Trends in Biotechnology* (Vol. 31, Number 4, pp. 240–248). <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.01.003>
- Klich, M. A. (2007). Environmental and developmental factors influencing aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. In

- Mycoscience* (Vol. 48, Number 2, pp. 71–80). Springer Japan.
<https://doi.org/10.1007/s10267-006-0336-2>
- Kumar Biswas, M. (2016). Fungal contaminants of oyster mushroom beds (Pleurotus Ostreatus), their management and role of environmental factors. In: Family Farming Challenges and Opportunities.
<https://www.researchgate.net/publication/324112635>
- Kumar, P., Mahato, D. K., Kamle, M., Mohanta, T. K., & Kang, S. G. (2017). Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 7, Number JAN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02170>
- Kumla, J., Suwannarach, N., Sujarit, K., Penkhrue, W., Kakumyan, P., Jatuwong, K., Vadthanarat, S., & Lumyong, S. (2020). Cultivation of mushrooms and their lignocellulolytic enzyme production through the utilization of agro-industrial waste. In *Molecules* (Vol. 25, Number 12). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/molecules25122811>
- Kurniawati, R., Rahmawati, U., & Suyana. (2021). Pemanfaatan tepung beras putih (*oryza sativa* L.) varietas ir64 sebagai media alternatif untuk pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*. Utilization of white rice flour (*Oryza sativa* L.) ir64 variety as an alternative media for fungal growth *Aspergillus flavus*.
- Kursa, W., Jamiołkowska, A., Wyrostek, J., & Kowalski, R. (2022). Antifungal Effect of Plant Extracts on the Growth of the Cereal Pathogen *Fusarium* spp.— An In Vitro Study. *Agronomy*, 12(12).
<https://doi.org/10.3390/agronomy12123204>
- Lady Yunita Handoyo Prodi, D. S., & Ilmu Kesehatan, F. (2020). Pengaruh Lama Waktu Maserasi (Perendaman) Terhadap Kekentalan Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle) The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (Piper Betle) (Vol. 2, Number 1).
- Lanza, B., Di Marco, S., Bacceli, M., Di Serio, M. G., Di Loreto, G., Cellini, M., & Simone, N. (2021). *Lactiplantibacillus plantarum* used as single, multiple, and mixed starter combined with *Candida boidinii* for table olive fermentations: Chemical, textural, and sensorial characterization of final products.

- Fermentation*, 7(4). <https://doi.org/10.3390/fermentation7040239>
- Lawalata, M., Thenu, S. F. W., & Tamaela, M. (n.d.). Kajian pengembangan potensi perkebunan pala Banda di Kecamatan Banda Neira, Kabupaten Maluku Tengah: Study of the development of Banda nutmeg plantation potency in Banda Neira District, Central Maluku Regency.
- Lee, J. E., Jayakody, J. T. M., Kim, J. Il, Jeong, J. W., Choi, K. M., Kim, T. S., Seo, C., Azimi, I., Hyun, J. M., & Ryu, B. M. (2024). The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review. In *Foods* (Vol. 13, Number 19). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/foods13193151>
- Liaqat, N., Jahan, N., Khalil-ur-Rahman, Anwar, T., & Qureshi, H. (2022). Green synthesized silver nanoparticles: Optimization, characterization, antimicrobial activity, and cytotoxicity study by hemolysis assay. *Frontiers in Chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.952006>
- Lientje Kakerissa, A., Kunci, K., Biji Pala, T., & Arang Biomassa, B. (2020). Pemanfaatan limbah tempurung biji pala sebagai bahan bakar alternatif briket arang biomassa. *Prosiding Seminar Nasional "ARCHIPELAGO ENGINEERING,"* 3, 33–39.
- Madhumathy S. (2012). IJFans International Journal of food and nutritional sciences water activity and its impacts on food stability. in *i) Journal* (Vol. 10).
- Mandy, S. (2025). My Top 6 Preservatives to Avoid! *Mandy Sacher Nutrition*, 1–3.
- Mardiana, S., Panggabean, E. L., Apriliya, I., & Usman, M. (2023a). Analysis of formulation media for planting oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) agricultural waste based materials. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 9(2), 201–208. <https://doi.org/10.31289/biolink.v9i2.7504>
- Mardiana, S., Panggabean, E. L., Apriliya, I., & Usman, M. (2023b). Analysis of formulation media for planting oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) agricultural waste based materials. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan*

- Industri Kesehatan*), 9(2), 201–208.
<https://doi.org/10.31289/biolink.v9i2.7504>
- Marion, V., Nguyen Van Long, N., Jany, J.-L., Bregier, T., Pawtowski, A., Barbier, G., Rigalma, K., & Vasseur, V. (2022). Impact of water activity on the radial growth of fungi in a dairy environment. *Food Research International*, 157. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111247i>
- Maslahah, N. (2024). Standar Simplisia Tanaman Obat sebagai bahan sediaan herbal (Vol. 2, Number 2). <https://poltekkespim.ac.id>
- Maurya, V., Kachhwaha, D., Bora, A., Khatri, P., & Rathore, L. (2019). Determination of antifungal minimum inhibitory concentration and its clinical correlation among treatment failure cases of dermatophytosis. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 8(8), 2577. https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe_483_19
- Mendonca, A., Thomas-Popo, E., & Gordon, A. (2020). Microbiological considerations in food safety and quality systems implementation. In *Food Safety and Quality Systems in Developing Countries: Volume III: Technical and Market Considerations* (pp. 185–260). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814272-1.00005-X>
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. A., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & Mclaughlin, J. L. (1982). *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents* (Vol. 45).
- Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. In *Biotechnology Advances* (Vol. 31, Number 2, pp. 346–356). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003>
- Monisha, K., & Mariyanancyarputha, L. (2022). Characterization and Mycotoxin Screening of Fungal Isolates from Palm Sugar. *International Journal of Advanced Health Science and Technology*, 2(5). <https://doi.org/10.35882/ijahst.v2i5.149>
- Mubasshira, M., Aminuzzaman, F. M., Sultana, N., & Tanni, J. F. (2020). Impact of Different Substrates and Mother Cultures on Yield and Yield Attributes of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Asian Food Science Journal*, 25–38.

<https://doi.org/10.9734/afsj/2020/v19i330241>

- Muslimah, Y., Afrillah, M., Lizmah, S. F., Junita, D., Harahap, E. J., & Program, A. S. (2024). identification of cultivation management and abiotic components in people's nutmeg plantations in south aceh regency. In *International Journal of Social Science*.
- Mutia Windy, Y., Natasya Dilla, K., Claudia, J., & Rakhman Hakim, A. (2022). Characterization And Formulation Of Nanoparticles Extract Of Bundung Plant (Actinoscirpus Grossus) With Variations In Concentration Of Chitosan And Na-TPP Bases Using The Ionic Gelation Method. <https://doi.org/10.33084/jsm.vxix.xxx>
- Nadia, L. S., Lejap, T. Y. T., & Rahmanto, L. (2023). Pengaruh Pengolahan Pangan terhadap Kadar air Bahan Pangan. *Journal of Innovative Food Technology and Agricultural Product*, 5–8. <https://doi.org/10.31316/jitap.vi.5780>
- Nikolic, vesna, Nikolic, L., Dinic, A., Gajic, I., & Stanojevic, L. (2021). Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) Seed Essential Oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 24(2), 218–227.
- Ningrum, A., Balqis, D., Lismianisarie Anisa, & Swandi, S. (2023). Aplikasi nanoteknologi untuk meningkatkan manfaat. *Scientific Journal of Food Technology*, 10(1), 2.
- Okla, M. K., Alatar, A. A., Al-Amri, S. S., Soufan, W. H., Ahmad, A., & Abdel-Maksoud, M. A. (2021). Article antibacterial and antifungal activity of the extracts of different parts of avicennia marina (Forssk.) vierh. *Plants*, 10(2), 1–13. <https://doi.org/10.3390/plants10020252>
- Oktavia, I. N., & Sutoyo, S. (2021). Article review: synthesis of silver nanoparticles using bioreductor from plant extract as an antioxidant. In *UNESA Journal of Chemistry* (Vol. 10, Number 1).
- Pasquet, P. L., Julien-David, D., Zhao, M., Villain-Gambier, M., & Trébouet, D. (2024). Stability and preservation of phenolic compounds and related antioxidant capacity from agro-food matrix: Effect of pH and atmosphere. *Food Bioscience*, 57. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103586>

- Patricia, V., & Keperawatan Aisyiyah Palembang Abstrak, A. (2014). Efek Imunostimulasi Ekstrak Etanol Tubuh Buah Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus* Jacq. Fr. Kumm.) terhadap Aktivitas Makrofag Mencit (*Swiss Webster*) (Vol. 4, Number 2).
- Perrone, G., & Gallo, A. (2017). *Aspergillus* Species and Their Associated Mycotoxins . In *Mycotoxigenic Fungi: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology* (Vol. 1542, pp. 33–49). Springer Science+Business MediaLLC.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). Fungi and food spoilage. In *Fungi and Food Spoilage*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
- Polanco, V., Cerdá-Bernad, D., Quispe-Fuentes, I., Bernal, C., & López, J. (2024). Bioactive Content and Antioxidant Properties of Spray-Dried Microencapsulates of *Peumus boldus* M. Leaf Extracts. *Antioxidants*, *13*(12). <https://doi.org/10.3390/antiox13121568>
- Poorti Tamboli, D. P., & Jha, R. (2021). Biosynthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles by *Aspergillus niger* Isolated from the Rotten Onion. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *10*(10), 489–500. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2021.1010.059>
- Prasasti, H. A., Toto Toharmat, & Prihantoro, I. (2024). Karakteristik Fermentasi Kedelai yang Diperkaya Cu dengan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Ilmu Nutrisi Dan Teknologi Pakan*, *22*(3), 183–189. <https://doi.org/10.29244/jintp.22.3.183-189>
- Putri, F. H., Taebe, B., & Iqbal, M. (2024). Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.). *Jurnal Novem Medika Farmasi*, *2*(2), 17–27.
- Putu, N., & Paramita, R. (2021). Identifikasi Jamur pada Beberapa Bumbu Dapur Secara Makroskopis dan Mikroskopis. In *Jurnal Bioshell* (Vol. 10, Number 1).
- Qurrataayun, S., Rifai, Y., Rante, H., Kunci, K., Biosintesis, :, & Citratus, C. (2022). Sintesis hijau nanopartikel perak (AGNPs) menggunakan ekstrak daun

- serai (*Cymbopogon citratus*) sebagai bioreduktor. *Original Article MFF*, 26(3), 124–128. <https://doi.org/10.20956/mff.v26i3.21047>
- Rastuti, U., Widyaningsih, S., Kartika, D., & Ningsih, D. R. (2013). Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun pala dari Banyumas... (Undri Rastuti dkk.) 197 aktivitas antibakteri minyak atsiri daun pala dari Banyumas terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta identifikasi senyawa penyusunnya.
- Redondo-Blanco, S., Fernández, J., López-Ibáñez, S., Miguélez, E. M., Villar, C. J., & Lombó, F. (2020). Plant phytochemicals in food preservation: Antifungal bioactivity: A review. *Journal of Food Protection*, 83(1), 163–171. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-163>
- Riswan, M. (2023). Produksi jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) pada komposisi media tanam yang berbeda. *Jurnal Produksi Tanaman*, 11(1), 55–62.
- Rodríguez-González, M., Fonseca, S., Centeno, J. A., & Carballo, J. (2020). Biochemical changes during the manufacture of galician chorizo sausage as affected by the addition of autochthonous starter cultures. *Foods*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/FOODS9121813>
- Rosidah, R., Azizah, A. S., Megawati, H. P., & Rivaldi, R. (2023). Analisis Morfologi Fungi pada Tempe Kemasan Daun dan Tempe Kemasan Plastik. *Jurnal Pengabdian Masyarakat Biologi Dan Sains*, 2(1), 48–57. <https://doi.org/10.30998/jpmbio.v2i1.1930>
- Saharan, V. (2020). Antifungal activity of plant extracts and nanoparticles against *Rhizopus* and *Aspergillus* species associated with food spoilage. *Journal Microbiology*, 11.
- Saleem, M., Akhtar, F., & Anjum, A. (2022). Triterpenoids: Bioactive Compounds with Potential Therapeutic Applications Against Microbial Pathogens. *Journal of Functional Foods*.
- Sari, Y., Syahrul, S., & Iriani, D. (2021). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan pada Kijing (*Pylsbyoconcha Sp*) dengan Pelarut Berbeda. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 13(1), 16–20. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v13i1.18324>

