

**POTENSI BIOAKTIVITAS PIPERACEAE DI HUTAN PENDIDIKAN DAN
PENELITIAN BIOLOGI (HPPB) UNIVERSITAS ANDALAS SEBAGAI
ANTIJAMUR DAN ANTIKANKER**

DISERTASI

**FADLI
(NIM 1830412007)**



PROGRAM STUDI S3 ILMU KIMIA

DEPARTEMEN KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ANDALAS

PADANG, 2026

**POTENSI BIOAKTIVITAS PIPERACEAE DI HUTAN PENDIDIKAN
DAN PENELITIAN BIOLOGI (HPPB) UNIVERSITAS ANDALAS
SEBAGAI ANTIJAMUR DAN ANTIKANKER**

**FADLI
1830412007**

DISERTASI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Doktor Ilmu Kimia pada
Program Pascasarjana S3 Ilmu Kimia
Universitas Andalas**

**PROGRAM STUDI S3 ILMU KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG, 2026**

HALAMAN PERSETUJUAN

Judul Penelitian : POTENSI BIOAKTIVITAS PIPERACEAE DI HUTAN PENDIDIKAN
DAN PENELITIAN BIOLOGI (HPPB) UNIVERSITAS ANDALAS
SEBAGAI AGEN ANTIJAMUR DAN ANTIKANKER

Nama Mahasiswa : Fadli

Nomor BP : 1830412007

Program Studi : S3 Ilmu Kimia

Disertasi ini akan diuji di depan sidang panitia ujian akhir Doktor Ilmu Kimia pada program studi
S3 Ilmu Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Andalas, Padang.

Menyetujui :

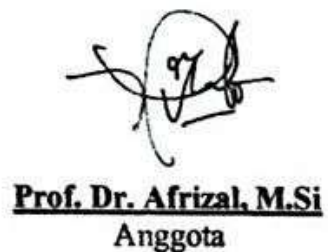
1. Komisi Pembimbing



Prof. Dr. Mai Efdi, M.Si
Ketua

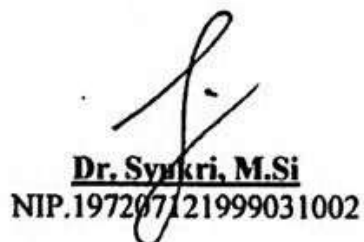


Dr. rer.nat.Syafrizavanti, M.Si
Anggota



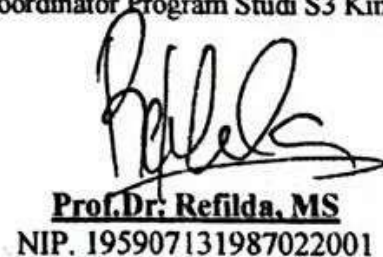
Prof. Dr. Afrizal, M.Si
Anggota

2. Ketua Departemen Kimia



Dr. Syukri, M.Si
NIP.197207121999031002

3. Koordinator Program Studi S3 Kimia



Prof. Dr. Refilda, MS
NIP. 195907131987022001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan penuh rasa Syukur saya persembahkan karya Disertasi ini kepada :

- 1) Kedua orang tua Bapak Aرسال (Alm) dan Ibu Wirdahayati, atas segala dukungan dan motivasi selama masa studi lewat berbagai usaha doa dan perjuangan lainnya, Kedua Kakak Budi Aرسال dan Rudi Aرسال serta keluarga besar yang tak bisa saya sebutkan satu persatu-satu, terimakasih untuk semua kebaikan, doa dan dukungan yang selalu diberikan tanpa henti kepada penulis.*
- 2) Bapak Ibu Pembimbing selama menempuh studi di S3 Ilmu Kimia FMIPA Universitas Andalas, Bapak Prof. Dr. Mai Efdi. M.Si., Ibu Dr.rer.nat. Syafrizayanti. M,Si dan Bapak Prof. Dr. Afrizal. M.Si. Terimakasih atas segala kesabaran dan ketulusan Ibu dan Bapak dalam memberikan binbingan, arahan, nasehat dan semua ilmu yang diberikan kepada penulis. Kesabaran dan kebaikan Bapak Ibu dalam membimbing dan mengarahkan penulis, akan menjadi sumber inspirasi penulis. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan kesehatan dan curahan Rahmat-Nya kepada Ibu dan Bapak semuanya. Aamiin*

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan pada tanggal 15 November 1994 di Padang, Provinsi Sumatera Barat, Indonesia. Penulis menamatkan Pendidikan Sekolah Dasar pada tahun 2006 di SDN 139/IX Ramin Muaro Jambi, di Sekolah SMPN 16 Muaro Jambi pada Tahun 2009 dan SMAN 5 Muaro Jambi pada tahun 2012. Penulis memperoleh gelar sarjana sains (S.Si) pada tahun 2016 dari Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Andalas. Selanjutnya, pada tahun 2017 penulis melanjutkan studi di Departemen Kimia FMIPA Universitas Andalas melalui skema beasiswa PMDSU (Pendidikan Magister menuju Doktor untuk Sarjana Unggul) di bawah bimbingan Bapak Dr. Nasril Nasir, MS dan Bapak Prof. Dr. Abdi Dharma, M.Sc. dan memperoleh gelar master (M.Si.) pada tahun 2019. Setelah menyelesaikan studi magister, penulis terdaftar sebagai mahasiswa dalam program studi S3 Ilmu Kimia dibawah bimbingan Bapak Prof. Dr. Mai Efdi M.Si., Ibu Dr.rer.nat. Syafrizayanti M.Si, dan Bapak Prof. Dr. Afrizal. M.Si. Selama mengikuti Pendidikan pada program studi S3 Ilmu Kimia FMIPA Universitas Andalas, penulis telah mempublikasikan beberapa artikel yang berhubungan dengan topik penelitian dan disertasi.

HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya, nama: Fadli yang beralamat di Desa Ramin, Kecamatan Kumpeh Ulu, Kabupaten Muaro Jambi, Provinsi Jambi menyatakan bahwa dalam disertasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar kepustakaan.

Padang, 29 Januari 2026

Fadli

RINGKASAN

Potensi Bioaktivitas Piperaceae di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) Universitas Andalas sebagai Agen Antijamur dan Antikanker

Penelitian ini berhasil mengidentifikasi dan mengevaluasi potensi tujuh spesies Piperaceae dari Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) Universitas Andalas sebagai sumber agen biokontrol dan senyawa bioaktif. Hasil skrining awal menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol dari *Piper aduncum*, *P. porphyrophyllum*, dan *P. betle* memiliki aktivitas antijamur tertinggi terhadap empat jamur patogen utama tanaman karet (*Rigidoporus microporus*, *Ceratocystis fimbriata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Corynespora cassiicola*), dengan *P. aduncum* sebagai yang paling potensial (rata-rata inhibisi 85,68%). Fraksinasi bertingkat mengungkapkan bahwa fraksi heksana *P. aduncum* memiliki aktivitas terkuat, mampu menghambat pertumbuhan *R. microporus* sebesar 100% serta memiliki nilai MIC₅₀ yang rendah, sementara analisis GC-MS mengidentifikasi senyawa apiol sebagai komponen utama (34,32%). Dari fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum* berhasil diisolasi senyawa murni 5,7-dimetoksiflavon yang dikarakterisasi menggunakan spektroskopi FTIR, NMR, dan MS; senyawa ini tidak hanya menunjukkan aktivitas antijamur (IC₅₀ 0,011–0,228 mg/mL) tetapi juga aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan IC₅₀ 9,935 µg/mL. Uji efikasi *in vivo* fraksi heksana *P. aduncum* pada konsentrasi 2000 mg/L terbukti menurunkan skor penyakit (*disease index*) sebesar 78,4% pada tanaman karet yang terinfeksi *C. fimbriata*. Secara keseluruhan, penelitian ini membuktikan bahwa Piperaceae HPPB, khususnya *P. aduncum* dan *P. porphyrophyllum*, merupakan sumber yang menjanjikan untuk pengembangan biofungisida spektrum luas yang ramah lingkungan dan sekaligus sebagai kandidat senyawa antikanker alami, sehingga memberikan kontribusi signifikan terhadap pemanfaatan keanekaragaman hayati lokal untuk pertanian berkelanjutan dan penemuan obat.

Kata Kunci: Piperaceae, Biofungisida, Antijamur, 5,7-Dimetoksiflavon, Antikanker

SUMMARY

The Potential Bioactivity of Piperaceae in the Biology Education and Research Forest (HPPB) of Andalas University as an Antifungal and Anticancer Agent

This study successfully identified and evaluated the potential of seven Piperaceae species from the Biological Education and Research Forest (HPPB) of Andalas University as a source of biocontrol agents and bioactive compounds. Initial screening revealed that the crude methanol extracts of *Piper aduncum*, *P. porphyrophyllum*, and *P. betle* possessed the highest antifungal activity against four major rubber plant pathogens (*Rigidoporus microporus*, *Ceratocystis fimbriata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, and *Corynespora cassicola*), with *P. aduncum* being the most potent (average inhibition of 85.68%). Sequential fractionation demonstrated that the n-hexane fraction of *P. aduncum* exhibited the strongest activity, capable of 100% inhibition against *R. microporus* and displaying low MIC₅₀ values, while GC-MS analysis identified apiol as the major constituent (34.32%). From the ethyl acetate fraction of *P. porphyrophyllum*, a pure compound identified as 5,7-dimethoxyflavone was isolated and characterized using FTIR, NMR, and MS spectroscopy; this compound exhibited not only antifungal activity (IC₅₀ 0.011–0.228 mg/mL) but also cytotoxic activity against MCF-7 breast cancer cells with an IC₅₀ of 9.935 µg/mL. An *in vivo* efficacy test of the *P. aduncum* n-hexane fraction at 2000 mg/L significantly reduced the disease index by 78.4% in rubber plants infected with *C. fimbriata*. Collectively, this research proves that HPPB Piperaceae, particularly *P. aduncum* and *P. porphyrophyllum*, are promising sources for the development of broad-spectrum, environmentally friendly biofungicides as well as natural anticancer candidate compounds, thereby making a significant contribution to the utilization of local biodiversity for sustainable agriculture and drug discovery.

Keywords: Piperaceae, Biofungicide, Antifungal, 5,7-Dimethoxyflavone, Anticancer

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkah dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan disertasi ini dengan judul “Potensi Bioaktivitas Piperaceae di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) Universitas Andalas Sebagai Antijamur dan Antikanker” sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Doktor pada Program Studi S3 Ilmu Kimia di Program Pascasarjana FMIPA Universitas Andalas.

Disertasi ini diajukan untuk melengkapi dan memenuhi persyaratan memperoleh gelar Doktor Ilmu Kimia pada program studi S3 Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas. Dalam penulisan makalah ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, arahan dan saran-saran dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. Syukri selaku Ketua Departemen Kimia yang telah memberikan banyak bantuan dan kesempatan kepada penulis selama untuk menempuh pendidikan di Departemen Kimia sehingga penulis dapat meraih gelar doktor.
2. Ibu Dr. Imelda selaku Sekertaris Departemen Kimia yang telah banyak memberikan bantuan kepada penulis dalam urusan administrasi akademik selama menempuh perkuliahan di Departemen Kimia.
3. Ibu Prof. Dr. Refilda, M.Si selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kimia Departemen Kimia yang telah banyak membantu penulis perihal akademik selama menjalani proses studi di Departemen Kimia.
4. Bapak dan Ibu staf dosen pengajar di Kimia Universitas Andalas yang telah memberikan banyak ilmu bermanfaat selama menempuh studi di Kimia FMIPA Universitas Andalas.
5. Bapak Prof. Dr. Mai Efdi M.Si., sebagai Promotor yang telah banyak membimbing, memberikan ilmu, nasehat, perbaikan dan saran kepada penulis selama menempuh Pendidikan dan pelaksanaan penelitian di Departemen Kimia.
6. Ibu Dr.rer.nat. Syafrizayanti M.Si sebagai Ko-Promotor 1 yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, nasehat, motivasi dan meluangkan waktunya untuk berdiskusi selama proses penelitian sampai penulisan disertasi ini.
7. Bapak Prof. Dr. Afrizal M.Si sebagai Ko-Promotor 2 yang telah membimbing, mengarahkan dan memberikan saran, motivasi, dan nasihat kepada penulis dalam menyelesaikan pendidikan dan penelitian di Departemen Kimia.
8. Bapak Ibu Dosen tim penguji, Bapak Prof. Dr. Adlis Santoni, MS, Ibu Prof. Dr. Suryati M.Si, Bapak Dr. Syukri, M.Si dan Ibu Prof. Dr. Minda Azhar, M.Si yang

telah memberikan saran, masukan dan perbaikan dalam penelitian dan dan perbaikan penulisan disertasi ini.

9. Ibu Prof. Dr. Refilda M.Si sebagai dosen penasehat akademik yang sudah memberikan bimbingan, arahan, dan saran kepada penulis selama masa perkuliahan sehingga dapat menyelesaikan masa studi ini dengan baik.
10. Bapak Dr. Nasril Nasir, MS dan Bapak Prof. Dr. Abdi Dharma, M.Sc karena telah memberikan kepercayaan dan kesempatan kepada penulis untuk bergabung menjadi mahasiswa bimbingan dan mengerjakan topik penelitian berkaitan dengan Piperaceae dibawah skema beasiswa PMDSU di Departemen Kimia FMIPA Universitas Andalas.
11. Bapak dan Ibu staff tenaga kependidikan dan analisis laboratorium di Departemen Kimia FMIPA Universitas Andalas telah memberikan banyak pertolongan kepada penulis selama menempuh studi dan melaksanakan penelitian.
12. Penghormatan serta penghargaan yang setinggi-tingginya, penulis sampaikan kepada orang tua, Bapak Aarsal (alm) dan Ibu Wirdahayati atas segala dukungan dan doa selama menjalankan pendidikan yang dijalani.
13. Sahabat-sahabat, rekan-rekan dan adik-adik mahasiswa penelitian di Laboratorium Biokimia untuk semua kebersamaan, bantuan, dan semua pertolongannya dalam melaksanakan penelitian.

Penulis menyadari bahwa penulisan disertasi ini masih belum mencapai kesempurnaan, oleh karena itu kelanjutan pengerjaan penelitian, kritik dan saran yang sifatnya membangun diharapkan agar penulis bisa meningkatkan kualitas penelitian dimasa yang akan datang. Besar harapan penulis, semoga disertasi ini dapat bermanfaat dan dapat bernilai positif bagi semua pihak.

Padang, 29 Januari 2026

(Penulis)

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
RIWAYAT HIDUP	v
HALAMAN PERNYATAAN.....	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xvii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Urgensi dan Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Urgensi Penelitian.....	4
1.4.2 Manfaat Penelitian	4
1.5 Temuan yang Ditargetkan dan Kontribusi terhadap Ilmu Pengetahuan.....	5
1.5.1 Temuan yang Ditargetkan.....	5
1.5.2 Kontribusi terhadap Ilmu Pengetahuan.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Piperaceae	6
2.2. Potensi Piperaceae Sebagai Antijamur	7
2.3. Jamur Patogen pada Tanaman Karet (<i>Hevea brasiliensis</i>).....	14
2.4. Potensi Piperaceae Sebagai Antikanker.....	16
2.5. Sel Line MCF-7.....	20
BAB III. METODE PENELITIAN	22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	22
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	22

3.2.1 Alat	22
3.2.2 Bahan	22
3.3. Tahapan Penelitian	23
3.3.1. Koleksi dan Identifikasi Tumbuhan <i>Piperaceae</i>	23
3.3.2. Ekstraksi Daun Tumbuhan <i>Piperaceae</i>	24
3.3.3. Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun <i>Piper</i>	24
3.3.4. Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun <i>Piper</i>	24
3.3.5. Uji profil fraksi heksana daun <i>Piper aduncum</i>	26
3.3.6. Isolasi Senyawa Dengan Metode Kromatografi Kolom	26
3.3.7. Uji Kemurnian Senyawa Isolasi	27
3.3.8. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi	27
3.3.9. Uji <i>in vitro</i> Ekstrak dan Fraksi daun <i>Piperaceae</i> Terhadap Jamur Patogen Tanaman Karet	27
3.3.10. Uji <i>in vivo</i> fraksi heksana <i>Piper aduncum</i> terhadap <i>Ceratocystis fimbriata</i> pada tanaman karet	29
3.3.11. Aktivitas Antijamur Senyawa Isolasi	29
3.3.12. Aktivitas Antikanker Senyawa Isolasi	30
3.4. Analisis Data	30
3.5. Roadmap Penelitian	31
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32
4.1 Koleksi dan Identifikasi Tumbuhan <i>Piperaceae</i>	32
4.2 Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol	34
4.3. Fraksinasi dan Uji Aktivitas Fraksi dari Tiga Jenis <i>Piper</i> Terpilih	38
4.4. Aktivitas Antijamur Fraksi heksana <i>Piper aduncum</i>	43
4.4.1. Uji Aktivitas Antijamur <i>In-vitro</i>	43
4.4.2. Uji Aktivitas Antijamur <i>In-vivo</i> terhadap <i>Ceratocystis fimbriata</i>	45
4.5 Analisis Profil Senyawa Fraksi Heksana <i>Piper aduncum</i>	47
4.6. Identifikasi Awal Metabolit Sekunder <i>Piperaceae</i> (Uji Fitokimia)	51
4.7. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa dari <i>Piper porphyrophyllum</i>	71
4.7.1 Isolasi Senyawa	71
4.7.2. Karakterisasi dan Identifikasi Senyawa Murni Hasil Isolasi	73
4.8. Uji Potensi Bioaktivitas Senyawa Isolat 5,7-Dimetoksiflavan	78
4.8.1. Uji Aktivitas Antijamur	78

4.8.2. Uji Aktivitas Antikanker	84
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN	86
5.1. Kesimpulan	86
5.2. Saran Penelitian Lanjutan	87
DAFTAR PUSTAKA.....	88

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Piper porphyrophyllum	6
Gambar 2. 2. Senyawa Antijamur flavonoids dari Piper spp.....	12
Gambar 2. 3. Senyawa Antijamur turunan prenylated benzoic acid dari Piper spp.	12
Gambar 2. 4. Senyawa Antijamur amides dari Piper spp.	13
Gambar 2. 5. Senyawa Antijamur lignans dari Piper spp.....	14
Gambar 2. 6. Senyawa Antijamur cyclopentenones dari Piper spp.....	14
Gambar 2. 7. Infeksi Jamur Rigidoporus microporus pada tanaman karet	16
Gambar 2. 8. Sel kanker payudara MCF-7.....	21
Gambar 4. 1. Identifikasi Jenis Piperaceae di Herbarium ANDA Universitas Andalas.....	34
Gambar 4. 2. Aktivitas antijamur ekstrak metanol tujuh spesies Piper terhadap empat jamur patogen tanaman karet.	36
Gambar 4. 3. Persentase inhibisi pertumbuhan empat jamur patogen.....	40
Gambar 4. 4. Overlay komparatif sensitivitas empat jamur patogen terhadap fraksi heksana <i>P. aduncum</i>	43
Gambar 4. 5. Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Heksana <i>Piper aduncum</i> dengan Skor Daun dan Persentase Penurunan Efektivitas.....	46
Gambar 4. 6. Kromatogram GC / MS dari fraksi heksan ekstrak daun <i>Piper</i> <i>aduncum</i>	48
Gambar 4. 7. Spektrum FTIR Senyawa Murni.....	73
Gambar 4. 8. Spektrum ¹ H-NMR senyawa murni.....	74
Gambar 4. 9. Spektrum ¹³ C-NMR dan spektrum DEPT 135 senyawa murni....	76
Gambar 4. 10. Senyawa 5,7-Dimetoksiflavon.....	76
Gambar 4. 11. Dinamika persentase inhibisi senyawa isolat terhadap empat jamur patogen selama 5 hari inkubasi.	79
Gambar 4. 12. Heatmap sensitivitas jamur patogen terhadap senyawa isolat pada berbagai konsentrasi (hari ke-5).....	80
Gambar 4. 13. Estimasi nilai IC ₅₀ senyawa isolat terhadap empat jamur patogen..	81
Gambar 4. 14. Perbandingan efektivitas senyawa isolat dengan Benomyl	82
Gambar 4. 15. Kinetika inhibisi senyawa isolat pada konsentrasi optimal selama 5 hari inkubasi.....	83
Gambar 4. 16. Heatmap efikasi komprehensif senyawa isolat terhadap empat jamur patogen tanaman.....	84
Gambar 4. 17. Kurva viabilitas sel MCF-7 setelah perlakuan 5,7-Dimetoksiflavon (Uji MTT).....	85

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1. Kandungan kimia dan aktivitas antijamur beberapa genus Piper.	9
Tabel 2. 2. Senyawa Antikanker dari spesies Piper	18
Tabel 4. 1. Identifikasi Jenis Piperaceae di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB).	32
Tabel 4. 2. Ekstrak tumbuhan Piperaceae yang didapatkan di HPPB.	35
Tabel 4. 3. Hasil Fraksinasi Ekstrak Kasar Metanol Tiga Jenis Piper	38
Tabel 4. 4. Profil senyawa utama dari Fraksi Heksan daun Piper aduncum.....	49
Tabel 4. 5. Uji Fitokimia dari 7 jenis dan Fraksi dari 3 jenis Piper di Hutan Penelitian dan Pendidikan Biologi	68
Tabel 4. 6. Data uji aktivitas awal fraksi etil asetat Piper porphyrophyllum.....	71
Tabel 4. 7. Tahapan Isolasi Senyawa Murni dari Fraksi Etil Asetat P. porphyrophyllum.....	72
Tabel 4. 8. Data spektrum IR senyawa murni.....	74
Tabel 4. 9. Data ¹ H-NMR Senyawa Murni (600 MHz, CDCl ₃).	74
Tabel 4. 10. Data ¹³ C NMR Senyawa Murni (150 MHz, CDCl ₃).	76
Tabel 4. 11. Ringkasan data karakterisasi senyawa murni.	77

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Foto Koleksi dan Identifikasi Piperaceae.....	102
Lampiran 2. Dokumentasi Foto Ekstraksi, Fraksinasi dan Isolasi Senyawa Piperaceae	103
Lampiran 3. Isolat Jamur Patogen Tanaman Karet	104
Lampiran 4. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Piperaceae.....	105
Lampiran 5. Uji Antijamur Fraksi Piper	109
Lampiran 6. Uji Antijamur Fraksi Heksana <i>Piper aduncum</i>	113
Lampiran 7. Uji Antijamur Senyawa 5,7-dimetoksiflavon <i>P. porphyrophyllum</i> ..	117
Lampiran 8. Uji in vivo fraksi heksana Piper aduncum.....	119
Lampiran 9. Analisis Statistik Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol.....	120
Lampiran 10. Analisis Statistik Uji Aktivitas Fraksi.....	133
Lampiran 11. Analisis Statistik Uji Aktivitas Heksana P. aduncum.....	137

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Singkatan	Nama	Pemakaian pertama kali pada halaman
HPPB	Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi	i
GC MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry	xvii
IC ₅₀	Inhibition Concentration 50%	xvii
FTIR	Fourier Transform Infra Red	xvii
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	xvii
MS	Mass Spectrometry	xvii
DI	Disease Index	xvii
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7	xvii
MAR	Minimum Amount Required	9
MIC	Minimum Inhibitory Concentration	17
CLD	Colletotrichum Leaf Disease	18
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide	25
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing	47

Lambang	Nama	Pemakaian pertama kali pada halaman
µg/mL	Mikrogram per mililiter	xvii
mg/mL	Miligram per mililiter	xvii
mg/L	Miligram per liter	xvii
%	Persen	xvii
=	Sama dengan	10
<	Kecil dari	10
≤	Kecil sama dengan	23

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara dengan keanekaragaman hayati tertinggi kedua di dunia, berpotensi besar dalam pengembangan bioaktivitas produk alam berbasis tumbuhan lokal. Salah satu kawasan konservasi yang kaya akan biodiversitas adalah Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) Universitas Andalas, Sumatera Barat. Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) Universitas Andalas merupakan salah satu komunitas hutan kampus yang penting karena telah dijadikan sebagai salah satu daerah kunci biodiversitas di Sumatera Barat. Kawasan HPPB sangat dekat dengan area kampus utama Universitas Andalas dan mendukung keanekaragaman tumbuhan yang tinggi (Rizaldi *et al.*, 2018). Variasi kondisi topografi di wilayah ini menyebabkan tingginya keragaman flora, termasuk famili Piperaceae. Studi sebelumnya telah diidentifikasi 25 spesies Piperaceae di Sumatera Barat, dengan 10 di antaranya berpotensi sebagai tumbuhan obat (Munawaroh *et al.*, 2011).

