

AKTIVITAS ANTI FUNGI EKSTRAK KULIT HUJAN EMAS (*Senna multijuga*) TERHADAP JAMUR *Ganoderma boninense* PADA SAWIT SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO*

(Tesis)

Oleh

**DIAH PANGASTUTI RAHAYU
2324051004**



**JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2025**

**AKTIVITAS ANTI FUNGI EKSTRAK KULIT HUJAN EMAS (*Senna multijuga*) TERHADAP JAMUR *Ganoderma boninense* PADA SAWIT
SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

Oleh
Diah Pangastuti Rahayu

Tesis
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER TEKNOLOGI PERTANIAN

Pada
Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTI FUNGI EKSTRAK KULIT HUJAN EMAS (*Senna multijuga*) TERHADAP JAMUR *Ganoderma boninense* PADA SAWIT SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO*

Oleh

DIAH PANGASTUTI RAHAYU

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas antifungi ekstrak kulit tanaman hujan emas (*Senna multijuga*) terhadap jamur *Ganoderma boninense* secara *in vitro* dan *in silico*. Ekstraksi dilakukan melalui maserasi menggunakan alkohol 96%, dilanjutkan fraksinasi etil asetat kemudian pemurnian dengan kolom kromatografi menggunakan eluen 100% CHCl₃, 3% MeOH/CHCl₃, 20% MeOH/CHCl₃ dan 100% MeOH. Uji *in vitro* dilakukan dengan metode difusi senyawa aktif terhadap isolat murni *G. boninense* dalam media PDA. Hasil uji *in vitro* menunjukkan hasil kolom kromatograf fraksi 100% CHCl₃ menghasilkan laju pertumbuhan terendah (0,39 cm/hari). Fraksi eluat 100% CHCl₃ di kolom kromatografi untuk mendapat senyawa yang lebih murni (Fraksi 1-5) dan dilakukan uji *in vitro* terhadap *G. boninense*. Fraksi 1 menunjukkan daya hambat tertinggi dibandingkan fraksi lainnya dengan laju pertumbuhan *G. boninense* sebesar 0,52 cm/hari dan persentase daya hambat 37% sehingga diuji lebih lanjut pada berbagai konsentrasi (0; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,25; dan 1,5 ppm) terhadap *G. boninense*. Konsentrasi 1,5 ppm fraksi 1 menghasilkan daya hambat tertinggi (54 %) dan laju pertumbuhan 0,40 cm/hari. Uji *in silico* terhadap senyawa hasil LC-MS menggunakan *molecular docking* senyawa trans-1,1'-Dimethyl-5,5'-azotetrazole dari kulit hujan emas (*Senna multijuga*) menghambat ATP-dependent RNA helicase *G. boninense* dengan *binding affinity* -6,4 kcal/mol dengan ikatan hidrogen dengan situs aktif protein, yaitu Ser310A dan Thr360A. Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak kulit *S. multijuga* memiliki potensi sebagai sumber antifungi alami terhadap *G. boninense*.

Kata kunci: *Senna multijuga*, *Ganoderma boninense*, antifungi, *in vitro*, *in silico*, *docking molekuler*

ABSTRACT

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF HUJAN EMAS TREE (*Senna Multijuga*) BARK EXTRACT AGAINST *Ganoderma Boninense* ON OIL PALM THROUGH *IN VITRO* AND *IN SILICO* APPROACHES

BY

DIAH PANGASTUTI RAHAYU

This study aims to evaluate the antifungal activity of bark extract from the golden shower tree (*Senna multijuga*) against *Ganoderma boninense* through *in vitro* and *in silico* approaches. Extraction was carried out via maceration using 96% ethanol, followed by ethyl acetate fractionation and purification using column chromatography with eluents of 100% chloroform (CHCl₃), 3% methanol in chloroform, 20% methanol in chloroform, and 100% methanol. The *in vitro* assay was conducted using the diffusion method against pure isolates of *G. boninense* on PDA medium. Results showed that the 100% CHCl₃ chromatographic fraction had the lowest fungal growth rate (0.39 cm/day). This fraction was further separated into sub-fractions (Fr.1 to Fr.5), which were then tested against *G. boninense*. Among them, Fraction 1 exhibited the highest inhibitory effect with a fungal growth rate of 0.52 cm/day and an inhibition percentage of 37%. Fraction 1 was further tested at various concentrations (0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, and 1.5 ppm), where the 1.5 ppm concentration resulted in the highest inhibition (54%) and a fungal growth rate of 0.40 cm/day. The *in silico* analysis using molecular docking revealed that the compound *trans*-1,1'-Dimethyl-5,5'-azotetrazole, identified from the LC-MS profile of *S. multijuga* bark, inhibited ATP-dependent RNA helicase of *G. boninense* with a binding affinity of -6.4 kcal/mol. The compound formed hydrogen bonds with the protein's active site residues, Ser310A and Thr360A. These findings suggest that *S. multijuga* bark extract has promising potential as a natural antifungal agent against *G. boninense*.

Keywords: *Senna multijuga*, *Ganoderma boninense*, antifungal, *in vitro*, *in silico*, molecular docking

**Judul Tesis : AKTIVITAS ANTI FUNGI EKSTRAK KULIT
HUJAN EMAS (*Senna multijuga*) TERHADAP
JAMUR *Ganoderma boninense* PADA SAWIT
SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

Nama Mahasiswa : Diah Pangastuti Rahayu

Nomor Pokok Mahasiswa : 2324051004

Program Studi : Magister Teknologi Industri Pertanian

Fakultas : Pertanian



1. Komisi Pembimbing

Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A
NIP 197210061998031005

Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc.
NIP 196804091993031002

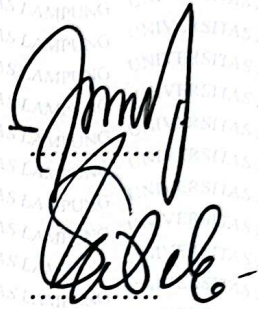
2. Ketua Program Studi Teknologi Industri Pertanian

Prof. Dr. Eng. Udin Hasanudin, M.T.
NIP. 196401061988031002

MENGESAHKAN

1. Tim penguji

Ketua : **Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.**



Sekretaris : **Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc.**

Penguji
Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Radix Suhardjo, S.P., M.Sc.**



Anggota : **Prof. Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si.**



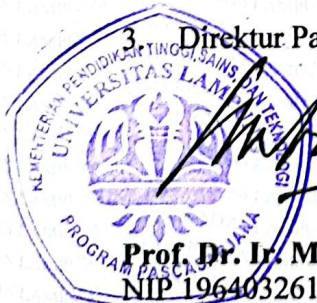
2. Dekan Fakultas Pertanian



Dr. Ira Kuswanta Futas Hidayat, M.P.
NIP 196411181989021002



3. Direktur Pascasarjana Universitas Lampung



Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.
NIP 196403261989021001

Tanggal Lulus Ujian Tesis : **28 Juli 2025**

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan sebenarnya bahwa:

1. Tesis dengan judul " **AKTIVITAS ANTI FUNGI EKSTRAK KULIT HUJAN EMAS (*Senna multijuga*) TERHADAP JAMUR *Ganoderma boninense* PADA SAWIT SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO*** " adalah hasil karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan atas hasil karya orang lain dengan cara tidak sesuai dengan norma etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme. Semua hasil yang tertuang dalam tesis ini telah mengikuti kaidah penulisan karya ilmiah Universitas Lampung.
2. Pembimbing penulis tesis ini berhak mempublikasi sebagian atau seluruh tesis ini pada jurnal dengan mencantumkan nama saya sebagai salah satu penulisnya.
3. Hak intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terbukti ketidakbenaran maka saya bersedia menerima akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya sesuai dengan ketentuan akademik yang berlaku.

Bandar Lampung, Juli 2025
Pembuat Pernyataan



Diah Pangastuti Rahayu
NPM 2324051004

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di desa Bumiharjo pada Tahun 2000, sebagai anak terakhir dari lima bersaudara dari pasangan Bapak Maryanto dan Ibu Wasiati. Penulis memiliki saudara kandung dua perempuan dan dua laki laki. Penulis menyelesaikan Pendidikan Taman Kanak-Kanak di TK Aisiyah pada tahun 2006, Sekolah Dasar di SD N 3 Bumiharjo pada tahun 2012, Sekolah Menengah Pertama di SMP 3 Batanghari pada tahun 2015, dan Sekolah Menengah Atas di MAN 1 Lampung Timur pada tahun 2018 dan Sarjana Teknologi Hasil Pertanian di Universitas Lampung tahun 2022.

Penulis melanjutkan studi Strata 2 (S2) pada tahun 2023 Program Studi Teknologi Industri Pertanian dan mendapatkan Beasiswa Bebas SPP dari Universitas Lampung selama 4 semester. Selama menempuh Pendidikan penulis juga mengikuti program kampus merdeka internasional Erasmus+ di Czech University of Life Sciences, Republik Ceko, yang memperluas wawasan saya dalam bidang teknik lingkungan, energi terbarukan, dan manajemen sumber daya energi. Selama program berlangsung, penulis terlibat dalam kegiatan perkuliahan, serta kunjungan lapangan terkait teknologi hijau dan keberlanjutan. Pengalaman ini tidak hanya memperkaya kemampuan akademik bagi penulis, tetapi juga memperkuat keterampilan komunikasi lintas budaya dan pemahaman global terhadap tantangan lingkungan dan energi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji Syukur penulis ucapkan kehadirat ALLAH SWT, karena atas Rahmat dan hidayah-Nya tesis ini dapat diselesaikan. Tesis dengan judul “***Aktivitas Anti Fungi Ekstrak Kulit Hujan Emas (Senna multijuga) Terhadap Jamur Ganoderma boninense pada Sawit Secara In Vitro dan In Silico***” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Teknologi Pertanian di Universitas Lampung. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A.IPM., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
4. Prof. Dr. Eng. Udin Hasanudin, M.T., selaku Ketua Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian.
5. Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., selaku Pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, ilmu yang bermanfaat, motivasi, nasihat, arahan dan bimbingan selama proses penyelesaian tesis.
6. Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc., selaku Pembimbing kedua yang telah membimbing, memberikan motivasi, ilmu, nasihat dan saran selama penelitian hingga proses penyelesaian tesis ini.
7. Prof. Dr. Radix Suhardjo, S.P., M.Sc., selaku Penguji pertama yang telah memberikan saran serta masukan kepada penulis selama penyusunan proposal hingga penyelesaian tesis ini.
8. Prof. Dr. Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku Penguji ke-dua yang memberikan saran serta masukan kepada penulis selama penyusunan proposal hingga penyelesaian tesis ini.

9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian atas semua Ilmu yang telah diberikan kepada penulis selama menjadi mahasiswa.
10. Karyawan-karyawati di Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian yang telah memberikan bantuan, Kerjasama dan selalu memberikan semangat kepada saya dalam menyelesaikan studi.
11. Kedua orang tua penulis Bapak dan Ibu, serta kakakku tersayang serta seluruh sanak keluarga yang telah memberikan dukungan baik secara moral dan materil untuk menyelesaikan tesis ini.
12. Sahabat-sahabat seperjuangan Magister Teknologi Hasil Pertanian, Empat Sekawan dan keluarga Hamba Allah tercinta yang memberikan semangat dan bantuan, serta doa.
13. Sahabat-sahabat Czech University of Life Science, dan UIII (Universitas Islam International Indonesia) sebagai support sistem dan selalu memotivasi penulis dalam penyelesaian tesis.
14. Almamater tercinta dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah membantu penulis dalam menyusun tesis.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap semoga tesis ini dapat memberikan informasi dan bermanfaat bagi kita semua. Penulis meminta maaf sebesar besarnya atas segala kekurangan dalam proses penulisan tesis. Semoga ALLAH SWT membalas semua kebaikan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Aamiin.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2. Tujuan	3
1.3. Kerangka Pemikiran.....	4
1.4. Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Tanaman Hujan Emas (<i>Senna multijuga</i>)	7
2.2. Aktivitas Biologi Tanaman Hujan Emas	9
2.3. <i>Ganoderma boninense</i>	10
2.4. Metode Ekstraksi	10
2.4.1. Ekstraksi	27
2.4.2. Pelarut.....	27
2.5. Kolom Kromatografi	18
2.6. Uji <i>In Vitro</i>	21
2.7. Uji <i>In Silico</i>	21
2.7.1. Ligan dan Protein Target.....	27
III. BAHAN DAN METODE	26
3.1. Waktu dan Tempat	26
3.2. Bahan dan Alat	26
3.3. Metode Penelitian.....	26
3.4. Pelaksanaan Penelitian	27
3.4.1. Preparasi Sampel	27
3.4.2. Fraksinasi Kulit Hujan Emas.....	27
3.5. Uji Aktivitas Antifungi Secara <i>In vitro</i>	28
3.5.1. Sterilisasi	28
3.5.2. Pembiakan Isolat Jamur <i>Ganoderma boninense</i>	28
3.5.3. Pembuatan Media PDA	30