- Septiana, L. M., Ajizah, A., Halang, B., Biologi, P., & Keguruan, F. (2023). Karakterisasi Jamur Mikroskopis Pada Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Sebagai Materi Pengayaan Konsep Fungi Kelas X SMA/MA (Vol. 2, Number 3). <https://jurnal.jomparnd.com/index.php/jp>
- Shahzadi, S., Fatima, S., Ul Ain, Q., Shafiq, Z., & Janjua, M. R. S. A. (2025). A review on green synthesis of silver nanoparticles (SNPs) using plant extracts: A multifaceted approach in photocatalysis, environmental remediation, and biomedicine. In *RSC Advances* (Vol. 15, Number 5, pp. 3858–3903). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d4ra07519f>
- Sharma, V., Singh, P., & Singh, A. (2024). Shelf-life extension of fresh mushrooms: From conventional practices to novel technologies—A comprehensive review. *Future Postharvest and Food*, *1*(3), 317–333. <https://doi.org/10.1002/fpf2.12029>
- Singh, J., Kumar, A., Nayal, A. S., Vikal, S., Shukla, G., Singh, A., Singh, A., Goswami, S., Kumar, A., Gautam, Y. K., Verma, Y., Gaurav, S. S., & Pratap, D. (2024). Comprehensive antifungal investigation of green synthesized silver nanoformulation against four agriculturally significant fungi and its cytotoxic applications. *Scientific Reports*, *14*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-56619-9>
- Singh, P. (2022). Mycosynthesis of Silver Nanoparticles from *Rhizopus* Species and Their Antifungal Mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, *12*(24).
- Siti Aminah, I., & Hawalid, H. (2020). Budidaya jamur tiram putih (*Pleurotus ostreatus*) sebagai upaya.
- Siti Zulaicha, A., Syahjoko Saputra, I., Puspita Sari, I., Alvien Ghifari, M., Yulizar, Y., & Nopiandi Permana, Y. (2021a). Green Synthesis Nanopartikel Perak (AgNPs) Menggunakan Bioreduktor Alami Ekstrak Daun Ilalang (*Imperata cylindrica* L). In *RJNASJ Rafflesia Journal of Natural and Applied Sciences* (Vol. 2021, Number 1).
- Siti Zulaicha, A., Syahjoko Saputra, I., Puspita Sari, I., Alvien Ghifari, M., Yulizar, Y., & Nopiandi Permana, Y. (2021b). Green Synthesis Nanopartikel Perak (AgNPs) Menggunakan Bioreduktor Alami Ekstrak Daun Ilalang (*Imperata*

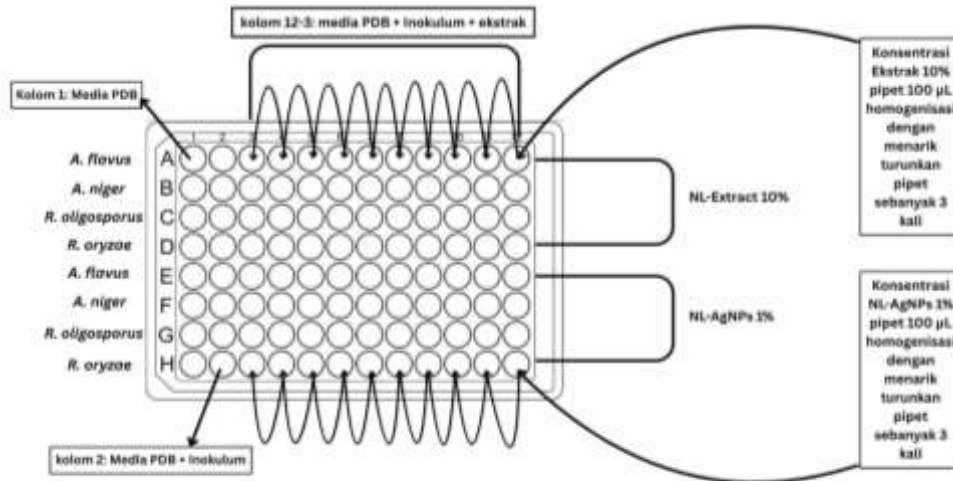
- cylindrica L). In *RJNASJ Rafflesia Journal of Natural and Applied Sciences* (Vol. 2021, Number 1).
- Slavin, Y. N., & Bach, H. (2022). Mechanisms of Antifungal Properties of Metal Nanoparticles. In *Nanomaterials* (Vol. 12, Number 24). MDPI. <https://doi.org/10.3390/nano12244470>
- Snyder, A. B., & Worobo, R. W. (2018). Fungal spoilage in food processing. In *Journal of Food Protection* (Vol. 81, Number 6, pp. 1035–1040). International Association for Food Protection. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-031>
- Sofos, J. N., & Busta, F. F. (1981). Antimicrobial Activity of Sorbate. *Journal of Food Protection*, 44(8), 614–623. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-44.8.614>
- Srinivasan, K. (2021). Bioactive compounds of *Myristica fragrans* and their pharmacological properties. *Journal of Plants*, 10(11).
- Sukumaran, P., & Poulouse, E. (2012). Silver nanoparticles: Mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters*, 2(1), 32.
- Sulistiyarsi, A., & Waskito Ardhi, M. (2016). Pengaruh Konsentrasi dan Lama Inkubasi terhadap Kadar Protein Crude Enzim Selulase dari Kapang *Aspergillus niger* (Vol. 13, Number 1).
- Sumberejo Kabupaten Tanggamus Lampung, K., Widayanti, E., Bintoro, A., Kehutanan, J., Pertanian, F., Lampung Jl Sumantri Brojonegoro No, U., & Lampung, B. (2020). Struktur dan komposisi vegetasi agroforest Pala (*Myristica fragrans*) (Vol. 4, Number 1).
- Tarannum, N., Divya, & Gautam, Y. K. (2019). Facile green synthesis and applications of silver nanoparticles: A state-of-the-art review. *RSC Advances*, 9(60), 34926–34948. <https://doi.org/10.1039/c9ra04164h>
- Tiupova, A., Olędzki, R., & Harasym, J. (2025). Physicochemical, Functional, and Antioxidative Characteristics of Oyster Mushrooms. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 15, Number 3). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/app15031655>

- Tiwari, B. K., Valdramidis, V. P., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., Bourke, P., & Cullen, P. J. (2009). Application of natural antimicrobials for food preservation. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 57, Number 14, pp. 5987–6000). <https://doi.org/10.1021/jf900668n>
- Tortella, G. R., Rubilar, O., Durán, N., Diez, M. C., Martínez, M., Parada, J., & Seabra, A. B. (2020). Silver nanoparticles: Toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment. In *Journal of Hazardous Materials* (Vol. 390). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121974>
- Trifan, A., Zengin, G., Korona-Glowniak, I., Skalicka-Woźniak, K., & Luca, S. V. (2023). Essential Oils and Sustainability: In Vitro Bioactivity Screening of *Myristica fragrans* Houtt. Post-Distillation By-Products. *Plants*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/plants12091741>
- Widyawati, R., Hidayah, N., Lailia, W., Kusuma, D., Nuwa, M. I., Studi, P., Hewan, K., Wijaya, U., Surabaya, K., Dukuh, J., & Surabaya, K.-54. (2020). Potensi Ekstrak Daun Pala (*Myristica Fragrans* Houtt) Sebagai Pengawet Alami Terhadap Kualitas Daging Ayam Broiler. *Jurnal Ilmiah Fillia Cendekia*, 5(2), 47. <https://doi.org/10.32503/fillia.v5i2.1170>
- Willian, N., Pardi, H., & Arief, S. (2023). Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Buah Mangrove *Rhizophora stylosa*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 19(1), 53. <https://doi.org/10.20961/alchemy.19.1.59359.53-60>
- Xue, D. S., Wang, J. B., & Yao, S. J. (2015). High production of β -glucosidase from a marine *Aspergillus niger* immobilized on towel gourd vegetable sponges. *Chinese Chemical Letters*, 26(8), 1011–1015. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2015.05.019>
- Yuan, Y. (2023). Synergistic Antifungal Mechanism of Plant-Derived Compounds and Silver Nanoparticles against Foodborne Fungi. 14.
- Yuniarty, T., & Rosanty, A. (2017). Pemanfaatan sari pati buah Sukun (*Artocarpus altilis*) sebagai alternatif media pertumbuhan *Aspergillus niger*. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 5(2), 117–121. <https://doi.org/10.24252/bio.v5i2.3884>



LAMPIRAN

Lampiran 1. Layout 96 Well Plate



Lampiran 2. Two-way ANOVA: Inhibition Zone versus Fungi strands, Concentration

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Concentration	Fixed	2	1%; 10%
Fungi	Fixed	4	<i>A. flavus</i> ; <i>A. niger</i> ; <i>R. oligosporus</i> ; <i>R. oryzae</i>

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
konsentrasi	1	6,827	6,827	1,18	0,294
fungi	3	24,088	8,029	1,38	0,284
konsentrasi*fungi	3	16,730	5,577	0,96	0,435
Error	16	92,793	5,800		
Total	23	140,438			

Tukey Pairwise Comparisons: Concentrations

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Concentration	N	Mean	Grouping
10%	12	9,12500	A
1%	12	8,05833	A

Note:

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Fungi**Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence**

Fungi	N	Mean	Grouping
<i>Aspergillus flavus</i>	6	9,86667	A
<i>Rhizopus oligosporus</i>	6	8,91667	A
<i>Rhizopus oryzae</i>	6	8,50000	A
<i>Aspergillus niger</i>	6	7,08333	A

Note:

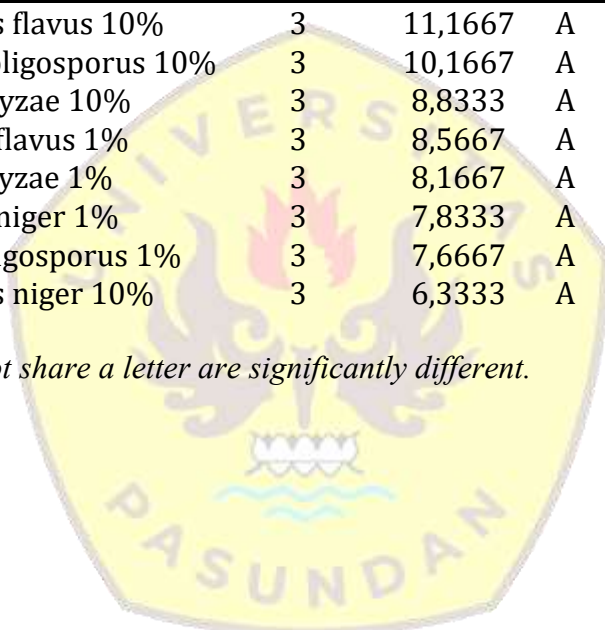
Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Concentrations*Fungi**Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence**

Concentration*Fungi	N	Mean	Grouping
10% <i>Aspergillus flavus</i> 10%	3	11,1667	A
10% <i>Rhizopus oligosporus</i> 10%	3	10,1667	A
10% <i>Rhizopus oryzae</i> 10%	3	8,8333	A
1% <i>Aspergillus flavus</i> 1%	3	8,5667	A
1% <i>Rhizopus oryzae</i> 1%	3	8,1667	A
1% <i>Aspergillus niger</i> 1%	3	7,8333	A
1% <i>Rhizopus oligosporus</i> 1%	3	7,6667	A
10% <i>Aspergillus niger</i> 10%	3	6,3333	A

Note:

Means that do not share a letter are significantly different.