Genus *Piper* dari famili Piperaceae menarik perhatian peneliti karena kemampuannya menghasilkan beragam senyawa metabolit sekunder, seperti amida, flavonoid, fenilpropanoid, lignan, dan alkaloid (Kato & Furlan, 2007; Xu & Li, 2011). Berbagai penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak dan senyawa dari beberapa spesies *Piper* mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman. Sampai saat ini, belum terdapat laporan yang secara khusus mengkaji jenis-jenis *Piper* dari HPPB Universitas Andalas, terutama terkait aktivitas antijamur terhadap patogen tanaman karet. Hal ini menunjukkan bahwa penelitian ini memiliki nilai kebaruan yang tinggi dan membuka peluang besar untuk menggali potensi Piperaceae lokal sebagai sumber biofungisida alami dan senyawa bioaktif baru. Penelitian yang dilakukan di kawasan HPPB menjadi langkah awal yang strategis untuk pemanfaatan kekayaan hayati lokal yang belum banyak tereksplorasi, sehingga dapat memberikan kontribusi signifikan bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan inovasi di bidang pertanian berkelanjutan serta penemuan obat.

Tanaman karet (*Hevea brasiliensis*) sendiri merupakan komoditas perkebunan strategis di Indonesia yang sangat mendukung perekonomian nasional. Sayangnya, produktivitas tanaman karet sering terancam oleh serangan jamur patogen utama seperti *Rigidoporus microporus* (akar putih), *Ceratocystis fimbriata* (kanker batang), *Colletotrichum gloeosporioides* (antraknosa), dan *Corynespora cassiicola* (bercak daun). Hingga kini, pengendalian jamur tersebut masih didominasi oleh penggunaan fungisida sintetik, yang berisiko menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan serta kesehatan manusia. Oleh karena itu, eksplorasi biofungisida alami dari Piperaceae, khususnya yang berasal dari kawasan HPPB, menjadi langkah strategis bernilai tinggi dan perlu segera dilakukan.

Selain aktivitas antijamurnya, Piperaceae juga dikenal memiliki senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker. Contohnya, *piperine* dari *P. nigrum* dan *piperlongumine* dari *P. longum* telah dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap berbagai sel kanker. Selain itu, pemilihan sel kanker payudara MCF-7 sebagai objek uji aktivitas antikanker didasarkan pada fakta bahwa kanker payudara merupakan salah satu penyakit dengan angka kejadian dan kematian tertinggi di Indonesia maupun dunia. Sel MCF-7 sendiri merupakan salah satu lini sel kanker payudara yang paling banyak digunakan secara internasional sebagai model penelitian karena karakteristik biologisnya yang representatif, seperti ekspresi reseptor estrogen dan sensitivitas terhadap berbagai senyawa antikanker. Dengan menggunakan sel MCF-7, hasil pengujian dapat memberikan gambaran yang lebih relevan terhadap potensi senyawa bioaktif Piperaceae untuk dikembangkan sebagai kandidat obat antikanker, khususnya untuk terapi kanker payudara (Bezerra et al., 2020; Rather & Bhagat, 2018).

Dengan demikian, penelitian mengenai Piperaceae dari HPPB tidak hanya penting untuk pengembangan biofungisida ramah lingkungan, tetapi juga membuka peluang untuk menemukan kandidat senyawa antikanker alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana aktivitas ekstrak daun Piperaceae yang paling aktif menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman karet ?
2. Bagaimana aktivitas fraksi paling aktif dan senyawa hasil isolasi (IC_{50}) dari ekstrak daun Piperaceae terhadap jamur patogen tanaman karet ?
3. Bagaimana struktur senyawa hasil isolasi dari Piperaceae yang berpotensi menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman karet?
4. Bagaimana aktivitas antikanker senyawa hasil isolasi dari Piperaceae terhadap sel kanker payudara MCF-7 ?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Menentukan aktivitas ekstrak daun Piperaceae yang paling aktif menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman karet.
2. Menentukan aktivitas fraksi paling aktif dan senyawa hasil isolasi (IC_{50}) dari ekstrak daun Piperaceae terhadap jamur patogen tanaman karet
3. Mengisolasi dan menentukan struktur senyawa hasil isolasi dari ekstrak daun Piperaceae yang berpotensi menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman karet.
4. Menguji potensi aktivitas antikanker senyawa hasil isolasi terhadap sel kanker payudara MCF-7.

1.4 Urgensi dan Manfaat Penelitian

1.4.1 Urgensi Penelitian

1. Mengoptimalkan pemanfaatan keanekaragaman hayati lokal (Piperaceae) yang belum tereksplorasi.
2. Menyediakan alternatif pengendalian jamur penyebab penyakit tanaman karet untuk mendukung pertanian berkelanjutan.
3. Merespon kebutuhan industri perkebunan karet akan solusi pengendalian jamur yang efektif dan aman untuk meningkatkan produktivitas.
4. Memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan biofungisida spektrum luas dan senyawa antikanker berbahan alam Indonesia.

1.4.2 Manfaat Penelitian

1. Memberikan data baru tentang potensi bioaktivitas Piperaceae dari HPPB Universitas Andalas terhadap berbagai jamur patogen karet, memperkaya referensi ilmiah di bidang kimia bahan alam dan fitopatologi.
2. Menghasilkan kandidat biofungisida untuk pengendalian beberapa penyakit penting pada tanaman karet dan potensi senyawa antikanker alami.
3. Meningkatkan nilai tambah keanekaragaman hayati lokal melalui pengembangan produk berbasis tumbuhan Piperaceae yang dapat mengendalikan beberapa patogen.
4. Mengurangi dampak negatif penggunaan fungisida sintetik terhadap ekosistem pertanian dengan menyediakan alternatif alami yang lebih aman.

1.5 Temuan yang Ditargetkan dan Kontribusi terhadap Ilmu Pengetahuan

1.5.1 Temuan yang Ditargetkan

Penelitian ini ditargetkan dapat:

1. Mendapatkan ekstrak Piperaceae yang menunjukkan aktivitas antijamur paling optimal terhadap jamur patogen tanaman karet.
2. Mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa aktif dari Piperaceae yang mempunyai aktivitas antijamur.
3. Menentukan parameter aktivitas antijamur (IC_{50}) dari ekstrak dan senyawa murni terhadap berbagai jamur patogen karet.
4. Mengungkap potensi aktivitas antikanker dari senyawa hasil isolasi.

1.5.2 Kontribusi terhadap Ilmu Pengetahuan

Kontribusi penelitian terhadap pengembangan ilmu pengetahuan meliputi:

1. Menambah informasi tentang senyawa bioaktif dari Piperaceae Indonesia terhadap beberapa jamur patogen tanaman karet.
2. Memberikan contoh pendekatan terintegrasi dalam eksplorasi potensi tumbuhan lokal untuk berbagai aplikasi bioaktivitas.
3. Menunjukkan nilai ekonomi dan ilmiah dari keanekaragaman hayati lokal, mendukung upaya konservasi.
4. Menyediakan dasar ilmiah untuk pengembangan biofungisida spektrum luas berbasis tumbuhan lokal yang dapat mengendalikan beberapa penyakit sekaligus.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Piperaceae

Piperaceae tersebar hampir di seluruh wilayah tropis dan subtropis di dunia (Da Silva et al., 2014a). Famili tumbuhan Piperaceae terbagi menjadi 5 genus besar dan sekitar 4000 spesies. Famili ini terdiri dari genus *Macropiper*, *Zippelia*, *Piper*, *Peperomia* dan *Manekia* (Nascimento et al., 2012). Dari semua genus tumbuhan Piperaceae, *Piper* merupakan genus yang paling dikenal dengan jumlahnya hampir separuh dari keseluruhan spesies Piperaceae (2000 jenis) (Yadav, Krishnan, & Vohora, 2020). Spesies ini kebanyakan adalah semak, tanaman herba atau pohon dan terdistribusi secara luas di daerah tropis seperti Asia, Afrika Tengah dan Barat, Amerika Tengah dan Selatan, dan pulau-pulau Samudera Pasifik (**Gambar 2.1**) (Parmar et al., 1997; Trindade et al., 2012).



Gambar 2. 1. *Piper porphyrophyllum* (sumber: dok. Pribadi).

Piperaceae memiliki peran penting di kawasan hutan pendidikan dan penelitian biologi (HPPB) Universitas Andalas. Di lingkungan tersebut, Piperaceae tidak hanya berfungsi sebagai objek penelitian taksonomi dan ekologi, namun juga sebagai sumber utama eksplorasi senyawa bioaktif. Keberadaan berbagai spesies Piperaceae di hutan pendidikan memberikan peluang besar untuk praktik pembelajaran langsung mengenai identifikasi, konservasi, serta uji aktivitas

biologis seperti antijamur, antikanker, dan antibakteri. Selain itu, pemanfaatan Piperaceae di hutan pendidikan mendukung pengembangan metode bioprospeksi dan memperkaya database biodiversitas lokal, sehingga menjadi modal utama dalam inovasi riset biologi terapan dan pelestarian sumber daya hayati.

Tumbuhan menghasilkan keragaman metabolit sekunder yang utamanya berfungsi melindungi tumbuhan itu sendiri dari predator dan mikroba (Zaynab et al., 2018). *Natural products* yang dihasilkan tumbuhan khususnya dari jenis *Piper* dapat menjadi alternatif pengembangan obat baru (Bernuci et al., 2016). Tanaman *Piper* ini memiliki potensi dengan berbagai sifat biologis seperti aktivitas pada sistem saraf pusat, antikanker, larvasida, antibakteri dan antijamur. (J. K. R. Da Silva et al., 2016; Dognini et al., 2012; J. J. Lopes et al., 2012; Salleh, Ahmad, Yen, & Sirat, 2011; Wang et al., 2014).

2.2. Potensi Piperaceae Sebagai Antijamur

Antijamur adalah senyawa atau agen yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh jamur penyebab penyakit. Dalam dunia pertanian dan kesehatan tanaman, antijamur digunakan untuk melindungi tanaman dari serangan patogen jamur yang dapat menyebabkan kerusakan dan penurunan hasil produksi. Senyawa antijamur dapat berasal dari bahan alam, seperti ekstrak tumbuhan, semakin banyak diteliti karena dianggap lebih ramah lingkungan dan berpotensi mengatasi resistensi jamur terhadap fungisida konvensional (Okigbo & Mmeka, 2006; Xu & Li, 2011; Chanprapai & Chavasiri, 2017).

Berbagai spesies *Piper* telah dilaporkan sebagai agen antijamur patogen tanaman, seperti *Piper mollicomum*, *P. aduncum*, *P. sarmentosum*, *P. betle*, *P. bogotense*, *P. hispidum*, *P. capense*, *P. hispidinervum*, *P. borbonense*, dan *P. nigrum*. Berbagai pendekatan, mulai dari penggunaan ekstrak dan minyak atsiri hingga isolasi senyawa, telah menunjukkan kemampuan *Piper* dalam menghambat pertumbuhan berbagai jamur patogen tanaman (Chanprapai & Chavasiri, 2017; H. A. Da Silva et al., 2018; Radwan et al., 2014; Singburaudom, 2015; Tangarife-Castaño et al., 2014; Valadares et al., 2018).

Sifat biologis antijamur dari jenis *Piper* tidak terlepas dari peran senyawa aktif. Keberadaan *lignans* (**Gambar 2.5**), flavonoid (**Gambar**

2.2), *amides* (**Gambar 2.4**), *prenylated benzoic acid derivatives* (**Gambar 2.3**), dan *cyclopentenones* (**Gambar 2.6**) telah dilaporkan sebagai senyawa antijamur dari *Piper* (Xu & Li, 2011). Selain itu, alkaloid (Dodson *et al.*, 2000), poliketida (Cheng *et al.*, 2003), dan *chromenes* (Morandim *et al.*, 2009) juga banyak ditemukan dalam daun, buah, dan batang spesies *Piper*.

Pencarian produk alam dari tumbuhan sebagai antijamur merupakan kajian yang sangat menarik karena tumbuhan menjadi sumber yang paling penting, mengingat tingginya resistensi mikroba terhadap obat-obatan yang ada serta untuk mengatasi kecenderungan meningkatnya penyakit tanaman yang muncul dan resistensi. Hal ini memerlukan pendekatan dari berbagai cabang ilmu yang mencakup pengembangan obat antijamur baru (Okigbo & Mmeko, 2006). Hasil penelusuran literatur menunjukkan bahwa terdapat 25 jenis famili Piperaceae di Sumatera Barat, dan 10 di antaranya digunakan sebagai obat (Munawaroh *et al.*, 2011). Potensi tumbuhan Piperaceae untuk dieksplorasi dalam penemuan dan pengembangan antijamur baru cukup menarik untuk mengatasi permasalahan penyakit tanaman. Sejumlah jenis Piperaceae dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan beberapa jamur patogen tanaman (**Tabel 2.1**).

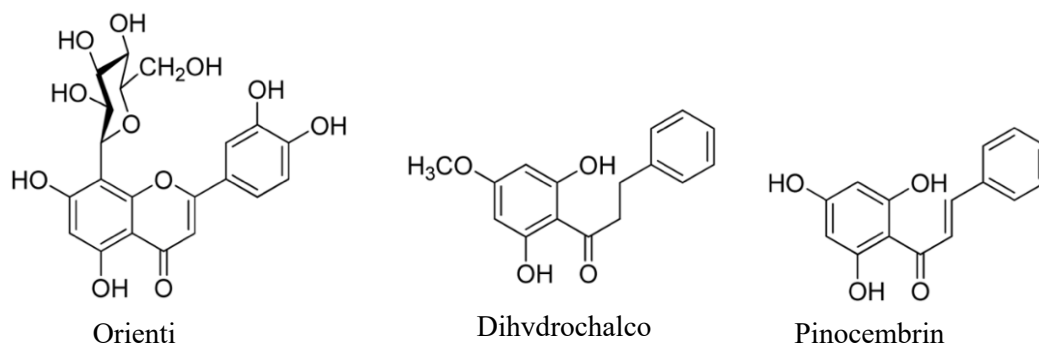
Hal ini membuka peluang untuk pemanfaatan ekstrak tumbuhan, khususnya spesies *Piper* dari hutan yang belum sepenuhnya dieksplorasi, sebagai agen antijamur potensial untuk pengendalian jamur patogen tanaman. Pencarian sumber senyawa antijamur baru juga akan berkontribusi dalam membangun model investasi lebih lanjut di bidang ilmu pengetahuan untuk melestarikan dan mempelajari flora, terutama spesies *Piper*. Potensi tumbuhan Piperaceae untuk dieksplorasi dalam penemuan dan pengembangan antijamur baru cukup menarik untuk mengatasi permasalahan penyakit tanaman karet. Beberapa jenis Piperaceae yang sudah banyak diketahui bioaktivitasnya namun belum pernah diuji terhadap jamur patogen tanaman karet merupakan hal yang menarik untuk mengetahui potensinya sebagai agen biofungisida.

Tabel 2. 1. Kandungan kimia dan aktivitas antijamur beberapa genus Piper.

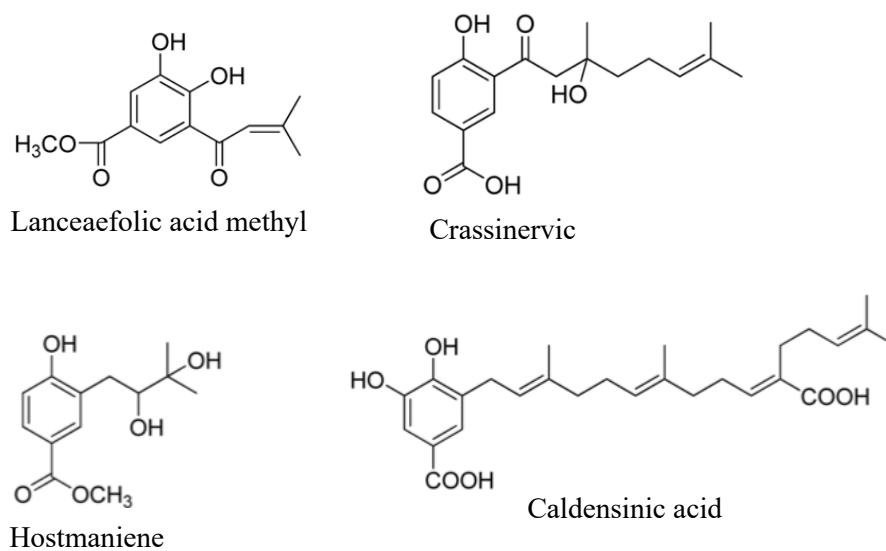
Referensi	Bagian Tumbuhan	Hasil	Jamur yang diujikan (host)
(Navickiene et al., 2000)	Ekstrak kloroform Buah <i>Piper hispidum</i>	Senyawa (3Z, 5Z) -N-isobutyl-8- (3', 4'-methylenedioxyphenyl) -heptadienamida, N- (3- (6'-methoxy-3', 4'-methylenedioxyphenyl) -2 (Z) - propenoyl] pyrrolidine dan piperamine (minimum amount required for inhibition, MAR, 5 µg).	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>
(Lee et al., 2001)	Ekstrak heksan Buah <i>Piper longum</i>	Aktivitas fungisida terhadap <i>P. oryzae</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>P. infestans</i> , dan <i>P. recondita</i> dengan nilai kontrol masing-masing 33, 15, 40, dan 100% dan ditemukan <i>Pipernonaline</i> (piperidine alkaloid)	<i>Pyricularia oryzae</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Puccinia recondita</i> , dan <i>Erysiphe graminis</i>
(Reigada et al., 2007)	Ekstrak metanol daun <i>P. marginatum</i>	Senyawa 5,7-dihidroksi-4-metoksi flavanon (MIC = 1,0 µg) 3,4-methylenedioxypropiophenone (MIC 5,0 µg), 2-metoksi-4,5-methylenedioxypropiophenone (MIC 5,0 µg), dan 1- (3,4-methylenedioxyphenyl)propan-1-ol (MIC 10 µg). Aktivitas flavanon yang lebih kuat disebabkan oleh adanya gugus karbonil pada kedua senyawa.	<i>C. cladosporioides</i> dan <i>C. sphaerospermum</i>
(J. H. G. Lago & Kato, 2007)	Ekstrak metanol daun <i>P. crassinervium</i>	Senyawa turunan <i>Piperidon 3α,4α-epoxy-2-Piperidone</i> (MIC 1 µg) sama kuat dengan kontrol nistatin dan mikonazol.	<i>C. cladosporioides</i> dan <i>C. sphaerospermum</i>
(Tabopda et al., 2008)	Ekstrak metanol batang <i>P. umbellatum</i>	Senyawa <i>piperumbellactam D</i> , <i>N-hydroxyaristolam II</i> dan <i>4-nerolidylcatechol</i> (alkaloid) menunjukkan aktivitas antijamur yang lebih tinggi daripada amfoterisin B	<i>Trichophyton longifusus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Microsporum canis</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>Candida albicans</i> dan <i>C. glabrata</i> .
(G. Lago et al., 2009)	Ekstrak heksan dan etil asetat daun <i>P. aduncum</i>	Senyawa 4-hidroxy-3-(2'-hydroperoxy 3'-methyl-3'-butenyl) benzoate menunjukkan aktivitas antijamur yang tinggi karena adanya gugus hidroperoksida pada rantai cabang berkaitan dengan sifat fungitoksitasnya	<i>Cladosporium cladosporioides</i> dan <i>C. sphaerospermum</i>

(Guerrini et al., 2009)	Seluruh bagian tumbuhan <i>P. aduncum</i>	<i>Dillapiol</i> (penghambatan total pada 500µg/ml).	<i>Magnaporthe grisea</i> ATCCa 64413, <i>Pythium ultimum</i> , <i>Botrytis cinerea</i> ATCC 48339, <i>Trichophyton mentagrophytes</i> CBSf 160.66, dan <i>Nanizzia cajetani</i> IHMEg 3441
(Regasini et al., 2009)	Ekstrak etanol daun <i>P. arboreum</i>	Ekstrak etanol terhadap <i>Candida krusei</i> (MIC 62,5 µg / mL). Senyawa <i>Piperyline</i> , <i>4,5-dihydropiperyline</i> dan <i>tetrahydropiperyline</i> terhadap <i>C. krusei</i> dan <i>C. parapsilosis</i> (MIC antara 15,6 dan 31,2 µg / mL). terhadap <i>C. neoformans</i> (MIC masing-masing 31,2 dan 15,6 µg/mL). Aktivitas terkuat senyawa disebabkan kurangnya ikatan rangkap dalam struktur kimianya.	<i>Candida krusei</i> , <i>C. parapsilosis</i> dan <i>C. neoformans</i>
(Parra et al., 2011)	Ekstrak etanol <i>P. cumanense</i>	Senyawa asam cumanensic terhadap <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i> (MIC 1 mg) dan terhadap <i>B. cinerea</i> (MIC 100 mg). Senyawa ini menjanjikan karena memiliki aktivitas antijamur terhadap <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i> mirip dengan kontrol positif (benomyl <1 mg).	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i> dan <i>B. cinerea</i>
(Akthar, Birhanu, & Demisse, 2014)	Daun <i>P. nigrum</i>	• Ekstrak etanol, metanol dan petroleum eter daun <i>P. nigrum</i> terhadap <i>C. albicans</i> (MIC dan MFC 25000 mg/L). • Ekstrak metanol daun <i>P. nigrum</i> terhadap <i>Aspergillus spp</i> (MIC 12500 mg/L) • Didapatkan senyawa <i>Alkaloids</i>, <i>anthraquinone</i>, <i>flavonoids</i>, <i>saponins</i>, <i>tannins</i> dan <i>terpenoids</i>	<i>Aspergillus spp.</i> dan <i>Candida albicans</i>
(Nordin et al., 2014)	Daun <i>P. betle</i>	• Didapatkan senyawa <i>hydroxychavicol</i>, <i>chavibetol</i> dan <i>hydroxybenzoic acid</i> • Jumlah sel <i>Candida</i> yang hidup berkurang dari rata-rata $13,44 \times 10^6$ menjadi $1,78 \times 10^6$ (CFU).mL⁻¹	<i>Candida albicans</i> ; <i>C. dubliniensis</i> ; <i>C. glabrata</i> ; <i>C. krusei</i> ; <i>C. lusitaniae</i> ; <i>C. parapsilosis</i> ; <i>C. tropicalis</i>
(Muharini et al., 2015)	Buah <i>P. retrofractum</i>	Didapatkan senyawa <i>Piperanine</i> (amida)	<i>Cladosporium claspoirioides</i>