3.5.4. Pengujian Penghambatan pada Media PDA.....	30
3.6. Parameter Pengamatan	31
3.6.1. Laju Pertumbuhan <i>G. Boninense</i>	31
3.6.2 Pengukuran Nilai Penghambatan Pertumbuhan (%).....	32
3.6.4. Karakteristik Makroskopis	32
3.7. Uji Aktivitas Antifungi Secara <i>In silico</i>	33
IV. PEMBAHASAN	34
4.1. Fraksi Kolom Kromatografi	34
4.1.1. Fraksi Kolom Kromatografi CHCl ₃	37
4.2. Pengaruh Eluat CHCl ₃ terhadap <i>Ganoderma boninense</i> secara <i>In Vitro</i>	41
4.2.1. Pengaruh Eluat CHCl ₃ Terhadap Laju Pertumbuhan dan Daya Hambat <i>Ganoderma boninense</i>	41
4.2.2. Pengaruh Fraksi 1 Terhadap Laju Pertumbuhan Jamur dan Daya Hambat <i>Ganoderma bninense</i>	43
4.3. Karakteristik Makroskopis Jamur <i>Ganoderma boninense</i>	44
4.4. Penghambatan eluat CHCl ₃ terhadap <i>Ganoderma boninense</i> Secara <i>In silico</i>	49
V. KESIMPULAN DAN SARAN	59
5.1. Kesimpulan.....	59
5.1. Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Diagram alir kerangka pemikiran.....	6
Gambar 2. Tanaman hujan emas (<i>Senna multijuga</i>)	8
Gambar 3. Jamur <i>Ganoderma boninense</i>	10
Gambar 4. Struktur formula etil asetat.....	15
Gambar 5. Struktur formula Kloroform	16
Gambar 6. Struktur formula methanol	16
Gambar 7. Struktur formula n-Heksan.....	17
Gambar 8. Proses kolom kromatografi	19
Gambar 9. Ligan dan protein	25
Gambar 10. Diagram alir pembuatan ekstraksi senyawa <i>Senna multijuga</i> ..	29
Gambar 11. Diagram alir pembuatan media PDA	30
Gambar 12. Proses pengujian anti fungi pada media PDA.....	31
Gambar 13. Cara pengukuran koloni diameter pada cawan petri	32
Gambar 14. Perlakuan 5 fraksi kolom terhadap <i>Ganoderma boninense</i> ...	36
Gambar 15. Hasil pengujian TLC	40
Gambar 16. Karakteristik <i>Ganoderma boninense</i> perlakuan fraksi 1-5	45
Gambar 17. Karakteristik <i>Ganoderma boninense</i> perlakuan fraksi 1	47
Gambar 18. Kromatogram senyawa fraksi 1.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Hasil pengujian eluat kolom kromatografi terhadap laju pertumbuhan <i>Ganoderma boninense</i>	35
Tabel 2. Karakteristik fraksi kolom kromatografi eluat kloroform	38
Tabel 3. Pengaruh eluat kloroform terhadap daya hambat dan Laju pertumbuhan <i>Ganoderma boninense</i> (cm/hari)	42
Tabel 4. Pengaruh eluat kloroform F1 (1-9) terhadap daya hambat dan Laju pertumbuhan <i>Ganoderma boninense</i> (cm/hari)	43
Tabel 5. Karakteristik jamur <i>Ganoderma boninense</i> pada pengujian <i>bioassay</i> perlakuan fraksi 1-5	46
Tabel 6. Karakteristik pertumbuhan jamur <i>Ganderma boninense</i> pada pengujian <i>bioassay</i> dengan konsentrasi berbeda	48
Tabel 7. Senyawa hasil pengujian LC-MS pada sampel Fraksi 1	51
Tabel 8. Hasil pengujian <i>in silico</i> senyawa <i>Senna multijuga</i> (fraksi 1) terhadap jamur <i>Ganoderma boninense</i>	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Dokumentasi proses pengujian secara <i>in vitro</i>	68
Lampiran 2. Hasil pengamatan pengujian <i>bioassay</i> pada 5 eluen	69
Lampiran 3. Hasil pengamatan pengujian <i>bioassay</i> pada fraksi 1-5.....	70
Lampiran 4. Hasil <i>bioassay</i> pada fraksi 1 dengan konsentrasi K0-K3	71
Lampiran 5. Hasil <i>bioassay</i> pada fraksi 1 dengan konsentrasi (K4-K6).....	72

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Tanaman *Senna sp.* merupakan tumbuhan tropis yang tumbuh secara alami di Pulau Sumatra, Indonesia. Jenis ini umum dimanfaatkan sebagai tanaman hias, pelindung tepi jalan, tanaman sela, serta penghalang hujan karena kemampuannya tumbuh dan beradaptasi di daerah kering (Saraswati dkk., 2019). Meskipun demikian, potensi *Senna sp.* belum banyak dikembangkan secara luas. Penelitian menunjukkan bahwa genus ini mengandung senyawa fitokimia dengan struktur yang bervariasi, seperti alkaloid, terpenoid, glikosida, tanin, saponin, steroid, flavonoid, antrakuinon, dan polifenol. Keberagaman senyawa ini membuka peluang besar untuk pemanfaatannya sebagai bahan aktif alami, termasuk dalam pengembangan insektisida yang ramah lingkungan (Bene *et al.*, 2019).

Potensi farmakologis tanaman *Senna sp.* terus dikaji melalui berbagai metode ekstraksi seperti maserasi, rebusan, infus, hingga penggunaan eksudat dari berbagai bagian tanaman seperti akar, kulit kayu, daun, biji, dan buah (Oladeji dkk., 2020). Studi farmakologi mengonfirmasi bahwa ekstrak kasar maupun fraksi dari *Senna sp.* menunjukkan aktivitas antimalaria, antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, dan antikanker (Ibrahim dan Islam, 2014). Senyawa-senyawa tersebut, terutama flavonoid, fenolik, dan antrakuinon, juga telah terbukti memiliki sifat antijamur. Salah satu mekanisme kerja senyawa fenolik adalah menghambat pertumbuhan jamur melalui gangguan terhadap dinding sel dan jalur metabolisme, seperti penghambatan terhadap jamur *Ganoderma boninense* (Agustina, 2020).

Patogen *G. boninense* merupakan ancaman utama bagi tanaman kelapa sawit karena menyebabkan penyakit busuk pangkal batang yang berujung pada kematian tanaman. Gejala infeksi ditandai oleh munculnya tubuh buah jamur pada permukaan tanaman yang masih hidup, serta kerusakan jaringan pangkal batang dan kulit luar (Susanto dkk., 2013). Mengingat pentingnya industri kelapa sawit di Indonesia, upaya pengendalian penyakit ini secara ramah lingkungan menjadi sangat krusial.

Ekstrak *Senna sp.*, terutama dari daun dan kulit, telah menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap berbagai mikroorganisme. Alkaloid piperidin dalam daun tanaman ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *S. subtilis*, serta jamur *Candida albicans* (Sansores-Peraza dkk., 2000). Selain itu, senyawa fenolik dari *Senna sp.* menunjukkan aktivitas antifungi yang signifikan terhadap berbagai spesies jamur. Aktivitas ini tampak paling tinggi pada fraksi etil asetat dengan nilai MIC 5,9 hingga 23,4 mg/mL, yang secara efektif menghambat pertumbuhan *C. glabrata*, *C. tropicalis*, dan *C. albicans* (Nascimento dkk., 2020). Hal ini menunjukkan bahwa *Senna multijuga*, sebagai spesies yang tergolong dalam famili *Fabaceae*, memiliki potensi kuat sebagai agen antijamur terhadap *G. boninense*.

Penerapan senyawa aktif dari kulit *S. multijuga* sebagai antifungi sangat relevan dikembangkan untuk mendukung pertanian berkelanjutan. Keberadaan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, dan fenol (Jantan *et al.*, 2018) menjadi factor utama yang mendukung pengembangan pengujian anti jamur terhadap patogen *G. boninense*. Mengingat proses eksperimen bioprospeksi bersifat kompleks dan memakan biaya, pendekatan *in vitro* dan *in silico* menjadi strategi awal yang efisien dalam mengetahui senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai anti jamur terhadap *G. boninense*.

Uji *in vitro* merupakan metode eksperimental yang dilakukan di luar organisme hidup, biasanya dalam lingkungan laboratorium menggunakan media buatan. Pendekatan ini digunakan untuk mengamati secara langsung aktivitas biologis

senyawa terhadap mikroorganisme atau sel target dengan kontrol yang tinggi terhadap variabel lingkungan (Freshney, 2010). Sedangkan metode *in silico* adalah metode komputasional yang digunakan untuk mensimulasikan dan memprediksi interaksi biologis antara senyawa aktif dan target protein, biasanya melalui teknik *molecular docking*, virtual screening, atau pharmacophore modeling. Metode *in silico* memanfaatkan basis data seperti PubChem untuk memperoleh struktur tiga dimensi senyawa dalam format .SDF atau .PDB sebagai input *docking* molekuler (Kim *et al.*, 2023). Prediksi target protein dilakukan melalui perangkat seperti *SwissTargetPrediction* atau *SuperPred*, yang memungkinkan identifikasi target biologis berdasarkan struktur molekul senyawa (Nickel *et al.*, 2014).

Proses *docking* dilakukan dengan perangkat lunak seperti *AutoDock Tools*, *AutoDock Vina*, atau *PyRx* untuk mengevaluasi afinitas pengikatan antara ligan dan reseptor. Analisis ini mempertimbangkan parameter seperti nilai energi pengikatan (*binding energy*), jenis dan jumlah ikatan hidrogen, serta posisi ligan pada situs aktif protein (Morris *et al.*, 2009; Trott dan Olson, 2010). Nilai energi pengikatan yang rendah mengindikasikan potensi interaksi yang stabil, menjadikan senyawa tersebut kandidat kuat sebagai inhibitor. Oleh sebab itu, penelitian ini ditujukan untuk mengevaluasi aktivitas senyawa aktif dari ekstrak kulit *S. multijuga* terhadap *G. boninense* melalui pendekatan *in vitro* dan *in silico*.

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan antara lain:

1. Mengetahui pengaruh eluat kloroform kolom kromatografi kulit hujan emas (*Senna multijuga*) terhadap jamur *Ganoderma boninense* secara *in vitro*.
2. Menentukan konsentrasi optimal eluat kloroform kulit hujan emas (*Senna multijuga*) terhadap *Ganoderma boninense* secara uji *in vitro*.
3. Menentukan senyawa aktif dari kulit hujan emas (*Senna multijuga*) yang berpotensi sebagai antifungi *Ganoderma boninense* secara *in silico*.

1.3. Kerangka Pemikiran

Aktivitas yang dihasilkan kulit tanaman *Senna multijuga* berhubungan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoidnya. Sejumlah besar senyawa fitokimia yang terdapat pada tumbuhan *Senna multijuga* adalah antrakuinon, flavonoid, terpenoid, minyak atsiri, antron, alkaloid, tanin, polifenol, glikosida, steroid dan saponin diisolasi dari beberapa *Senna sp.* (Bene *et al.*, 2019). Studi fitokimia telah menunjukkan adanya glikosida flavonoid dan alkaloid piridin pada spesies ini, dan fraksi Etil asetat tanaman ini menunjukkan aktivitas penghambatan asetilkolinesterase (AChE) (Francisco *et al.*, 2012). Senyawa alkaloid piperidin ditemukan pada daun *Senna sp.* signifikan menghambat pertumbuhan isolat bakteri dan jamur *Staphylococcus aureu* dan *S. subtilis* (MIC 2,5 mg/mL) dan *Candida albicans* ((MIC 5,0 mg/mL) (Sansores-Peraza dkk., 2000). Selain itu terdapat senyawa fenolik (8-19) yang secara signifikan menghambat pertumbuhan mikroba. Ekstrak dan fraksi tinggi flavonoid yang terdapat pada *Senna sp.* dapat menghambat pertumbuhan pada isolat jamur. Ekstrak etanol memberikan aktivitas penghambatan yang kuat dengan nilai MIC (*minimum inhibitory concentration*) 5,9 - 23,4 mg/mL), fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas anti fungi yang signifikan pada jamur *C. glabrata* (MIC 5,9mg/mL), *C. tropis* dan *C. albicans* (MIC 23,4 mg/mL) (Nascimento dkk., 2020).

Jamur *Ganoderma* menyerang jaringan kayu kulit kulit, menyebabkan pembusukan dan akhirnya kematian tanaman sawit. Berbagai penelitian telah dikembangkan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Ganoderma*. Berdasarkan penelitian Agustina (2020), asap cair 5%-20% dalam PDA dapat menghambat pertumbuhan *Ganoderma* yang diinkubasi selama 14 hari dengan rerata koloni jamur berdiameter 1 cm. Asap cair mengandung senyawa fenol seperti Phenol, 2-ethylphenol, 3 Methylphenol, 2,6-Dimethylphenol, 2,4 Dimethylphenol, dan 3-hylphenol yang merupakan senyawa anti mikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Ganoderma*. Selain itu berdasarkan penelitian Mahmud dkk. (2023) ekstrak daun papaya 4% dalam media PDA dapat menghambat pertumbuhan *Ganoderma sp.* 65.47%. Hal ini disebabkan ekstrak daun papaya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin yang dapat menghambat

pertumbuhan *Ganoderma sp.* Oleh sebab itu tanaman *S. multijuga* yang memiliki kandungan antrakuinon, flavonoid, terpenoid, minyak atsiri, antron, alkaloid, tanin, polifenol, glikosida, steroid dan saponin memiliki potensi sebagai anti jamur pada *G. boninense*.