Lampiran 3. *Analysis of Varians* (Aplikasi Ekstrak)

Jumlah mikroba TFC yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi ekstrak daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu ruang ($25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Two-way ANOVA: Jumlah Mikroba terhadap Hari, Konsentrasi

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance	$\alpha = 0.05$

Note:

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Concentration	Fixed	3	0,00%; 0,10%; 1,00%
Days	Fixed	4	0; 1; 5; 7

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Concentration	2	25,939	12,9693	1024,23	0,000
Days	3	39,297	13,0989	1034,46	0,000
Concentration*Days	6	91,085	15,1808	1198,88	0,000
Error	12	0,152	0,0127		
Total	23	156,472			

Tukey Pairwise Comparisons: Days

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Days	N	Mean	Grouping
0	6	9,39000	A
1	6	8,57000	B
7	6	6,99833	C
5	6	6,13000	D

Note:

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Concentration**Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence**

Concentration	N	Mean	Grouping
0,00%	8	8,75500	A
0,10%	8	8,22750	B
1,00%	8	6,33375	C

Note:

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Concentration*Days**Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence**

Concentration*Days	N	Mean	Grouping
0,10% 0	2	9,390	A
1,00% 0	2	9,390	A
0,00% 0	2	9,390	A
0,00% 1	2	9,370	A B
0,10% 5	2	9,210	A B
0,00% 5	2	9,180	A B
1,00% 1	2	8,935	B
0,10% 1	2	7,405	C
0,00% 7	2	7,080	C D
1,00% 7	2	7,010	C D
0,10% 7	2	6,905	D
1,00% 5	2	0,000	E

Lampiran 4. Analysis of Varians (Aplikasi Ekstrak)

Jumlah mikroba TFC yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi NL-AgNPs (*Myristica fragrans* Houtt.) dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu ruang ($25 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Two-way ANOVA: Jumlah Mikroba terhadap Hari, Konsentrasi**Method**

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance	$\alpha = 0.05$

Note:

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Concentration	Fixed	3	0,00%; 0,10%; 1,00%
Days	Fixed	4	0; 1; 5; 7

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Concentration	2	15,0012	7,50060	843,16	0,000
Days	3	16,8290	5,60968	630,60	0,000
Concentration*Days	6	12,6605	2,11008	237,20	0,000
Error	12	0,1068	0,00890		
Total	23	44,5975			

Tukey Pairwise Comparisons: Concentration**Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence**

Concentration	N	Mean	Grouping
0,00%	8	9,25625	A
1,00%	8	8,35625	B
0,10%	8	7,32125	C

Means that do not share a letter are significantly different

Tukey Pairwise Comparisons: Days**Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence**

Days	N	Mean	Grouping
0	6	9,39000	A
1	6	8,81667	B
7	6	7,77500	C
5	6	7,26333	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Concentration*Days

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

<u>Concentration*Days</u>	<u>N</u>	<u>Mean</u>	<u>Grouping</u>		
1,00% 1	2	9,670	A		
0,10% 0	2	9,390	A	B	
1,00% 0	2	9,390	A	B	
0,00% 0	2	9,390	A	B	
0,00% 1	2	9,370	A	B	
0,00% 5	2	9,180		B	
0,00% 7	2	9,085		B	
1,00% 5	2	7,455			C
0,10% 1	2	7,410			C
0,10% 7	2	7,330			C
1,00% 7	2	6,910			D
0,10% 5	2	5,155			E

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 5. Analysis of Varians (Aplikasi Ekstrak)

Jumlah mikroba TFC yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi ekstrak daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Two-way ANOVA: Jumlah Mikroba terhadap Hari, Konsentrasi

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance	$\alpha = 0.05$

Note:

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

<u>Factor</u>	<u>Type</u>	<u>Levels</u>	<u>Values</u>
Concentration	Fixed	3	0,00%; 0,10%; 1,00%
Days	Fixed	4	0; 1; 5; 7

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Concentration	2	4,6565	2,32824	139,69	0,000
Days	3	12,1244	4,04148	242,49	0,000
Concentration*Days	6	7,6111	1,26852	76,11	0,000
Error	12	0,2000	0,01667		
Total	23	24,5920			

Tukey Pairwise Comparisons: Concentration**Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence**

Concentration	N	Mean	Grouping
0,00%	8	8,49125	A
1,00%	8	8,45125	A
0,10%	8	7,53750	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Days**Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence**

Days	N	Mean	Grouping
0	6	9,39000	A
1	6	7,79667	B
7	6	7,73833	B
5	6	7,71500	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Concentration*Days**Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence**

Concentration*Days	N	Mean	Grouping
0,00% 0	2	9,390	A
1,00% 0	2	9,390	A
0,10% 0	2	9,390	A
0,00% 7	2	9,085	A
1,00% 1	2	8,905	A
0,00% 5	2	8,200	B
1,00% 7	2	7,810	B
1,00% 5	2	7,700	B C
0,00% 1	2	7,290	C
0,10% 5	2	7,245	C
0,10% 1	2	7,195	C
0,10% 7	2	6,320	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Lampiran 6. *Analysis of Varians* (Aplikasi NL-AgNPs)

Jumlah mikroba TFC yang terdapat pada jamur tiram setelah penyimpanan selama 7 hari yang diberi NL-AgNPs (*Myristica fragrans* Houtt.) dengan konsentrasi yang berbeda dan kondisi pada suhu dingin ($4 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$)

Two-way ANOVA: Jumlah Mikroba terhadap Hari, Konsentrasi

Method

Null hypothesis	All means are equal
Alternative hypothesis	Not all means are equal
Significance	$\alpha = 0.05$

Note:

Equal variances were assumed for the analysis.

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Concentration	Fixed	3	0,00%; 0,10%; 1,00%
Days	Fixed	4	0; 1; 5; 7

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Concentration	2	5,0964	2,54822	160,81	0,000
Days	3	19,1451	6,38172	402,74	0,000
Concentration*Days	6	9,4293	1,57154	99,18	0,000
Error	12	0,1902	0,01585		
Total	23	33,8610			

Tukey Pairwise Comparisons: Concentration

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Concentration	N	Mean	Grouping
0,00%	8	8,49125	A
0,10%	8	7,88125	B
1,00%	8	7,36375	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey Pairwise Comparisons: Days

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Days	N	Mean	Grouping
0	6	9,39000	A
7	6	7,77167	B
1	6	7,45833	C
5	6	7,02833	D

Means that do not share a letter are significantly different.

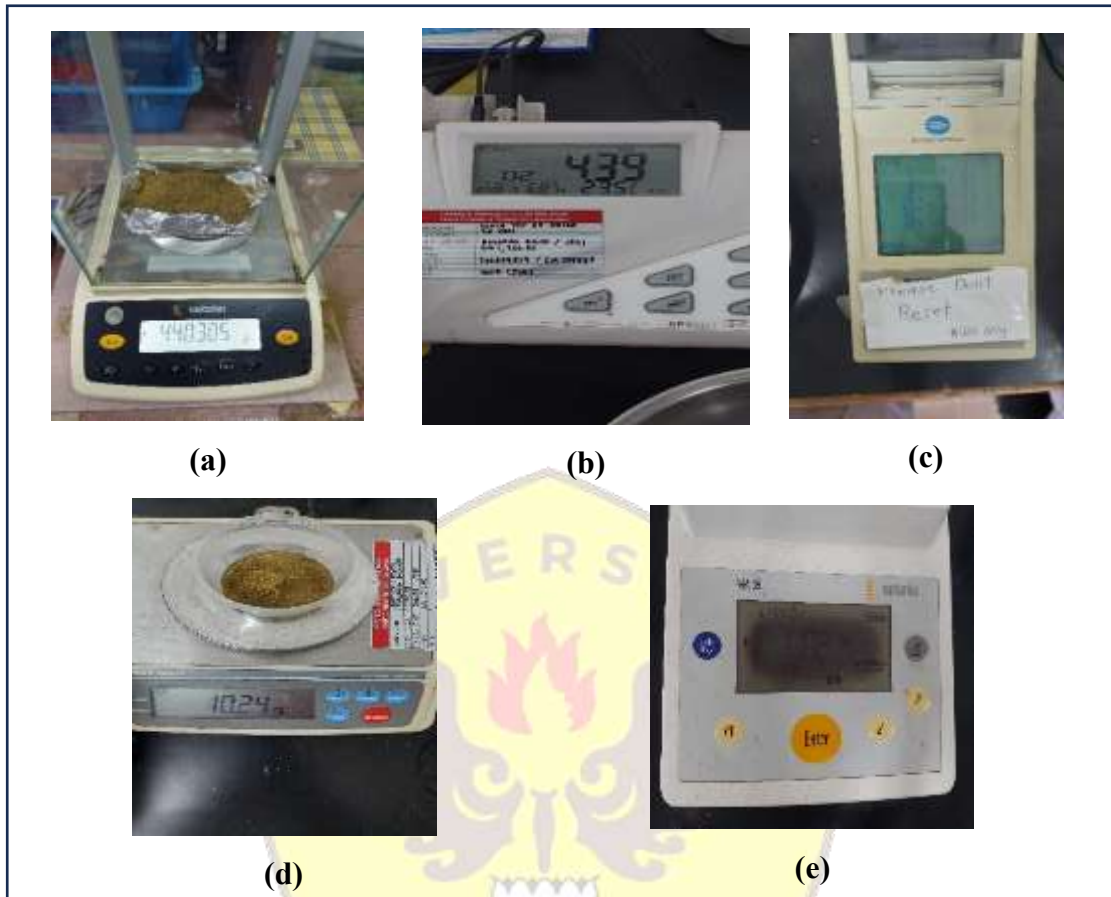
Tukey Pairwise Comparisons: Concentration*Days

Grouping Information Using the Tukey Method and 95% Confidence

Concentration*Days	N	Mean	Grouping
0,10% 0	2	9,390	A
0,00% 0	2	9,390	A
1,00% 0	2	9,390	A
0,00% 7	2	9,085	A
0,00% 5	2	8,200	B
1,00% 1	2	7,805	B C
0,10% 5	2	7,525	C D
0,10% 7	2	7,330	C D E
0,00% 1	2	7,290	D E
0,10% 1	2	7,280	D E
1,00% 7	2	6,900	E
1,00% 5	2	5,360	F

Means that do not share a letter are significantly different.