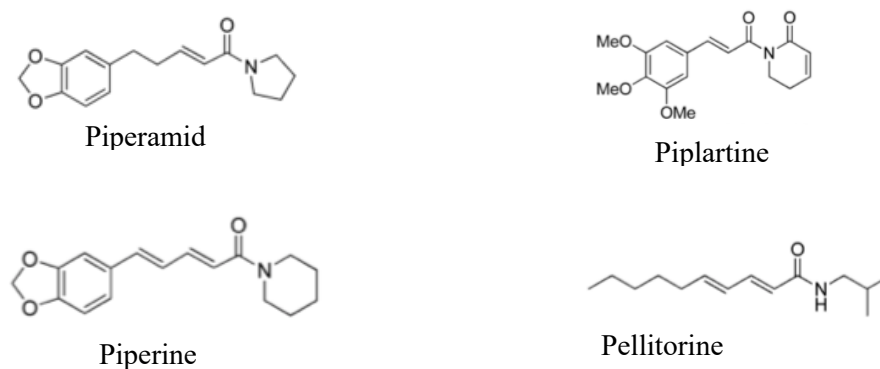
(Chanprapai & Chavasiri, 2017)	Ekstrak Metanol dan Kloroform Daun <i>P. sarmentosum</i>	• Ekstrak diklorometana dari daun, buah dan minyak esensial menunjukkan aktivitas antijamur berpotensi tinggi • <i>Myristicin</i> dan <i>brachyamide B</i> menunjukkan penghambatan tertinggi terhadap <i>R. solani</i> dan <i>B. oryzae</i> (Nilai IC₅₀ 0,69 dan 0,12 mmol L⁻¹) • Didapatkan senyawa <i>Myristicin</i> dan <i>brachyamide B</i>	<i>Rhizoctonia solani</i> dan <i>Bipolaris oryzae</i> (rice pathogenic fungi)
--------------------------------	--	--	---

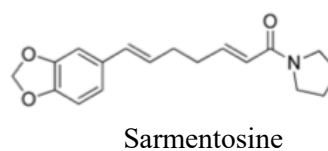
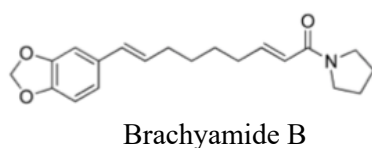
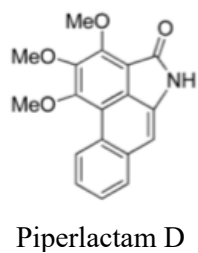
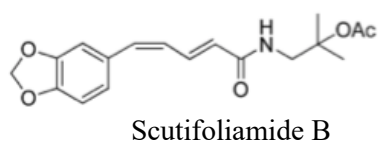
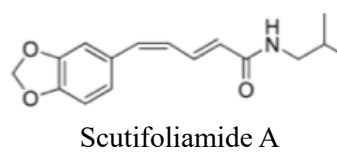
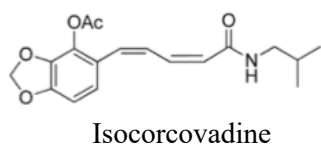
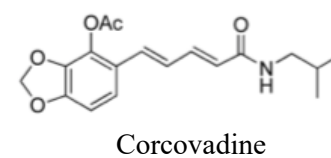
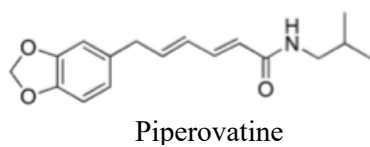
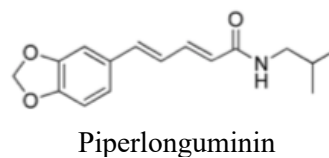
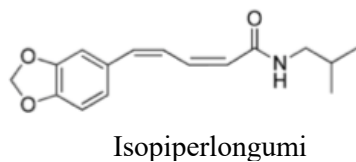
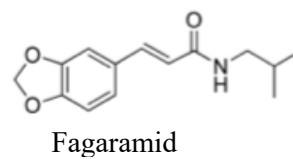
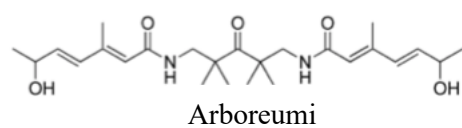


Gambar 2. 2. Senyawa Antijamur flavonoids dari Piper spp. (Xu & Li, 2011)

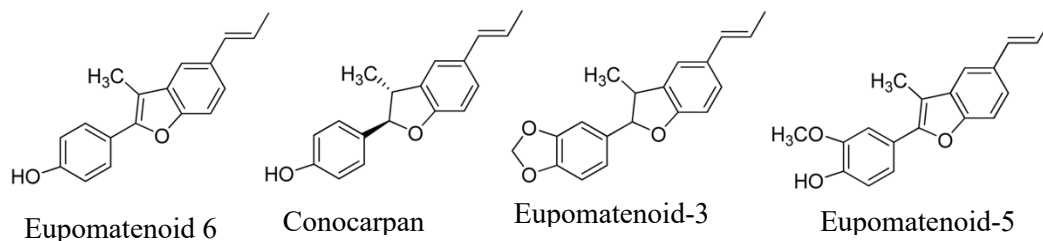


Gambar 2. 3. Senyawa Antijamur turunan prenylated benzoic acid dari Piper spp. (Xu & Li, 2011)

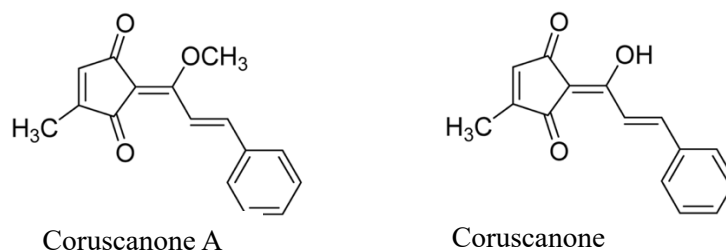




Gambar 2. 4. Senyawa Antijamur amides dari Piper spp. (Xu & Li, 2011)



Gambar 2. 5. Senyawa Antijamur lignans dari Piper spp. (Xu & Li, 2011)



Gambar 2. 6. Senyawa Antijamur cyclopentenones dari Piper spp. (Xu & Li, 2011)

2.3. Jamur Patogen pada Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis*)

Jamur patogen tanaman merupakan ancaman signifikan bagi produktivitas dan keberlanjutan agroindustri, termasuk perkebunan karet (*Hevea brasiliensis*). Infeksi patogen, terutama yang menyerang sistem perakaran, seringkali berdampak paling merusak karena sulit dideteksi dini dan dapat menyebabkan kematian tanaman secara permanen (Azaldin et al., 2021). Pada tanaman karet, berbagai patogen menyerang organ daun, batang, dan akar, dengan kelompok jamur basidiomycetes pelapuk kayu diakui sebagai ancaman paling serius terhadap kesehatan dan umur ekonomis tanaman (Darmono & Suhendra, 2020; Jayasinghe et al., 2023).

Di antara patogen-penyakit penting pada karet, penyakit akar putih yang disebabkan oleh *Rigidoporus microporus* (sinonim *R. lignosus*) masih menjadi kendala utama di banyak negara produsen karet di Asia Tenggara dan Afrika. Patogen ini bersifat nekrotrofik dan polifag, mampu menginfeksi berbagai tanaman keras tropis, namun kerugian ekonomi terbesarnya terjadi pada perkebunan karet komersial (Siri-udom et al., 2016; Oghenekaro et al., 2020). Jamur ini menyebar melalui struktur mirip akar yang disebut rizomorf, yang dapat tumbuh beberapa

meter di dalam tanah untuk mencari dan menginfeksi akar inang, menyebabkan pembusukan kayu yang progresif (Dissanayake et al., 2020).

Selain *R. microporus*, kompleks penyakit akar lainnya juga menjadi perhatian. Penyakit akar merah yang disebabkan oleh *Ganoderma* spp., terutama *G. philippii* dan *G. pseudoferreum* (namun kini banyak diidentifikasi sebagai kompleks spesies), semakin meningkat prevalensinya, khususnya pada perkebunan replanting (tanaman ulang) (Roslan & Idris, 2018; Mohd et al., 2021). Patogen ini menyebabkan busuk pangkal batang dan akar, dengan gejala khas berupa adanya badan buah (basidiokarp) berwarna coklat kemerahan. Penyakit akar hitam, yang dihubungkan dengan *Phellinus noxius*, juga tercatat menyebabkan kerusakan serupa meskipun distribusinya lebih terbatas secara geografis (Nandris et al., 2021).

Pada bagian daun, penyakit *Colletotrichum Leaf Disease* (CLD) atau antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotrichum* spp. mempengaruhi pertumbuhan bibit dan mengurangi produksi lateks pada tanaman muda, terutama dalam kondisi kelembaban tinggi (Kuswinanti et al., 2022). Sementara itu, penyakit *Corynespora Leaf Fall* (CLF) yang disebabkan oleh *Corynespora cassiicola* tetap menjadi ancaman serius dengan spektrum virulensi yang luas dan potensi menyebabkan defoliasi berat, sehingga menurunkan produktivitas (Darmono & Suhendra, 2020).

Upaya pengendalian terhadap patogen-patogen ini, khususnya penyakit akar, menghadapi tantangan kompleks karena siklus hidup patogen yang melibatkan tanah dan sisa-sisa akar. Strategi pengelolaan terpadu yang mencakup aspek kultur teknis (seperti pembersihan lahan, pemilihan bibit sehat, dan pola tanam), biologis, dan kimiawi terus diteliti dan dikembangkan (Jayasinghe et al., 2023; Dissanayake et al., 2020). Pemahaman mendalam tentang biologi patogen, dinamika penyakit, dan interaksi patogen-inang sangat penting untuk merancang strategi pengendalian yang efektif dan berkelanjutan guna menjaga produktivitas industri karet global (Oghenekaro et al., 2020; Azaldin et al., 2021).



Gambar 2. 7. Infeksi Jamur *Rigidoporus microporus* pada tanaman karet (Oghenekaro et al., 2020).

Biofungisida dianggap sebagai alternatif terbaik untuk mengurangi risiko lingkungan yang disebabkan oleh residu kimia fungisida sintetis. Oleh karena itu, biofungisida diterapkan dalam program pengelolaan hama terpadu di seluruh dunia untuk mendorong pertanian berkelanjutan. Penggunaan ekstrak tumbuhan sebagai agen biokontrol dapat menjadi alternatif untuk mengurangi dampak negatif lingkungan. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai agen biofungisida adalah dari famili Piperaceae.

2.4. Potensi Piperaceae Sebagai Antikanker

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang biomedis mendorong riset intensif dalam pencarian dan pengembangan agen antikanker baru, terutama yang bersumber dari alam. Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia, dengan tingkat insidensi dan mortalitas yang terus meningkat setiap tahunnya (Sung et al., 2021). Kompleksitas biologis sel kanker, resistensi terhadap terapi konvensional, dan efek samping yang berat dari kemoterapi sintetis menjadi alasan utama perlunya eksplorasi sumber alternatif, termasuk senyawa bioaktif dari tumbuhan (Cragg & Pezzuto, 2016). Sejalan dengan urgensi tersebut, penelitian mengenai aktivitas antikanker dari tanaman, khususnya famili Piperaceae, semakin mendapat perhatian sebagai upaya mendukung pengembangan obat yang ramah lingkungan dan berkelanjutan.

Selain potensinya sebagai agen antijamur terhadap patogen tanaman, famili Piperaceae, khususnya genus *Piper*, juga telah lama menarik perhatian dalam bidang farmakologi karena kandungan senyawa bioaktifnya yang beragam dengan aktivitas antikanker yang menjanjikan. Eksplorasi senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan ini tidak hanya relevan untuk pengembangan biofungisida, tetapi juga membuka peluang penemuan senyawa pemandu (*lead compounds*) baru untuk terapi kanker (Bezerra et al., 2020).

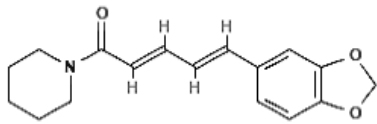
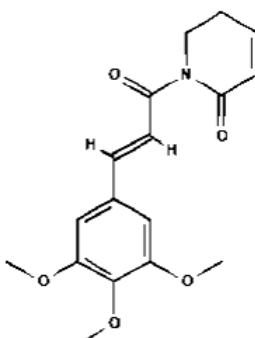
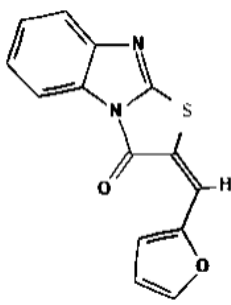
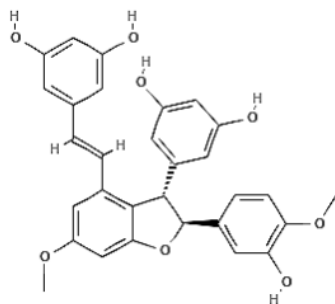
Berbagai senyawa dari genus *Piper*, seperti alkaloid (misalnya *piperine*, *piperlongumine*), amida, flavonoid, lignan, dan neolignan, telah dilaporkan menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap beragam lini sel kanker *in vitro* dan *in vivo* (Rather & Bhagat, 2018; Takooree et al., 2019). Mekanisme aksi yang diusulkan meliputi induksi apoptosis, penghambatan proliferasi sel, anti-angiogenesis, modulasi jalur pensinyalan sel, serta inhibisi migrasi dan invasi sel kanker (Parmar et al., 2022).

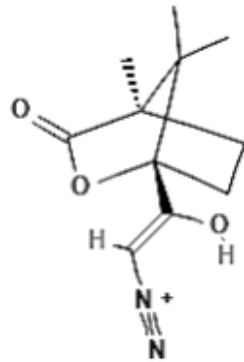
Salah satu senyawa yang banyak diteliti adalah *piperlongumine*, alkaloid dari *Piper longum*, yang menunjukkan aktivitas sitotoksik selektif terhadap sel kanker dengan menginduksi stres oksidatif dan apoptosis tanpa merusak sel normal secara signifikan (Bezerra et al., 2013; Roh, 2020). Demikian pula, *piperine*, senyawa utama dalam lada hitam (*Piper nigrum*), telah terbukti memiliki efek kemopreventif dan dapat meningkatkan bioavailabilitas serta aktivitas sitotoksik agen kemoterapi lainnya (Shaikh et al., 2021). Penelitian terkini juga melaporkan aktivitas antikanker dari senyawa-senyawa lain seperti *piplartine* dari *Piper tuberculatum* (de Almeida et al., 2020), berbagai amida dari *Piper retrofractum* (Zhao et al., 2021), serta lignan seperti eupomatenoid-5 dari *Piper regnellii* (Silva et al., 2019). Aktivitas ini sering dikaitkan dengan adanya gugus fungsi spesifik, sistem ikatan rangkap terkonjugasi, dan struktur siklik yang dapat berinteraksi dengan target seluler kunci pada sel kanker.

Dengan demikian, eksplorasi metabolit sekunder dari spesies *Piper* di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) Universitas Andalas memiliki nilai ganda sebagai sumber kandidat biofungisida yang ramah lingkungan dan sekaligus sebagai sumber senyawa bioaktif potensial untuk pengembangan agen antikanker.

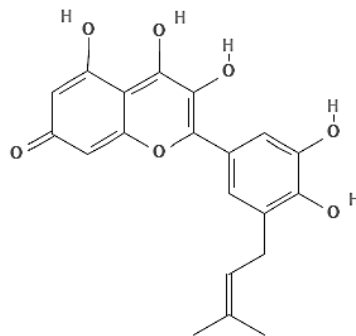
Pendekatan ini sejalan dengan tren penelitian bahan alam yang terintegrasi, di mana satu sumber biologis dapat dieksplorasi untuk berbagai aplikasi bioaktivitas, meningkatkan nilai ekonomi dan ilmiah dari keanekaragaman hayati lokal (Mgbeahuruike et al., 2021).

Tabel 2. 2. Senyawa Antikanker dari spesies Piper

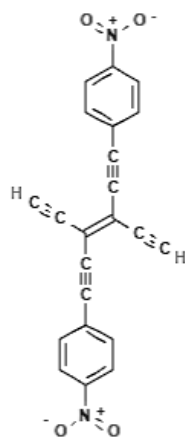
Nama Senyawa	Struktur	Deskripsi
<i>Piperine</i>		Senyawa utama lada hitam (<i>Piper nigrum</i>), memiliki aktivitas kemopreventif dan meningkatkan bioavailabilitas agen kemoterapi.
<i>Piperlongumine (Piplartine)</i>		<i>Piperlongumine (Piplartine)</i> dari <i>Piper longum</i> , Sitotoksik selektif dengan menginduksi stres oksidatif dan apoptosis.
<i>Pipernonaline</i>		<i>Pipernonaline</i> dari <i>Piper longum</i> dengan aktivitas antiproliferatif melalui induksi <i>cell cycle arrest</i> .
<i>Piperkatin A</i>		<i>Piperkatin A</i> dari <i>Piper kadaura</i> bersifat sitotoksik kuat terhadap sel kanker payudara.

Eupomatenoid-5

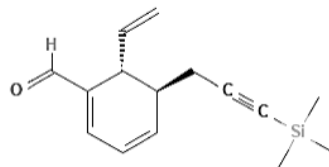
Eupomatenoid-5 dari *Piper regnellii* yang menginduksi apoptosis melalui jalur mitokondria.

Piperlactam S

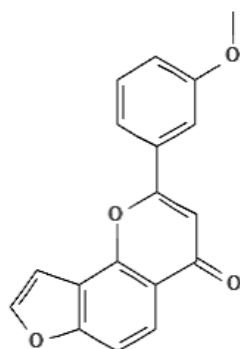
Piperlactam S dari *Piper* sp. yang sitotoksik terhadap sel kanker paru-paru dan hati.

Retrofractamide C

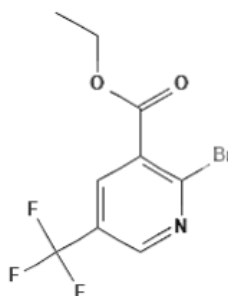
Retrofractamide C dari *Piper retrofractum* dengan aktivitas antiproliferatif pada sel kanker kolon.

Guineensine

Guineensine dari *Piper guineense* bekerja menghambat biosintesis asam lemak sel kanker.

Piperovatine

Piperovatine dari *Piper piscatorum* yang sitotoksik terhadap sel leukemia.

Corcovadine

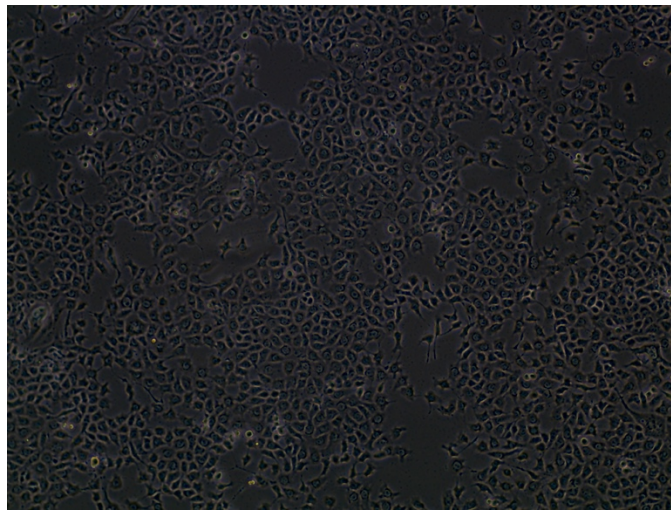
Corcovadine dari *Piper corcovadensis* dengan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks.

2.5. Sel Line MCF-7

Sel MCF-7 merupakan salah satu garis sel kanker payudara manusia yang paling banyak digunakan dalam penelitian biomedis, terutama untuk studi mekanisme molekuler kanker payudara, skrining senyawa antikanker, dan uji toksisitas obat baru. Sel ini pertama kali diisolasi pada tahun 1970 dari seorang pasien wanita dengan kanker payudara metastatik dan hingga kini menjadi model utama karena mengekspresikan reseptor estrogen (ER+), sehingga sangat relevan untuk penelitian kanker payudara tipe luminal A yang sensitif terhadap hormon (Subik et al., 2010).

MCF-7 memiliki keunggulan berupa stabilitas genetik dan kemudahan pemeliharaan in vitro, serta respons yang baik terhadap agen kemoterapi, hormon, dan fitokimia. Studi terbaru menunjukkan bahwa MCF-7 digunakan secara luas untuk mengevaluasi mekanisme apoptosis, siklus sel, serta perubahan ekspresi gen dan protein yang terkait dengan proliferasi dan resistensi obat kanker (Kumar et al., 2023; Dong et al., 2022). Selain itu, MCF-7 juga menjadi standar untuk penapisan senyawa alami atau sintetis yang berpotensi sebagai agen antikanker, misalnya

dalam penelitian efek sitotoksik ekstrak tumbuhan maupun senyawa turunan piper (Zhou et al., 2022).



Gambar 2. 8. Sel kanker payudara MCF-7 (sumber: dok. Pribadi).

Dari segi keragaman biologis, sel MCF-7 (**Gambar 2.8**) memiliki karakteristik morfologi epitelial dan tidak mengekspresikan HER2 secara berlebihan, sehingga sering digunakan sebagai pembanding dengan sel kanker payudara tipe lain seperti MDA-MB-231 (triple negative). Namun, keterbatasan MCF-7 antara lain kurangnya kemampuan invasif dan migrasi yang rendah, sehingga penggunaannya lebih optimal untuk studi sitotoksitas dan mekanisme kematian sel (Ali et al., 2021). Namun, sel MCF-7 tetap menjadi model utama yang sangat relevan dalam pengembangan terapi dan skrining senyawa antikanker terbaru.

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juli 2018 di Laboratorium Kimia Organik (Ekstraksi, Fraksinasi dan Isolasi) dan Laboratorium Biokimia (Skrining dan Uji *in vitro*) Departemen Kimia FMIPA Universitas Andalas, Herbarium ANDA (Identifikasi Tumbuhan) Departemen Biologi FMIPA Universitas Andalas, Laboratorium INA (uji aktivitas antikanker), serta Kebun Percobaan Balai Penelitian Sembawa, Sumatera Selatan (uji lapangan/ *in vivo*).

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi perangkat destilasi, rotary evaporator (Heidolph VV 2000), peralatan kromatografi kolom, oven, desikator, dan peralatan gelas standar laboratorium kimia organik untuk isolasi senyawa. Untuk uji antijamur digunakan autoklaf, laminar airflow cabinet, inkubator, mikropipet, timbangan analitik, hotplate stirrer, cawan Petri, dan peralatan gelas standar laboratorium mikrobiologi. Uji antikanker memerlukan CO₂ incubator, biological safety cabinet class II, inverted microscope, microplate reader (ELISA reader), centrifuge, dan haemocytometer. Karakterisasi senyawa dilakukan dengan menggunakan spektrometer FT-IR (PerkinElmer), spektrometer NMR (JEOL JNM-ECS 400/600, JEOL ECA 500), spektrometer massa LC-ESI-MS/MS (Waters UPLC-ESI-TOFMS), GC-MS (kolom HP-5MS), dan melting point apparatus (Stuart SMP 10).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan terdiri atas daun tujuh spesies Piperaceae dari Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) Universitas Andalas. Pelarut organik yang digunakan adalah heksana, kloroform, diklorometana, etil asetat, dan metanol. Bahan untuk uji fitokimia meliputi asam sulfat, serum(IV) sulfat, bubuk

magnesium, asam klorida pekat, amonia, besi(III) klorida, anhidrida asetat, pereaksi Mayer, dan pereaksi Dragendorff. Media dan bahan mikrobiologi yang digunakan adalah media Potato Dextrose Agar (PDA), isolat jamur *Rigidoporus microporus*, *Ceratocystis fimbriata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Corynespora cassiicola* yang diperoleh dari Balai Penelitian Sembawa, DMSO sebagai pelarut, serta Benomyl (Benlate, DuPont) sebagai kontrol positif. Bahan untuk uji antikanker terdiri dari sel kanker MCF-7 (garis sel kanker payudara), media RPMI-1640 dengan L-glutamin, *fetal bovine serum* (FBS), *penicillin-streptomycin solution*, trypsin-EDTA, MTT reagent (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide), DMSO untuk pelarut senyawa uji, dan *doxorubicin* sebagai kontrol positif. Bahan kromatografi meliputi silika gel G 60 (70-230 mesh dan 230-400 mesh, Merck), plat KLT silika gel GF254 (Merck), dan kertas saring Whatman No. 1.