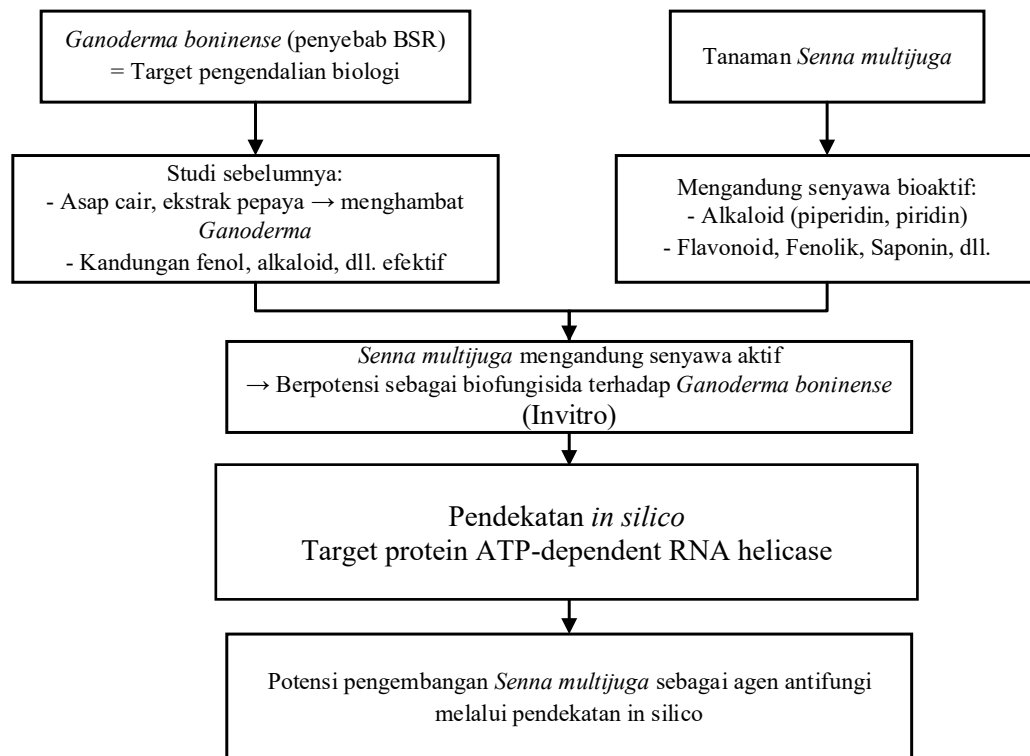
Pendekatan *in silico* menjadi metode yang semakin penting dalam studi molekuler terhadap patogen tanaman, termasuk *G. boninense*, karena mampu memprediksi struktur protein, fungsi enzimatik, hingga interaksi ligan secara efisien dan ekonomis. ATP-dependent RNA helicase merupakan enzim penting yang terlibat dalam proses transkripsi, translasi, dan replikasi RNA melalui aktivitas pemutusan dan penggabungan struktur RNA beruntai ganda. Enzim ini tergolong esensial dalam regulasi ekspresi gen dan proliferasi sel jamur patogen seperti *Ganoderma boninense*. Gen Q8Y8N0 diketahui mengkode protein helicase yang berperan dalam menjaga kelangsungan hidup dan aktivitas selular jamur tersebut.

Pendekatan *in silico* menggunakan metode *molecular docking* untuk mengevaluasi afinitas ikatan senyawa aktif Difenconazole sebagai control yang merupakan fungisida komersial dalam produk Score 250 EC terhadap protein target tersebut. Ikatan tersebut dapat mengganggu fungsi helikase secara langsung, dengan mencegah ikatan ATP atau menghambat reaktivitas enzim dalam membuka struktur RNA. Stabilitas ikatan tercermin dari nilai *binding affinity* yang rendah (lebih negatif), menunjukkan afinitas kuat antara ligan dan protein target (Morris *et al.*, 2009). Diagram alir kerangka pemikiran pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1.

1.4. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini antara lain:

1. Terdapat pengaruh eluat kulit hujan emas (*Senna multijuga*) terhadap pertumbuhan jamur *Ganoderma boninense* secara *in vitro*.
2. Terdapat konsentrasi eluat terbaik kulit hujan emas (*Senna multijuga*) terhadap jamur *Ganoderma boninense* secara *in vitro*.
3. Terdapat senyawa aktif dari kulit hujan emas (*Senna multijuga*) yang berpotensi sebagai antifungi *Ganoderma boninense* secara *in silico*



Gambar 1. Diagram alir kerangka pemikiran

II. TINJAUAN PUSTAKA

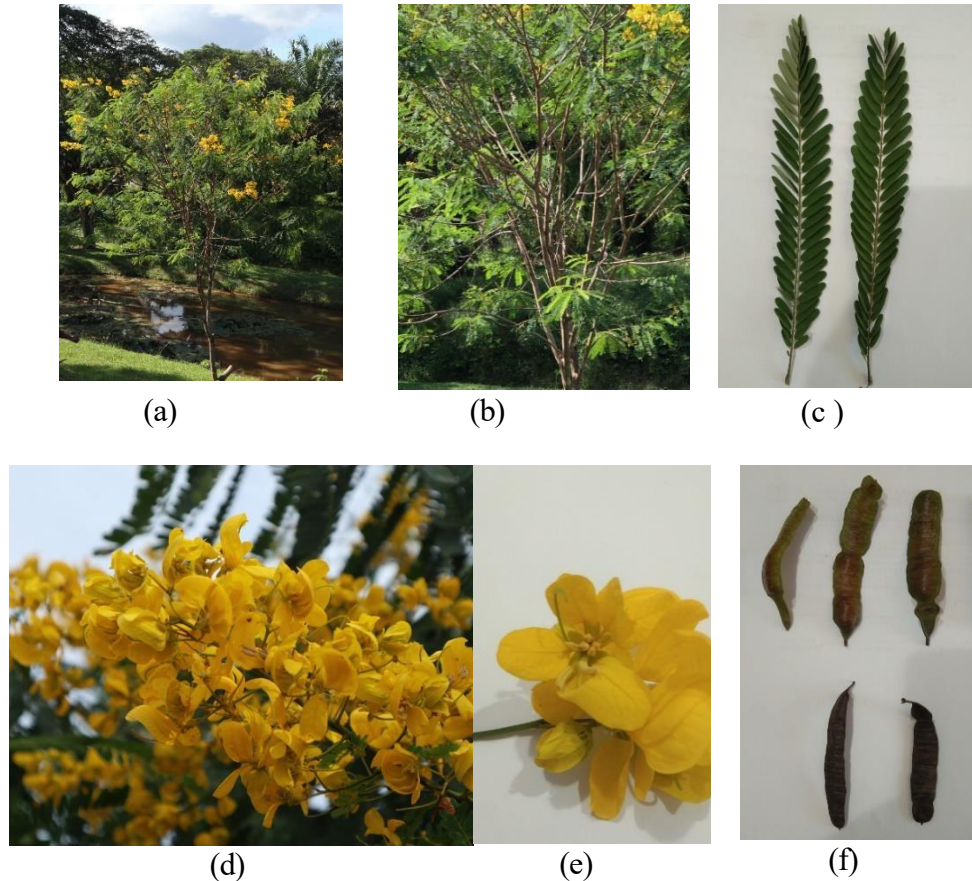
2.1. Tanaman Hujan Emas (*Senna multijuga*)

Tanaman hujan emas (*Senna multijuga*) berbentuk pohon sedang dan ramping 6–15 meter dengan tajuk melebar. Daun tanaman berwarna hijau tua bertipe majemuk menyirip dan berseling serta tumbuh hingga 30 cm. Bentuk anak daun oval memanjang dengan ujung daun membulat. Jumlah anak daun 25-33 pasang yang berlawanan atau berseling dengan ukuran dan jumlah yang bervariasi. Biji dihasilkan dalam polong yang sempit, padat, lonjong, pipih dengan lebar 1 sampai 2 cm berisi 20 sampai 32 biji, dengan lapisan luar biji berwarna abu-abu kecoklatan pucat. Tanaman ini, berasal dari daerah tropis lembab di Amerika Latin dan daerah tropis di seluruh dunia, termasuk Indonesia, Afrika, India, Cina, Australia, dan Hawaii (Carvalho, 2004).

Umumnya genus *Senna* dapat dijadikan obat herbal dengan cara maserasi, rebusan, infus, eksudat atau rendaman kulit tanaman digunakan sebagai bahan terapi (Oladeji dkk., 2020). Beberapa spesies *Senna spp.* telah dikembangkan karena keragaman structural molekul bioaktif aktivitas biologis dan farmakologis yang terdapat pada akar, kulit kayu, kulit, daun, biji dan buah. Menurut Ibrahim dan Islam (2014), studi farmakologi terbaru bahwa ekstrak kasar, fraksi atau metabolit terisolasi dari genus *Senna* memiliki sifat antimalaria, antidiabetik, antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, analgesik, antitumor, antinosiseptif, dan antikanker. *Senna sp.* memiliki sejumlah besar fitokonstituen antrakuinon, flavonoid, terpenoid, minyak

Senyawa fenolik merupakan fitokonstituen yang melimpah dalam genus *Senna* atsiri, antron, alkaloid, tanin, polifenol, glikosida, steroid dan saponin diisolasi

dari beberapa *Senna sp.* (Bene *et al.*, 2019). Tanaman Hujan Emas dapat dilihat pada Gambar 2 oleh Irwin dan Barneby (1982).



Gambar 2. Tanaman hujan emas (*Senna multijuga*)

Keterangan : (a) kenampakan pohon, (b) percabangan, (c) daun, (d) bunga, (e) kelopak bunga, (f) buah (panjang)

Sumber : Irwin dan Barneby (1982)

Divisi : Magnoliophyta (Angiospermae)
 Class : Magnoliatae (Dicotyledone)
 Ordo : Fabales
 Famili : Caesalpiniaceae (Leguminosae caesalpinioideae).
 Genus : *Senna*
 Spesies : *Senna multijuga*

(Carvalho, 2004)

2.2. Aktivitas Biologi Tanaman Hujan Emas

Tanaman *Senna sp.* memiliki kandungan alkaloid piperidin (88) yang terdapat pada daun *Senna racemosa* secara signifikan menghambat pertumbuhan isolat bakteri dan jamur *Staphylococcus aureus* dan *S. subtilis* MIC (*minimum inhibitory concentration*) 2,5 mg/mL dan jamur *Candida albicans* (MIC 5,0 mg/mL) (Sansores-Peraza dkk., 2000). Senyawa fenolik (8-19) terisolasi dari *Senna sp.* secara signifikan menghambat pertumbuhan mikroba yang diuji. Selain itu, ekstrak dan fraksi kaya flavonoid dinilai pada isolat jamur. ekstrak etanol *S. multijuga* memberikan aktivitas penghambatan yang kuat (MIC 5,9 hingga 23,4 mg/mL), fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap *C. glabrata* (MIC 5,9 mg/L), *C. tropicalis* dan *C. albicans* (MIC 23,4 mg/mL), sedangkan terhadap amfoterisin B menunjukkan aktivitas sedang (MIC 0,1-0,2 mg/mL) (Nascimento dkk., 2020).

Aktivitas yang dihasilkan kulit tanaman *S. multijuga* berhubungan dengan kandungan senyawa fenolik dan flavonoidnya. Sejumlah besar senyawa fitokimia yang terdapat pada tumbuhan *S. multijuga* adalah antrakuinon, flavonoid, terpenoid, minyak atsiri, antron, alkaloid, tanin, polifenol, glikosida, steroid dan saponin diisolasi dari beberapa *Senna spp.* (Bene *et al.*, 2019). Spesies yang termasuk dalam genus *Senna* terkenal karena berbagai aplikasinya dalam pengobatan tradisional dan sebagai sumber alkaloid, termasuk yang termasuk dalam kelas piperidin dan piridin, yang menunjukkan berbagai aktivitas biologis. Ekstrak *S. multijuga* telah digunakan dalam pengobatan di Brazil. Beberapa pengobatan yang telah dikembangkan dalam pemanfaatan senyawa aktif pada *S. multijuga* yaitu infeksi mata dan kulit, yang memberikan bukti potensi sifat antimikroba. Studi fitokimia telah menunjukkan adanya glikosida flavonoid dan alkaloid piridin pada spesies ini, dan fraksi etil asetat tanaman ini menunjukkan aktivitas penghambatan asetilkolinesterase (AChE) (Francisco *et al.*, 2012).

2.3. *Ganoderma boninense*

Jamur *Ganoderma* adalah jenis jamur yang dikenal dengan nama lain *Reishi* atau *Lingzhi*. Habitat alami jamur ini biasanya terdapat di hutan-hutan subtropis dan tropis di seluruh dunia, terutama di Asia Timur. Mereka tumbuh dengan baik di lingkungan yang lembab dan teduh, sering ditemukan di dekat pohon-pohon kayu keras seperti kayu manis, atau pohon cemara. *Ganoderma* juga dapat hidup dalam kondisi yang agak terpapar sinar matahari, tetapi tidak secara langsung. Tubuh jamur ini memiliki ciri khas berbentuk seperti kipas dengan permukaan yang keras dan berwarna cokelat tua hingga hitam. *Ganoderma* dapat tumbuh cukup besar, dengan diameter mencapai beberapa puluh sentimeter. Masa pertumbuhan jamur ini bisa bervariasi tergantung pada kondisi lingkungan dan jenis substratnya. Jaringan tubuh buah terdiri atas benang-benang jamur yang ujung spora terpancung, mempunyai dinding dalam coklat kekuningan dan mempunyai tonjolan- tonjolan. Sifat ini merupakan sifat khas marga jamur *Ganoderma* (Hidayati dan Nurrohmah, 2015). Jamur *Ganoderma boninense* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Jamur *Ganoderma boninense* menyerang tanaman kelapa sawit
Sumber: Utomo *et al.* (2024)

Menurut Susanto (2011), klasifikasi *Ganoderma* sebagai berikut:

Divisio	: Basidiomycota
Class	: Agaricomycetes
Ordo	: Polyporales
Famili	: Ganodermataceae
Genus	: <i>Ganoderma</i>
Spesies	: <i>Ganoderma boninense</i>

G. boninense merupakan jenis jamur famili *Ganodermataceae*, dengan kelas *Basidiomycetes*. Jamur ini biasanya hidup di tanah, memiliki sifat parasit dan saprofitik yang menarik karena dua efek yang saling bertentangan yaitu efek berbahaya dan bermanfaat. Sebagai parasit tanaman, jamur *G. boninense* dapat menyebabkan busuk akar dan batang pada perkebunan tanaman tropis yang menyebabkan kerugian. Jamur ini juga dikenal sebagai jamur pelapuk putih yang menyebabkan busuk kayu dengan menghancurkan lignin. Badan buah jamur *G. boninense* memiliki basidiokarp berbentuk seperti kipas, bergelombang, terdapat lingkaran tahunan, permukaannya memiliki warna coklat keunguan pada bagian tepi berwarna putih. Bagian bawah badan buah jamur *G. boninense* berwarna putih kekuningan dan memiliki pori-pori. karakteristik morfologi isolat jamur *G. boninense* berwarna putih dengan tekstur kasar, tekstur permukaan berombak (Fitriani dkk., 2017).