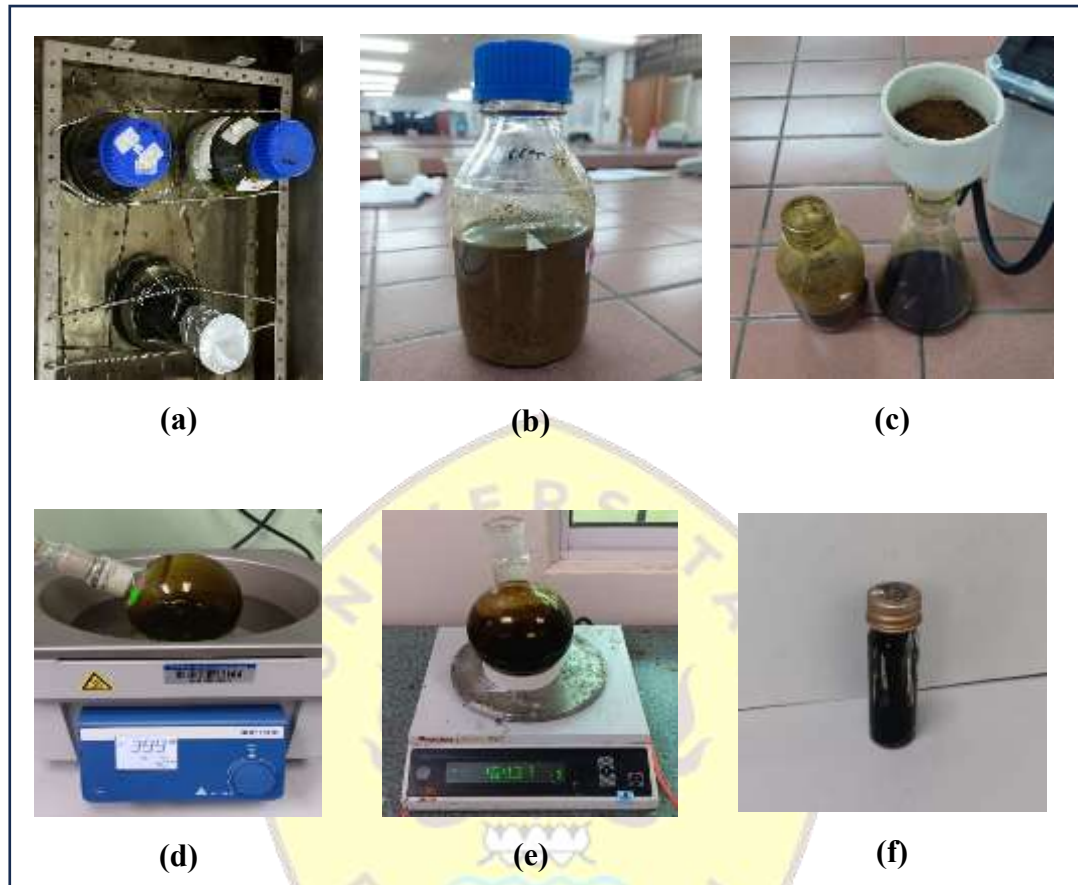
Lampiran 7. Dokumentasi Analisis Fisikokimia Bubuk Daun Pala



Keterangan:

- a: Penimbangan bubuk daun pala untuk dianalisis fisikokimia
- b: Analisis kadar air bubuk daun pala
- c: Analisis warna bubuk daun pala
- d: Analisis pH bubuk daun pala
- e: Analisis aktivitas air bubuk daun pala

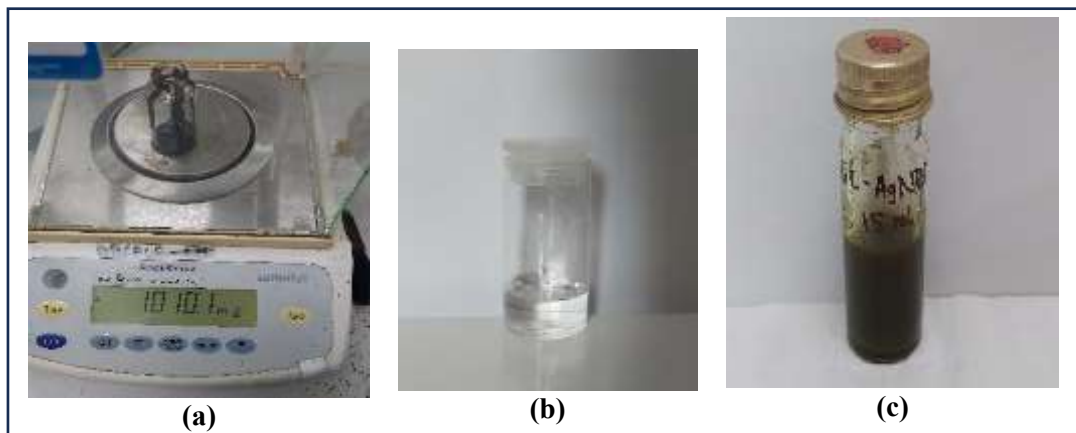
Lampiran 7. Dokumentasi Proses Pembuatan Ekstrak Daun Pala



Keterangan:

- a: Proses ekstraksi bubuk daun pala menggunakan *waterbath shaker*.
- b: Hasil ekstraksi bubuk daun pala.
- c: Pemisahan ekstrak daun pala dengan filtrat menggunakan aspirator pump.
- d: Proses pemekatan ekstrak daun pala menggunakan rotary vacuum evaporator.
- e: Penimpangan hasil pemekatan ekstrak daun pala.
- d: Ekstrak murni daun pala.

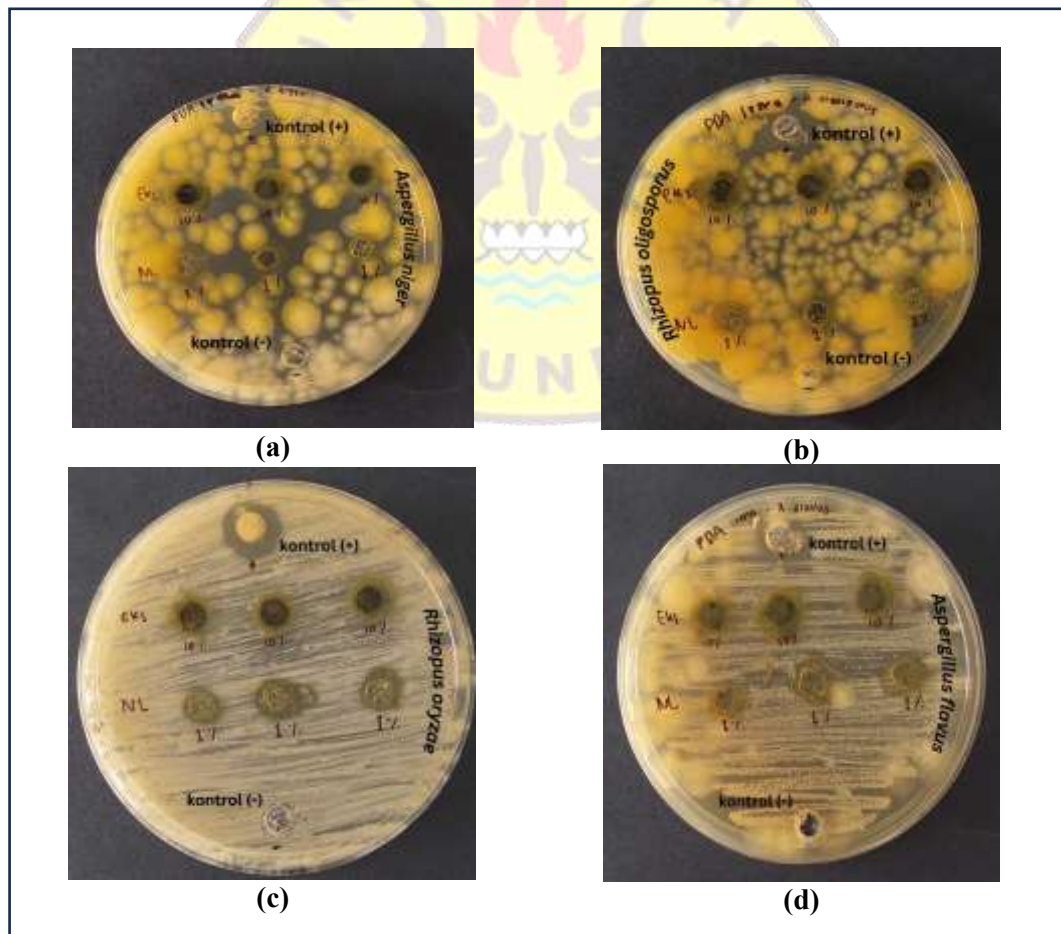
Lampiran 8. Dokumentasi Proses Pembuatan NL-AgNPs



Keterangan:

- a: Penimbangan ekstrak daun pala
- b: Larutan AgNO_3
- c: Larutan NL-AgNPs

Lampiran 9. Dokumentasi Hasil Uji WDA



Keterangan:

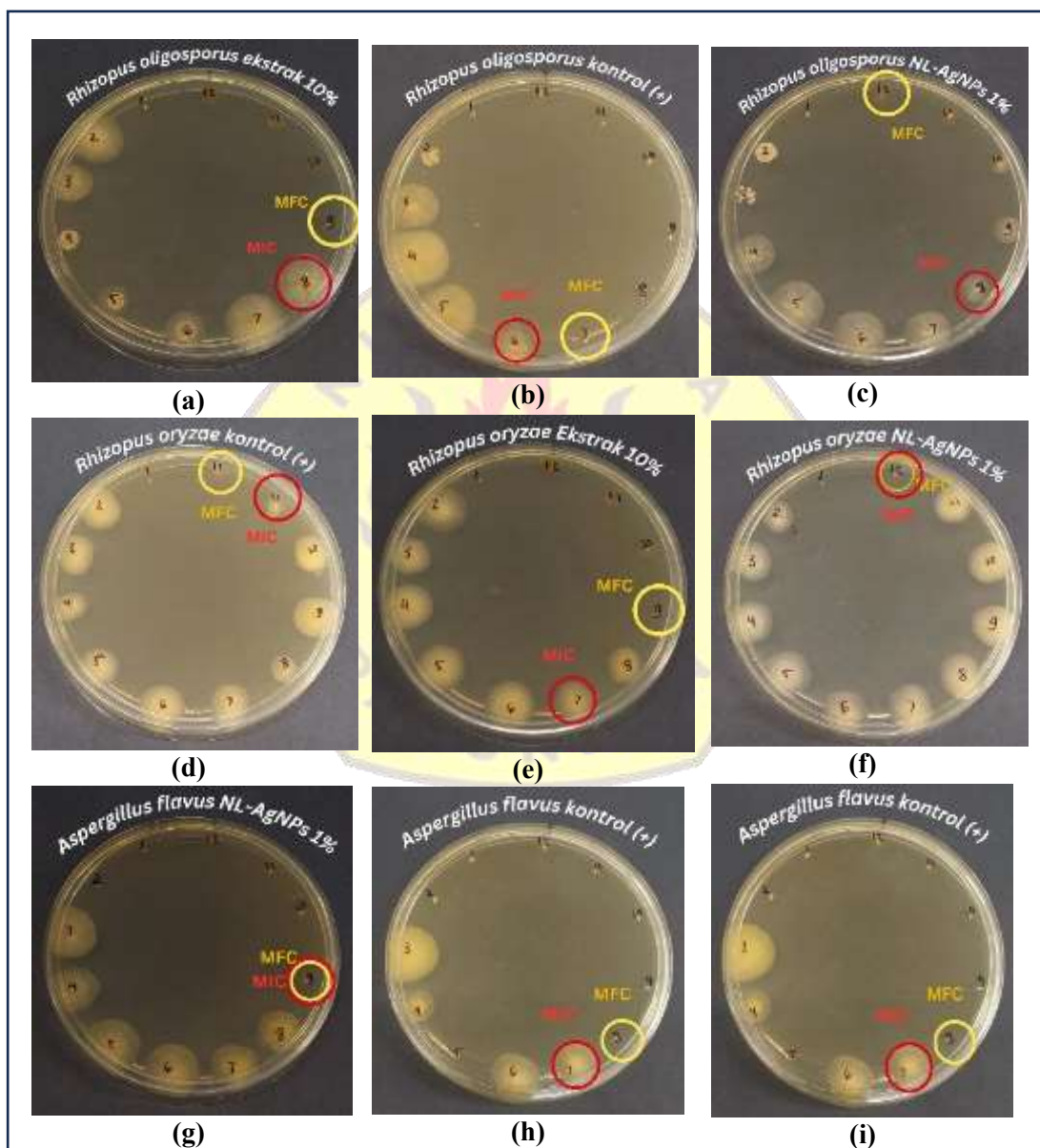
a: Hasil WDA *Aspergillus niger*

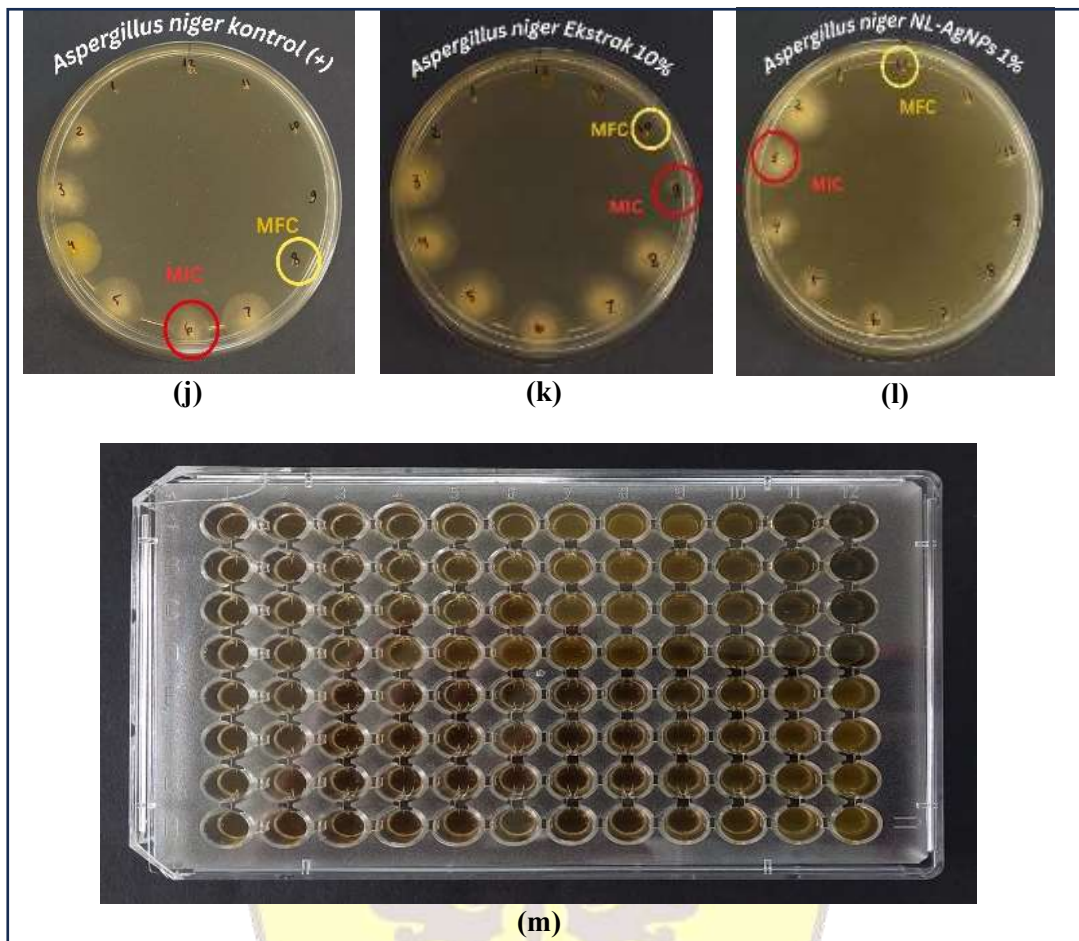
b: Hasil WDA *Rhizopus oligosporus*

c: Hasil WDA *Rhizopus oryzae*

d: Hasil WDA *Aspergillus flavus*

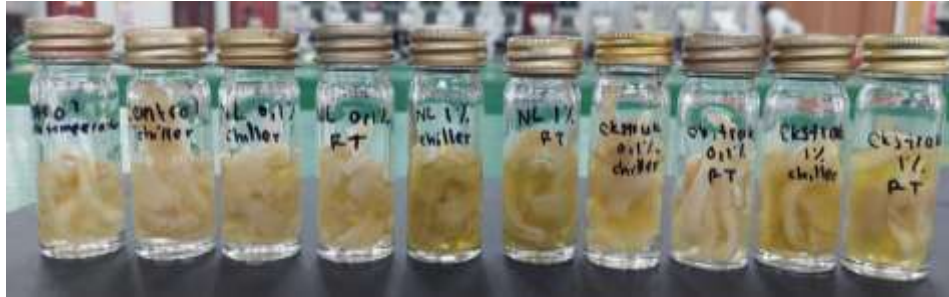
Lampiran 10. Dokumentasi Hasil uji MIC dan MFC





Keterangan:

- a: MIC MFC *R. oligosporus* ekstrak 10%
- b: MIC MFC *R. oligosporus* kontrol
- c: MIC MFC *R. oligosporus* NL-AgNPs 1%
- d: MIC MFC *R. oryzae* kontrol
- e: MIC MFC *R. oryzae* ekstrak 10%
- f: MIC MFC *R. oryzae* NL-AgNPs 1%
- g: MIC MFC *A. flavus* NL-AgNPS 1%
- h: MIC MFC *A. flavus* kontrol
- i: MIC MFC *A. flavus* ekstrak 10%
- j: MIC MFC *A. niger* kontrol
- k: MIC MFC *A. niger* ekstrak 10%
- l: MIC MFC *A. niger* NL-AgNPS 1%
- m: 96 well plate ekstrak 10% dan NL-AgNPs 1%

Lampiran 11. Dokumentasi Aplikasi Ekstrak

(a)



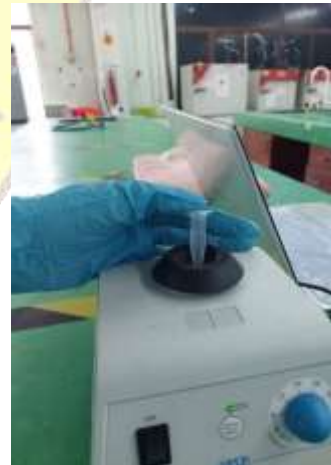
(b)



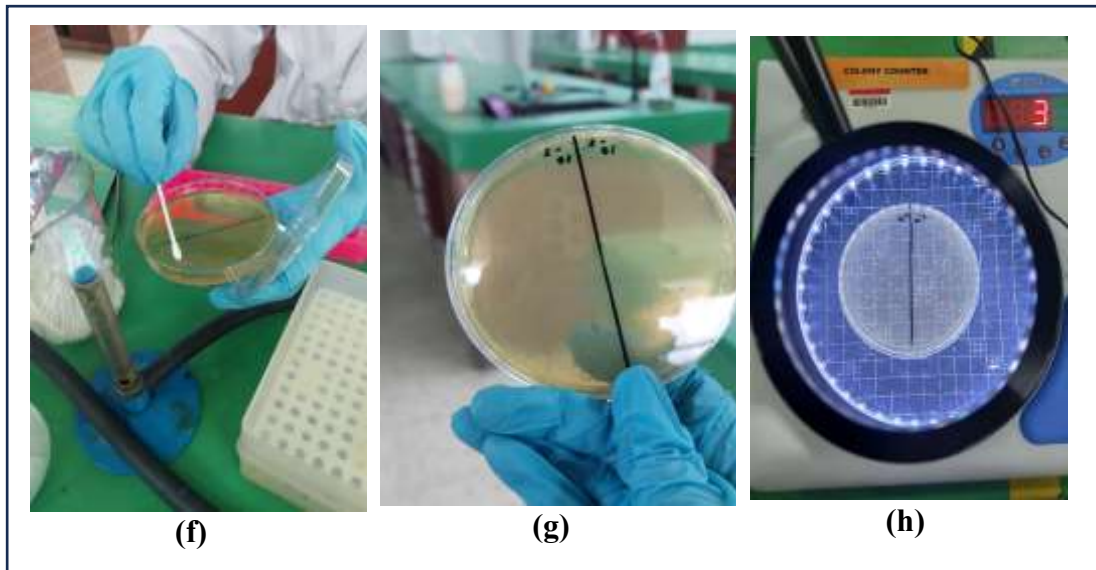
(c)



(d)



(e)

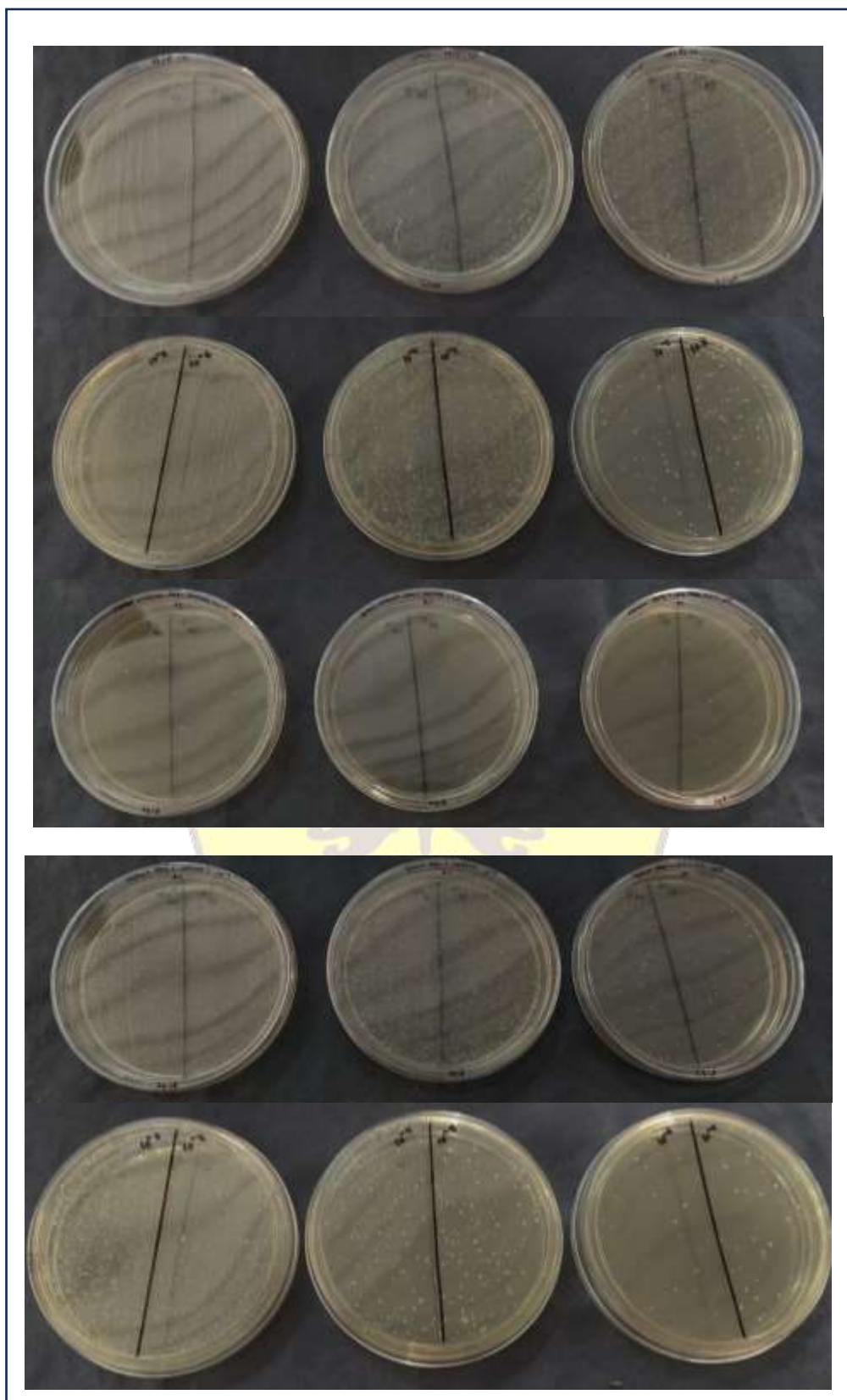


Keterangan:

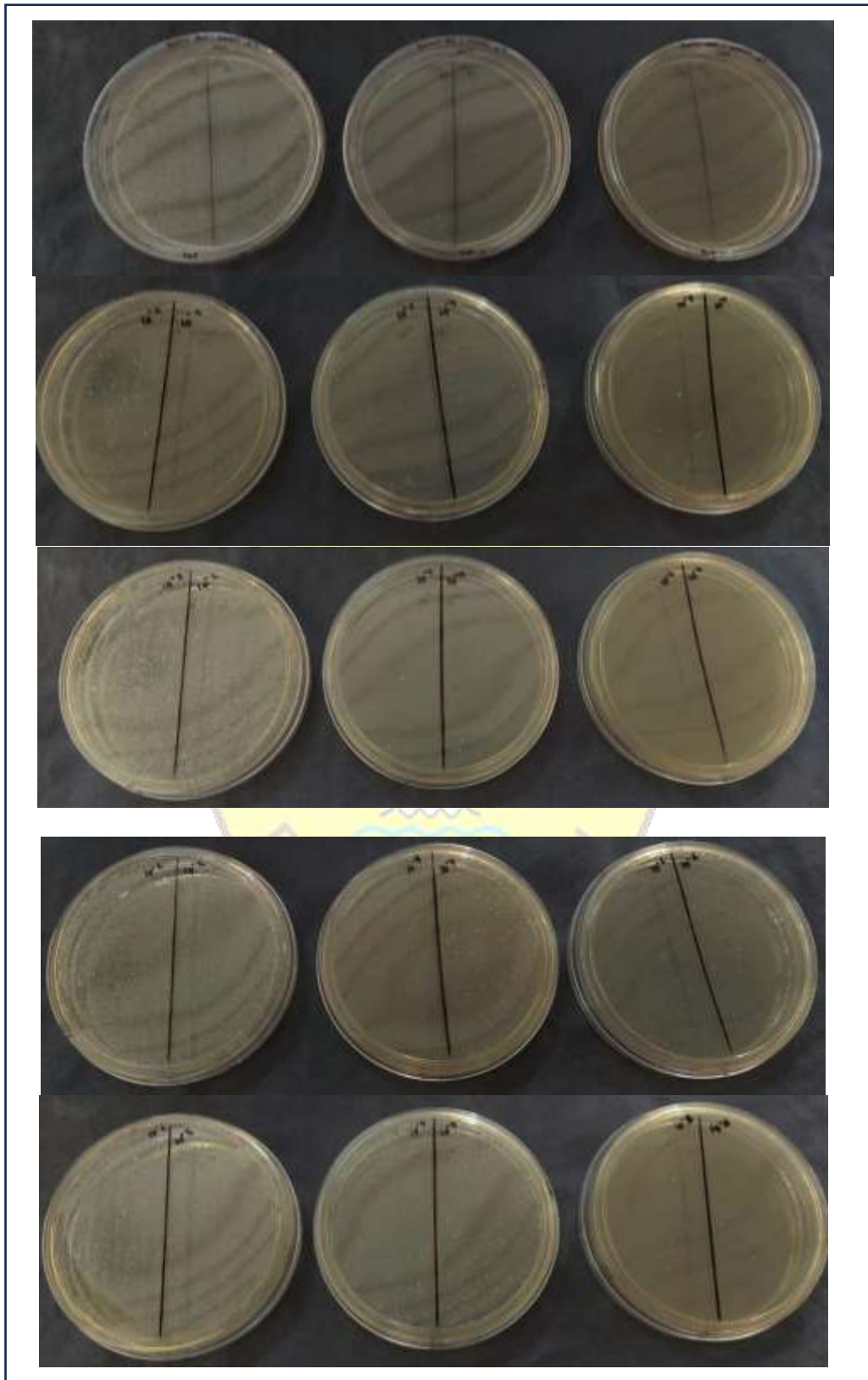
- a: Proses marinasi jamur tiram ke masing-masing konsentrasi ekstrak dan NL-AgNPs.
- b: Hasil pengenceran bertingkat ekstrak dan NL-AgNPs untuk aplikasi.
- c: Proses pengambilan cairanjamur tiram yang dimarinasi dengan ekstrak.
- d: cairan marinasi dimasukkan ke dalam tabung effendorf untuk diencerkan.
- e: sampel dalam tabung effendorf dihomogenkan dengan vortex.
- f: sampel di spread ke media PDA.
- g: hasil inokulasi pada media PDA.
- h: hasil pertumbuhan koloni setelah 48 jam, dihitung menggunakan colony counter.