3.3. Tahapan Penelitian

3.3.1. Koleksi dan Identifikasi Tumbuhan *Piperaceae*

Tumbuhan *piper* dikoleksi dari beberapa kawasan Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) kampus Universitas Andalas. Metode pengambilan sampel dilakukan secara acak (eksplorasi) berdasarkan zona jelajah (random sampling). Di lapangan dilakukan pengoleksian dan pemotretan tumbuhan famili *Piperaceae* lengkap serta organ vegetatif dan generatif (jika ada) utuh tiap individu yang ditemukan, dibuat 3 lembar (3 rangkap) semua organ lengkap. Pendekatan ini bertujuan meminimalkan bias sampling dan memberikan gambaran yang lebih utuh mengenai keanekaragaman spesies di lokasi penelitian. Di herbarium dibuat spesimen dari koleksi yang didapatkan dari lapangan berupa awetan kering. Selanjutnya dilakukan identifikasi terhadap semua jenis *Piper* yang didapatkan dengan menggunakan pembanding spesimen Herbarium *Piperaceae* yang sudah teridentifikasi di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) dan literatur. (Hübsch et al., 2014; Duraipandiyan & Ignacimuthu, 2011).

3.3.2. Ekstraksi Daun Tumbuhan Piperaceae

Bagian daun yang akan diekstrak dibersihkan untuk menghilangkan semua bahan/kotoran yang tidak diinginkan, selanjutnya dikeringanginkan dengan udara dan suhu ruangan selama minimal 7 hari atau sampai tidak ada kandungan air, dihancurkan dalam penggilingan dan disimpan dalam wadah kedap udara steril sampai penggunaan selanjutnya (Hübsch et al., 2014). Bubuk dari daun *Piper* diekstraksi secara maserasi dengan metanol (1:10, b/v) selama 24 jam di suhu ruangan. Ekstrak disaring melalui corong Buchner dengan kertas saring Whatman No.1. Filtrat diuapkan hingga kering di bawah tekanan rendah menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak disimpan pada 4°C hingga digunakan lebih lanjut (Duraipandiyan & Ignacimuthu, 2011).

3.3.3. Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun *Piper*

Ekstrak metanol pekat dari spesies *Piper* yang paling aktif difraksinasi secara bertingkat menggunakan pelarut heksanaa dan etil asetat. Ekstrak dilarutkan kembali dalam metanol, kemudian ditambahkan heksanaa dengan perbandingan tertentu dalam corong pisah. Campuran dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan heksanaa (non-polar) dipisahkan, dan proses diulang hingga lapisan bening. Proses serupa dilakukan dengan etil asetat untuk mendapatkan fraksi semi-polar. Fraksi-fraksi yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator*, dikeringkan, dan disimpan pada suhu 10°C sebelum uji lebih lanjut. (Rodrigues et al., 2012).

3.3.4. Uji Fitokimia Ekstrak dan Fraksi Daun *Piper*

Masing-masing sampel daun *Piper* segar sebanyak 2 g dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian diekstrak dengan metanol yang telah dipanaskan di atas nyala spritus selama 5 menit. Lalu disaring dalam keadaan panas kedalam tabung reaksi lain. Setelah itu ditambahkan kloroform dan aquades dengan perbandingan 1:1 masing-masing sebanyak 5 ml. Lalu dikocok dan dibiarkan sejenak sehingga terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan kloroform di bagian bawah digunakan untuk pemeriksaan senyawa terpenoid dan steroid, sedangkan lapisan air dibagian atas digunakan untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. (Ayoola et al., 2008).

Dilakukan skrining fitokimia ekstrak kasar metanol dan fraksi ekstrak aktif untuk uji terpenoid, flavonoid, saponin, fenolik, alkaloid. Skrining fitokimia dilakukan dengan mengacu pada metode Ayoola *et al.*(2008). Sebelum dilakukan uji fitokimia, sekitar 0,5 g ekstrak daun *Piper* dilarutkan dalam 10 mL metanol.

1). Uji saponin

Setiap ekstrak tumbuhan yang telah dilarutkan dengan metanol dalam tabung reaksi dikocok kuat untuk mengamati buih persisten yang stabil. Apabila ada buih, selanjutnya dicampur dengan 3 tetes asam klorida. Sekali lagi diguncang kuat untuk mengamati apakah buih masih tetap konsisten, yang menunjukkan adanya saponin.

2). Uji flavonoid

Untuk menguji keberadaan flavonoid, pada 2-3 mL ekstrak methanol ditambahkan sedikit bubuk magnesium dan 1 mL asam klorida pekat. Warna merah muda atau kemerahan dari larutan menunjukkan hasil positif untuk uji flavonoid.

3). Uji Fenolik

Setiap ekstrak tumbuhan yang telah dilarutkan dalam metanol ditambahkan beberapa tetes besi klorida ke filtrat. Kehadiran warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman menunjukkan adanya fenol.

4). Uji Steroid

Untuk 1 mL ekstrak metanol, tambahkan 1 mL kloroform, 2-3 mL anhidrida asetat, 1 hingga 2 tetes asam sulfat pekat. Warna hijau tua menunjukkan hasil positif adanya steroid.

5). Uji terpenoid (Salkowski's test)

Setiap ekstrak tumbuhan ditambahkan ke 2 mL kloroform diikuti dengan penambahan asam sulfat pekat (3 mL) dengan hati-hati untuk membentuk lapisan. Warna coklat kemerahan pada antarmuka menunjukkan adanya terpenoid.

6). Uji alkaloid

Setiap ekstrak tumbuhan diencerkan hingga 10 mL. Sekitar 2 mL amonia encer diikuti ditambahkan ke 5 mL filtrat diikuti dengan penambahan 5 mL kloroform dan dikocok perlahan untuk mengekstraksi basa alkaloid. Lapisan kloroform diekstraksi dengan 10 mL asam asetat. Dalam 5 mL ekstrak yang dihasilkan, sekitar 3 tetes reagen Mayer ditambahkan. Pembentukan endapan menunjukkan adanya alkaloid.

3.3.5. Uji profil fraksi heksana daun *Piper aduncum*

Fraksi heksana dari daun *P. aduncum* menunjukkan aktivitas antijamur yang sangat tinggi, namun upaya isolasi senyawa murni dari fraksi ini mengalami kendala karena kompleksitas senyawa yang tinggi dan kemiripan sifat fisik-kimia senyawa penyusunnya yang menyulitkan pemisahan dengan kromatografi kolom konvensional. Oleh karena itu, untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang berpotensi bertanggung jawab terhadap aktivitas antijamur, dilakukan analisis profil senyawa dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Analisis ini bertujuan untuk mengetahui komposisi senyawa dalam fraksi heksana *P. aduncum* sehingga dapat mengidentifikasi senyawa utama yang diduga sebagai senyawa aktif. Analisis profil senyawa fraksi heksana *P. aduncum* dilakukan dengan GC-MS pada kolom HP-5MS dengan kondisi operasi: suhu injektor 200°C, suhu kolom 50°C (2 menit) kemudian dinaikkan 10°C/menit hingga 280°C, tekanan 120.6 kPa. Identifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan spektrum massa dengan database Wiley 7N (Matanmi, *et al.*, 2019).

3.3.6. Isolasi Senyawa Dengan Metode Kromatografi Kolom

Fraksi aktif Piperaceae dianalisis dengan menggunakan plat kromatografi lapis tipis (KLT) yang terbuat dari plat silika terlebih dahulu untuk mencari fase gerak (eluen) terbaik dalam proses pemurnian. Fraksi yang aktif dimurnikan dengan menggunakan metode kromatografi kolom dengan silika gel sebagai fase diam dan kombinasi heksanaa: etil asetat; pelarut metanol sebagai fase gerak, berdasarkan peningkatan kepolaran (*Step Gradient Polarity*). Proses pengaliran eluen (elusi) serta pengaturan kecepatan alir kolom diatur sedemikian rupa dengan alat vakum. Hasil elusi (eluat) ditampung dengan botol vial 10 mL dan dikumpulkan. Setiap eluat dilakukan uji KLT, eluat dengan pola pemisahan yang sama digabung dan dikelompokkan menjadi beberapa fraksi, kemudian dipilih satu fraksi yang memungkinkan untuk dilakukan pemisahan lebih lanjut (Efdi, 2024).

3.3.7. Uji Kemurnian Senyawa Isolasi

3.3.7.1. Uji Kromatografi Lapis Tipis

Senyawa murni hasil isolasi yang diperoleh diuji dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan variasi komposisi eluen yang berbeda-beda (3H:2E, 1H:1E, 2H:3E). Campuran eluen yang digunakan dalam uji kromatografi lapis tipis yaitu heksana: etil asetat dengan peningkatan kepolaran. Pengamatan hasil elusi dilihat di bawah sinar UV dengan Panjang gelombang 254 nm dan 365 nm dan setiap pelat setelah proses elusi dioles dengan asam sulfat 2 N atau reagen Liebermann Buchard sebagai penampak noda, kemudian dipanaskan (Efdi, 2024).

3.3.7.2. Pengukuran Titik Leleh

Senyawa metabolit sekunder hasil isolasi diambil secukupnya dengan menggunakan pipa kapiler dan dimasukkan ke dalam alat melting point (Stuart SMP 10) yang telah dinyalakan dan diatur suhunya. dibiarkan suhu naik secara perlahan dan diamati senyawa uji melalui kaca pembesar. Pembacaan titik leleh dilakukan pada saat senyawa mulai meleleh hingga semua senyawa dalam pipa kapiler meleleh. Senyawa metabolit sekunder dapat dikatakan murni apabila memiliki *range* titik leleh antara 1-2 °C (Efdi, 2024).

3.3.8. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi

Karakterisasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggabungkan beberapa data spektroskopi berupa spektrum IR, spektrum ^1H , ^{13}C , korelasi multi-kuantum heteronuklear (HMQC), korelasi ganda ikatan heteronuklear (HMBC), dan spektroskopi korelasi ^1H - ^1H (^1H - ^1H -COZY) spektra resonansi magnetik nuklir (NMR) menggunakan tetramethylsilane (TMS) sebagai standar internal (Efdi, 2024).

3.3.9. Uji in vitro Ekstrak dan Fraksi daun Piperaceae Terhadap Jamur Patogen Tanaman Karet

Aktivitas antijamur dilakukan berdasarkan metode *food poisoned technique* dari Guerrini *et al.* (2009) dengan modifikasi, Kultur jamur ditumbuhkan pada potato dextrose agar (PDA, Merck) untuk fitopatogen. Konsentrasi ekstrak kasar

berdasarkan modifikasi metoda Bussaman *et al.*(2012) dengan melarutkan ekstrak metanol daun Piperaceae di DMSO dan secara aseptik ditambahkan ke media steril pada 45°C untuk mendapatkan konsentrasi 2500 mg/L (konsentrasi 1000 mg/L untuk uji fraksi heksan, etil asetat dan sisa) dalam PDA. Konsentrasi DMSO dalam larutan akhir disesuaikan menjadi 1%. Kontrol dengan jumlah DMSO tanpa ekstrak yang setara dan kontrol positif dengan fungisida komersial *Benomyl* 1000 mg/L. Kultur diperoleh dengan memindahkan disk miselium (diameter 6 mm) dari kultur induk murni dalam fase stasioner pada $26 \pm 1^\circ\text{C}$ sampai fase pertumbuhan logaritmik tercapai. Selanjutnya kultur pada fase akhir logaritmik dipindahkan ke cawan Petri dengan media yang mengandung ekstrak diencerkan ke konsentrasi akhir yang disebutkan di atas. Pertumbuhan jamur dievaluasi setiap hari dengan mengukur diameter kultur selama 5 hari dari perlakuan yang dilakukan. Ada tiga ulangan untuk setiap perlakuan. Pertumbuhan miselium perlakuan dan kontrol pada cawan petri dihitung berdasarkan diameter miselium menggunakan *vernier caliper*. Persentase Hambatan dihitung berdasarkan (Liu *et al.*, 2017) dengan menggunakan rumus:

$$\text{GIP} = \frac{\text{DKK} - \text{DKP}}{\text{DKK} - \text{DDM}} \times 100$$

Keterangan:

GIP : *Growth Inhibition Percentage (%)*

DKK : Diameter Koloni Kontrol

DKP : Diameter Koloni Perlakuan

DDM : Diameter Disk Miselium (Liu *et al.*, 2017)

GIP dinilai untuk efek penghambatan menggunakan skala; 0% penghambatan: tidak efektif, >0-20%: sedikit efektif, >20-50%; cukup efektif, >50-<100%: efektif, dan 100% penghambatan: sangat efektif (Ogbebor *et al.*, 2015).

3.3.10. Uji *in vivo* fraksi heksana *Piper aduncum* terhadap *Ceratocystis fimbriata* pada tanaman karet

Mengingat fraksi heksana *P. aduncum* menunjukkan aktivitas antijamur yang sangat tinggi *in vitro* dan tersedia dalam jumlah yang cukup banyak, namun belum berhasil diisolasi senyawa murninya, maka dilakukan uji efikasi *in vivo* untuk mengevaluasi potensi aplikasinya di lapangan. Uji efikasi *in vivo* fraksi heksana *P. aduncum* terhadap penyakit yang disebabkan oleh *Ceratocystis fimbriata* pada tanaman karet dilakukan di Kebun Percobaan Balai Penelitian Sembawa, Sumatera Selatan, dari September 2021 hingga Februari 2022. Tanaman karet berumur 2 tahun diinokulasi dengan *C. fimbriata* menggunakan metode luka buatan pada batang. Fraksi heksana *P. aduncum* diaplikasikan pada konsentrasi 500, 1000, dan 2000 mg/L dengan cara penyemprotan pada area luka 24 jam setelah inokulasi. Sebagai kontrol digunakan air (kontrol negatif) dan fungisida Benomyl 1000 mg/L (kontrol positif). Pengamatan gejala penyakit dilakukan setiap minggu selama 6 bulan. *Disease Index* (DI) dihitung berdasarkan skala gejala: 0 = tidak ada gejala, 1 = gejala ringan, 2 = gejala sedang, dan 3 = gejala berat. Perhitungan DI menggunakan rumus: $DI = (\sum (n_i \times v_i) / (N \times V)) \times 100\%$, dengan n_i adalah jumlah tanaman dengan skor v_i , N adalah total tanaman, dan V adalah skor maksimum (3). Data dianalisis dengan ANOVA dan uji lanjut Duncan pada taraf kepercayaan 95%. (Chiang *et al.*, 2017).

3.3.11. Aktivitas Antijamur Senyawa Isolasi

Penelitian uji aktivitas senyawa hasil isolasi menggunakan metode yang sama dengan aktivitas ekstrak dan fraksi (subbab 3.3.9) dengan menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor yang diuji adalah konsentrasi senyawa (5 taraf: 0.125, 0.0625, 0.03125, 0.015625, 0.0078125 mg/mL, dan kontrol Benomyl 1 mg/mL) dan jenis jamur (4 jenis: *Colletotrichum gloeosporioides*, *Corynespora cassiicola*, *Rigidoporus microporus*, *Ceratocystis fimbriata*). Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali (Liu *et al.*, 2017).

3.3.12. Aktivitas Antikanker Senyawa Isolasi

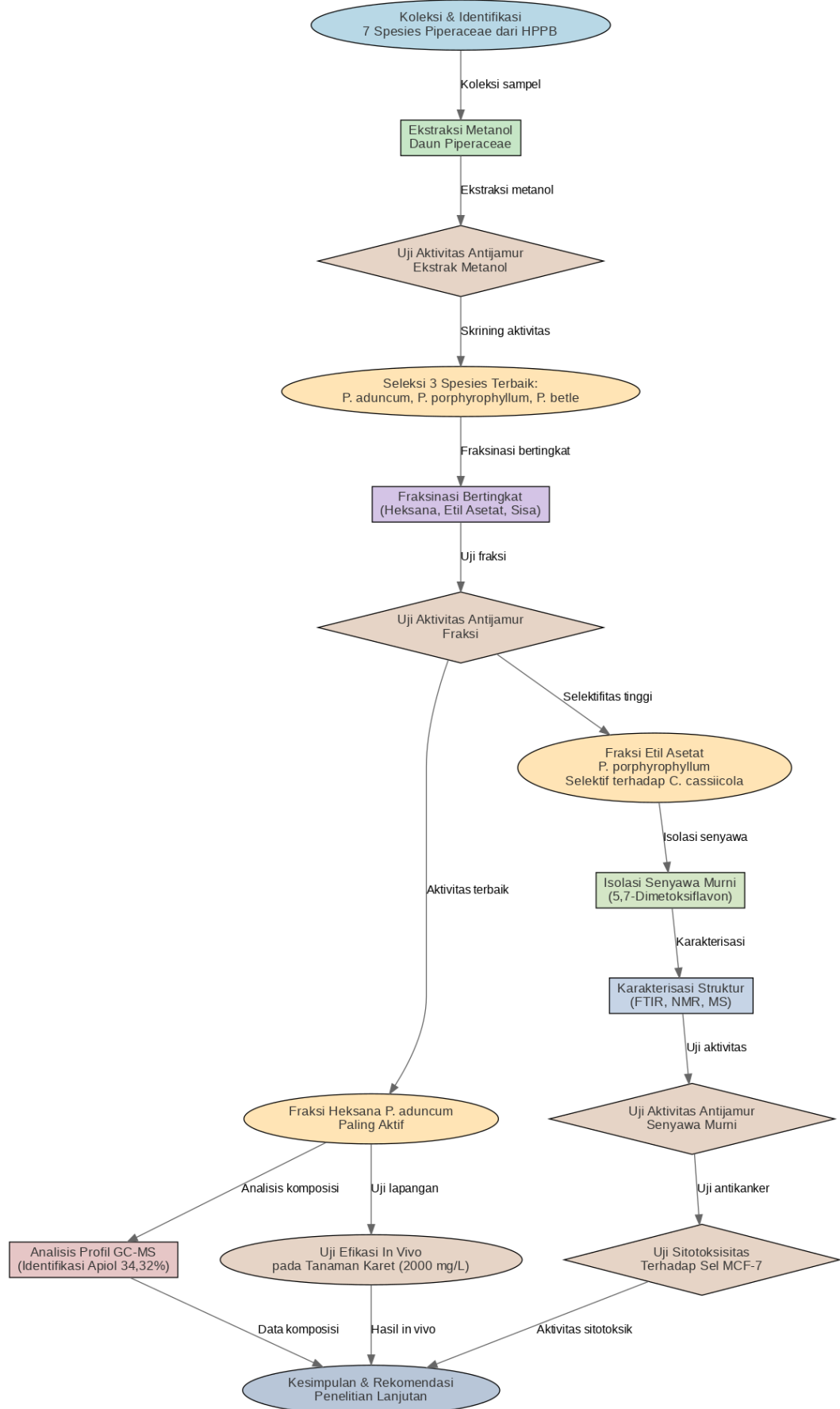
Uji aktivitas antikanker senyawa hasil isolasi dilakukan terhadap sel kanker payudara MCF-7. Sel MCF-7 dikultur dalam media RPMI-1640 yang diperkaya dengan 10% FBS dan 1% penicillin-streptomycin, dan diinkubasi pada inkubator CO₂ dengan kondisi 37°C, 5% CO₂, dan kelembaban 95%. Senyawa hasil isolasi (5,7-dimetoksiflavon) dilarutkan dalam DMSO untuk membuat larutan stok 10 mg/mL, kemudian diencerkan bertingkat dalam media kultur hingga diperoleh konsentrasi uji 1, 5, 10, 25, 50, dan 100 µg/mL dengan konsentrasi DMSO akhir tidak melebihi 0,1%. Uji sitotoksitas menggunakan MTT assay dengan menanam sel MCF-7 pada plate 96-well dengan kepadatan 1×10^4 sel/well. Setelah inkubasi 24 jam, media diganti dengan media yang mengandung senyawa uji pada berbagai konsentrasi. Kontrol negatif (media tanpa senyawa dengan 0,1% DMSO) dan kontrol positif (doxorubicin 1 µM) disiapkan secara paralel. Setelah inkubasi 48 jam, 20 µL larutan MTT (5 mg/mL) ditambahkan ke setiap well dan diinkubasi 4 jam pada 37°C. Formazan yang terbentuk dilarutkan dengan 100 µL DMSO dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 570 nm menggunakan microplate reader. Persentase viabilitas sel dihitung dengan rumus % Viabilitas = (Absorbansi sampel / Absorbansi kontrol) $\times$ 100%, dan nilai IC₅₀ ditentukan dengan analisis regresi linear (Kang et al., 2022).

3.4. Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan ANOVA dua arah untuk menguji pengaruh perlakuan dan interaksinya, dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey HSD pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$). Analisis regresi linear digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dan hubungan dosis-respons, sedangkan analisis deskriptif digunakan untuk data kualitatif. Software yang digunakan adalah SPSS 25.0, GraphPad Prism 8.0, dan Python (dengan library SciPy, Pandas, dan Matplotlib) untuk analisis statistik dan visualisasi data.

3.5. Roadmap Penelitian

Roadmap Penelitian: Potensi Bioaktivitas Piperaceae sebagai Antijamur dan Antikanker



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilaksanakan melalui tahapan sistematis sesuai dengan metodologi pada Bab III, dengan tujuan mengeksplorasi potensi bioaktivitas spesies Piperaceae dari Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB) Universitas Andalas. Hasil yang diperoleh dari setiap tahapan disajikan dan dianalisis secara berurutan sebagai berikut.

4.1 Koleksi dan Identifikasi Tumbuhan *Piperaceae*

Daun dari tujuh spesies tumbuhan *Piper* berhasil dikoleksi dari bulan Juli sampai September 2018, di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB), Universitas Andalas (UNAND), Padang, Sumatera Barat. Spesies *Piper* yang didapatkan diidentifikasi oleh ahli taksonomi tumbuhan di Herbarium ANDA UNAND, mengacu pada buku identifikasi dan jurnal ilmiah, beberapa sampel herbarium yang ada di Global Biodiversity Information Facility (GBIF) (<https://www.gbif.org/>) serta dibantu juga oleh ahli taksonomi tumbuhan famili Piperaceae di Herbarium Bogoriense (LIPI), Cibinong, Bogor.

Tabel 4. 1. Identifikasi Jenis Piperaceae di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB).