Jamur *Ganoderma* adalah patogen utama yang menyebabkan penyakit busuk batang pada pohon sawit. Jamur ini menyerang jaringan kayu, menyebabkan pembusukan dan akhirnya kematian tanaman. Proses infeksi dimulai dengan spora jamur yang masuk ke dalam jaringan melalui luka atau cacat pada kulit. Kemudian, jamur ini tumbuh dan berkembang di dalam jaringan kayu, memicu pembusukan yang mengurangi kemampuan pohon untuk menyerap air dan nutrisi. Infeksi yang parah dapat menyebabkan robohnya pohon sawit dan kerugian besar dalam produksi kelapa sawit. Pertumbuhan *Ganoderma* dimulai dari spora yang tersebar di udara dan menetap di permukaan substrat yang cocok, seperti kayu mati atau kulit pohon yang terluka. Ketika spora menemukan kondisi yang sesuai, mereka mulai berkembang menjadi miselium, yaitu jaringan benang halus yang tumbuh di dalam substrat. Miselium *Ganoderma* akan berkembang dan menyebar di sekitar substrat, menguraikan bahan organik dan mendapatkan nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhannya. *Ganoderma* termasuk kelompok jamur makroskopis atau makrofungi (*Basidiomycota*) merupakan kelompok utama organisme pendegradasi lignoselulosa karena mampu menghasilkan enzim-enzim pendegradasi lignoselulosa seperti selulase, ligninase, dan hemiselulose (Munir, 2006).

2.4 Metode Ekstraksi

2.4.1 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pengambilan kandungan kimia yang dapat larut dalam pelarut tertentu sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Simplisia yang telah mengalami proses difraksi mengandung berbagai senyawa, baik yang dapat larut maupun yang tidak dapat larut, seperti serat, karbohidrat, protein, dan senyawa lainnya. Senyawa-senyawa aktif yang ditemukan dalam simplisia sering kali termasuk ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan berbagai golongan lainnya. Pengetahuan tentang senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia menjadi sangat penting, karena hal ini dapat mempermudah dalam menentukan jenis pelarut serta metode ekstraksi yang paling sesuai untuk mendapatkan hasil yang optimal (Tiwari *et al.*, 2011).

Terdapat beragam metode ekstraksi dalam dunia fitokimia yang dapat mempengaruhi kualitas serta kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak yang dihasilkan. Faktor-faktor seperti jenis metode ekstraksi, durasi, suhu, konsentrasi pelarut, serta polaritas pelarut merupakan variabel penting yang perlu diperhatikan untuk mendapatkan ekstrak dengan kualitas terbaik (Tiwari *et al.*, 2011).

Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan mencakup maserasi, infus, destruksi, dekoksi, perkolasi, dan soxhlet. Selain itu, terdapat juga metode ekstraksi alkohol berair yang difermentasi, ekstraksi arus balik, sonikasi atau ekstraksi ultrasonik, hingga ekstraksi cairan superkritis, yang masing-masing memiliki kelebihan dan kekurangan tergantung pada jenis simplisia dan senyawa yang diinginkan (Hastari, 2012).

Maserasi merupakan tahap pengekstrakan simplisia memakai pelarut menggunakan beberapa kali pengocokan, pengadukan atau pencampuran dalam suhu kamar. Keuntungan dalam ekstraksi menggunakan cara maserasi yaitu pengerjaan dan alat-alat yg digunakan sederhana, sedangkan kerugiannya yaitu dari cara pengerjaannya atau prosesnya yang lama karena membutuhkan pelarut yang cukup besar atau banyak dan penyaringan kurang sempurna. Proses

maserasi di lakukan dengan cara ekstrak cairan, bubuk halus atau kasar dari tanaman obat yang berhubungan dengan menggunakan pelarut disimpan pada wadah tertutup untuk periode tertentu menggunakan pengadukan yang sering, hingga zat eksklusif dapat terlarut. Metode ini paling cocok dipakai untuk senyawa yang termolabil (Tiwari *et al.*, 2011).

Fraksinasi adalah metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda berdasarkan sifat fisik dan kimia senyawa yang ada di dalamnya. Prinsip dasar fraksinasi adalah pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antara dua fraksi. Proses ini sering dilakukan dengan menggunakan pelarut yang saling tidak tercampur, sehingga senyawa dengan kepolaran yang sama dapat larut dalam pelarut yang sesuai. Fraksinasi cair-cair dilakukan dengan cara campuran diekstraksi dengan dua pelarut yang berbeda kepolarannya. Misalnya, air (polar) dan n-heksan (nonpolar) senyawa polar akan larut dalam air, sementara senyawa nonpolar akan larut dalam n-heksan. Pelarut yang digunakan dipilih berdasarkan sifat senyawa yang ingin diekstrak. Contohnya, etanol digunakan untuk mengekstrak senyawa polar, sedangkan etil asetat dapat digunakan untuk senyawa semi-polar (Pratiwi dkk., 2016).

2.4.2. Pelarut

Pelarut adalah zat cair yang memiliki kemampuan untuk melarutkan zat lain, terutama yang berbentuk padatan, tanpa menyebabkan perubahan kimia pada zat-zat tersebut. Ketika suatu zat padat larut dalam pelarut, molekul-molekul dari zat tersebut tersebar di antara molekul-molekul pelarut, membentuk suatu campuran homogen yang dikenal sebagai larutan. Proses pelarutan ini terjadi karena adanya gaya tarik menarik antar molekul, di mana molekul-molekul pelarut dan zat terlarut saling berinteraksi dan terikat melalui gaya antar molekul. Gaya tarik ini memainkan peran penting dalam pembentukan larutan dan kestabilan zat di dalamnya. Pelarut merupakan zat cair yang berfungsi melarutkan zat terlarut (solute) untuk membentuk larutan homogen, dan banyak digunakan dalam berbagai proses kimia, biologis, serta industri, termasuk formulasi obat dan

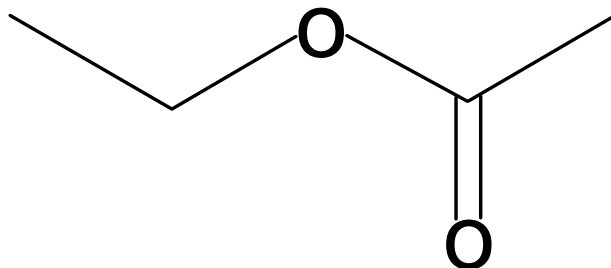
ekstraksi senyawa bioaktif. Pelarut memiliki peran penting dalam mempengaruhi interaksi antar molekul dan kelarutan senyawa, tergantung pada sifat polaritasnya. Selain itu, pemilihan pelarut yang tepat dapat menentukan efisiensi proses ekstraksi atau reaksi kimia yang berlangsung (Manikandan *et al.*, 2020).

Pelarut diklasifikasikan berdasarkan sifat kepolaran, yang mempengaruhi kemampuan untuk melarutkan berbagai jenis zat. Tiga jenis utama pelarut berdasarkan kepolarannya: pelarut polar, semi-polar, dan non-polar. Pelarut polar, seperti air, cenderung melarutkan zat-zat yang juga bersifat polar, sementara pelarut non-polar, seperti minyak, lebih efektif melarutkan zat-zat non-polar. Pelarut semi-polar berada di antara kedua ekstrem ini, mampu melarutkan zat dengan kepolaran sedang. Pemahaman tentang jenis-jenis pelarut ini sangat penting dalam berbagai aplikasi ilmiah dan industri, terutama dalam proses ekstraksi dan pemisahan zat (Wardhani dan Sulistyani, 2012).

Etil asetat merupakan pelarut yang bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar, memiliki toksisitas rendah, dan mudah diuapkan (Wardhani dan Sulistyani, 2012). Etil asetat adalah jenis ester yang paling banyak ditemui pada golongannya. Etil asetat dapat diperoleh melalui reaksi esterifikasi dengan mereaksikan etanol dengan asam asetat menggunakan katalis untuk mempercepat reaksi pembentukan ester. Etil asetat (ethyl acetate, $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$) merupakan pelarut semi-polar dengan konstanta dielektrik sebesar 6.02, menjadikannya efektif untuk mengekstraksi senyawa fenolik, flavonoid, dan alkaloid semi-polar (Sasidharan *et al.*, 2011). Etil asetat bersifat mudah menguap, memiliki titik didih sekitar 77.1°C , dan pH netral (sekitar 7), sehingga sering digunakan dalam fraksinasi ekstrak kasar serta dalam pemisahan senyawa berdasarkan polaritas menengah (PubChem, 2023a).

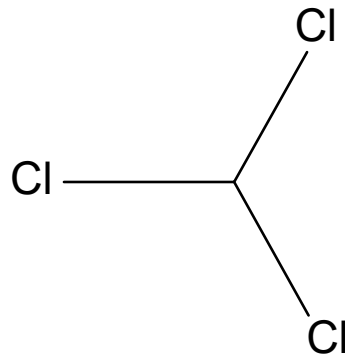
Kelebihan pelarut ini juga terletak pada kemampuannya melarutkan senyawa ester, asam organik, serta senyawa aromatik dalam jumlah sedang. Etil asetat diketahui memiliki banyak kegunaan serta target pasar yang cukup luas, seperti pemberi aroma dan rasa buah pada industri makanan dan parfum, industri cat dan tinta, plastik, PVC, dan lain sebagainya (Mailani dan Pratiwi, 2021). Adapun

fungsi etil asetat dalam penggunaan ekstraksi yaitu karena etil setat memiliki pelarut toksisitas rendah yang bersifat semi polar sehingga dapat menarik senyawa yang besifat polar maupun non polar (Putri dkk., 2013). Struktur kimia senyawa etil asetat dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur formula etil asetat

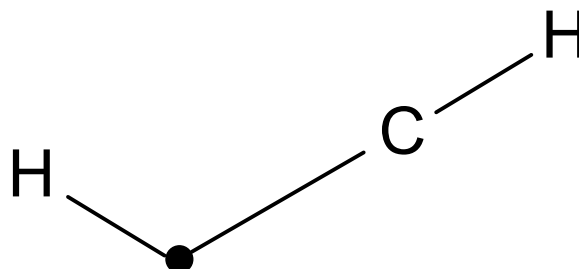
Kloroform atau yang dikenal sebagai triklorometana adalah senyawa yang tidak berwarna, berbentuk cairan, beraroma manis, dengan rumus CHCl_3 /Kloroform atau triklorometana. Senyawa ini sering digunakan dalam berbagai proses industri termasuk sebagai pelarut. Menurut Nafisah dkk. (2014), pelarut kloroform dapat menarik senyawa fenolik dan steroid kloroform (CHCl_3) adalah pelarut non-polar hingga semi-polar dengan konstanta dielektrik 4,81. Kloroform sering digunakan untuk mengekstraksi lipid, alkaloid bebas, dan senyawa terpenoid non-polar dari bahan alami (Handa *et al.*, 2008). Kloroform memiliki titik didih rendah, sekitar $61,2^\circ\text{C}$, dan cenderung bersifat asam lemah dengan pH sekitar 5,5. Penggunaannya banyak diterapkan pada proses ekstraksi berlapis atau pemisahan senyawa bioaktif yang larut dalam pelarut organik non-polar (ChemSpider, 2025). Meskipun efektif, penggunaan kloroform harus dibatasi karena bersifat toksik dan berpotensi karsinogenik.. Struktur kimia senyawa kloroform dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur formula Kloroform

Metanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan beberapa kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, tannin, flavonoid, dan polifenol. Metanol merupakan senyawa polar. Metanol (MeOH atau CH_3OH) merupakan pelarut polar protik dengan konstanta dielektrik tinggi yaitu 32.6, sangat efektif untuk mengekstraksi senyawa polar seperti saponin, flavonoid, fenol, dan glikosida (Harborne, 1998). Metanol bersifat hidrofilik dan dapat melarutkan komponen polar karena adanya gugus hidroksil yang membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa target. Titik didihnya relatif rendah, yaitu 64.7°C , dengan pH netral (sekitar 7) bila tidak terkontaminasi air atau zat lain (PubChem, 2025).