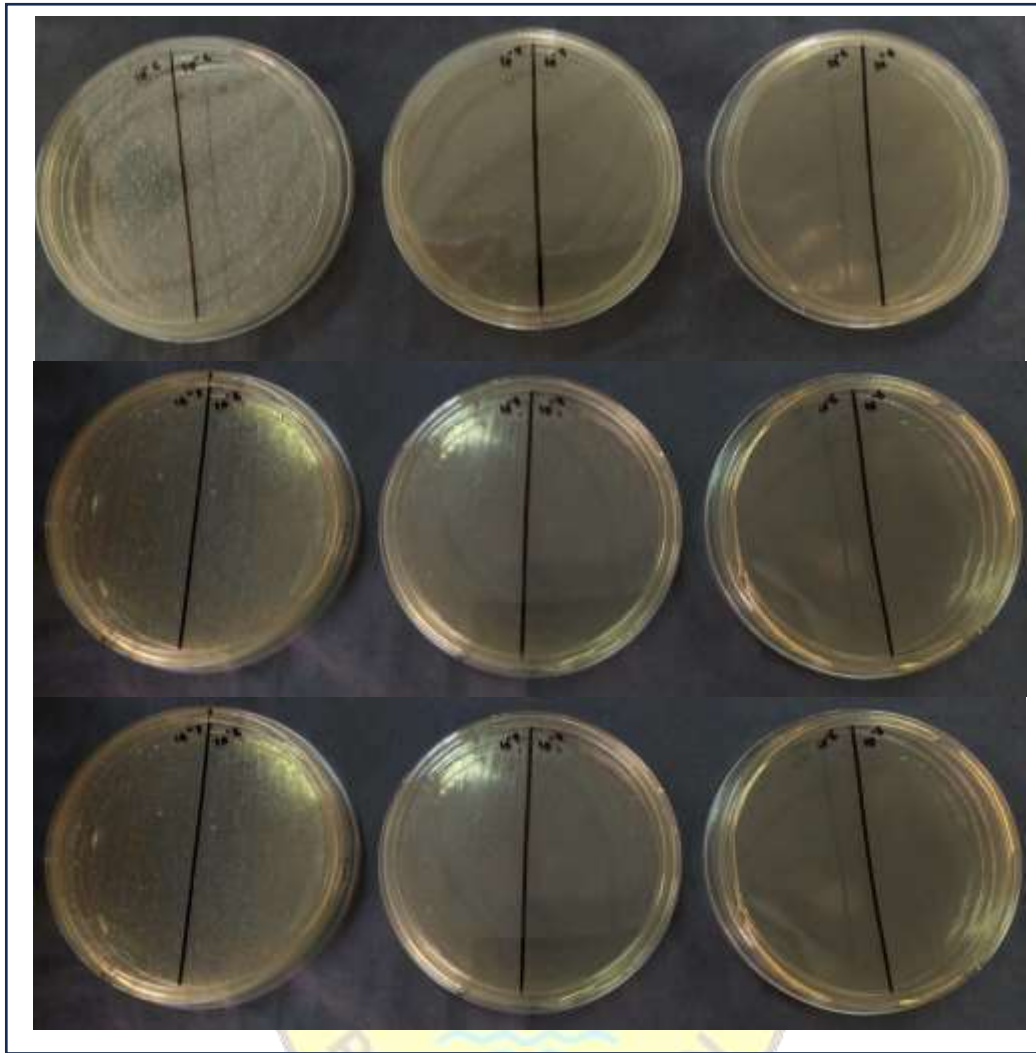
Lampiran 12. Dokumentasi TFC Day 1 RT





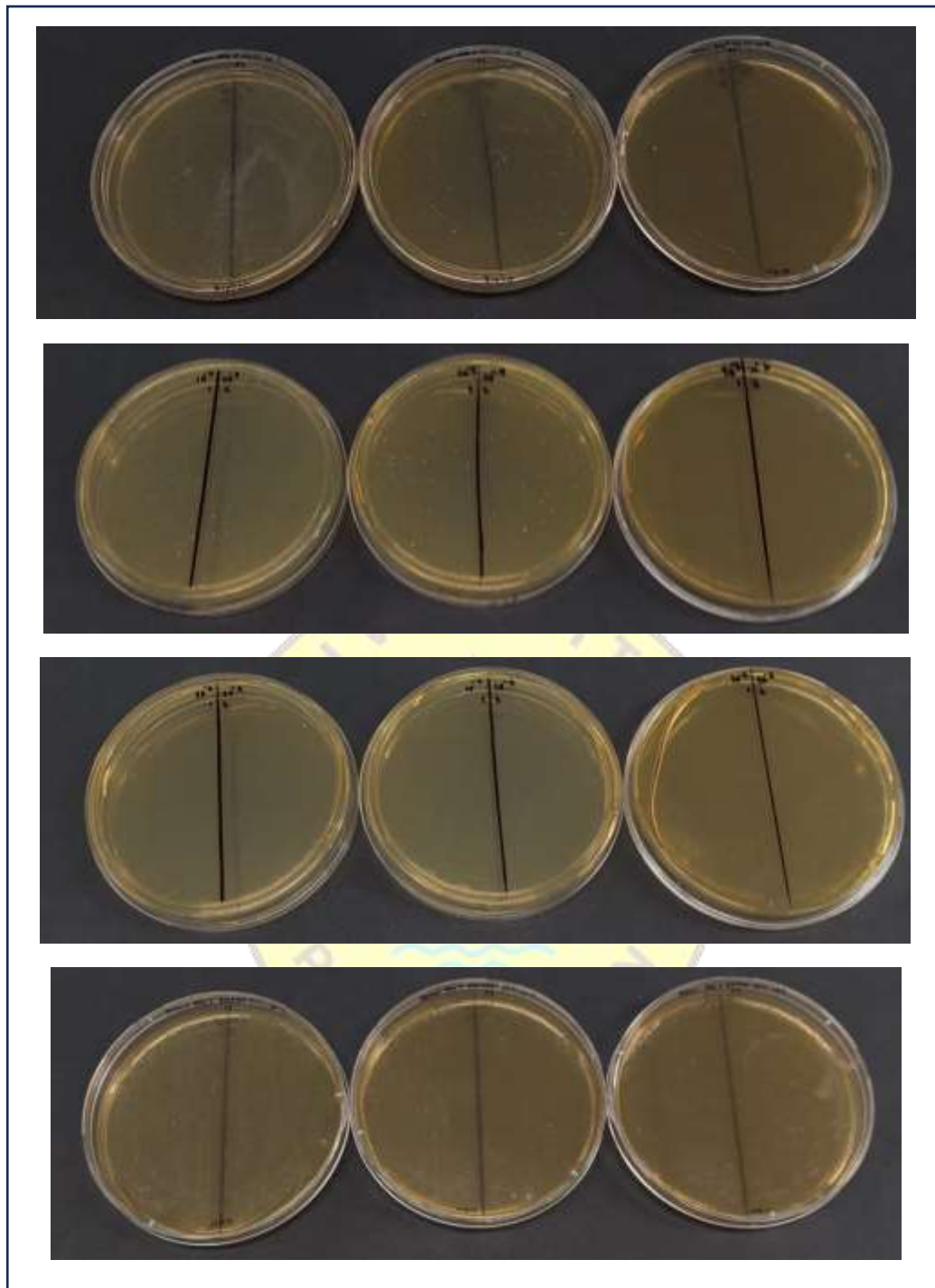


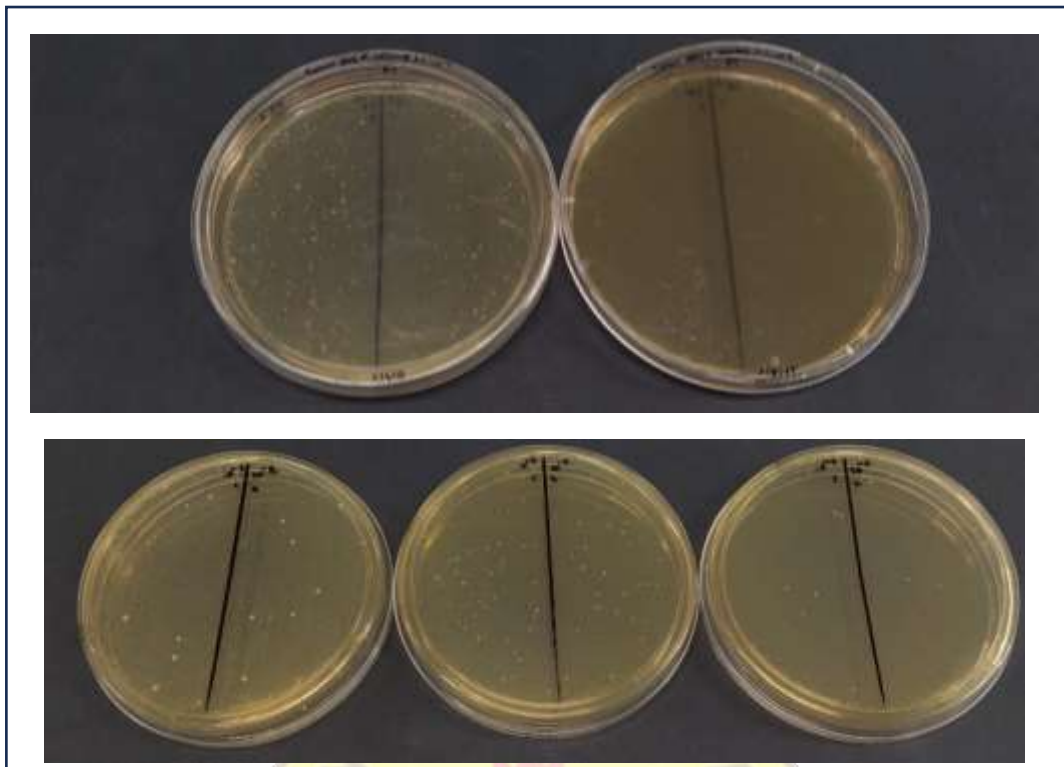
Lampiran 13. Dokumentasi TFC Day 1 CT



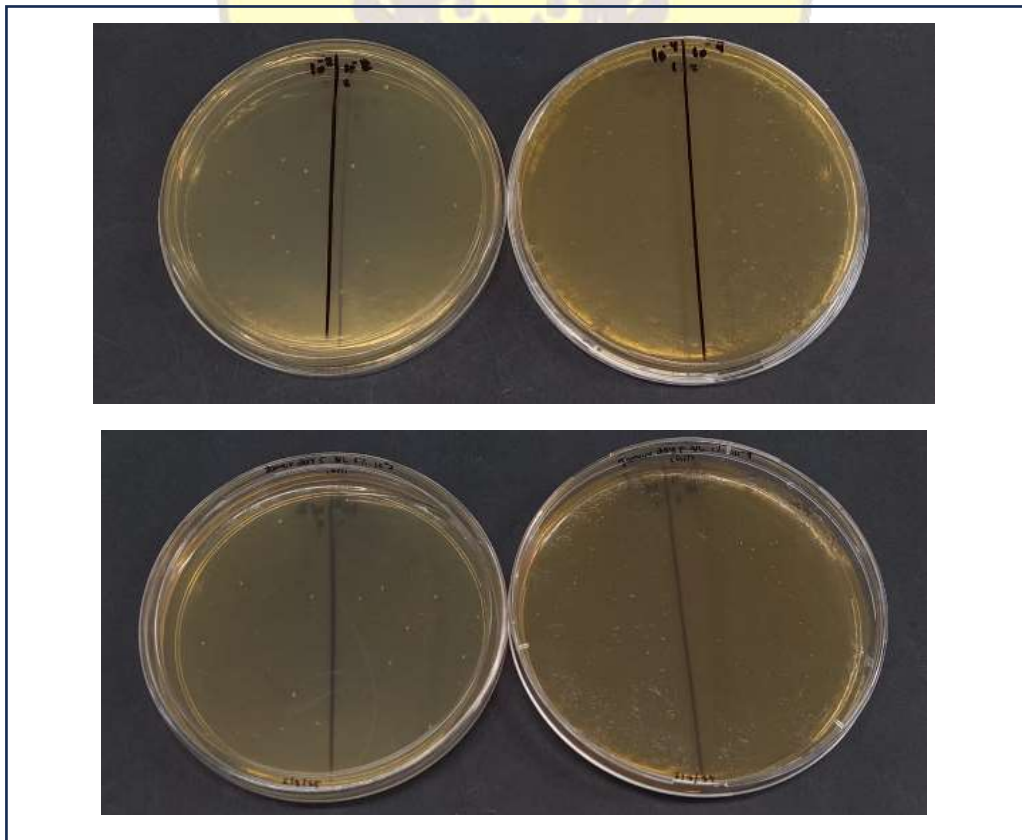
lampiran 14. Dokumentasi TFC Day 5 RT

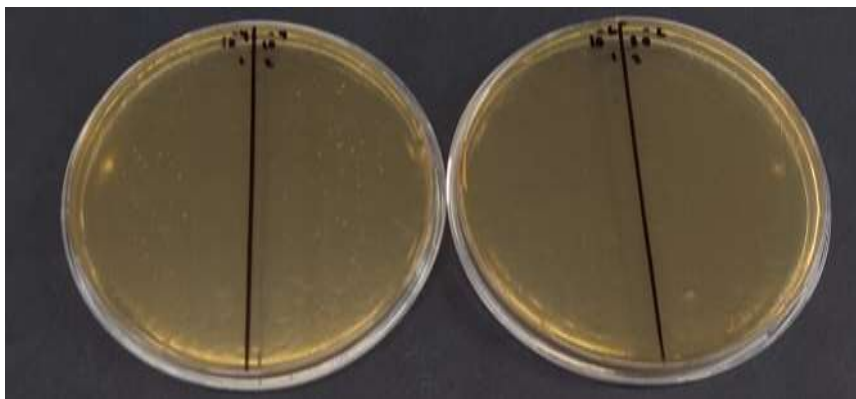