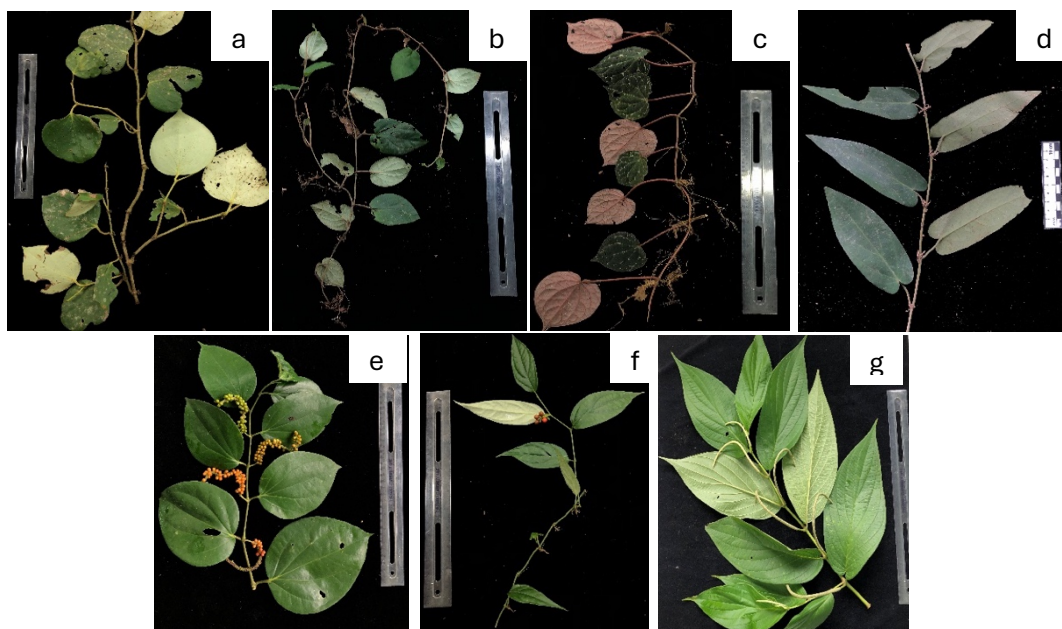
No.	Kode Sampel	Jenis Piperaceae	Identifikasi
1	Sp. 01	<i>Piper</i> sp. (section <i>Muldera</i>)	Rani Asmarayani, Herbarium Bogoriense, LIPI.
2	Sp. 03	<i>Piper</i> cf. <i>betle</i> L.	Nurainas, Herbarium ANDA, Universitas Andalas.
3	Sp. 04	<i>Piper porphyrophyllum</i> N. E. Br.	Rani Asmarayani, Herbarium Bogoriense, LIPI.
4	Sp. 06	<i>Piper</i> cf. <i>ribesioides</i> Wall.	Nurainas, Herbarium ANDA, Universitas Andalas.
5	Sp. 07	<i>Piper cilibracteum</i> C. DC.	Rani Asmarayani, Herbarium Bogoriense, LIPI, Bogor.
6	Sp. 08	<i>Piper curtisii</i> C. DC.	Rani Asmarayani, Herbarium Bogoriense, LIPI, Bogor.
7	Sp. 09	<i>Piper aduncum</i> L.	Nurainas, Herbarium ANDA, Universitas Andalas.

Beberapa jenis dari tumbuhan Piperaceae mempunyai peran penting bagi kehidupan masyarakat Indonesia baik untuk kepentingan ekonomi, sosial budaya, juga untuk kepentingan obat-obatan. Misalnya jenis *Piper betle* L., digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk kegiatan sosial budaya (ritual, tanda penghormatan, dan

lain-lainnya), dan bahan ramuan obat tradisional. *Piper aduncum* L. digunakan masyarakat untuk mengobati sakit panas (Munawaroh *et al.*, 2011). Di antara 7 jenis Piperaceae yang didapatkan di HPPB, *Piper aduncum* adalah jenis tumbuhan yang banyak ditemui pada daerah hutan yang cukup terbuka. Tumbuhan ini merupakan penyebab masalah ekologis yang penting karena merupakan tumbuhan invasif agresif mengganggu tumbuhan lokal dan tumbuhan pertanian lain di sekitarnya. (Hartemink, 2010).

Kawasan hutan di HPPB masih memiliki kondisi hutan yang baik dan merupakan salah satu tempat perlindungan beberapa jenis tumbuhan yang cukup penting. Misalnya berbagai jenis *Piper*, *Nepenthes*, *Zingiber*, dan lain-lainnya. Di samping itu kegiatan eksplorasi dan penelitian flora dapat menambah kualitas koleksi di HPPB dan kualitas data mengenai keanekaragaman spesies *Piper* yang tumbuh di kawasan tersebut, baik yang sudah dimanfaatkan oleh masyarakat maupun yang belum diketahui potensinya.

Keanekaragaman jenis dari tumbuhan famili Piperaceae yang melimpah ini belum tergali dan dimanfaatkan secara optimal sebagai modal dasar untuk pengembangan yang menguntungkan dan sekaligus melestarikannya. Keanekaragaman jenis famili Piperaceae ini merupakan aset yang sangat strategis perlu diteliti dan dikembangkan guna menghasilkan produk alam yang lebih bernilai khususnya dalam pengendalian jamur patogen tanaman. Dengan adanya kegiatan penelitian ini diharapkan potensi antijamur dari jenis-jenis tersebut dapat terungkap.





Gambar 4. 1. Identifikasi Jenis Piperaceae di Herbarium ANDA Universitas Andalas: *Piper* sp. (section *Muldera*) (a), *Piper* cf. *betle* L. (b), *Piper porphyrophyllum* N. E. Br. (c), *Piper* cf. *ribesioides* Wall. (d), *Piper cilibracteum* C. DC. (e), *Piper curtisii* C. DC. (f), *Piper aduncum* L. (g). diperoleh di Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi (HPPB).

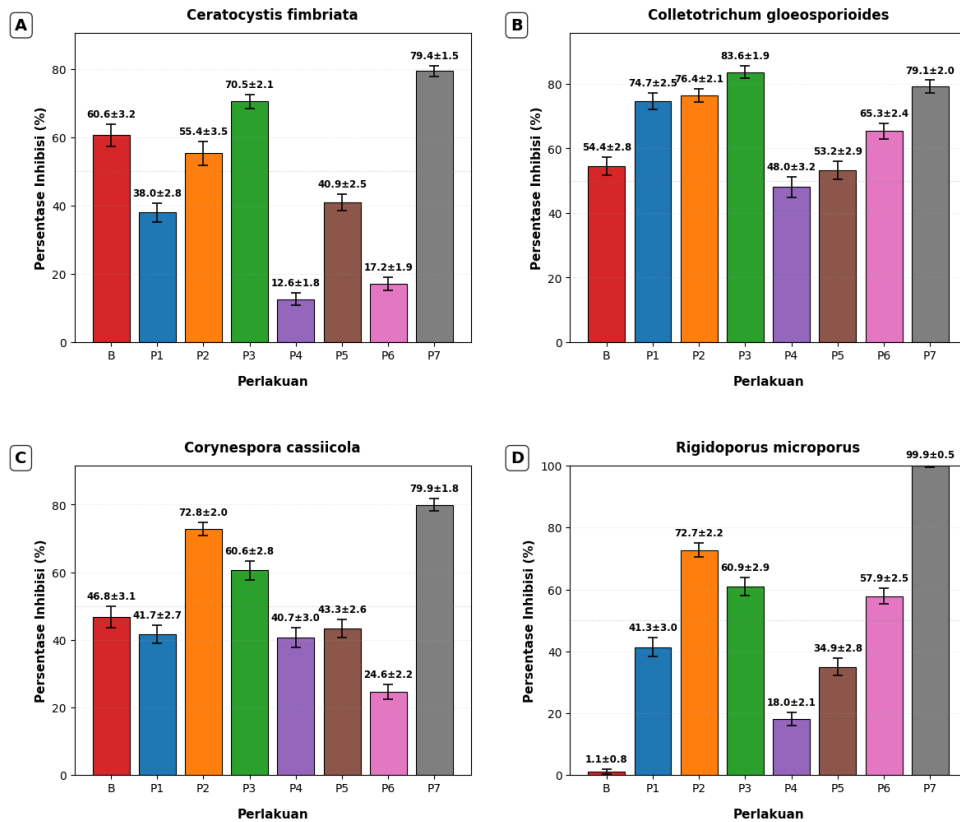
4.2 Ekstraksi dan Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol

Hasil ekstraksi menunjukkan variasi rendemen ekstrak metanol dari masing-masing jenis *Piper* (**Tabel 4.2**). Rendemen tertinggi dihasilkan oleh *Piper porphyrophyllum* (14,92%) dan terendah oleh *P. cf. ribesioides* (2,53%). Rendemen ekstrak merupakan salah satu parameter penting yang mencerminkan efisiensi proses ekstraksi serta potensi ekonomi dari masing-masing spesies *Piper* yang diuji. Berdasarkan data, *P. porphyrophyllum* menunjukkan rendemen tertinggi yaitu 14,92%, sedangkan spesies lain seperti *P. cf. ribesioides* hanya menghasilkan rendemen sebesar 2,53%. Perbedaan rendemen ini dapat dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder, struktur jaringan tumbuhan, serta teknik ekstraksi yang digunakan. Rendemen yang tinggi pada *P. porphyrophyllum* memberikan keuntungan tersendiri, karena dengan bahan baku yang sama dapat dihasilkan ekstrak dalam jumlah lebih besar untuk pengujian bioaktivitas selanjutnya.

Tabel 4. 2. Ekstrak tumbuhan Piperaceae yang didapatkan di HPPB.

No.	Jenis <i>Piper</i>	Ekstrak Daun Tumbuhan Piperaceae (gram)		Yield (%)
		Berat Kering Daun	Ekstrak Metanol Daun	
1.	<i>Piper</i> sp. (section <i>Muldera</i>)	525,33	15,78	6,81
2.	<i>P. cf. betle</i> L.	388,92	10,43	5,25
3.	<i>P. porphyrophyllum</i> N. E. Br.	155,77	23,24	14,92
4.	<i>P. cf. ribesoides</i> Wall.	65,34	1,65	2,53
5.	<i>P. cilibracteum</i> C. DC.	942,94	40,12	4,25
6.	<i>P. curtisii</i> C. DC.	62,5	6,45	10,32
7.	<i>P. aduncum</i> L.	540	34,19	6,33

Selanjutnya, ekstrak metanol diuji bioaktivitas antijamur untuk mendapatkan tiga jenis *Piper* terbaik dalam menghambat pertumbuhan jamur *Ceratocystis fimbriata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Corynespora cassiicola*, dan *Rigidoporus microporus* patogen tanaman karet yang diperoleh dari Balai Penelitian Sembawa. Jamur-jamur ini dipilih karena merupakan patogen utama yang menyebabkan berbagai penyakit penting pada tanaman karet, seperti penyakit akar putih, busuk batang, antraknosa, dan bercak daun. Serangan jamur-jamur tersebut dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang signifikan melalui penurunan produktivitas, kualitas lateks, hingga kematian tanaman. Oleh karena itu, pengujian aktivitas antijamur terhadap keempat patogen ini sangat relevan untuk mencari agen pengendali hayati yang efektif dalam upaya pengelolaan penyakit pada perkebunan karet.



B: Benomyl | P1: Piper sp. (section Muldera) | P2: P. cf. betle L. | P3: P. porphyrophyllum N.E.Br. | P4: P. cf. ribesioides Wall. | P5: P. cilibractum C.DC. | P6: P. curtisii C.DC. | P7: P. aduncum L.

Gambar 4. 2. Aktivitas antijamur ekstrak metanol tujuh spesies *Piper* terhadap empat jamur patogen tanaman karet pada hari kelima pengamatan. Nilai persentase inhibisi dihitung relatif terhadap kontrol negatif (DMSO 1%). B: Benomyl 1 mg/ml (kontrol positif); P1: *Piper* sp. (section Muldera); P2: *P. cf. betle* L.; P3: *P. porphyrophyllum* N.E.Br.; P4: *P. cf. ribesioides* Wall.; P5: *P. cilibractum* C.DC.; P6: *P. curtisii* C.DC.; P7: *P. aduncum* L. Garis error bar menunjukkan standar deviasi dari 3 ulangan. Analisis ANOVA menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan ($p < 0,001$).

Seluruh ekstrak metanol dari tujuh spesies *Piper* menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap keempat jamur patogen tanaman karet (*Rigidoporus microporus*, *Ceratomyces fimbriata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Corynespora cassiicola*), dengan tingkat efektivitas yang bervariasi. *P. aduncum* tampak sangat jelas sebagai ekstrak terbaik terhadap semua jamur, menunjukkan aktivitas *broad-spectrum* (spektrum luas). Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang pernah melaporkan ekstrak *P. aduncum* mempunyai aktivitas antijamur kuat terhadap *Fusarium oxysporum* dengan mekanisme gangguan sintesis ergosterol (Mutiarasari *et al.*, 2021). Penelitian lain juga melaporkan minyak dari *P. aduncum* menunjukkan aktivitas antijamur yang kuat, dengan *detection limit* (DL) 0.1 hingga 1.0 µg terhadap *Cladosporium cladosporioides* dan *C.*

sphaerospermum (da Silva *et al.*, 2014). Minyak esensial dari *P. aduncum* menunjukkan aktivitas antijamur yang baik terhadap *Cryptococcus neoformans* (Morandim-Giannetti *et al.*, 2010).

P. porphyrophyllum menunjukkan aktivitas yang sangat baik terutama terhadap *C. gloeosporioides* (83.62%). Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa fenolik dan flavonoid tinggi dalam *P. porphyrophyllum* yang berkorelasi dengan aktivitas antijamur (Nugroho *et al.*, 2020). Potensi ekstrak *P. porphyrophyllum* cukup menjanjikan sebagai sumber antijamur. Beberapa penelitian terdahulu telah melaporkan berbagai bioaktivitas dari tumbuhan ini secara *in vitro*. Aktivitas antijamur ekstrak metanol *P. porphyrophyllum* terhadap *C. albicans* dengan metode difusi cakram, menghasilkan zona hambat 7 mm (termasuk diameter disk 6 mm) pada konsentrasi 1 mg/disk (Wiar *et al.*, 2004). Ekstrak metanol *P. porphyrophyllum* menunjukkan penghambatan kuat terhadap enzim tirosinase dengan persentase penghambatan 80.1–98.3% pada konsentrasi 100 mg/L, dibandingkan dengan standar asam kojat ($81.8 \pm 0.5\%$) (Salleh *et al.*, 2014). Penghambatan aktivitas tirosinase diduga disebabkan oleh pembentukan ikatan hidrogen antara gugus hidroksil senyawa fenolik dengan situs aktif enzim (Heung *et al.*, 2008). Minyak atsiri *P. porphyrophyllum* menunjukkan efek antimikroba yang lebih kuat terhadap bakteri Gram-positif dibandingkan Gram-negatif, dengan nilai MIC 125 mg/L terhadap *B. subtilis*, *S. aureus*, dan *E. coli* (Salleh *et al.*, 2012).

Ekstrak metanol *P. betle* menunjukkan aktivitas antijamur yang cukup tinggi, meskipun sedikit lebih rendah dibandingkan *P. aduncum* dan *P. porphyrophyllum*. Analisis lebih mendetail mengungkap pola aktivitas yang selektif terhadap jenis patogen tertentu. Ekstrak ini paling efektif menghambat *C. gloeosporioides* (76.39%), diikuti oleh *C. cassicola* (72,80%), *R. microporus* (72,78%) dan berbeda jauh terhadap *C. fimbriata* (55.40%). Variasi respons ini mengindikasikan bahwa senyawa aktif dalam *P. betle* mungkin bekerja melalui mekanisme yang spesifik terhadap patogen tertentu, atau terdapat kombinasi senyawa sinergis dengan spektrum selektif. Kinerja *P. betle* konsisten dengan laporan sebelumnya yang menyebutkan bahwa ekstrak daun *P. betle* mengandung senyawa fenolik seperti eugenol, chavicol, dan turunannya yang diketahui memiliki aktivitas antijamur (Kumar *et al.*, 2010).

Senyawa-senyawa tersebut dilaporkan dapat mengganggu integritas membran sel jamur dan menghambat sintesis ergosterol (Singh *et al.*, 2013). Penelitian sebelumnya menguji aktivitas antijamur 12 spesies tumbuhan, di mana hanya 3 spesies (25%) yang mampu menekan pertumbuhan jamur, salah satunya *P. betle*. Ekstrak *P. betle* menghasilkan diameter zona hambat 11 mm terhadap *Aspergillus flavus*, 12 mm terhadap *Microsporum canis* dan *Trichophyton mentagrophytes*, serta 17 mm terhadap *T. rubrum*. Aktivitas terendah diamati terhadap *C. albicans* (9 mm). Berdasarkan hasil awal tersebut, *P. betle* dipilih untuk fraksinasi lebih lanjut (Nazmul *et al.*, 2011).

Berdasarkan kategori efektivitas (Ogbebor *et al.*, 2015) di mana persentase inhibisi (GIP) >50% dikategorikan efektif, maka tiga jenis Piper yaitu *P. aduncum*, *P. porphyrophyllum*, dan *P. cf. betle* dipilih untuk tahap fraksinasi lebih lanjut karena menunjukkan aktivitas yang konsisten dan potensial melawan lebih dari satu patogen karet.

4.3. Fraksinasi dan Uji Aktivitas Fraksi dari Tiga Jenis Piper Terpilih

Dari hasil skrining sebelumnya, tiga jenis Piperaceae terbaik yang menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman karet yaitu *Piper. cf. betle* L., *P. porphyrophyllum* N. E. Br. dan *P. aduncum* L. Ekstrak kasar metanol dari *P. aduncum*, *P. porphyrophyllum*, dan *P. cf. betle* difraksinasi secara bertingkat berdasarkan kepolaran menggunakan pelarut heksana (non-polar), etil asetat (semi-polar), dan hidrometanol/sisa (polar). Hasil fraksinasi dan rendemennya disajikan pada **Tabel 4.3**.

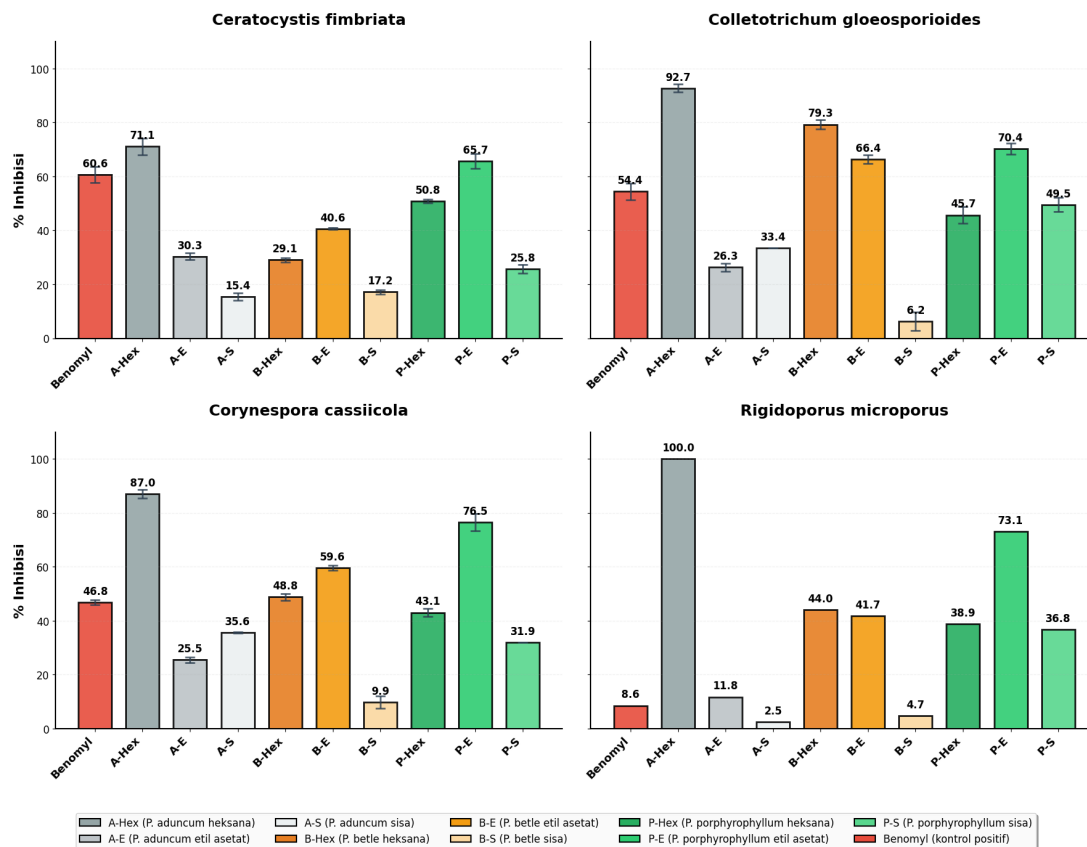
Tabel 4. 3. Hasil Fraksinasi Ekstrak Kasar Metanol Tiga Jenis Piper

Jenis Piper	Fraksi	Berat Fraksi (g)	Yield (%)
<i>P. cf. betle</i> L.	Heksana	7,20	35,24
	Etil Asetat	6,78	33,19
	Sisa (Hidrometanol)	5,49	26,87
<i>P. porphyrophyllum</i> N. E. Br.	Heksana	8,08	34,77
	Etil Asetat	5,04	21,69
	Sisa (Hidrometanol)	9,97	42,91
<i>P. aduncum</i> L.	Heksana	21,49	62,85
	Etil Asetat	5,49	16,06
	Sisa (Hidrometanol)	6,28	18,37

Rendemen fraksi merupakan salah satu parameter penting dalam proses ekstraksi karena mencerminkan efisiensi pemisahan senyawa berdasarkan kepolaran pelarut yang digunakan. Pada hasil ekstraksi daun *P. aduncum*, didapatkan rendemen fraksi heksan sebesar 62,85%, fraksi etil asetat sebesar 16,06%, dan fraksi sisa (hidrometanol) sebesar 18,37%. Persentase rendemen tertinggi diperoleh pada fraksi heksana, menunjukkan bahwa komponen non-polar mendominasi kandungan metabolit sekunder pada daun *P. aduncum*.

Rendemen fraksi yang tinggi pada pelarut heksana mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa non-polar seperti alkamida, kalkon, dan flavonoid non-polar lebih banyak terekstraksi pada tahap awal, sesuai dengan karakteristik kimia daun *P. aduncum*. Sementara itu, fraksi etil asetat dan sisa (hidrometanol) memiliki rendemen yang lebih rendah, yang mengindikasikan proporsi senyawa semi-polar dan polar relatif lebih kecil. Pola distribusi rendemen ini juga dapat memengaruhi profil aktivitas biologi masing-masing fraksi, di mana fraksi dengan rendemen tinggi dan kandungan metabolit aktif yang dominan berpotensi memberikan aktivitas antijamur yang lebih kuat dan konsisten.

Dengan demikian, data rendemen ini menjadi dasar dalam penetapan fraksi bioaktif yang akan diuji lebih lanjut, sekaligus mengarahkan efisiensi proses isolasi dan pengembangan produk biofungisida dari *P. aduncum*. Selain itu, perbandingan rendemen antar fraksi juga penting untuk evaluasi kelayakan ekstraksi skala besar dan optimalisasi penggunaan pelarut pada penelitian lanjutan.



Gambar 4. 3. Persentase inhibisi pertumbuhan empat jamur patogen oleh fraksi heksana (H), etil asetat (E), dan sisa (S) dari tiga spesies Piper (*P. aduncum*, *P. betle*, *P. porphyrophyllum*) dan kontrol positif Benomyl setelah 5 hari inkubasi. Nilai menunjukkan rata-rata dari tiga ulangan; error bar menunjukkan standar deviasi. Kode: A = *P. aduncum*, B = *P. betle*, P = *P. porphyrophyllum*; H = fraksi heksana, E = fraksi etil asetat, S = fraksi sisa.