Keunggulan metanol sebagai pelarut adalah kemampuannya mengekstraksi senyawa dalam jumlah tinggi, meskipun penggunaannya harus dibatasi karena toksisitasnya. Selain itu, metanol dapat menghambat reaksi oksidasi polifenol yang dapat menyebabkan oksidasi fenolat dan memudahkan saat penguapan ketika dievaporasi menggunakan rotary evaporator. Struktur kimia senyawa metanol dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur formula methanol

Heksana (n-hexane, C_6H_{14}) adalah pelarut non-polar dengan konstanta dielektrik sangat rendah (1,89), digunakan terutama untuk ekstraksi senyawa lipofilik seperti minyak atsiri, sterol, asam lemak, dan hidrokarbon (Mandal *et al.*, 2007). Titik didih heksana berkisar antara $68,7^{\circ}C$ hingga $69,0^{\circ}C$ dan memiliki pH netral. Karena sifat non-polarnya, heksana tidak dapat mengekstraksi senyawa polar, sehingga sering dipakai pada tahap awal ekstraksi untuk menghilangkan komponen lemak dan lilin dari sampel (ChemSpider, 2025). Penggunaan heksana perlu pengawasan karena mudah menguap dan bersifat neurotoksik. Keempat pelarut tersebut digunakan secara selektif atau kombinatif dalam metode ekstraksi berurutan (sequential extraction), agar dapat memisahkan senyawa bioaktif berdasarkan tingkat polaritasnya. Pemahaman karakteristik fisikokimia pelarut menjadi landasan penting dalam optimalisasi ekstraksi bahan alam untuk keperluan farmakologi atau fitokimia. Struktur n-Heksan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur n-Heksan

Campuran etil asetat dan heksana sering digunakan dalam teknik kromatografi kolom karena kombinasi kedua pelarut ini memungkinkan pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan polaritasnya secara lebih efektif. Heksana merupakan pelarut non-polar dengan konstanta dielektrik rendah ($\sim 1,89$), sedangkan etil asetat memiliki polaritas menengah (konstanta dielektrik $\sim 6,02$). Ketika dicampur dalam berbagai rasio, keduanya menciptakan gradien polaritas yang dapat diatur secara fleksibel untuk memfasilitasi pemisahan senyawa dari ekstrak kompleks. Senyawa non-polar cenderung akan keluar terlebih dahulu dari kolom ketika pelarut lebih dominan heksana, sementara senyawa yang lebih polar akan terelusi saat kandungan etil asetat ditingkatkan dalam campuran (Yadav *et al.*, 2022). Pendekatan ini mendukung pemisahan senyawa secara efisien karena perubahan bertahap polaritas eluen dapat meminimalkan koelusi antar senyawa, meningkatkan resolusi, dan memungkinkan pemurnian senyawa target secara

selektif. Selain itu, kedua pelarut ini mudah menguap dan kompatibel dengan banyak sistem deteksi, seperti spektrofotometri atau bioassay, sehingga sangat disukai dalam pemurnian senyawa bioaktif dari ekstrak tumbuhan (Gupta *et al.*, 2020).

2.5. Kolom Kromatografi

Kromatografi adalah proses pemisahan yang tergantung pada perbedaan distribusi campuran komponen antara fase gerak dan fase diam. Fase diam dapat berupa pembentukan kolom dimana fase gerak dibiarkan untuk mengalir (kolom kromatografi) atau berupa pembentukan lapis tipis dimana fase gerak dibiarkan untuk naik berdasarkan kapilaritas (kromatografi lapis tipis). Senyawa yang berinteraksi lemah dengan fase diam akan bergerak lebih cepat melalui sistem kromatografi. Senyawa dengan interaksi yang kuat dengan fase diam akan bergerak sangat lambat (Christian, 2016).

Solven murni atau system solven tunggal dapat digunakan untuk mengelusi semua komponen. Pada elusi gradien, kepolaran system solven ditingkatkan secara perlahan dengan meningkatkan konsentrasi solven ke yang lebih polar. Pemilihan solven elusi tergantung pada jenis adsorben yang digunakan dan kemurnian senyawa yang dipisahkan. Solven harus mempunyai kemurnian yang tinggi karena keberadaan seperti air, alkohol, atau asam pada solvent yang kurang polar akan mengganggu aktivitas adsorben (Braithwaite, 2015). Silika gel adalah fase diam (adsorben) yang paling sering digunakan untuk pemisahan produk alam (Cannel, 2017). Banyaknya adsorben yang digubakan bergantung pada tingkat kesulitan pemisahan dari suatu senyawa dan jumlah sampel yang akan dipisahkan. Secara umum, tiap gram sampel yang dipisahkan membutuhkan adsorben 30-50 g. Jika pemisahan yang dilakukan cukup sulit, jumlah adsorben yang dibutuhkan dapat mencapai 200 g. Jumlah adsorben yang dibutuhkan lebih sedikit untuk pemisahan senyawa-senyawa yang perbedaan kepolarannya cukup besar (Kristanti dkk., 2018). Proses kolom kromatografi dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Proses kolom kromatografi
Sumber: Dokumen pribadi

Permukaan silika gel memiliki gugus silanol yang berperan penting dalam proses pemisahan senyawa. Gugus silanol ini mengandung gugus hidroksil, yang dikenal sebagai pusat aktif pada silika gel. Gugus hidroksil tersebut memiliki potensi tinggi untuk membentuk ikatan hidrogen yang kuat dengan senyawa-senyawa yang akan dipisahkan, terutama dengan senyawa yang berfungsi sebagai donor hidrogen. Contoh senyawa-senyawa tersebut meliputi alkohol, fenol, amina, amida, dan asam karboksilat (Palleros, 2014). Oleh karena itu, semakin kuat kemampuan suatu senyawa untuk membentuk ikatan hidrogen, semakin kuat pula senyawa tersebut tertahan pada silika gel selama proses pemisahan.

Kekuatan ikatan antara senyawa dengan silika gel sangat bergantung pada polaritas fase gerak yang digunakan. Solven dengan kemampuan ikatan hidrogen yang kuat cenderung lebih efektif dalam mengelusi senyawa polar yang teradsorpsi pada kolom silika gel. Hal ini berarti bahwa pemilihan solven atau eluen yang tepat sangat penting untuk memastikan keberhasilan proses pemisahan. Seperti yang dinyatakan oleh Cannel (2017), eluen dengan kemampuan ikatan hidrogen yang baik akan lebih efektif dalam melepaskan senyawa polar dari kolom silika gel. Adapun pengisian adsorben dalam kolom dapat dilakukan dengan dua metode utama, tergantung pada kebutuhan dan tujuan dari proses pemisahan tersebut.

1. Pengisian cara basah

Pengisian kolom dengan metode basah dilakukan dengan mencampurkan adsorben dengan eluen yang akan digunakan dalam proses elusi. Campuran ini harus dibuat dengan kekentalan tertentu sehingga dapat dengan mudah dituangkan ke dalam kolom. Proses pencampuran dilakukan secara bertahap, di mana adsorben ditambahkan ke pelarut sedikit demi sedikit untuk menghindari terbentuknya gumpalan di dalam campuran. Setelah campuran mencapai kekentalan yang diinginkan, campuran tersebut dimasukkan ke dalam kolom menggunakan corong. Selama proses ini, dinding kolom diketuk secara perlahan untuk memastikan lapisan adsorben terbentuk secara merata, mampat, dan bebas dari gelembung udara yang dapat mengganggu proses elusi (Kristanti dkk., 2018).

Setelah campuran adsorben berhasil dimasukkan, kran di bagian bawah kolom dibuka untuk mengeluarkan pelarut berlebih. Proses ini diulang hingga semua adsorben yang dibutuhkan untuk elusi masuk ke dalam kolom. Langkah selanjutnya adalah menunggu hingga cairan yang berada di atas lapisan adsorben menjadi jernih, yang menandakan bahwa adsorben telah tersusun dengan baik dan siap untuk digunakan dalam proses elusi lebih lanjut. Proses ini penting untuk memastikan bahwa elusi berjalan dengan optimal, tanpa gangguan dari gumpalan atau gelembung udara yang dapat mempengaruhi aliran eluen melalui kolom (Kristanti dkk., 2018).

2. Pengisian cara kering

Eluen yang akan digunakan untuk proses elusi diisi ke dalam kolom hingga mencapai $\frac{2}{3}$ dari kapasitas kolom tersebut. Adsorben yang telah dipilih kemudian ditambahkan ke dalam kolom secara perlahan. Sambil memasukkan adsorben, dinding kolom diketuk-ketuk perlahan untuk memastikan adsorben masuk dengan rata tanpa ada yang menggumpal. Setelah itu, kran pada bagian bawah kolom dibuka untuk mengalirkan semua pelarut keluar, sehingga adsorben dapat masuk sepenuhnya ke dalam kolom.

Setelah adsorben terdistribusi merata dalam kolom, kolom dibiarkan beberapa saat hingga cairan di atas adsorben menjadi jernih. Hal ini menunjukkan bahwa adsorben telah tersusun dengan baik dan siap untuk digunakan dalam proses selanjutnya. Penting untuk selalu menjaga agar jumlah eluen atau pelarut tetap berada di atas permukaan adsorben selama proses berlangsung, agar proses elusi dapat berjalan dengan efektif (Kristanti dkk., 2018). Semua Fraksi hasil pemisahan kromatografi kolom selanjutnya dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis untuk melihat noda dengan Rf yang sama. Fraksi-fraksi dengan noda yang sama pada kromatografi lapis tipis digabung dan diuapkan pelarutnya (Saleh, 2017).

2.6. Uji *In vitro*

Uji *in vitro* merupakan metode eksperimental yang dilakukan di luar organisme hidup, biasanya dalam lingkungan laboratorium menggunakan media buatan seperti cawan petri, tabung reaksi, atau mikropate. Pendekatan ini digunakan untuk mengamati secara langsung aktivitas biologis senyawa terhadap mikroorganisme atau sel target dengan kontrol yang tinggi terhadap variabel lingkungan (Freshney, 2010). Uji *in vitro* menjadi penting karena memberikan gambaran awal tentang efektivitas dan toksisitas senyawa sebelum dilakukan uji lanjutan pada organisme hidup. Manfaat utamanya yaitu efisiensi dalam biaya dan waktu, serta kemampuan mengidentifikasi potensi aktivitas antimikroba atau antifungi dari suatu senyawa secara spesifik dan terukur (Krewski *et al.*, 2010). Tujuan dari pengujian ini adalah untuk menyaring kandidat senyawa aktif yang memiliki potensi sebagai agen terapeutik atau pestisida hayati secara cepat dan akurat.

Berbagai penelitian telah dikembangkan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Ganoderma*. Berdasarkan penelitian Agustina (2020), asap cair 5-20% dalam PDA dapat menghambat pertumbuhan *Ganoderma* yang diinkubasi selama 14 hari dengan rerata koloni jamur berdiameter 1 cm. Asap cair mengandung senyawa fenol seperti : Phenol, 2-ethylphenol, 3 Methylphenol, 2,6-Dimethylphenol, 2,4-Dimethylphenol, dan 3-hylphenol yang merupakan senyawa

anti mikroba sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Ganoderma*. Selain itu berdasarkan penelitian Mahmud dkk. (2023) ekstrak daun pepaya 4% dalam media PDA dapat menghambat pertumbuhan *Ganoderma* sp. 65,47%. Hal ini disebabkan ekstrak daun pepaya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin dan saponin yang dapat menghambat pertumbuhan *Ganoderma* sp. Oleh sebab itu tanaman *S. multijuga* yang memiliki kandungan antrakuinon, flavonoid, terpenoid, minyak atsiri, antron, alkaloid, tanin, polifenol, glikosida, steroid dan saponin memiliki potensi sebagai anti jamur pada *G. boninense*.

Kriteria tubuh buah yang diambil digunakan dalam pengujian *bioassay* yaitu masih muda dan segar, berdiameter 1 - 1,5 cm, dan berwarna putih terletak di bagian pangkal kulit kelapa sawit. Prosedur melakukan *bioassay* jamur *G. boninense* yaitu tubuh buah dipotong kecil-kecil dengan menggunakan pisau yang telah disterilkan dengan ukuran 1 cm x 1 cm. Lapisan tubuh buah yang paling luar dikikis dengan ketebalan 1 mm, kemudian direndam di dalam larutan clorox (NaOCl) 10% selama 10 menit. Setelah itu, tubuh buah dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan residu larutan. Tubuh buah yang telah disterilkan diinokulasi ke dalam petri PDA (*Potato Dextrose Agar*) steril dengan menggunakan pinset. Setelah selesai diinokulasi biakan diinkubasi pada suhu kamar, sampai 2 minggu, hingga seluruh permukaan medium tertutupi oleh miselium *Ganoderma* (Aditya dkk., 2024).

2.7. Uji *In silico*

Pendekatan *in silico* merupakan metode bioinformatika yang digunakan secara luas dalam studi penemuan dan pengembangan obat berbasis senyawa alami maupun sintetis. Istilah *in silico* merujuk pada simulasi komputer yang bertujuan memprediksi aktivitas biologis suatu senyawa, termasuk interaksinya dengan target protein spesifik. Metode ini memungkinkan proses penyaringan awal kandidat senyawa secara efisien dan hemat biaya sebelum dilakukan uji eksperimental (*in vitro* maupun *in vivo*) (Jantan *et al.*, 2018). Konteks pengendalian patogen tanaman menunjukkan bahwa pendekatan *in silico* menjadi

alternatif dalam mengidentifikasi senyawa antifungi potensial yang berasal dari sumber alam.

Salah satu teknik utama dalam pendekatan *in silico* ialah *molecular docking*, yaitu simulasi interaksi antara molekul kecil (ligan) dan makromolekul target (umumnya protein). Prinsip kerjanya terletak pada prediksi orientasi terbaik ligan saat berikatan dengan situs aktif protein serta perhitungan energi ikatan atau *binding affinity* (Morris *et al.*, 2009). Nilai energi yang lebih negatif menunjukkan potensi interaksi yang lebih kuat dan stabil. Hasil dari simulasi ini juga memberikan informasi mengenai jenis interaksi, seperti ikatan hidrogen, gaya *van der Waals*, dan interaksi elektrostatik, yang berperan penting terhadap aktivitas biologis senyawa tersebut.