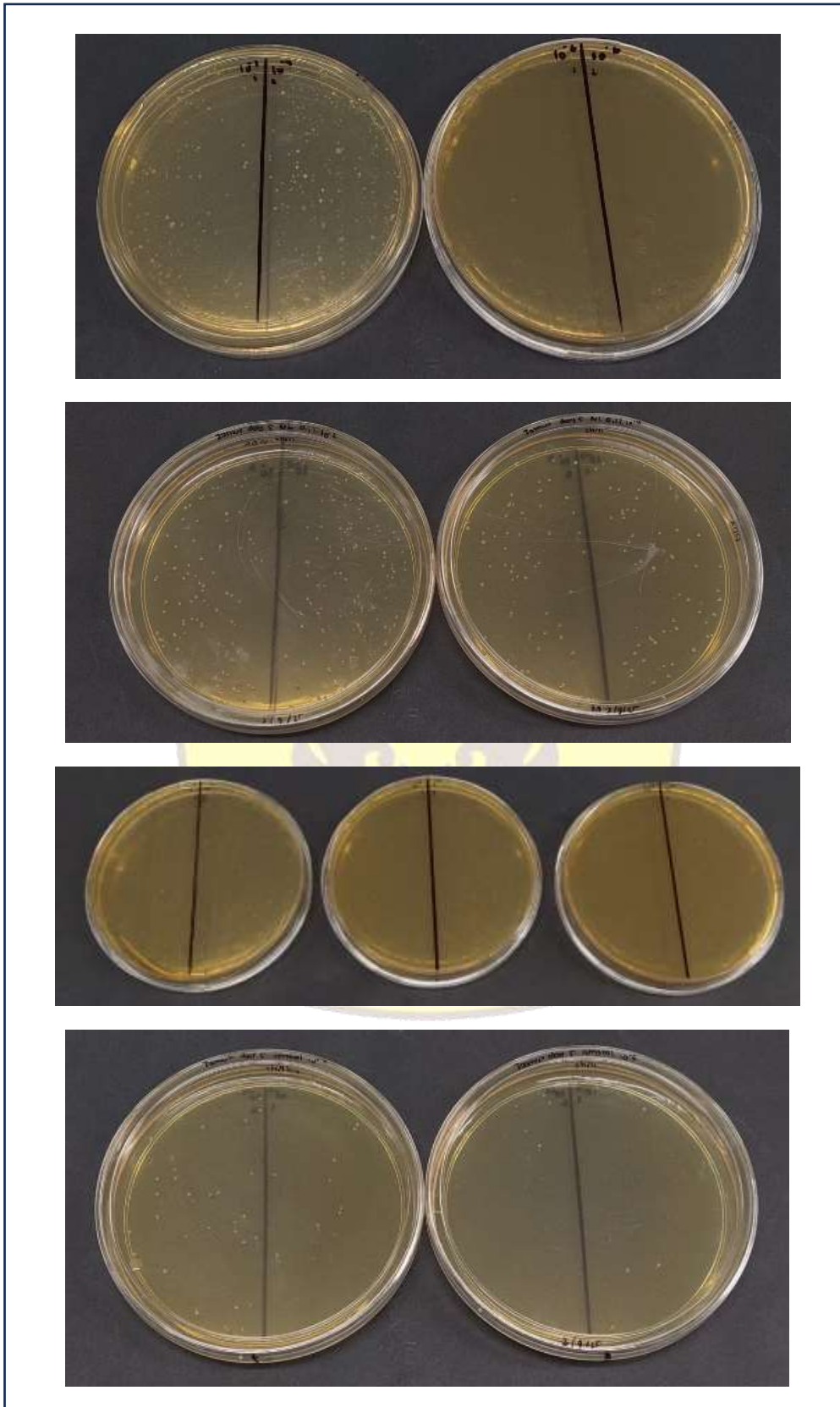


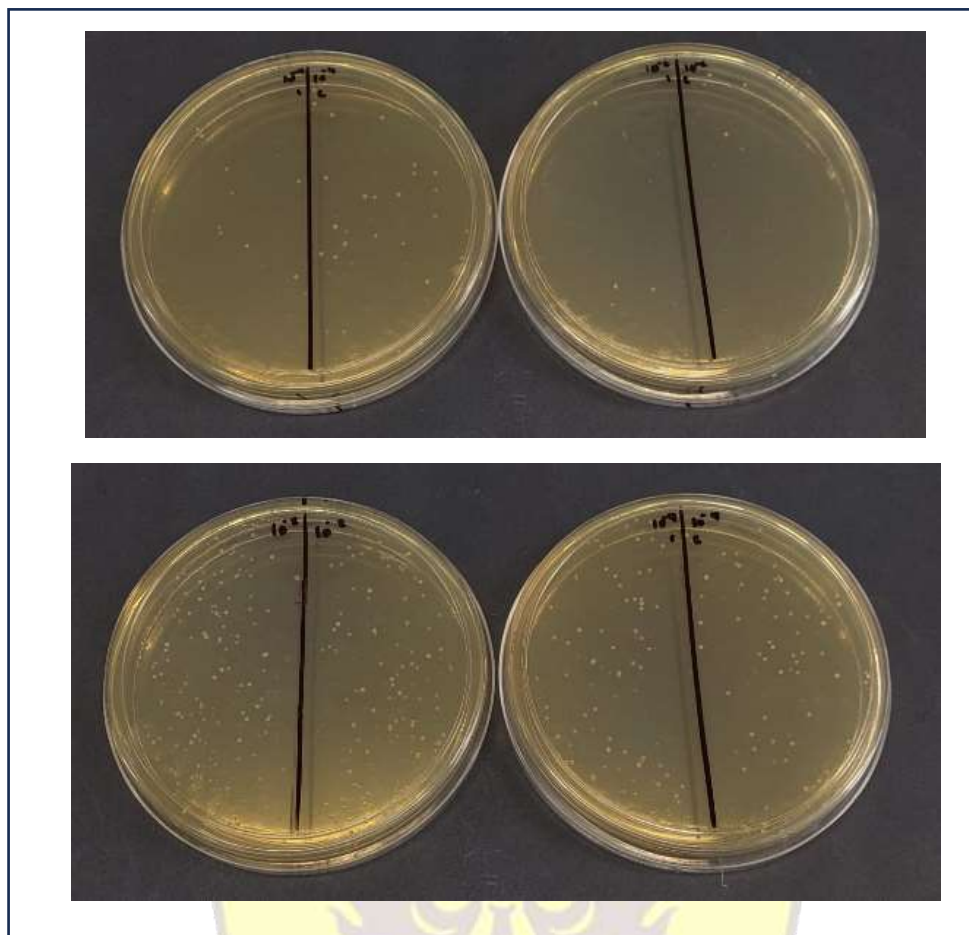


lampiran 15. Dokumentasi TFC Day 5 CT

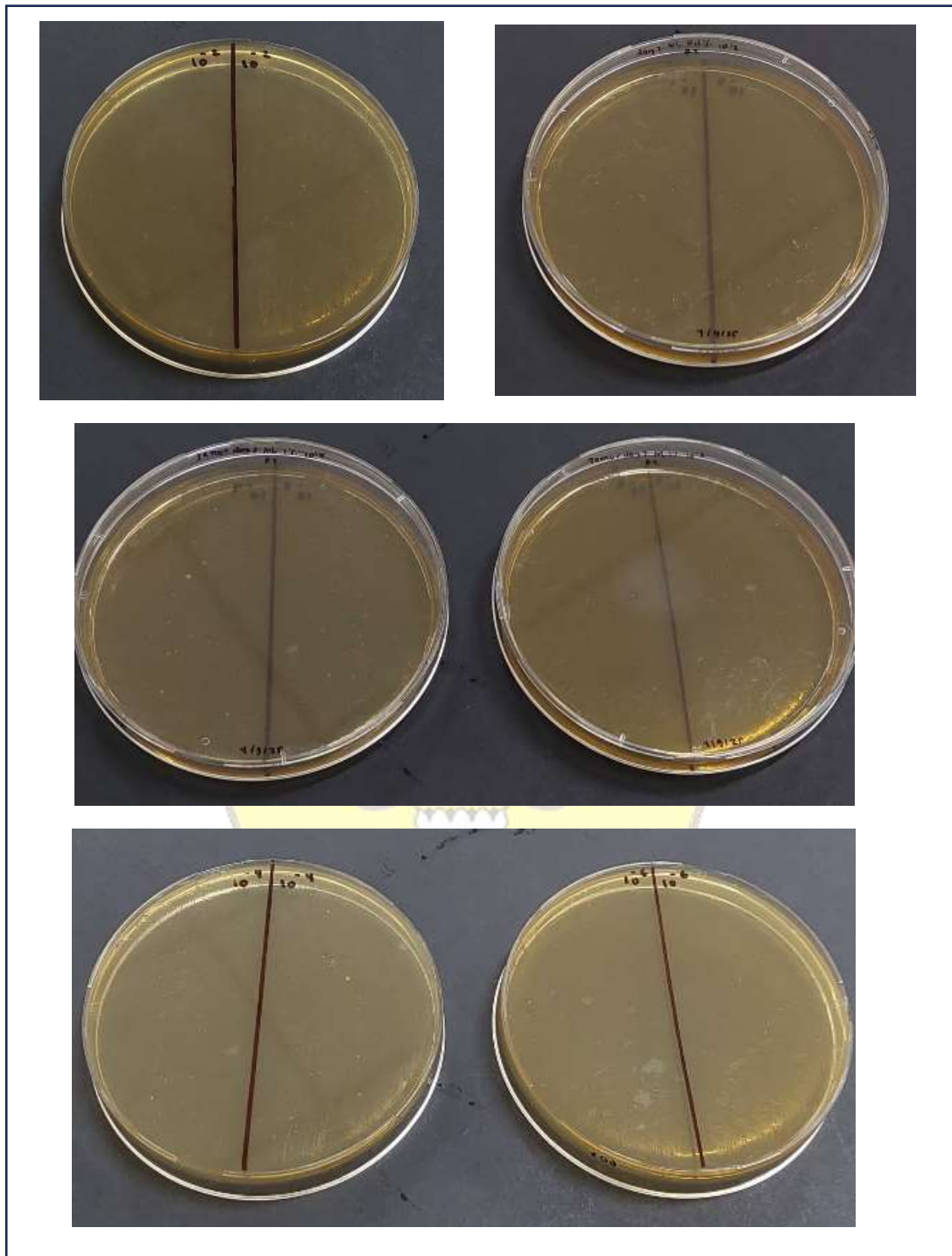


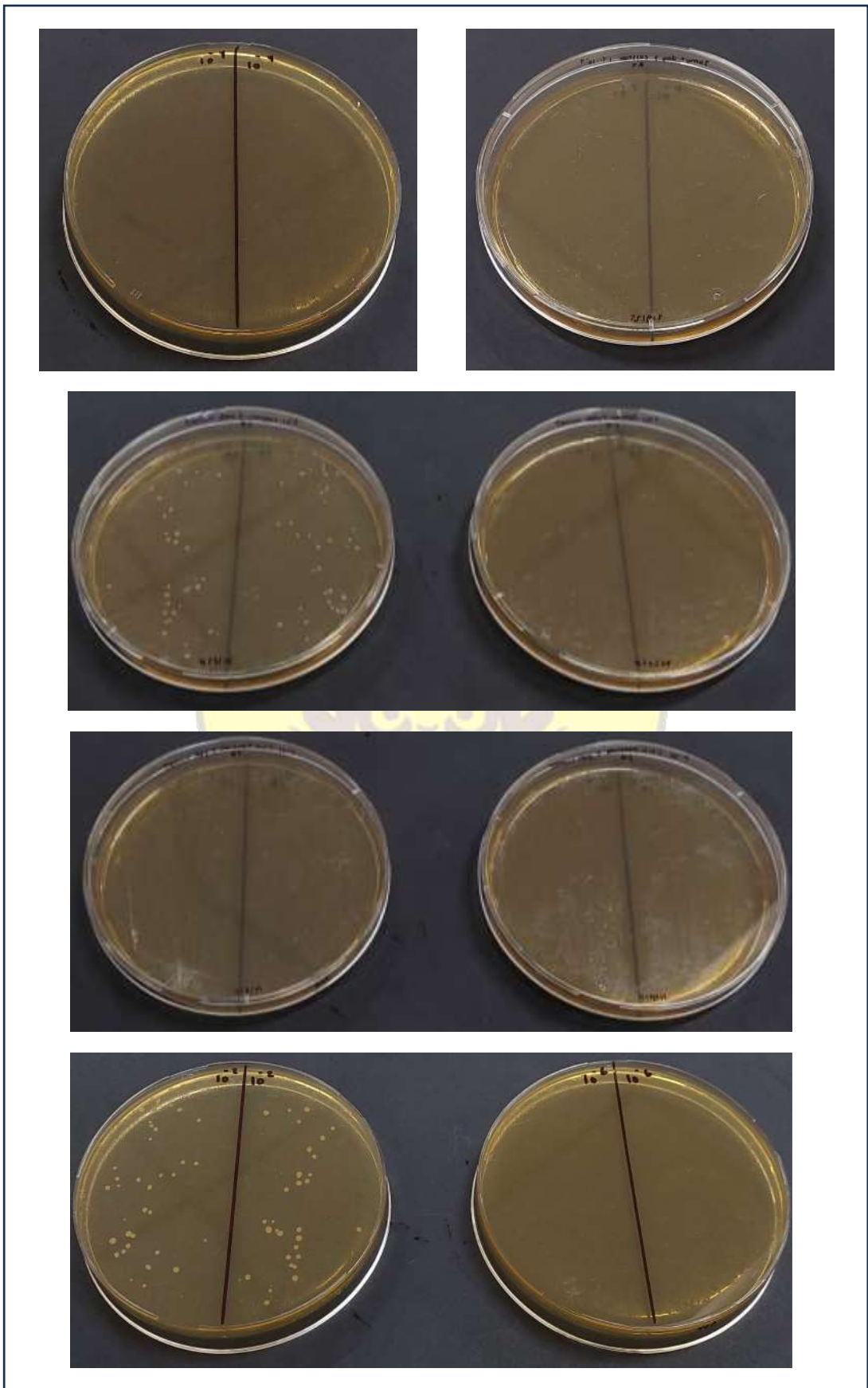






lampiran 16. Dokumentasi TFC Day 7 RT





Lampiran 17. Dokumentasi Aplikasi Day 7 CT