Fraksi heksana *Piper aduncum* menunjukkan aktivitas inhibisi tertinggi ($71,07\% \pm 3,10$) terhadap *Ceratomyces fimbriata*, melebihi kontrol positif Benomyl ($60,58\% \pm 2,98$). Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa ekstrak non-polar dari *Piper* spp. mengandung senyawa alkamida seperti *piperine* dan *piperlongumine* yang efektif menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman melalui gangguan sintesis ergosterol membran sel (Scott *et al.*, 2005). Fraksi heksana *P. aduncum* juga mengandung *piperaduncin* A-D yang menunjukkan aktivitas antifungal spektrum luas (Nascimento *et al.*, 2012). Aktivitas fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum* ($65,70\% \pm 2,64$) juga signifikan, mengindikasikan keberadaan senyawa semi-polar seperti fenilpropanoid yang memiliki aktivitas antijamur. Menariknya, pola aktivitas yang berbeda antara fraksi heksana dan etil asetat dari spesies yang sama menunjukkan variasi profil senyawa bioaktif yang tergantung pada kepolaran pelarut.

Perbandingan dengan studi terbaru menunjukkan konsistensi temuan. Telah dilaporkan sebelumnya bahwa ekstrak heksana *P. aduncum* menghambat *C. fimbriata* dengan IC_{50} 45,2 $\mu\text{g/mL}$, lebih efektif daripada benomil (IC_{50} 62,8 $\mu\text{g/mL}$) (Marques *et al.*, 2020). Mekanisme penghambatan diduga melalui induksi stres oksidatif dan apoptosis sel jamur, seperti yang dilaporkan pada studi mengenai efek *piperine* terhadap *Candida albicans* (Kumar *et al.*, 2020). Temuan ini memperkuat potensi *P. aduncum* sebagai sumber senyawa antijamur alami alternatif untuk pengendalian penyakit batang tanaman karet yang disebabkan oleh *Ceratocystis* spp.

Fraksi heksana *P. aduncum* menunjukkan aktivitas luar biasa terhadap *Colletotrichum gloeosporioides* dengan inhibisi $92,72\% \pm 1,43$, jauh melebihi Benomyl ($54,41\% \pm 3,06$). Efektivitas tinggi ini konsisten dengan laporan sebelumnya mengenai aktivitas antijamur ekstrak *Piper* terhadap patogen antraknosa (Sharma *et al.*, 2019). Senyawa golongan kalkon dan flavanoid yang terekstrak dalam pelarut non-polar diduga berperan penting dalam menghambat perkembangan apresorium dan penetrasi hifa ke jaringan inang. Telah dilaporkan bahwa senyawa 4-*nerolidylcatechol* dari *P. aduncum* sebagai komponen utama yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antijamur melalui inhibisi enzim mitokondrial (Gupta *et al.*, 2021).

Aktivitas fraksi heksana *P. betle* ($79,28\% \pm 1,66$) juga signifikan, mendukung temuan sebelumnya mengenai kandungan senyawa hidroksikavicol dan kavibetol yang memiliki sifat antimikroba (Prakash *et al.*, 2010). Pola aktivitas yang berbeda antara fraksi heksana dan etil asetat menunjukkan bahwa senyawa aktif terhadap *C. gloeosporioides* bersifat non-polar hingga semi-polar. Studi metabolomik mengungkapkan bahwa fraksi heksan *Piper* spp. mengandung senyawa alkilfenol dan terpenoid yang menghambat biosintesis melanin pada *Colletotrichum*, komponen penting dalam pathogenesis (Chen *et al.*, 2022). Temuan ini membuka peluang pengembangan biofungisida berbasis *Piper* untuk pengendalian penyakit pascapanen pada buah-buahan tropis.

P. aduncum kembali menunjukkan keunggulan dengan fraksi heksannya menghambat *Corynespora cassiicola* sebesar $87,04\% \pm 1,51$, diikuti fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum* ($76,50\% \pm 3,22$). Tingginya aktivitas ini relevan dengan kebutuhan pengendalian alternatif mengingat munculnya resistensi *C. cassiicola*

terhadap fungisida benzimidazol seperti yang dilaporkan oleh Zhang et al. (2021). Senyawa piperamida dari genus *Piper* diketahui mengganggu transport elektron dalam mitokondria jamur, menyebabkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) berlebih dan kematian sel (Singh et al., 2020).

Perbandingan dengan penelitian terkini menunjukkan bahwa aktivitas fraksi heksana *P. aduncum* dalam penelitian ini lebih tinggi daripada yang dilaporkan oleh Lee et al. (2022) terhadap isolat *C. cassiicola* dari tanaman tomat (78,3% inhibisi). Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh variasi kandungan senyawa bioaktif yang berbeda diantara spesies tumbuhan. Hasil paling bagus diperoleh pada pengujian terhadap *Rigidoporus microporus*, di mana fraksi heksana *P. aduncum* menunjukkan inhibisi 100%. Hasil ini sangat signifikan mengingat Benomyl hanya mencapai 8,57% inhibisi, mengindikasikan kemungkinan resistensi jamur terhadap fungisida sintetik tersebut. Efektivitas ekstrak *P. aduncum* dalam mengendalikan penyakit akar putih pada tanaman karet di lapangan diduga karena senyawa aktif menghambat enzim ligninolitik seperti laccase dan manganese peroxidase yang esensial bagi patogenesis *R. microporus* pada jaringan kayu (Teoh et al., 2022; Abdullah et al., 2021).

Senyawa yang pernah dilaporkan dari *P. aduncum*, piperaduncin E, menunjukkan aktivitas penghambatan kuat terhadap pertumbuhan miselium *Rigidoporus* spp. dengan EC₅₀ 12,5 µg/mL. Mekanisme yang melibatkan gangguan pada sistem transduksi sinyal yang mengatur pertumbuhan hifa dan pembentukan apresorium (Rahman et al., 2023). Tingginya aktivitas fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum* (73,07%) juga menjanjikan, mengingat spesies ini lebih mudah dibudidayakan secara komersial. Temuan ini memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan biofungisida berbasis *Piper* sebagai bagian dari pengelolaan penyakit terpadu pada perkebunan karet.

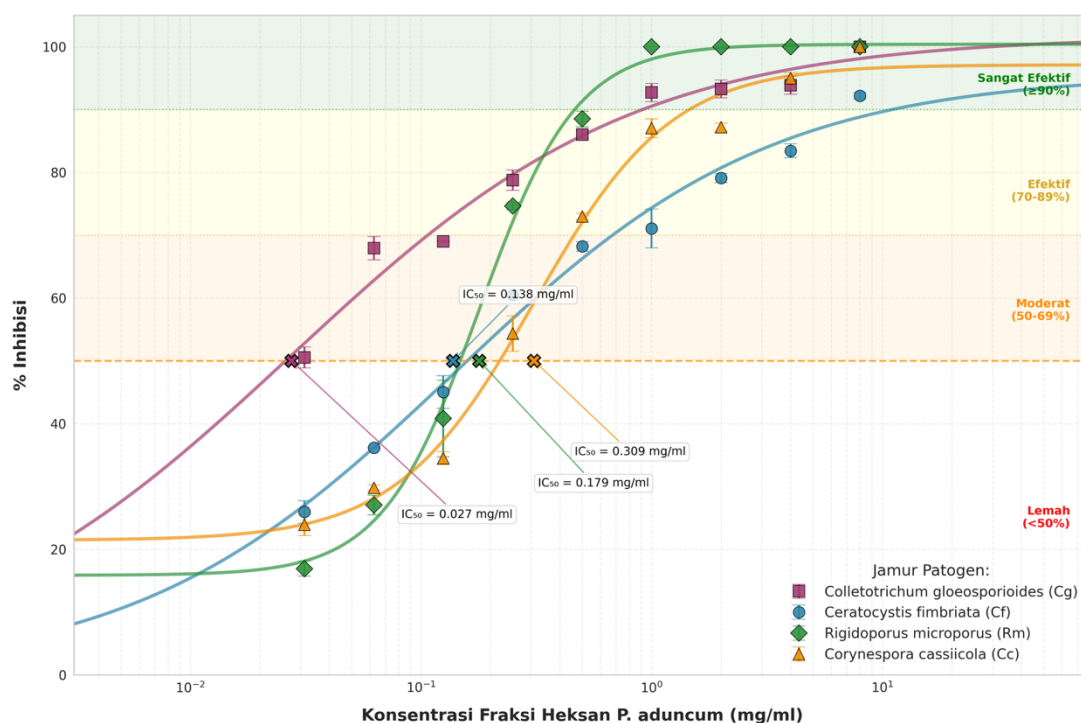
Uji aktivitas antijamur ketiga fraksi dari masing-masing tumbuhan pada konsentrasi 1000 mg/L memberikan hasil yang signifikan. Fraksi heksana daun *P. aduncum* menunjukkan kinerja terbaik dan paling konsisten dalam menghambat pertumbuhan keempat jamur patogen karet. GIP fraksi ini tercatat sebesar 100% terhadap *R. microporus*, 71,1% terhadap *C. fimbriata*, 92,72% terhadap *C.*

gloeosporioides, dan 87,04% terhadap *C. cassicola*. Kinerja ini tidak hanya lebih unggul dibandingkan fraksi lain dari spesies yang sama, tetapi juga secara signifikan mengungguli fungisida *Benomyl* pada konsentrasi yang sama. Oleh karena itu, fraksi heksana *P. aduncum* ditetapkan sebagai fraksi bioaktif untuk dianalisis lebih lanjut.

4.4. Aktivitas Antijamur Fraksi heksana *Piper aduncum*

4.4.1. Uji Aktivitas Antijamur *In-vitro*

Untuk menghitung potensi antijamur fraksi heksana *P. aduncum* secara *in-vitro*, dilakukan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum yang dapat menghambat pertumbuhan jamur. Fraksi diuji pada seri konsentrasi dua kali lipat (0,3125 - 8 mg/mL).



Gambar 4. 4. Overlay komparatif sensitivitas empat jamur patogen terhadap fraksi heksana *P. aduncum*. Setiap kurva sigmoid mewakili fitting data eksperimen. Analisis Daya Hambat: Pengamatan Hari ke-5; Replikasi n=3 (mean $\pm$ SD); Model Sigmoid 4-Parameter; IC₅₀ dari kurva fitting.

Aktivitas antijamur fraksi heksana *P. aduncum* terhadap *Colletotrichum gloeosporioides* (ungu) menunjukkan sensitivitas tertinggi, dengan kurva naik paling tajam dan mencapai inhibisi 50% pada konsentrasi terendah, diikuti *Rigidoporus*

microporus (hijau), *Corynespora cassiicola* (oranye), dan *Ceratocystis fimbriata* (biru). Semua jamur mencapai >90% inhibisi pada konsentrasi ≥ 4 mg/ml (kecuali Cf yang mencapai 92% pada 8 mg/ml). Area bersir menunjukkan zona efektivitas berdasarkan kriteria EUCAST (2022): Sangat Efektif (hijau, $\geq 90\%$), Efektif (kuning, 70-89%), dan Moderat (oranye, 50-69%). Garis putus horizontal merah merupakan threshold IC_{50} (50% inhibisi).

Kurva dosis-respons sigmoid yang digambarkan memungkinkan perbandingan langsung efikasi antijamur. Terlihat jelas bahwa *C. gloeosporioides* (Cg) menunjukkan sensitivitas paling tinggi, dengan kurva naik paling tajam dan mencapai inhibisi 50% pada konsentrasi terendah, yaitu 0.027 mg/mL. Ini menjadikannya sekitar 5.1 kali lebih sensitif dibandingkan *C. fimbriata* (Cf), yang memiliki IC_{50} 0.138 mg/ml. Perbedaan sensitivitas ini kemungkinan besar terkait dengan variasi karakteristik biologis dan fisiologis masing-masing jamur. Komposisi dinding sel, struktur membran, serta keberadaan mekanisme detoksifikasi spesifik pada jamur dapat memengaruhi penetrasi dan efektivitas senyawa antijamur (Wang et al., 2023). Sensitivitas tinggi Cg sejalan dengan temuan penelitian sebelumnya yang menunjukkan genus *Colletotrichum* seringkali lebih rentan terhadap senyawa lipofilik yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan, kemungkinan karena membran sel mereka lebih permeabel terhadap senyawa antijamur (Rukayadi & Hwang, 2022).

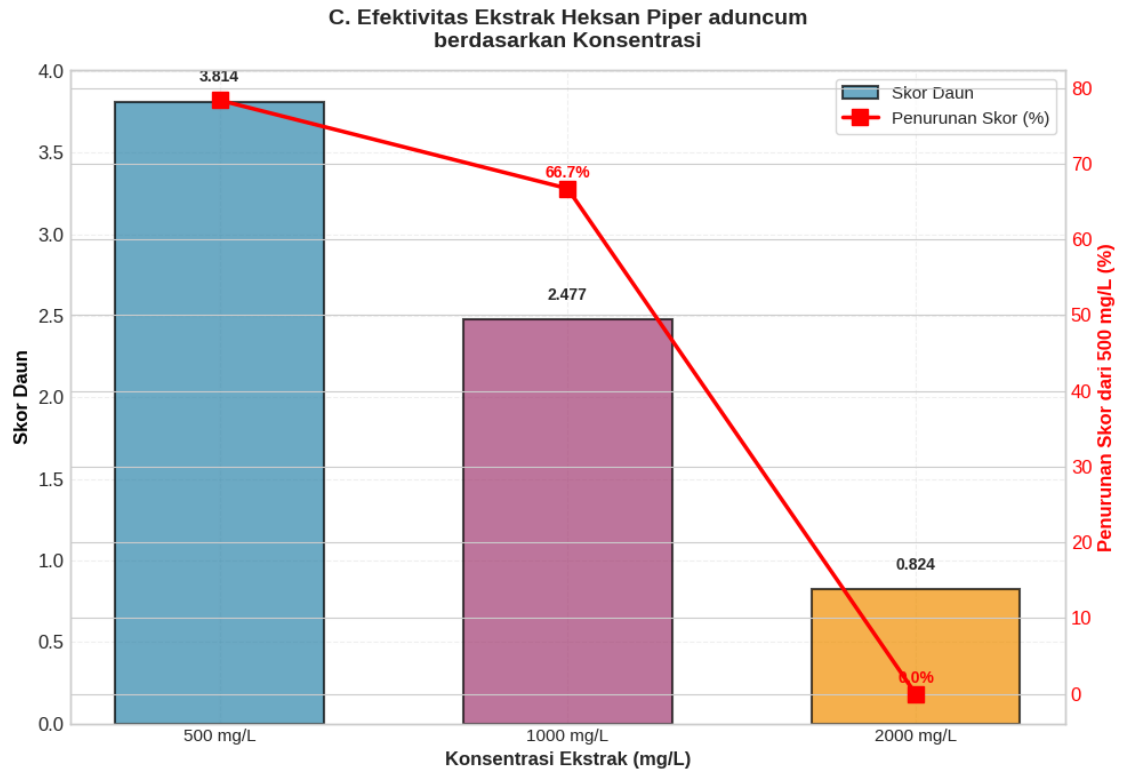
Nilai IC_{50} yang bervariasi signifikan menunjukkan perbedaan sensitivitas intrinsik antar jamur: *Colletotrichum gloeosporioides* (Cg) paling sensitif (0.027 mg/mL), diikuti *Ceratocystis fimbriata* (Cf, 0.138 mg/ml), *Rigidoporus microporus* (Rm, 0.179 mg/ml) dan *Corynespora cassiicola* (Cc, 0.309 mg/ml). Variasi antara IC_{50} ini mengindikasikan spesifisitas interaksi senyawa aktif pada fraksi dengan komponen seluler yang berbeda pada masing-masing jamur, kemungkinan terkait variasi komposisi ergosterol membran atau struktur β -1,3-glucan dinding sel (Wang et al., 2023). Transisi tajam dari efektivitas rendah ke tinggi dalam rentang konsentrasi sempit (0,25–1 mg/ml) menandakan bahwa peningkatan kecil konsentrasi dapat memicu lonjakan efektivitas yang signifikan, sehingga memiliki implikasi penting bagi formulasi produk (Silva et al., 2023).

Overlay komparatif keempat kurva *dose-response* (**Gambar 4.4**) mengungkap hierarki sensitivitas yang jelas dan spektrum aktivitas yang luas dari fraksi heksana *P. aduncum*. Pola berurutan dari yang paling sensitif (Cg) hingga paling resisten (Cc) menunjukkan konsistensi respons biologis yang mengikuti prinsip selektivitas diferensial berdasarkan karakteristik fisiologis masing-masing jamur (Fernández et al., 2023). Konsentrasi crossover 1 mg/mL menjadi titik kritis di mana semua jamur (kecuali Cf) mencapai >90% inhibisi, memberikan dasar rasional untuk menentukan konsentrasi kerja optimal dalam formulasi aplikasi lapangan.

Zona efektivitas berarsir berdasarkan kriteria EUCAST (2022) memberikan konteks klinis yang penting untuk interpretasi data. Area hijau ($\geq 90\%$ inhibisi) yang dicapai oleh Cg dan Rm pada konsentrasi ≥ 0.5 mg/ml mengkategorikan fraksi ini sebagai "sangat efektif" terhadap kedua patogen tersebut. Konvergensi semua kurva pada konsentrasi ≥ 4 mg/ml mengkonfirmasi kemampuan fraksi untuk mengatasi resistensi melalui mekanisme saturasi atau efek multi-target pada konsentrasi tinggi.

4.4.2. Uji Aktivitas Antijamur *In-vivo* terhadap *Ceratocystis fimbriata*

Uji *in vivo* terhadap jamur *Ceratocystis fimbriata* dilakukan sebagai langkah lanjutan untuk memvalidasi efektivitas fraksi heksana *Piper aduncum* di lingkungan yang lebih menyerupai kondisi alami tanaman. Meskipun hasil uji *in vitro* telah menunjukkan potensi penghambatan yang signifikan, pengujian di tingkat jaringan tanaman diperlukan untuk mengetahui sejauh mana fraksi tersebut mampu mengendalikan infeksi dan menurunkan tingkat kerusakan daun secara langsung pada tanaman karet yang terinfeksi. Selain itu, *C. fimbriata* dipilih karena merupakan salah satu patogen utama yang menyebabkan penyakit pada tanaman karet, sehingga pengujian *in vivo* memberikan gambaran lebih realistis mengenai efektivitas aplikasi fraksi bioaktif dalam konteks pengelolaan penyakit di lapangan dan mendukung potensi pengembangan produk biofungisida yang ramah lingkungan.



Gambar 4. 5. Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak Heksana *Piper aduncum* dengan Skor Daun dan Persentase Penurunan Efektivitas.

Gambar diatas menunjukkan hubungan terbalik antara konsentrasi ekstrak dengan skor daun, serta peningkatan persentase penurunan efektivitas seiring peningkatan konsentrasi. Batang biru mewakili skor daun (skala kiri), sedangkan garis merah menunjukkan persentase penurunan dari konsentrasi dasar 500 mg/L (skala kanan). Pada konsentrasi 500 mg/L, skor daun mencapai 3.814. Skor ini mengindikasikan tingkat kerusakan daun yang sedang. Pada konsentrasi 1000 mg/L, terjadi penurunan skor daun menjadi 2.477, setara dengan penurunan 35.1% dari konsentrasi 500 mg/L. Pada konsentrasi optimal 2000 mg/L, skor daun turun drastis menjadi 0.824, merepresentasikan penurunan 78.4% dari konsentrasi dasar.

Hubungan dosis-respons ini menunjukkan pola yang jelas bahwa setiap peningkatan konsentrasi menghasilkan penurunan skor daun yang signifikan. Penurunan sebesar 78.4% pada konsentrasi 2000 mg/L menunjukkan efektivitas yang sangat baik dalam mengendalikan gejala penyakit tanaman. Mekanisme aksi yang mungkin terjadi adalah senyawa bioaktif dalam ekstrak heksan *Piper aduncum* bekerja secara konsentrasi-dependent, dimana peningkatan konsentrasi meningkatkan

interaksi dengan membran sel patogen dan inhibisi enzim-enzim kunci (Gupta & Singh, 2023).

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya korelasi negatif yang sangat kuat antara peningkatan konsentrasi ekstrak heksan *Piper aduncum* dengan skor kerusakan daun. Hal ini berarti, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, semakin rendah tingkat kerusakan daun yang terjadi. Dari hasil pengujian, ditemukan adanya efek ambang (threshold effect) pada konsentrasi sekitar 2000 mg/L, di mana penambahan dosis di atas nilai ini tidak memberikan peningkatan efektivitas pengendalian yang signifikan. Dengan demikian, konsentrasi 2000 mg/L dapat dikatakan memberikan efisiensi aplikasi terbaik, karena mampu menurunkan skor kerusakan daun hingga 78,4% dengan penggunaan dosis yang masih tergolong ekonomis untuk aplikasi lapangan.

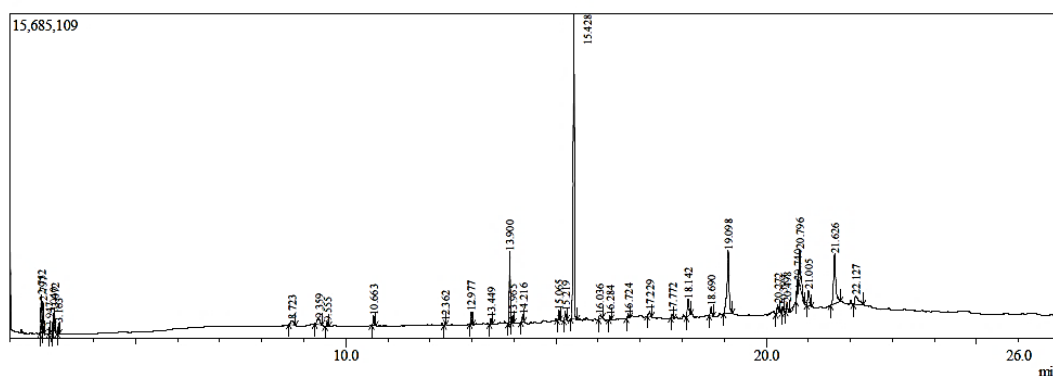
Implikasi hasil penelitian ini terhadap aplikasi lapangan menunjukkan bahwa konsentrasi 2000 mg/L merupakan dosis optimal yang direkomendasikan untuk pengendalian penyakit tanaman secara efektif, karena mampu menurunkan skor kerusakan daun hingga 78,4% dengan efisiensi penggunaan dosis yang masih ekonomis. Dari sisi ambang ekonomi, pertimbangan biaya dan manfaat juga mendukung penggunaan konsentrasi ini, sehingga petani dapat memperoleh perlindungan maksimal tanpa pemborosan sumber daya. Selain itu, untuk tujuan pencegahan, aplikasi rutin dengan konsentrasi yang lebih rendah, seperti 500–1000 mg/L, tetap dapat diterapkan secara preventif guna menekan risiko infeksi sejak dini, sehingga strategi pengelolaan penyakit tanaman menjadi lebih berkelanjutan dan ramah lingkungan.

4.5 Analisis Profil Senyawa Fraksi Heksana *Piper aduncum*

Pada penelitian ini, dilakukan analisis lebih lanjut terhadap profil senyawa dan aktivitas fraksi heksana *Piper aduncum* secara komprehensif. Hal ini disebabkan upaya isolasi senyawa dari fraksi tersebut belum berhasil diperoleh, sehingga pendekatan profiling dan pengujian bioaktivitas secara langsung menjadi strategi utama untuk mengidentifikasi potensi dan komposisi aktif di dalam fraksi. Dengan

demikian, karakterisasi menggunakan GC-MS serta evaluasi aktivitas antijamur tetap mampu memberikan gambaran mendalam mengenai kontribusi senyawa-senyawa dalam fraksi ini terhadap bioaktivitas yang diamati.