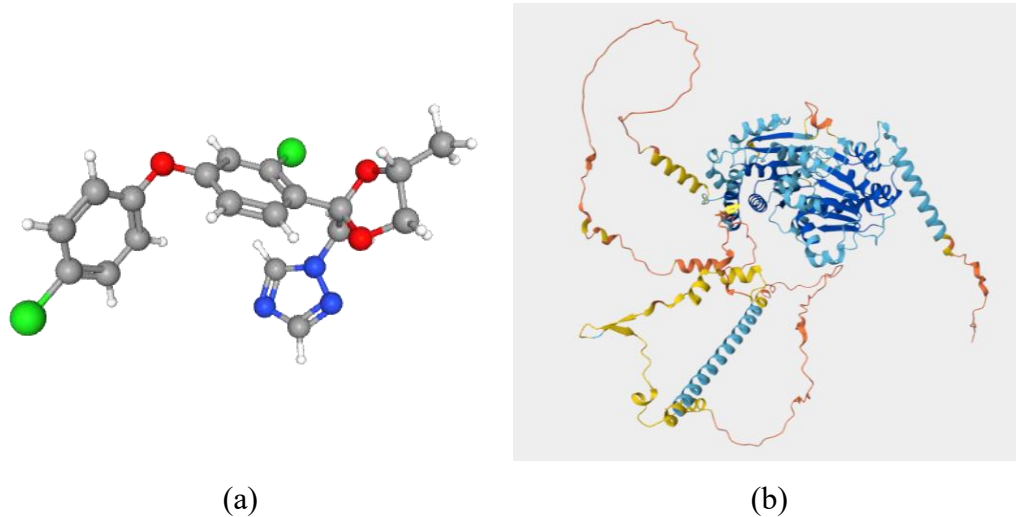
Aplikasi teknik *molecular docking* memerlukan data struktur tiga dimensi dari ligan dan protein target. Struktur ligan umumnya diperoleh melalui basis data kimia seperti PubChem, sedangkan struktur protein target tersedia melalui Protein Data Bank (PDB) atau dapat diprediksi menggunakan perangkat lunak seperti AlphaFold, Swiss-Model, atau I-TASSER apabila belum tersedia (Kim *et al.*, 2023). Proses prediksi target biologis suatu senyawa berdasarkan struktur kimianya juga dapat dilakukan dengan bantuan perangkat seperti SuperPred dan SwissTargetPrediction (Nickel *et al.*, 2014). Keberadaan perangkat tersebut sangat membantu dalam mengarahkan penelitian ke target protein yang relevan secara biologis maupun fungsional.

Keunggulan utama dari pendekatan *in silico* terletak pada kemampuannya menganalisis berbagai senyawa secara paralel melalui proses *virtual screening*. Pendekatan ini telah diaplikasikan dalam studi antifungi, khususnya untuk menyaring senyawa tanaman obat yang memiliki potensi menghambat enzim penting dalam siklus hidup jamur, seperti β -glukan sintase, lakase, dan lignin peroksidase (Putri *et al.*, 2022). Korelasi yang baik antara hasil *in silico* dan *uji in vitro* turut memperkuat validitas metode ini sebagai tahap awal pengembangan fitofarmaka.

Keseluruhan proses *in silico* kini menjadi bagian integral dari riset modern, termasuk eksplorasi senyawa antifungi berbasis tumbuhan. Integrasi teknik *molecular docking*, basis data kimia, serta prediksi target biologis memungkinkan proses penemuan agen antimikroba berlangsung secara lebih efisien, terarah, dan berkelanjutan.

2.7.1. Ligan dan Protein Target

Ligan atau senyawa aktif merupakan komponen penting dalam studi *molecular docking* karena berperan sebagai molekul kecil yang berinteraksi dengan target protein untuk membentuk kompleks stabil melalui ikatan non-kovalen seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan gaya *van der waals*. Pemilihan ligan yang tepat sangat menentukan keberhasilan proses *docking* karena *afinitas* dan spesifisitas ligan terhadap reseptor dapat mempengaruhi potensi terapeutik senyawa tersebut (Khan *et al.*, 2021). Studi terbaru banyak memanfaatkan senyawa bioaktif dari sumber alami seperti flavonoid, alkaloid, dan terpenoid sebagai ligan potensial karena keragaman struktur kimia dan aktivitas biologisnya yang luas (Singh *et al.*, 2022). Pemanfaatan teknologi *in silico* seperti *molecular docking* telah menjadi pendekatan awal yang efisien untuk menyaring ribuan senyawa aktif sebelum dilakukan uji laboratorium lebih lanjut (Zhao *et al.*, 2023). Validasi struktur ligan juga penting dilakukan menggunakan basis data seperti *PubChem* dan pengoptimalan geometri dengan perangkat lunak seperti *Gaussian* atau *Avogadro* sebelum proses *docking* dilakukan (Ramesh *et al.*, 2020). Struktur Ligan dan protein yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar



Gambar 9. Ligan dan protein

(a) Struktur 3D Difenoconazole (b) struktur ATP-dependent RNA helicase

Sumber : PubChem (2025) dan UniProt (2025).

Gambar 9 menunjukkan struktur 3D (a) difenoconazole, dan (b) ATP-dependent RNA helicase. difenoconazole merupakan senyawa yang komersial sebagai Score 250 EC, merupakan fungisida golongan triazol dan termasuk dalam kelompok DMI (demethylation inhibitors). Difenoconazole pada penelitian ini digunakan sebagai ligan dalam simulasi *molecular docking* terhadap ATP-dependent RNA helicase dari gen Q8Y8N0, yang diidentifikasi pada *G. boninense*. ATP-dependent RNA helicase merupakan enzim penting yang berperan dalam berbagai proses metabolisme RNA seperti replikasi, transkripsi, splicing, translasi, hingga degradasi RNA. Pada *G. boninense*, enzim ini berperan vital dalam regulasi ekspresi gen yang berkaitan dengan pertumbuhan dan patogenisitas jamur. Protein ini bekerja dengan memanfaatkan energi dari hidrolisis ATP untuk membuka struktur heliks RNA, yang memungkinkan proses sintesis dan pemrosesan RNA berjalan secara efisien. Berdasarkan data UniProt (A0A5K1JVD1), protein ini tersusun atas 805 asam amino dan termasuk dalam klasifikasi enzim EC 3.6.4.13 dengan aktivitas katalitik $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{fosfat} + \text{H}^+$. Situs aktif enzim ini memiliki afinitas terhadap ATP dan berpotensi menjadi target pengikatan molekul kecil (UniProt, 2025).

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengujian Mutu Hasil Pertanian dan Laboratorium bioteknologi, Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung dan Laboratorium Primkoppol Puslabfor Polri (Primer Koperasi Kepolisian Pusat Laboratorium Forensik Kepolisian Negara Republik Indonesia) Jawa Barat pada bulan November 2024- Januari 2025.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit tanaman hujan emas, alkohol 96%, alkohol 70%, metanol (MeOH), heksan, alumunium foil, etil asetat, heksan, kloroform, akuades, aseton, silika gel 60 (0,2-0,5 mm), media PDA, dan isolat jamur *Ganoderma boninense*.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu hotplate, timbangan analitik, vacuum rotary evaporator, cawan petri, laminar air flow, jarum ose, bunsen, sonicator, inkubator, autoklaf, beaker glass, erlenmayer (*pyrex*), spatula, pinset, dan gelas ukur, dan jangka sorong digital.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan perlakuan tunggal yaitu komposisi elusi kolom kromatografi fraksi etil asetat Kulit Tanaman Hujan Emas. Hasil kolom kromatografi dengan eluen 100% CHCl₃ 3% MeOH/CHCl₃ 20% MeOH/CHCl₃ 100% MeOH di uji aktivitas antifungi terhadap *G. boninense* secara *in vitro*. Hasil terbaik di lakukan kolom kromatografi untuk mendapatkan snyawa yang lebih murni (Fraksi 1, 2, 3, 4, 5) kemudian di lakukan pengujian yang dapat menghambat pertumbuhan *G. boninense*. Fraksi terbaik dilakukan pengujian

lebih lanjut terhadap *G. boninense* pada berbagai konsentrasi yaitu 0 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, 0,75ppm, 1ppm, 1,25ppm dan 1,5 ppm pengujian dilakukan secara duplo. Selanjutnya dilakukan *uji insilico* pada perlakuan terbaik yaitu Fraksi 1.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Preparasi Sampel

Kultur jamur *G. boninense* diperoleh dari koleksi Laboratorium Bioteknologi Jurusan Proteksi Tanaman. Sampel kulit kayu hujan emas (*Senna multijuga*) diperoleh dari PT. Sampoerna Agro Tbk. Langkah pertama yaitu kulit tanaman hujan emas yang diperoleh hingga diperoleh kulit kayu dan kulit kayu hujan emas. Kulit tanaman hujan emas dipotong kecil-kecil, dikeringkan kemudian ditimbang sehingga diperoleh 833 g.

3.4.2. Fraksinasi Kulit Hujan Emas

Sebanyak 833 g kulit tanaman hujan emas dilakukan perendaman selama 4 minggu dalam alkohol 96% 2,5 L (perbandingan 1:3). Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dengan ampas sampel. Filtrat yang diperoleh dievaporasi dengan rotary evaporator hingga diperoleh konsentrat. Konsentrat diekstraksi dengan etil asetat dan air dan dipisahkan lapisan etil asetat dan lapisan air. Lapisan etil asetat selanjutnya di evaporasi dengan rotary evaporator dan diperoleh residu. Residu di kolom kromatografi dengan silika gel 50 g. Hasil kolom kromatografi terdiri dari beberapa eluen yaitu 100 % CHCl_3 , 3% MeOH/ CHCl_3 , dan 100 % MeOH kemudian di lakukan uji aktivitas senyawa terhadap jamur *G. boninense*.

Fraksi dengan eluen 100% CHCl_3 merupakan senyawa dengan daya hambat yang paling kuat terhadap jamur *G. boninense*, fraksi kemudian di evaporasi. Residu yang dihasilkan selanjutnya di kolom kromatografi dengan silika 25 g dalam 25% Etil Asetat/Heksan. Kolom kromatografi akan di gabung berdasarkan spot yang dihasilkan menghasilkan Fraksi 1, 2, 3, 4, dan 5. Sampel fraksi terbaik yang menghasilkan daya hambat terhadap jamur *G. boninense*, diuji daya hambat

dengan perlakuan konsentrasi (0 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, 0,75 ppm, 1 ppm, 1,25 ppm, 1,5 ppm dan 1,5). Proses pembuatan fraksi kulit tanaman hujan mas dapat dilihat pada diagram alir Gambar 10.

3.5 Uji Aktivitas Antifungi Secara *In vitro*

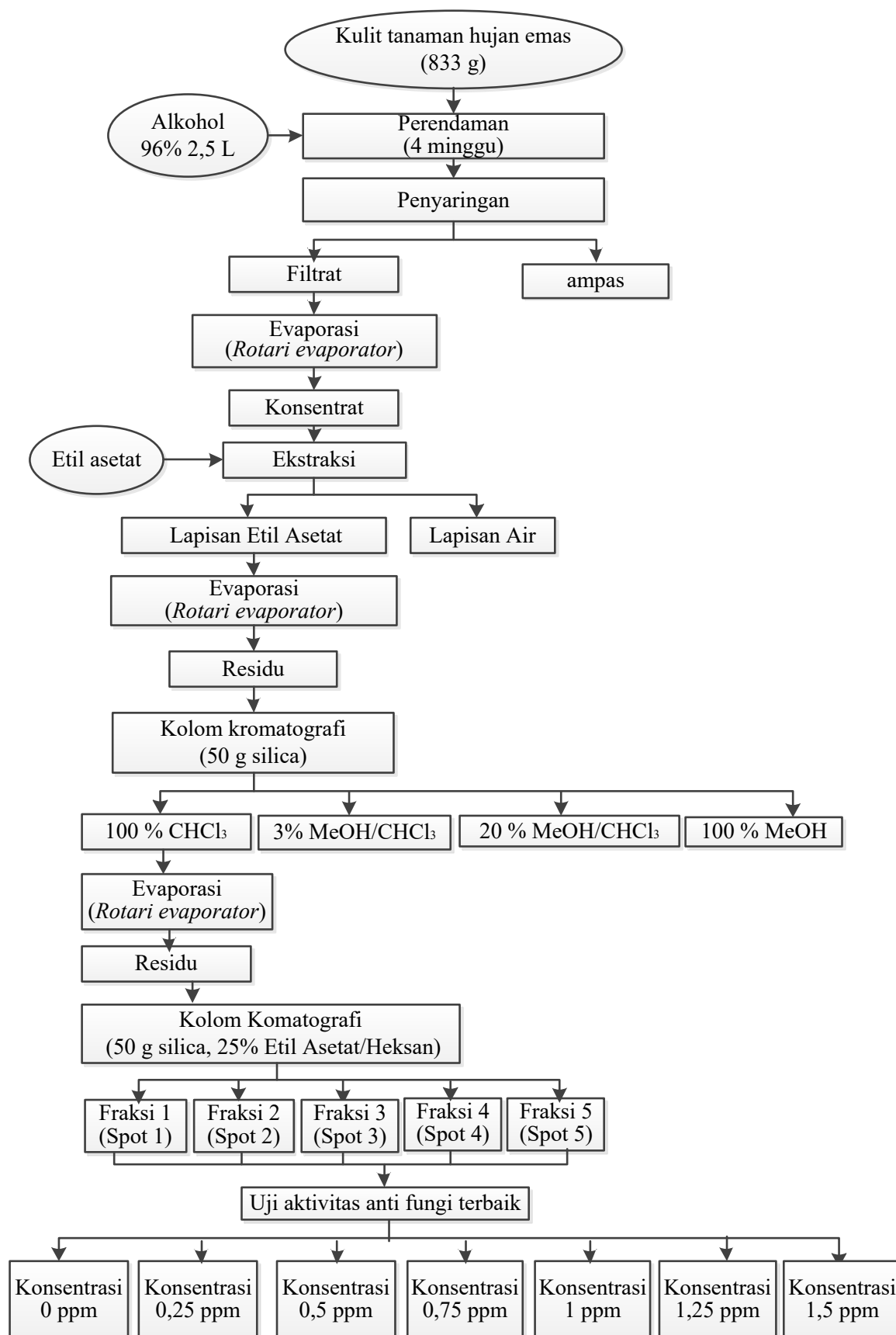
3.5.1. Sterilisasi

Seluruh alat yang digunakan dicuci bersih dan dikeringkan. Sterilisasi dilakukan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan tekanan 15 psi (1 atm). Tube per 5 mL dan wadah ICU 1000 ditutup mulutnya dengan sumbat kapas sekaligus pipet untuk mikropipet. Cawan petri dibungkus dengan kertas HVS. Pinset, jarum ose, bor gabus disterilkan dengan cara memijarkan pada api bunsen.

3.5.2. Pembiakan Isolate Jamur *Ganoderma boninense*

Biakan jamur *G. boninense* didapat dengan eksplorasi dari tanaman kelapa sawit yang ditumbuhi *G. boninense*. Isolat *G. boninense* diambil yang masih segar dari pangkal kulit tanaman kelapa sawit. Tubuh jamur *G. boninense* lalu dipotong dan dibawa ke laboratorium. *G. boninense* kemudian dicuci menggunakan aquades dan dikeringkan, setelah kering tubuh buah jamur *G. boninense* kemudian dipotong dengan ukuran 1x1 cm menggunakan scalper. Kemudian potongan tubuh buah jamur *G. boninense* diletakkan di dalam cawan petri yang berisi media PDA. Tiap cawan petri berisi 3 potongan kulit yang disusun terpisah. Cawan petri tersebut diinkubasi dalam inkubator pada suhu kamar selama 10 hari.

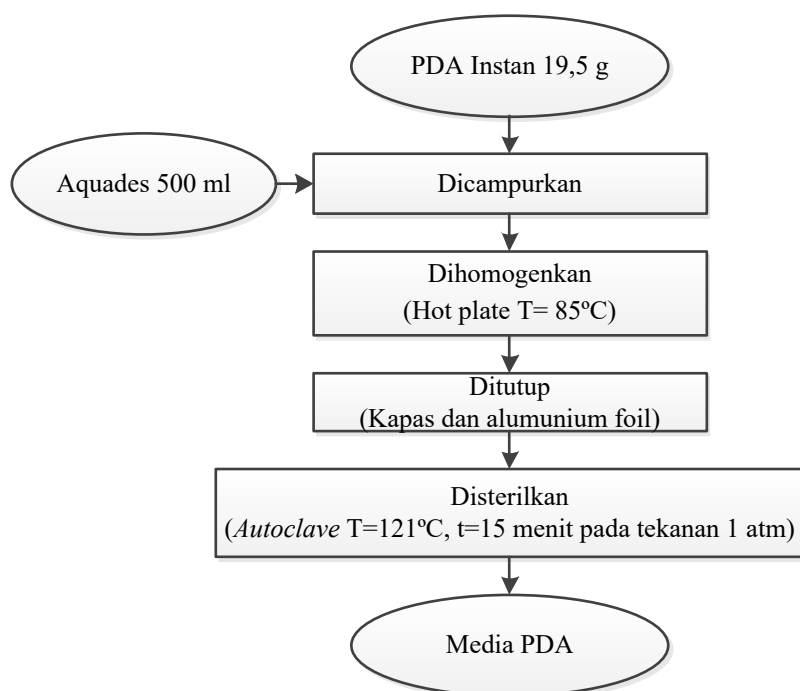
Miselium jamur yang tumbuh dari tubuh buah diisolasi kembali dengan cara memindahkan bagian jaringan steril dari tubuh buah ke dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) secara aseptis. Cawan petri yang telah diinokulasi kemudian diinkubasikan pada suhu kamar 28°C selama beberapa hari hingga miselium tumbuh dan menyebar memenuhi permukaan media. Isolat murni yang diperoleh dari hasil isolasi ini selanjutnya digunakan sebagai inokulum dalam pengujian aktivitas antifungi dari senyawa yang diuji.



Gambar 10. Diagram alir pembuatan ekstraksi senyawa *Senna multijuga*

3.5.3. Pembuatan Media PDA

Membuat 20 mL PDA tiap cawan petri digunakan sebanyak 19,5 g PDA instan dan 500 mL aquades, jika 39 g untuk 1 liternya. Selanjutnya dihomogenkan menggunakan hot plate pada suhu 85°C. Media yang telah dihomogenkan kemudian ditutup dengan kapas dan alumunium foil, selanjutnya dilakukan pensterilan di dalam autoclave dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Proses pembuatan media disajikan pada Gambar 11.

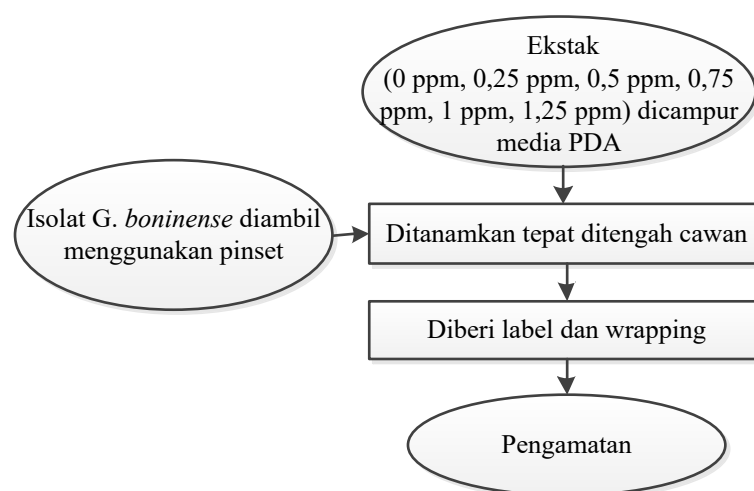


Gambar 11. Diagram alir pembuatan media PDA
Sumber : Fletcher *et al.* (2019)

3.5.4 Pengujian Penghambatan pada Media PDA

Pengujian penghambatan secara *in vitro* ekstrak kulit hujan emas terhadap jamur *G. boninense* dilakukan berdasarkan modifikasi metode dari Fletcher *et al.* (2019), yaitu media PDA dicampur dengan ekstrak masing-masing perlakuan dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet* (LAFC). Aplikasi dengan menuangkan media PDA dan masing masing perlakuan fraksi etil asetat kulit hujan emas konsentrasi 4 % (v/v) ke semua cawan petri dengan menggunakan mikro pipet sebanyak 0,8 mL dengan volume akhir 20 mL dan didiamkan sampai media padat. Miselium

jamur *G. boninense* diambil dengan cara memotong PDA yang ditumbuhi biakan murni jamur *G. boninense* dengan menggunakan bor gabus steril ukuran diameter 0,5 cm, hal ini bertujuan agar pertumbuhan miselium pada media PDA untuk tiap perlakuan sama. Meselium jamur *G. boninense* diletakkan pada media PDA yang telah dicampur dengan larutan ekstrak kulit hujan emas tepat di tengah cawan petri kemudian dilapisi plastik warp dan dilabeli, kemudian dilakukan inkubasi dengan memasukkan cawan petri ke dalam inkubator pada suhu kamar. Proses pengujian penghambatan dalam media PDA dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Proses pengujian anti fungi pada media PDA
Sumber : Fletcher *et al.* (2019)

3.6. Parameter Pengamatan

3.6.1 Laju Pertumbuhan *G. Boninense*

Pengamatan laju pertumbuhan koloni dilakukan setiap hari sampai cawan petri dipenuhi oleh jamur *G. boninense*. Pengukuran diukur menggunakan jangka sorong digital dengan rumus yang merujuk pada Sulyanti dkk. (2019) yang dimodifikasi sebagai berikut:

$$\mu = \frac{\sum X_n - X_{n-1}}{t}$$

Keterangan:

μ : Laju pertumbuhan (mm/hari)

X_n : Koloni diameter pada hari ke-n

3.6.2 Pengukuran Nilai Penghambatan Pertumbuhan (%)

Perhitungan nilai penghambatan pertumbuhan menggunakan rumus Amutha *et.al* (2010).

$$X = \frac{(Y-Z)}{Y} \times 100\%$$

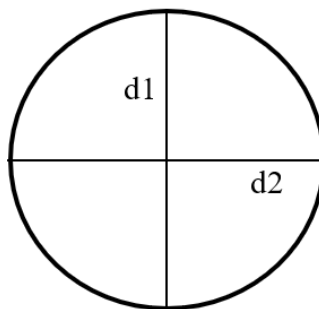
Keterangan:

X : Nilai persentase penghambatan

Y : Koloni diameter kontrol

Z : Koloni diameter pada perlakuan

Koloni diameter yang didapatkan merupakan rerata dua kali pengukuran diameter secara vertikal (d1) dan horizontal (d2). Cara pengukuran koloni diameter disajikan pada Gambar 13.



Gambar 13. Cara pengukuran koloni diameter pada cawan petri
Sumber : Susanti (2017)

3.6.4 Karakteristik Makroskopis

Pengamatan karakteristik morfologi makroskopis dilakukan dengan membandingkan warna, ukuran dan karakter pertumbuhan *G. boninense* antara kontrol dengan perlakuan. Menurut Elfina dkk. (2014) warna Koloni Putih/ putih kekuningan, dan tumbuh menyebar.

3.7. Uji Aktivitas Antifungi Secara *In silico*

Uji *in silico* dilakukan pada senyawa terbaik yang diperoleh melalui uji *In vitro*. Senyawa dari hasil ekstraksi di analisis LC-MS di Laboratorium Primkoppol Puslabfor Polri (Primer Koperasi Kepolisian Pusat Laboratorium Forensik Kepolisian Negara Republik Indonesia) Jawa Barat. Data yang diperoleh dianalisis dengan aplikasi masslynk kemudian dengan metode *in silico*. Pengujian *in silico* dilakukan untuk mengevaluasi potensi aktivitas biologis dan farmakokinetik dari senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak kulit hujan emas (*Senna multijuga*). Identifikasi struktur kimia dilakukan melalui basis data PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), sebuah sumber terbuka dari National Center for Biotechnology Information (NCBI) yang menyediakan informasi kimia terstandarisasi termasuk ID molekul, rumus kimia, serta struktur 2D dan 3D (Kim *et al.*, 2016).

Selanjutnya, prediksi aktivitas biologis dan target protein senyawa dilakukan menggunakan SuperPred (<https://prediction.charite.de>), sebuah platform berbasis *machine learning* yang memprediksi target farmakologis berdasarkan kesamaan struktur kimia dengan ligan yang telah diketahui aktivitasnya (Nickel *et al.*, 2014). Untuk menilai potensi farmakokinetik dan kelayakan senyawa sebagai kandidat obat, dilakukan evaluasi menggunakan SwissADME (<http://www.swissadme.ch>). SwissADME memungkinkan prediksi parameter ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi) serta kelayakan obat berdasarkan aturan Lipinski dan parameter lainnya (Daina *et al.*, 2017).

Software PyRx mengintegrasikan *AutoDock Vina* yang memungkinkan pengguna untuk mengevaluasi afinitas ikatan dan posisi terbaik ligan di dalam situs aktif protein target secara efisien. Setelah proses *docking*, *PyMOL* dimanfaatkan untuk memvisualisasikan hasil interaksi antara ligan dan protein secara tiga dimensi, sehingga mempermudah analisis ikatan hidrogen, posisi orientasi ligan, serta konformasi kompleks yang terbentuk. Sementara itu, web ProteinPlus digunakan memvisualisasikan interaksi ligan dan protein target secara 2D.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan penelitian ini sebagai berikut.

1. Fraksi 100% CHCl₃ kulit hujan emas (*Senna multijuga*) menghasilkan laju pertumbuhan terendah (0,39 cm/hari) Fraksi F1 (tabung 1–9) dari hasil pemisahan kromatografi menghasilkan daya hambat tertinggi (37 %) dan laju pertumbuhan *Ganoderma boninense* 0,52 cm/hari.
2. Konsentrasi optimal dari kulit kulit hujan emas (*Senna multijuga*) menghambat pertumbuhan *Ganoderma boninense* sebesar 1,5 ppm dengan laju pertumbuhan terendah (0,40 cm/hari) dan daya hambat 54%.
3. Senyawa trans-1,1'-dimethyl-5,5'-azotetrazole kulit hujan emas (*Senna multijuga*) menghambat ATP-dependent RNA helicase *Ganoderma boninense* dengan *binding affinity* -6,4 kcal/mol dengan ikatan hidrogen dengan dua residu pada protein, yaitu Ser310A dan Thr360A.

5.1. Saran

Saran yang di berikan pada penelitian ini sebagai berikut.