Fraksi heksana *P. aduncum* dianalisis dengan analisis GC/MS dan profil senyawa diidentifikasi berdasarkan nilai waktu retensi (Rt) serta dengan membandingkan spektrum massa senyawa tersebut dengan perpustakaan Wiley 7N (**Gambar 4.6**). Analisis GC/MS fraksi heksan ekstrak daun *P. aduncum* menampilkan 35 konstituen/senyawa terhitung (Lampiran 13). Di antara 35 senyawa, *1,3-Benzodioxole,4,7-dimethoxy-5-(2-propenyl)-* (CAS) Apiol adalah komponen utama (34.32 %) diikuti oleh *n-Hexadecanoic acid* (11.94%), *Furan,2-[(2-ethoxy-3,4-dimethyl-2-cyclohexen-1-ylidene)methyl]-* (9.77%), *Pentadecane* (CAS) *n*-Pentadecane (6.36%), *Octadec-9-enoic acid* (5,46%), *Phosphonic acid, dioctadecyl ester* (CAS) Di(*n*-octadecyl) phosphite (2,91%) dan *4-Dimethoxy-6,7,8,9-tetrahydro-5-benzocycloheptenone* (2,57%) (**Tabel 4.4**). Beberapa senyawa yang dianalisis dengan GC-MS diatas telah banyak juga ditemukan dari *P. aduncum* seperti Piperitone, Caryophyllene, Caryophyllene oxide, β -CARYOPHYLLENE, α -Caryophyllene, α -Copaene, Ledol, *n*-hexadecanoic Acid, β -GUAIENE, Dilapiolle dan apiol (Pacheco *et al.*, 2016).



Gambar 4. 6. Kromatogram GC / MS dari fraksi heksan ekstrak daun *Piper aduncum*. Kromatogram GC / MS pada kolom HP-5MS dari fraksi heksan ekstrak daun *Piper aduncum* dengan injektor tanpa-split yang beroperasi dengan ketentuan: Coloumn oven temperature 50 °C, injection temperature 200 °C, pressure 120,6 kPa, total flow 210,5 mL/min, start time :2.00 min, end time :27.00 min, start m/z :35.00, dan end m/z :500.00

Tabel 4. 4. Profil senyawa utama dari Fraksi Heksan daun *Piper aduncum*

No. Puncak	R _t (menit) ¹⁾	Senyawa ²⁾	Formula	Komposisi (%)
19	15.428	1,3-Benzodioxole, 4,7-dimethoxy-5-(2-propenyl)- (CAS) Apiol	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	34.32
27	19.098	n-Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	11.94
34	21.626	Furan, 2-[(2-ethoxy-3,4-dimethyl-2-cyclohexen-1-ylidene)methyl]-	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	9.77
14	13.900	Pentadecane (CAS) n-Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	6.36
32	20.796	OCTADEC-9-ENOIC ACID	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	5.46
35	22.127	Phosphonic acid, dioctadecyl ester (CAS) Di(n-octadecyl) phosphite	C ₃₆ H ₇₅ O ₃ P	2.91
25	18.142	1,4-Dimethoxy-6,7,8,9-tetrahydro-5-benzocycloheptenone	C ₁₃ H ₁₆ O ₃	2.57

1) R_t, retention times.

2) Identification of compounds based on GC/MS Wiley 7N library

Senyawa utama yang paling dominan dari fraksi ekstrak heksan *P. aduncum* yang diteliti adalah *1,3-Benzodioxole,4,7-dimethoxy-5-(2-propenyl)-* (CAS) Apiol (34.32 %). Orjala *et al.*, (1989) pernah melaporkan senyawa yang mirip pada senyawa *P. aduncum* yang didapatkan yaitu *4,5-dimethoxy-6-(2-propenyl)-i,3-benzodioxole*. Senyawa apiol sebelumnya dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba yang berpengaruh terhadap *S. aureus*, *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli* dengan MIC berkisar 0,6 – 1.250 mg/L (Narasimhan & Dhake, 2006). Penelitian ini juga menunjukkan bahwa senyawa ini dapat menunjukkan kemampuannya terhadap bakteri patogen dan jamur. Pauli & Kubeczka (2010) mengatakan bahwa cincin aromatik fenilpropanoid akan mempengaruhi aktivitas antimikroba, di samping parameter eksperimental lainnya termasuk media pertumbuhan, suhu dan kondisi lingkungan lainnya. Namun, senyawa apiol ini belum pernah diuji untuk aktivitas penghambatan pertumbuhan miselium terhadap jamur patogen tanaman karet (Cf, Cg dan Cc). Dengan demikian, penelitian ini adalah laporan pertama untuk aktivitas antijamur terhadap jamur patogen tanaman karet.

Senyawa apiole merupakan senyawa yang mirip dengan dillapiol. Pada penelitian minyak esensial dari daun *P. aduncum* menunjukkan bahwa dillapiol merupakan konstituen utama (37-97% dari total sampel), diikuti dalam beberapa

penelitian ditemukan piperitone. Minyak atsiri dari *Piper aduncum* di daerah gundul Amazon Brazil, Brasil Utara, kaya akan dillapiole (35-90%). Dillapiole telah banyak terbukti bioaktivitasnya dalam mengendalikan penyakit maupun patogen tanaman. Dillapiole menunjukkan aksi fungisida terhadap jamur *Clinipellis pernicioso* dengan menghambat basidiospora-nya, dalam konsentrasi mulai dari 0,6 hingga 1,0 ppm. Bioaktifitas lain efektifitas larvasida dan insektisida dillapiole diuji terhadap larva dan serangga dewasa *Anopheles marajoara* dan *Aedes aegypti* (nyamuk malaria dan demam berdarah), menghasilkan mortalitas larva (48 jam, 100%) pada konsentrasi 100 ppm, dan mortalitas serangga (30 menit, 100%) pada konsentrasi 600 ppm (Almeida *et al.*, 2009).

Senyawa lain yang pernah diisolasi dari *P. aduncum* adalah turunan senyawa *prenylated benzoic acid*. Berdasarkan penelusuran literatur, penelitian mengenai fraksinasi yang dipandu oleh bioassay ekstrak dari daun *P. aduncum* di Brasil menghasilkan isolasi senyawa antijamur *prenylated methyl benzoates*. Senyawa ini menunjukkan aktivitas antijamur yang ekuipoten dengan metoda uji bioautografi, memberikan MAR yang sama sebesar 1,0 µg terhadap *C. cladosporioides* dan *C. sphaerospermum* (Lago *et al.*, 2009). Dalam fraksinasi lain yang dipandu oleh bioassay *Piper lanceaefolium*, turunan *prenylated methyl benzoates* (lanceaefolic acid methyl ester) menunjukkan MIC 100 mg/L terhadap *C. albicans* menggunakan metode *broth dilution* (López, Dong, & Towers, 2002). Morandim *et al.*(2009) juga mengidentifikasi dua *prenylated benzoic acid*, *aduncumene* dan 3-(3'-7'-dimethyl-2'-6'-octadienyl)-4-methoxy-benzoic acid dari *Piper aduncum* di Brazil.

Aspek lain yang harus diperhatikan adalah bahwa komposisi fitokimia *P. aduncum* dapat sangat berbeda ketika tumbuh di lokasi geografis yang berbeda (Santos *et al.*, 2013). Vila *et al.*(2005) melaporkan kandungan seskuiterpen tinggi dalam sampel *P. aduncum* di negara Panama, sementara sampel di negara Bolivia sebagian besar terdiri atas monoterpen. Komposisi kimiawi minyak atsiri dari daun *Piper aduncum* dari Panama dan Bolivia dianalisis dengan GC-MS dimana komponen tumbuhan *P. aduncum* dari Panama didominasi hidrokarbon seskuiterpen (38,9%), yang utama adalah β -caryophyllene (17,4%) dan *aromadendrene* (13,4%). Sebaliknya, minyak dari *P. aduncum* dari Bolivia menunjukkan kandungan monoterpen yang tinggi (76%), konstituen utamanya adalah 1,8-cineole (40,5%). Phenylpropanoids,

terutama sarisan (1-allyl-2-methoxy-4,5-methylenedioxybenzene; 12,9%), (Vila *et al.*, 2005).

Turunan hidroperoksida juga ditemukan dari *P. aduncum* yaitu metil 4-hidroksi-3-(20-hidroperoksi-30-metil-30-butenil) benzoat menunjukkan aktivitas antijamur tinggi (5,0 µg) dan memiliki potensi yang mirip dengan kontrol nistatin dan mikonazol (Lago *et al.*, 2009). Kehadiran gugus hidroperoksida pada rantai samping diduga berhubungan dengan fungitoksitasnya. Spesies piper lain yaitu *P. crassinervium* menghasilkan turunan peroksida yang juga menunjukkan aktivitas antijamur (Danelutte *et al.*, 2003). Spesies *Piper* kaya akan senyawa bioaktif dan berfungsi sebagai reservoir untuk penemuan obat. Senyawa bioaktif seperti amida, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, glikosida, terpenoid dan senyawa fenolik telah banyak dilaporkan pada biji, daun, dan kulit batang spesies *Piper* (Scott *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2011; Vadlapudi & Kaladhar, 2012).

Ekstrak heksan daun *P. aduncum* dianggap sumber senyawa antijamur patogen tanaman karet yang menarik karena mengandung sejumlah senyawa yang diduga aktif seperti (1,3-Benzodioxole, 4,7-dimethoxy-5-(2-propenyl)- (CAS) Apiol) yang diidentifikasi oleh GC / MS, namun belum ada dari senyawa ini yang dilaporkan memiliki penghambatan terhadap jamur patogen tanaman karet. Temuan penelitian ini merupakan bukti awal yang mendukung penggunaan jenis Piperaceae untuk pengendalian jamur patogen tanaman karet dalam upaya perlindungan tanaman pertanian. Dengan demikian, penelitian ini masih harus diuji secara eksperimental untuk mengetahui dan mengisolasi senyawa aktif yang terdapat dalam fraksi tersebut.

4.6. Identifikasi Awal Metabolit Sekunder Piperaceae (Uji Fitokimia)

Sebelum dilakukan proses isolasi dan pemurnian senyawa metabolit sekunder, terlebih dahulu dilakukan identifikasi awal terhadap kandungan metabolit sekunder dari ekstrak dan fraksi. Tahap identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang dominan terkandung dalam ekstrak dan fraksi aktif sehingga dapat menjadi dasar dalam penentuan metode pemisahan yang digunakan pada tahap selanjutnya. Identifikasi metabolit sekunder dilakukan melalui uji fitokimia kualitatif menggunakan beberapa pereaksi spesifik. Parameter yang diamati meliputi perubahan

warna, terbentuknya endapan, serta munculnya fluoresensi setelah penambahan pereaksi tertentu.

Kandungan fitokimia bervariasi diantara jenis maupun fraksi dari tumbuhan *Piper* yang didapatkan (**Tabel 4.5**). Pada umumnya senyawa fenol ditemukan di setiap jenis *Piper*. Dalam beberapa tahun terakhir, sejumlah penelitian telah dilaporkan tentang aktivitas antijamur senyawa fenolik dari tumbuhan. Sifat dan jumlah gugus hidroksil pada gugus fenol diduga berhubungan dengan toksisitas relatifnya terhadap mikroorganisme, memungkinkan peningkatan hidroksilasi yang menyebabkan peningkatan toksisitas. Mekanisme toksisitas fenolik terhadap mikroorganisme melalui penghambatan enzim oleh senyawa teroksidasi, melalui reaksi dengan kelompok sulfhidril atau melalui interaksi yang lebih spesifik dengan protein. (Arif *et al.*, 2009).

Pada penelitian ini, tidak semua jenis *Piper* yang didapatkan teruji positif mengandung senyawa flavonoid, hanya *Piper betle*, *P. porphyrophyllum* dan *P. aduncum* yang kemungkinan besar terindikasi mengandung senyawa flavonoid. Flavon adalah struktur fenolik yang mengandung satu gugus karbon dan penambahan gugus 3-hidroksil menghasilkan flavonol (Arif *et al.*, 2009). Flavonoid adalah salah satu diantara senyawa nitrogen bebas, flavonoid memiliki efek fungisida dengan menghambat enzim pencernaan beberapa jamur (Ogbemudia & Thompson, 2014). Penelitian fraksinasi yang dipandu oleh bioassay dari *P. mollicomum* dihasilkan *dihydrochalcone* turunan senyawa flavonoid yang menunjukkan aktivitas antijamur moderat terhadap *Cladosporium sphaerospermum* dan *C. cladosporioides* dengan MARs masing-masing 5 -10 µg (Lago *et al.* (2007).

Tabel 4. 5. Uji Fitokimia dari 7 jenis dan Fraksi dari 3 jenis Piper di Hutan Penelitian dan Pendidikan Biologi

Sampel		Saponin	Flavonoid	Fenol	Steroid	Triterpen	Alkaloid
<i>Piper</i> sp. (section <i>Muldera</i>)		-	-	+	-	-	-
<i>P. cf. betle</i> L.		-	+	+	+	+	+
<i>P. porphyrophyllum</i> N. E. Br.		-	+	+	+	+	+
<i>P. cf. ribesioides</i> Wall.		-	-	+	-	+	-
<i>P. cilibracteum</i> C. DC.		-	-	+	+	-	+
<i>P. curtisii</i> C. DC.		-	-	+	-	+	+
<i>P. aduncum</i> L.		-	+	+	+	+	+
Sampel	Fraksi						
<i>P. cf. betle</i> L.	Heksana	-	+	+	+	+	+
	Etil asetat	-	+	+	+	-	+
	Sisa (hidrometanol)	-	-	+	-	+	+
<i>P. porphyrophyllum</i> N. E. Br.	Heksana	-	-	+	-	+	+
	Etil asetat	-	+	+	+	-	+
	Sisa (hidrometanol)	-	-	+	+	-	-
<i>P. aduncum</i> L.	Heksana	-	+	+	+	+	+
	Etil asetat	-	+	+	+	-	+
	Sisa (hidrometanol)	-	-	+	-	-	+

Senyawa fenolik seperti flavonoid, asam fenolik, tanin, dan lignan ada pada spesies *Piper*. Kelompok senyawa ini, sering mengandung cincin aromatik dengan gugus hidroksil, secara alami terdapat pada sebagian besar tumbuhan. Flavonoid terutama dicirikan oleh dua cincin benzen A dan B yang dihubungkan melalui cincin pyrane heterosiklik. Flavonoid dari spesies *Piper* diklasifikasikan sebagai flavon atau isoflavon berdasarkan posisi cincin benzenoid. Senyawa fenolik telah banyak ditinjau dan dilaporkan memiliki efek menguntungkan pada kesehatan manusia seperti sifat antikanker, antimikroba, dan antimutagenic (Huang, Cai, & Zhang, 2010).

Pada penelitian uji saponin, tidak ada jenis *Piper* yang terindikasi mengandung saponin, namun tidak menutup kemungkinan tidak terdapat senyawa kelompok saponin di dalam *Piper* karena bisa jadi tidak terdeteksi dari uji fitokimia yang dilakukan. Saponin adalah senyawa glikosilasi metabolit sekunder yang terdapat pada berbagai spesies tumbuhan. Metabolit ini disimpan dalam sel tumbuhan sebagai prekursor yang tidak aktif tetapi mudah diubah menjadi antibiotik yang aktif secara biologis oleh enzim sebagai respons terhadap serangan patogen, bertindak dengan mengganggu integritas membran sel-sel jamur. Saponin dapat dibagi menjadi tiga kelompok utama; triterpenoid, steroid, atau steroid glikolalkaloid. (Arif *et al.*, 2009).

Salah satu jenis metabolit dari kelompok Saponin adalah terpen, diyakini bahwa senyawa ini berhubungan dengan pertahanan tumbuhan yang berperan sebagai racun atau *phytolexin* yang memiliki fungsi penghambatan pertumbuhan bakteri dan jamur (Ogbemudia & Thompson, 2014). Salah satu penelitian tentang potensi saponin sebagai antijamur dilakukan oleh Belhouchet *et al.* (2008), yang mengisolasi dua saponin steroid dari akar *Smilax aspera* subsp. *mauritanica* menunjukkan aktivitas antijamur terhadap jamur patogen, *Candida albicans*, *C. glabrata*, dan *C. tropicalis* pada konsentrasi 2,5-5,0 mg/L.

Jenis *Piper* cf. *betle*, *P. porphyrophyllum*, *P. ciliobracteum*, *P. curtisii* dan *P. aduncum* teruji positif mengandung alkaloid. Namun, *Piper* sp. (section *Muldera*) dan *P. cf. ribesoides* tidak menandakan adanya senyawa alkaloid. Alkaloid adalah contoh metabolit sekunder yang mengandung nitrogen dalam strukturnya, yang efek penghambatannya dalam pertumbuhan mikroorganisme patogen ditunjukkan oleh kemampuannya masuk ke dalam DNA, serta menghambat sintesis protein dan karbohidrat, selain menginduksi apoptosis (Sepúlveda *et al.*, 2003). Seperti alkaloid, 2- (3,4-dimethyl-2,5-dihydro-1H-pyrrol-2-yl)-1-methylethyl pentanoate, diisolasi dari tumbuhan *Datura metel* menunjukkan aktivitas *in vitro* serta *in vivo* terhadap *Aspergillus* dan *Candida* (Dabur *et al.*, 2005).

Senyawa aromatik tumbuhan terdapat dalam fraksi minyak esensial. Minyak ini adalah metabolit sekunder dalam senyawa berdasarkan pada struktur isoprene, disebut terpen. Rumus kimia umum terpen adalah $C_{10}H_{16}$, terbagi menjadi sebagai diterpen, triterpen, dan tetraterpen (C_{20} , C_{30} , dan C_{40}), serta hemiterpen (C_5) dan sesquiterpen (C_{15}). Mekanisme fungsi kerja terpen belum sepenuhnya dipahami tetapi kemungkinan melibatkan gangguan membran sel oleh sifat lipofiliknya. (Arif *et al.*, 2009). Sejumlah terpene atau terpenoid dilaporkan aktif terhadap jamur, seperti Oleanane triterpenoid, triterpenetetrol yang diisolasi dari ekstrak kloroform *Leontodon filii* dan dua glikosida triterpenoid antijamur, hyalodendrosides A dan B, diisolasi dari *Hyalodendron* sp. dilaporkan memiliki sifat antijamur (Bills *et al.*, 2000).

Potensi aktivitas biofungisida dari *Piper* berdasarkan penelusuran literatur terdahulu dilihat dari komponen fitokimia yang dimiliki membuktikan bahwa tumbuhan ini dapat dipertimbangkan untuk penelitian lebih lanjut untuk uji antijamur. Beberapa penelitian terakhir, *Piper* telah dibuktikan pengaruhnya terhadap beberapa jamur, seperti *Fusarium oxysporum* yang mempengaruhi perkebunan tomat, serta tumbuhan lain yang sangat penting (Singha *et al.*, 2011). *Botryodiplodia theobromae* menyebabkan gummosis pada jeruk, *Colletotrichum acutatum* dan *Colletotrichum gloeosporioides*, mempengaruhi perkebunan mangga, pepaya, dan jeruk yang menyebabkan antraknosa dan jatuhnya buah jeruk secara prematur (Pineda *et al.*, 2012). Serta *C. gloeosporioides* dan *Rhizoctonia solani*, jamur yang menyerang perkebunan kopi (Silva *et al.*, 2014). Namun, sejauh ini belum ada yang melaporkan potensi *Piper* terhadap jamur patogen yang menyerang tanaman karet. Oleh karena itu, dilakukan penelitian antijamur melalui *bioassay-guided* sebagai langkah awal menemukan senyawa-senyawa baru potensial untuk mengendalikan jamur penyebab penyakit pada tanaman karet.

Hasil identifikasi ini menunjukkan bahwa fraksi aktif kaya akan senyawa yang bersifat semi-polar hingga non-polar. Keberadaan senyawa-senyawa tersebut diduga berkontribusi terhadap aktivitas biologis yang ditunjukkan oleh fraksi aktif. Perbedaan hasil identifikasi metabolit sekunder dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti kondisi lingkungan tempat tumbuhan tumbuh, perbedaan metode ekstraksi, serta jenis pelarut yang digunakan dalam proses fraksinasi.

4.7. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa dari *Piper porphyrophyllum*

4.7.1 Isolasi Senyawa

Berdasarkan hasil uji aktivitas antijamur sebelumnya, fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum* menunjukkan performa yang signifikan dalam menghambat pertumbuhan *Corynespora cassiicola* dengan persentase inhibisi sebesar 76,5% pada konsentrasi 1000 mg/L (**Gambar 4.3**). Aktivitas selektif ini lebih tinggi dibandingkan fraksi lainnya dari spesies yang sama maupun fraksi etil asetat dari spesies *Piper* lainnya. Selain itu, fraksi etil asetat juga menunjukkan aktivitas yang cukup baik terhadap *Rigidoporus microporus* (73,1%) dan *Colletotrichum gloeosporioides* (70,3%).

Pemilihan fraksi etil asetat dari *P. porphyrophyllum* sebagai bahan awal untuk isolasi didasarkan pada beberapa pertimbangan utama. Pertama, fraksi ini menunjukkan aktivitas selektif yang tinggi, yakni menghasilkan persentase inhibisi tertinggi terhadap *Corynespora cassiicola* dibandingkan semua fraksi lain yang diuji, sehingga dianggap paling potensial untuk dieksplorasi lebih lanjut. Selain itu, kandungan senyawa dengan polaritas menengah yang terdapat pada fraksi etil asetat memungkinkan ekstraksi optimal senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas biologis penting. Pola inhibisi yang berbeda pada fraksi ini juga mengindikasikan adanya potensi mekanisme aksi yang unik dan spesifik terhadap patogen sasaran. Di samping itu, rendemen fraksi etil asetat yang diperoleh dari ekstrak kasar cukup tinggi, yakni sebesar 21,69% (**Tabel 4.6**), sehingga memungkinkan isolasi senyawa dalam jumlah yang memadai untuk keperluan analisis lanjutan.

Tabel 4. 6. Data uji aktivitas awal fraksi etil asetat *Piper porphyrophyllum*

Parameter Pengujian	Nilai	Keterangan
Persentase inhibisi terhadap <i>C. cassiicola</i>	76,5%	Tertinggi di antara semua fraksi
Persentase inhibisi terhadap <i>R. microporus</i>	73,1%	Aktivitas signifikan
Rendemen fraksi	21,69%	Cukup untuk proses isolasi
Konsentrasi uji	1000 mg/L	Konsentrasi standar

Isolasi senyawa murni dari fraksi etil asetat *Piper porphyrophyllum* dilakukan melalui serangkaian tahapan kromatografi. Sebanyak 5,04 g fraksi etil asetat (**Tabel 4.3**) difraksinasi

lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan fase diam silika gel 60 (70-230 mesh, Merck) dan fase gerak sistem gradien heksana-etil asetat (dari 9:1 hingga 0:10, v/v). Eluat dikumpulkan setiap 25 mL dan dimonitoring dengan kromatografi lapis tipis (KLT) pada plat silika gel GF254 (Merck) dengan fase gerak heksana-etil asetat (8:2, v/v). Monitoring dilakukan di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm serta menggunakan reagen penampak noda vanilin-sulfat (1% vanilin dalam etanol:asam sulfat, 95:5).