1. Uji lanjutan terhadap fraksi aktif sebaiknya dilakukan secara *in vivo* atau semi *in vivo* (misalnya pada bibit kelapa sawit terinfeksi *Ganoderma boninense* untuk menilai efektivitas dan keamanan senyawa dalam kondisi lingkungan nyata.
2. Perlu dilakukan studi toksisitas dan uji selektivitas terhadap organisme non-target agar dapat menjamin bahwa senyawa aktif dari *Senna multijuga* aman digunakan sebagai alternatif fungisida nabati.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, P., Lestari, W., Sitanggang, K. D., dan Septiyani, I. A. P. 2024. Isolasi dan Karakteristik Jamur dari *Ganoderma* di Desa Pernantian Perkebunan PT. Umada. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*. (14):167 – 172.
- Agustina, N. A. 2020. Efektivitas Daya Hambat Asap Cair Tempurung Kelapa (*Cocus ucifera*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Ganoderma Boninense*. *Agroprimatech*. 3(2): 79-82.
- Azizah, M. S., dan Pranowo, D. 2019. Aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun ketepeng (*Senna alata*) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*. 5(1): 24–30.
- Bene, K., Sinan, K.I., Zengin, G., Diuzheva, A., Jeko, J., Cziaky, Z., Aumeeruddy, M.Z.,Xiao, J., and Mahomoodally, M.F. 2019. A Multidirectional Investigation of Stem Bark Xtracts of Four African Plants: HPLC-MS/MS Profiling and Biological Potentials. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 168: 217–224.
- Braithwaite, A and Smith, F, J. 2015. *Chromatographic Methodes*. Kluwer academic publisher. London. Hal 64l
- Cannel, R. J. P. 2017. *Natural product isolation*. Humana Press, totowa. Hal 87.
- Carvalho, P. E. R. D. 2004. Taxonomia e Nomenclatura Pau-Cigarra - *Senna multijuga*. Embrapa. ISSN 11517-5278.
- ChemSpider. 2025. Royal Society of Chemistry. <http://www.chemspider.com>
- Christian, G. D. 2016. *Analytical Chemistry*. Fifty edition. University of Washington. John and wily sons, USA. Hal 55.
- Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4):564–582.
<https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.564>
- Da Silva A. A., Oliveira, D. S., Cardoso dos Santos, G. R., Pereira, H. M. G., Wiedemann, L. S. M., dan da Veiga Junior, V. F. 2021. UHPLC HRMS/MS on untargeted metabolomics: a case study with *Copaifera*

- (*Fabaceae*). *RSC Advances*. 11(41):25096–25103.
<https://doi.org/10.1039/D1RA03163E>
- Daina, A., Michielin, O., dan Zoete, V. 2017. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7: 42717.
<https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Das, S. R. C., Ahmed, A. B., dan Shil, D. 2021. Antifungal activity of flavonoid isolated from *Lindernia crustacea* (L.) F. Muell against traditionally claimed dermatophytes. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 33(46B): 512–521. <https://doi.org/10.9734/JPRI/2021/v33i46B32970>
- Duke, J. A., Bogenschutz-Godwin, M. J., duCellier, J., and Duke, P. A. K. 2002. *Handbook of medicinal herbs*. CRC Press.
- Elfina, R., Hartati, S., dan Yanti, N. 2014. Identifikasi dan karakterisasi jamur *Ganoderma* penyebab penyakit busuk pangkal batang pada kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 14(2), 105–112.
- Ferreira, L. G., dos Santos, R. N., Oliva, G., and Andricopulo, A. D. 2015. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7):13384–13421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Fitriani, R. Suryantini, dan Wulandari. 2017. Pengendalian Hayati Patogen Busuk Akar (*Ganoderma* sp.) pada *Acacia mangium* dengan *Trichoderma* sp. Isolat Lokal Secara In vitro. *Jurnal Hutan Lestari*. 5(3): 570-571.
- Fletcher, I., Freer, A., Ahmed, A., and Fitzgerald, P. 2019. Effect of temperature and growth media on mycelium growth of *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum* strains. *Cohesive Journal of Microbiology & Infectious Disease*. 2(3):1–5. <https://doi.org/10.31031/CJMI.2019.02.000549>
- Francisco, W., Pivatto, M., Danuello, A., Regasini, L. O., Bacvini, L. R., Young, Maria C. M., Lopes, N. P. Lopes, J. L. C. and Bolzani, V. S. 2012. Pyridine Alkaloids From *Senna multijuga* As Acetylcholinesterase Inhibitors. *Journal of Natural Products*. 75:408-413.
- Graham, H. D. 1992. Stabilization of the Prussian blue color in the determination of polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(4): 801–805. <https://doi.org/10.1021/jf00017a018>
- Hastari, R. 2012. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Pelepah dan Kulit Tanaman Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*) terhadap *Staphylococcus aureus*. Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro Bandung.

- Hidayati, N. dan Nurrohmah, S. H. 2015. Karakteristik Morfologi *Ganoderma Steyaertanum* yang Menyerang Kebun Benih *Acacia Mangium* dan *Acacia Auriculiformis* di Wonogiri, Jawa Tengah. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 9(2): 117-130. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac956>
- Ibrahim, M. A., dan Islam, M. S. 2014. Anti-Diabetic Effects Of The Acetone Fraction of *Senna Singueana* Stem Bark in a Type 2 Diabetes Rat Model. *Journal of Ethnopharmacology*. 153(2):392-399.
- Irwin, H. S., dan Barneby, R. C. 1982. The American Cassiinae a synoptical revision of Leguminosae tribe Cassiiae subtribe Cassiinae in the new world. *Memoirs of The New York Botanical Garden*. 35(part 1) :1-918.
- Jantan, I., Saputri, F. C., and Qaisar, M. N. 2018. Bioactive phytochemicals as the potential agents for the treatment of infectious diseases: An *in silico* perspective. *Frontiers in Pharmacology*. 9:795. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00795>
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., and Bolton, E. E. 2023. PubChem 2023 update. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D1373–D1380. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac956>
- Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A. and Bryant, S. H. 2016. PubChem substance and compound databases. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D1202–D1213. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., and Bajorath, J. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*. 3(11) :935–949. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>
- Kristanti, A.N., Nanik, S.A, Mulayadi, T., dan Bambang, K. 2018. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya Universitas Airlangga.
- Lukowska Chojnacka, E., Mierzejewska, J., Milner Krawczyk, M., Bondaryk, M., & Staniszewska, M. 2016. Synthesis of novel tetrazole derivatives and evaluation of their antifungal activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 24(22), 6058–6065. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.09.066>
- Lengauer, T., dan Rarey, M. 1996. Computational methods for biomolecular docking. *Current Opinion in Structural Biology*, 6(3), 402–406. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(96\)80061-3](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(96)80061-3)
- Khan, T., Khan, A., Rehman, A. U., dan Irfan, M. 2021. Molecular docking and dynamic simulation studies of natural compounds for potential inhibition against SARS-CoV-2 main protease. *Journal of Biomolecular Structure and*

Dynamics. 39(15):5715–5723.

<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1775122>

- Mahmud, Y. Purba, F. R., dan Oktari, R. D. 2023. Pngaruh Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Ganoderma Orbiforme* (Fr) Rywarden Secara *in vitro*. *Prosiding Seminar Nasional Integrasi Pertanian dan Peternakan*. 1(1):111-117.
- Mailani, D. P., dan Pratiwi, N. 2021. Prarancangan Pabrik Etil Asetat dari Asam Asetat dan Etanol Dengan Proses Esterifikasi Menggunakan Katalis Amberlyst-15 Kapasitas 57.000 Ton/Tahun. *Jurnal Tugas Akhir Teknik Kimia*. 4(2):73-77.
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., dan Olson, A. J. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16): 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- Munir, E. 2006. Pemanfaatan mikroba dalam bioremediasi: suatu teknologi alternatif untuk pelestarian lingkungan. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Tetap dalam Bidang Mikrobiologi FMIPA USU. USU Repository. Medan. Hal 287-298.
- Nafisah, M., Tukiran, S., dan Hidayati, N., 2014. Uji Skrining Fitokimia pada Ekstrak Heksan, Kloroform dan Metanol dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbiae hirtae*). In *Prosiding Seminar Nasiona Kimia*. Hal 279-286.
- Nascimento, M.N., Martins, M.M., Cunhac, L.C., Santos, P., Goulart, L.R., Silva, T., Gomes Martins, C.H., de Moraes, S.A., and Pivatto, M., 2020. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Senna* and *Cassia species* (*Fabaceae*) extracts. *Industrial Crops and Products* 148.112081.
- Ng, C. L., Tan, J. Y., Mohd Yusoff, S. F., dan Yeo, T. C. 2017. Antifungal activity of selected tropical plant extracts against oil palm pathogen *Ganoderma boninense*. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*. 40(2):181–190.
- Nickel, J., Gohlke, B. O., Erehman, J., Banerjee, P., Rong, W. W., Goede, A., Dunkel, M., and Preissner, R. 2014. SuperPred: Update on drug classification and target prediction. *Nucleic Acids Research*. 42(W1):W26–W31. <https://doi.org/10.1093/nar/gku477>
- Niessen, W. M. A. 2006. Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (3rd ed., 632 hal.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420014549>
- Oladeji, O. S., Adelowo, F. E., and Oluyori, A. P. 2021. The Genus *Senna* (*Fabaceae*): A Review on its Traditional Uses, Botany, Phytochemistry, Pharmacology and Toxicology. *South African Journal of Botany*. 138:1-32.

- Palleros, D. R. 2014. *Experimental Organics Chemistry*. John Wiley and Sons. New York. Hal 65.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., dan Pramono, S. 2016. Ekstrak etanol, Ekstrak etil asetat Fraksi etil asetat, dan Fraksi n-heksan Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Sumber Zat Bioaktif Penangkal Radikal Bebas. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 01:71-82.
- Pitt, J. J. 2009. Principles and applications of liquid chromatography–mass spectrometry in clinical biochemistry. *Clinical Biochemist Reviews*. 30(1):19–34
- PubChem. 2025. National Center for Biotechnology Information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- Putri, D. A., Syafitri, U., dan Firmansyah, M. A. 2020. Aktivitas antifungi fraksi ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap pertumbuhan *Ganoderma boninense*. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 7(2):120–127. <https://doi.org/10.25005/jf.v7i2.273>
- Putri, S. P., Yuliani, S., dan Hartati, S. 2022. Molecular docking of secondary metabolites from Indonesian medicinal plants as antifungal agents. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 12(4):143–150
- Putri, W.S., Warditiani, N. K., dan Larasanty, L. P. F. 2013. Skrining fitokimia ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Farmasi Udayan*. 2(4):56-60.
- Rahman, M. M., Ahmad, S. H., Mohamed, M. T. M., Ab Rahman, M. Z., dan Miah, M. G. 2015. Antifungal activity of plant extracts against *Ganoderma boninense*, the causal pathogen of basal stem rot disease of oil palm. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 48(17-20):1504–1513. <https://doi.org/10.1080/03235408.2014.980447>
- Ramesh, M., Vijayakumar, R., and Maheswari, P. U. 2020. Application of Gaussian software in optimization of drug-like compounds before molecular docking studies. *Journal of Molecular Modeling*, 26(10), 279. <https://doi.org/10.1007/s00894-020-04555-2>
- Reuveni, M., Arroyo, C. J., dan Ovadia, S. 2023. An Effective Hybrid Fungicide Containing Tea Tree Oil and Difenconazole for Grape Powdery Mildew Management. *Agriculture*. 13(5):979.
- Saleh, C. 2017. Isolasi dan Penentuan Struktur Senyawa Steroid dari Akar Tumbuhan Cendana (*Santalum album* Linn). Skripsi. Medan: Universitas Sumatra Utara.
- Sansores-Perazaa, P., Rosado-Valladoa, M., Brito-Loezaa, W., Mena-Rejon, G. J.

- and Quijano, L., 2000. Cassine, an antimicrobial alkaloid from *Senna racemosa*. *Fitoterapia*. 71:690-692.
- Saraswati, R. Dwi, F. dan Restuti, R. C. 2019. Buku Pemanfaatan Daun untuk Ecoprint dalam Menunjang Pariwisata. Departemen Geografi FMIPA Universitas Indonesia. Depok.
- Singh, P., Mishra, A., and Bajpai, P. 2022. Natural product-based ligands as potential inhibitors of neurological disorders: Molecular docking and ADMET analysis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 150:112987. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112987>
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., and Lowe, E. W., Jr. 2014. Computational methods in drug discovery. *Pharmacological Reviews*. 66(1):334–395. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>
- Sulaiman, M. R., Zakaria, Z. A., Balan, T., Mokhtar, F. A., Israf, D. A., and Lajis, N. 2011. Evaluation of the antifungal and antioxidant activities of extracts from Malaysian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 492–497. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.065>
- Sulyanti, E., Yaherwandi, dan Ulindari R. M. 2019. Aktivitas Air Rebusan Beberapa Kulit Jeruk (*Citrus spp*) untuk Menekan Pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* pada Tanaman Buah Naga secara *In vitro*. *Jurnal Proteksi Tanaman*. 3(2): 56-64.
- Susanti, S., R. Kusmiadi, dan Aini S. N. 2017. Uji Efikasi Ekstrak Daun Mengkudu, Kemangi dan Jambu Biji dalam Menghambat Pertumbuhan Cendawan *Colletotrichum gloeosporioides* pada Buah Pepaya. *Jurnal Agrosaintek*. 1(1) :16-22.
- Susanto, A., Prasetyo, A. K., Priwiratama, H., Wening, S. dan Surianto. 2013. *Ganoderma boninense* Penyebab Penyakit Busuk Kulit Kulit Atas Kelapa Sawit. *Jurnal Fitopatol Indones*. 9(4):123–126
- Tiwari, P., Kaur, M., and Kaur, H. 2011. Phytochemical Screening dan Extraction; A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1 (1):98-106.
- Trott, O., dan Olson, A. J. 2010. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 31(2):455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- UniProt. 2025. *ATP-dependent RNA helicase [Ganoderma boninense]* (UniProt ID: A0A5K1JVD1). UniProtKB - TrEMBL. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A5K1JVD1>

- Verma, A. R., Vijayakumar, M., Mathela, C. S., and Rao, C. V. 2009. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food and Chemical Toxicology*. 47(9):2196–2201.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.06.005>
- Wahyuni, S., Nurlily, F., and Rachmawati, Y. 2020. Aktivitas antifungi ekstrak daun *Senna siamea* terhadap *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(2):123–129.
- Wang, S.-Q., Wang, Y.-F., and Xu, Z. 2019. Tetrazole hybrids and their antifungal activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 170:225–234. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.03.023>
- Wardhani, L.K., dan Sulistyani, N. 2012. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* L.) Terhadap *Shigella flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2(1): 1-16.
- Wolfender, J.-L., Queiroz, E. F., & Hostettmann, K. 2006. The importance of hyphenated techniques in the discovery of new lead compounds from nature. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 1(2): 237–260.
<https://doi.org/10.1517/17460441.1.2.237>
- Zhao, J., Wu, C., and Song, G. 2023. Structure-based virtual screening and molecular docking for discovery of novel anti-inflammatory agents. *Computational Biology and Chemistry*. 103 :107793.
<https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2022.107793>