Fraksi-fraksi dengan pola noda yang sama pada KLT digabungkan. Fraksi 17-25 (eluen heksana-etil asetat 7:3) menunjukkan noda dominan berwarna kuning kehijauan di bawah UV 366 nm dengan Rf 0,42. Fraksi ini kemudian dimurnikan lebih lanjut dengan kromatografi kolom vakum menggunakan fase diam silika gel H (Merck) dan fase gerak diklorometana-metanol (95:5, v/v). Fraksi aktif yang menunjukkan aktivitas antijamur terbaik (berdasarkan uji bioautografi terhadap *C. cassiicola*) kemudian dipisahkan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLT preparatif) dengan plat silika gel GF254 (ketebalan 0,5 mm, Merck) dan fase gerak kloroform-aseton (9:1, v/v).

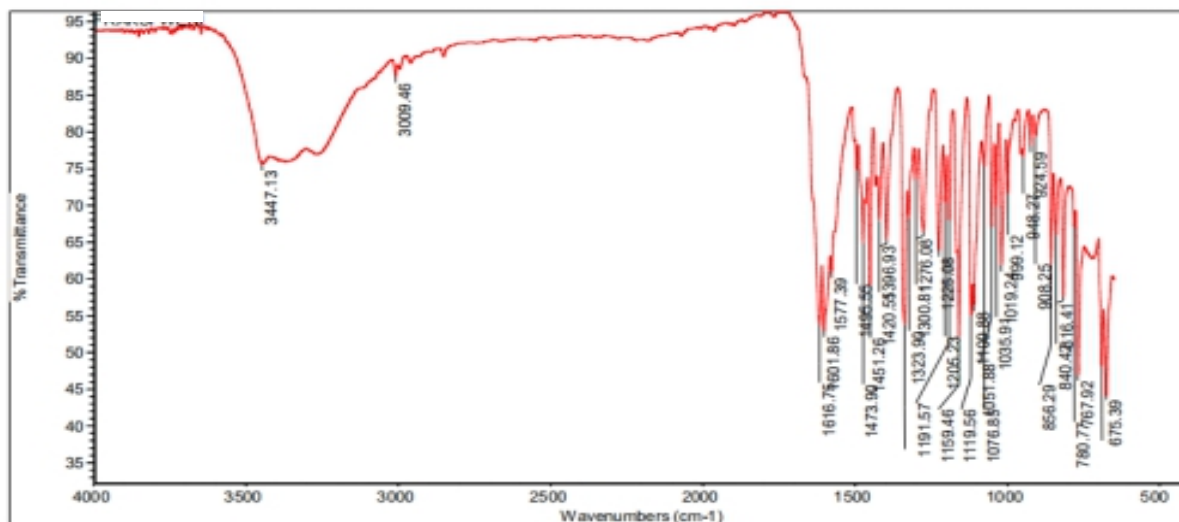
Noda dengan Rf 0,42 dikerok, dilarutkan dengan metanol, dipisahkan secara dekantasi dari silika, dan larutan metanol dipekatkan menggunakan evaporator vakum pada suhu 40°C. Kristalisasi dilakukan dengan metode penguapan lambat menggunakan campuran pelarut diklorometana-heksana (1:3, v/v) pada suhu ruang selama 7 hari, menghasilkan senyawa murni berupa kristal jarum kuning pucat (15,2 mg, rendemen 0,30% dari fraksi etil asetat). Lebih lanjut, tahapan isolasi senyawa murni dari fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum* dirangkum pada **Tabel 4.7**.

Tabel 4. 7. Tahapan Isolasi Senyawa Murni dari Fraksi Etil Asetat *P. porphyrophyllum*

Tahap	Metode	Kondisi	Hasil
Fraksinasi awal	Kromatografi kolom gravitasi	Silika gel 60, heksana:etil asetat (9:1 → 0:10)	8 fraksi utama
Pemurnian	Kromatografi kolom vakum	Silika gel H, diklorometana:metanol (95:5)	Fraksi aktif (Rf 0,42)
Isolasi akhir	Kromatografi lapis tipis preparatif	Silika gel GF254, kloroform:aseton (9:1)	Senyawa murni
Kristalisasi	Penguapan lambat	Diklorometana:heksana (1:3), 7 hari	Kristal jarum kuning pucat

4.7.2. Karakterisasi dan Identifikasi Senyawa Murni Hasil Isolasi

Senyawa murni hasil isolasi kemudian dikarakterisasi menggunakan berbagai teknik spektroskopi modern. Spektrum FTIR senyawa murni hasil isolasi disajikan pada **Gambar 4.7**. Berdasarkan pengamatan sifat fisik, senyawa murni berwujud kristal jarum berwarna kuning pucat dan memiliki titik leleh pada rentang 182-184°C (pengukuran dilakukan tanpa koreksi menggunakan alat Mel-Temp II).

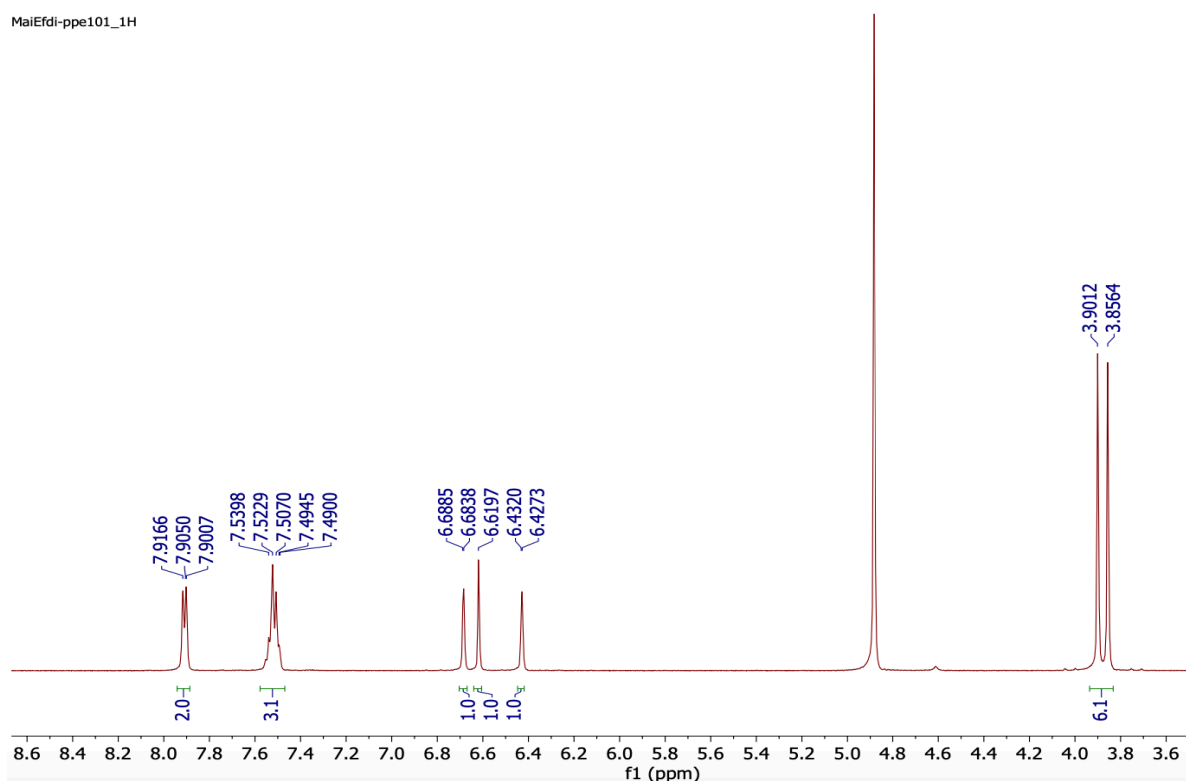


Gambar 4. 7. Spektrum FTIR Senyawa Murni.

Spektrum spektrofotometri inframerah (FTIR) (KBr, cm^{-1}) menunjukkan serapan karakteristik pada bilangan gelombang 3447 cm^{-1} (regangan O-H), 3009 cm^{-1} (regangan C-H alifatik), 1616 cm^{-1} (regangan C=O α,β -tak jenuh), 1601 cm^{-1} , 1577 cm^{-1} , dan 1451 cm^{-1} (regangan C=C aromatik), 1276 cm^{-1} (regangan C-O metoksi), dan 1035 cm^{-1} (regangan C-O-C). Data spektrum FTIR senyawa murni dirangkum pada **Tabel 4.8**, dari data mengindikasikan keberadaan gugus karbonil terkonjugasi dengan sistem aromatik serta gugus metoksi.

Tabel 4. 8. Data spektrum IR senyawa murni.

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Intensitas	Interpretasi Gugus Fungsi
3447	Lebar, sedang	Regangan O-H
3009, 2985	Kuat	Regangan C-H alifatik
1616	Kuat	Regangan C=O α,β -tak jenuh
1601, 1577, 1451	Kuat	Regangan C=C aromatik
1276	Kuat	Regangan C-O metoksi

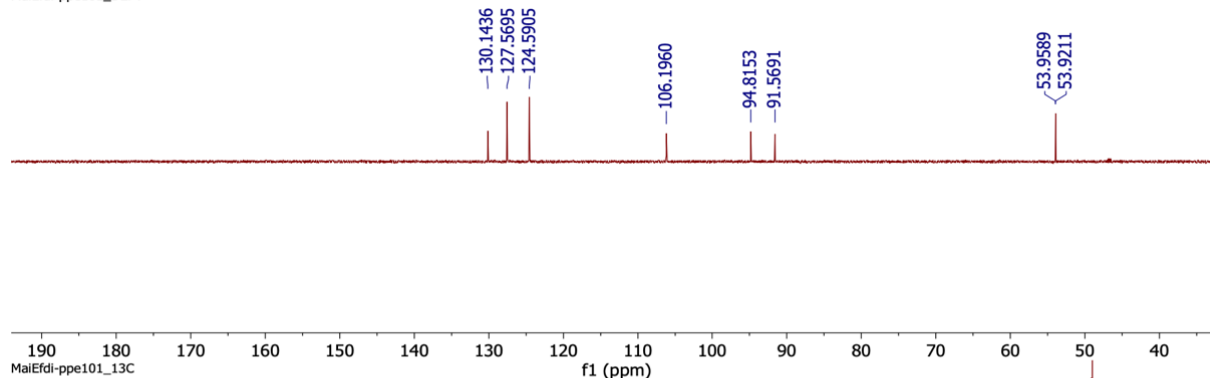
**Gambar 4. 8.** Spektrum ¹H-NMR senyawa murni.**Tabel 4. 9.** Data ¹H-NMR Senyawa Murni (600 MHz, CDCl₃).

Proton	δ (ppm)	Multiplisitas	Koppling (J, Hz)	Integrasi	Interpretasi
H-6	7,9	d	8,4	1H	Proton aromatik tersubstitusi meta
H-8	6,68	d	2,1	1H	Proton aromatik tersubstitusi orto

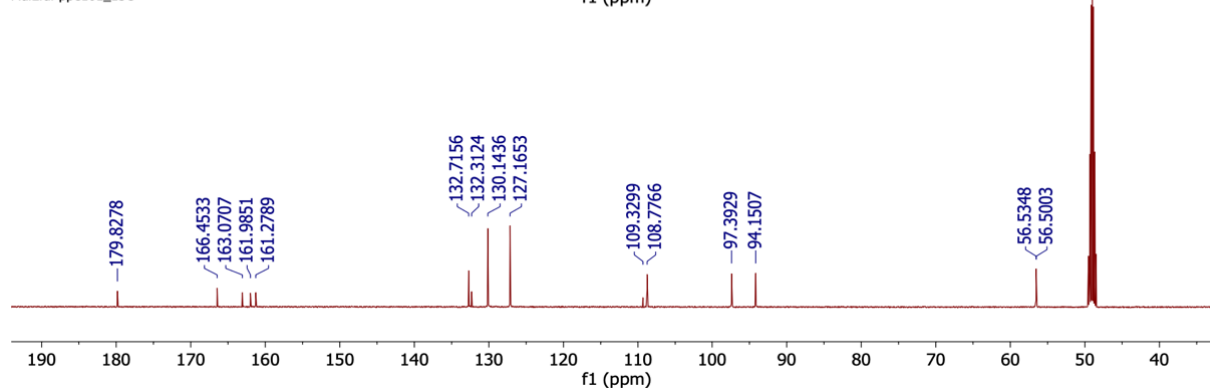
H-3	6,43	d	2,1	1H	Proton aromatik tersubstitusi orto
5-OCH ₃ dan OCH ₃	3,91	s	-	6H	Dua gugus metoksi

Spektrum Resonansi Magnetik Inti (NMR) senyawa murni hasil isolasi disajikan pada **Gambar 4.8.** dan **Gambar 4.9.** Data ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) menunjukkan adanya sinyal pada δ 7,9 ppm (1H, doublet, J = 8,4 Hz, H-6), δ 6,68 ppm (1H, doublet, J = 2,1 Hz, H-8), dan δ 6,43 ppm (1H, doublet, J = 2,1 Hz, H-3). Selain itu, terdapat sinyal pada δ 3,91 ppm (6H, singlet) yang mengindikasikan keberadaan dua gugus metoksi pada posisi 5 dan 7 cincin aromatik (5-OCH₃ dan 7-OCH₃). Data ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) memperlihatkan adanya puncak pada δ 179,8 ppm (C-4), 166,4 ppm (C-7), 163,1 ppm (C-5), 161,2 ppm (C-2), 127,1 ppm (C-6), 108,7 ppm (C-8), dan 97,4 ppm (C-3), serta pada δ 56,6 ppm dan 56,5 ppm untuk karbon metoksi (5-OCH₃ dan 7-OCH₃). Data ¹H-NMR dan ¹³C-NMR dirangkum pada **Tabel 4.9** dan **Tabel 4.10.** Hasil ini mendukung interpretasi struktur senyawa berdasarkan data spektroskopi yang diperoleh.

MaiEfdi-ppe101_DEPT



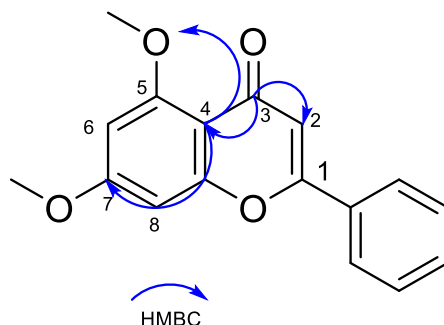
MaiEfdi-ppe101_13C



Gambar 4. 9. Spektrum ^{13}C -NMR dan spektrum DEPT 135 senyawa murni.**Tabel 4. 10.** Data ^{13}C NMR Senyawa Murni (150 MHz, CDCl_3).

Karbon	δ (ppm)	DEPT	Interpretasi
C-4	179,8	C=O	Karbonil α,β -tak jenuh
C-7	166,4	C	Karbon aromatik teroksigenasi
C-5	163,1	C	Karbon aromatik teroksigenasi
C-2	161,2	C	Karbon aromatik teroksigenasi
C-6	127,1	CH	Karbon aromatik CH
C-8	108,7	CH	Karbon aromatik CH
C-3	97,4	CH	Karbon aromatik CH
5-OCH ₃	56,6	CH ₃	Karbon metoksi
7-OCH ₃	56,5	CH ₃	Karbon metoksi

Spektrum 2D NMR (COSY, HSQC, HMBC) dilakukan untuk konfirmasi struktur. Korelasi HMBC antara proton metoksi (δ 3,92) dengan karbon pada δ 163,1 (C-5) dan 166,4 (C-7) mengonfirmasi posisi gugus metoksi pada C-5 dan C-7. Korelasi HMBC antara H-3 (δ 6,43) dengan C-2 (δ 161,2) dan C-4 (δ 179,8) mengonfirmasi konektivitas inti flavonoid. Struktur senyawa murni hasil isolasi (5,7-Dimetoksiflavon) ditunjukkan pada **Gambar 4.10**.

**Gambar 4. 10.** Struktur dan Korelasi 2D NMR Senyawa 5,7-Dimetoksiflavon

Data spektroskopi ini kemudian dibandingkan dengan laporan tentang 5,7-Dimetoksiflavon dari tanaman lain. Penelitian isolasi senyawa yang sama dari kulit *Citrus reticulata* menggunakan metode kromatografi serupa. Data ^1H NMR mereka (CDCl_3) menunjukkan pola sinyal pada δ 7.85 (H-6), δ 6.60 (H-8), dan δ 3.90 (6H, s, OCH_3), yang cukup sejalan dengan hasil penelitian ini. Perbedaan kecil seperti pergeseran H-8 (δ 6.65 vs. 6.60) kemungkinan disebabkan oleh pengaruh pelarut atau variasi instrument (Chen *et al.*, 2019).

Isolasi 5,7-Dimetoksiflavon dari *Artemisia annua* juga menunjukkan kemiripan pada data ^{13}C NMR, yaitu δ 178.3 (C-4), 164.0 (C-7), dan 161.5 (C-5). Spektrum IR dari kedua penelitian

tersebut juga memperlihatkan pola yang hampir sama, terutama pada regangan C=O dan C=C aromatic (Gupta et al., 2020). Selain itu, 5,7-Dimetoksiflavon sintetis yang dibuat melalui reaksi kondensasi Claisen–Schmidt oleh Rodríguez et al.(2021) memperlihatkan data NMR dan MS yang serupa dengan senyawa yang diisolasi dalam penelitian ini. Kesamaan ini mendukung bahwa senyawa yang diperoleh memiliki struktur yang sesuai dengan 5,7-Dimetoksiflavon.

Tabel 4.11. menyajikan data karakterisasi dari senyawa murni hasil isolasi.

Tabel 4. 11. Ringkasan data karakterisasi senyawa murni.

Parameter	Hasil	Metode
Nama senyawa	5,7-dimetoksiflavon	Berdasarkan data spektroskopi
Berat molekul	298,29 g/mol	Perhitungan teoritis
Titik leleh	182-184°C	Mel-Temp II
Bentuk fisik	Kristal jarum putih	Visual
Rendemen isolasi	15,2 mg (0,30%)	Berdasarkan fraksi etil asetat

Keberhasilan isolasi 5,7-dimetoksiflavon dari fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum* memberikan penjelasan ilmiah terhadap aktivitas antijamur selektif yang diamati pada uji sebelumnya. Chen et al.(2019) melaporkan bahwa flavonoid termetoksilasi seperti 5,7-dimetoksiflavon memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan membran sel jamur melalui interaksi hidrofobik, mengganggu fluiditas membran dan menyebabkan kebocoran ion. Struktur flavonoid dengan gugus metoksi pada posisi 5 dan 7 meningkatkan lipofilisitas senyawa, memfasilitasi penetrasi ke dalam membran sel jamur.

Mekanisme aksi yang mungkin terjadi dari 5,7-dimetoksiflavon dapat dijelaskan berdasarkan struktur senyawanya. Pertama, keberadaan gugus metoksi pada posisi 5 dan 7 meningkatkan lipofilisitas, sehingga senyawa ini lebih mudah berinteraksi dengan lipid membran sel jamur dan mengganggu integritas membran tersebut. Selain itu, kerangka flavonoid memungkinkan senyawa ini berinteraksi dengan enzim-enzim kunci, seperti enzim sintesis ergosterol, yang sangat penting dalam pembentukan membran sel jamur. Tak hanya itu, senyawa flavonoid juga diketahui mampu mengalami proses redoks cycling yang menghasilkan spesies oksigen reaktif (radikal bebas), sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada struktur sel jamur dan menghambat pertumbuhannya. Temuan ini sejalan dengan penelitian Gupta et al.(2020) yang melaporkan bahwa 5,7-dimetoksiflavon dari *Artemisia annua* menunjukkan aktivitas antijamur yang signifikan terhadap berbagai patogen tanaman. Aktivitas selektif yang diamati terhadap *C.*

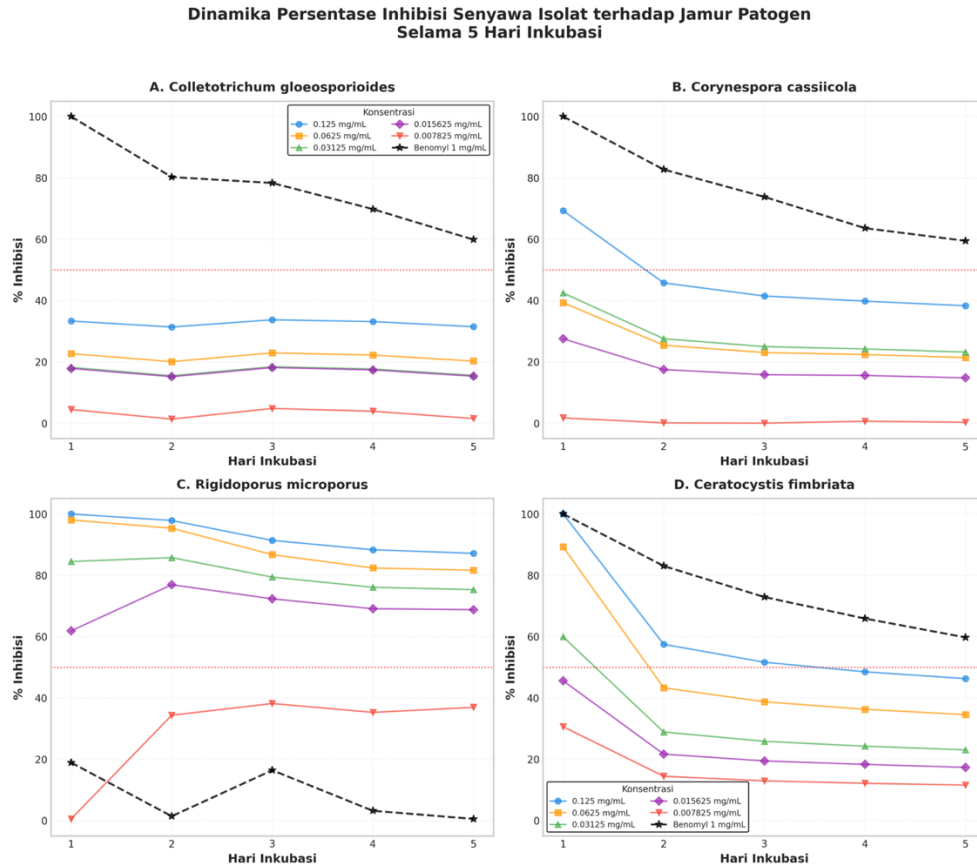
cassiicola mungkin terkait dengan spesifisitas strukturnya terhadap enzim-enzim tertentu yang hanya dimiliki oleh patogen tersebut, atau kemampuan senyawa untuk melewati barrier dinding sel yang berbeda pada berbagai jenis jamur.

Penemuan 5,7-dimetoksiflavon dari fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum* memiliki implikasi penting dalam bidang pengendalian penyakit tanaman. Pertama, senyawa ini menunjukkan potensi besar untuk dikembangkan sebagai fungisida botanis, mengingat kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen secara selektif. Kedua, karakteristik struktur kimia 5,7-dimetoksiflavon membuka peluang untuk merancang senyawa antijamur baru dengan mekanisme aksi yang lebih spesifik dan efektif, sehingga dapat memperkaya alternatif pengendalian penyakit tanaman secara berkelanjutan. Selain itu, hasil penelitian ini turut memperkuat validitas praktik penggunaan tradisional *P. porphyrophyllum* sebagai bahan pengobatan penyakit tanaman di masyarakat, memberikan dasar ilmiah bagi pemanfaatan tanaman tersebut secara lebih luas dalam bidang pertanian dan kesehatan tanaman.

4.8. Uji Potensi Bioaktivitas Senyawa Isolat 5,7-Dimetoksiflavon

4.8.1. Uji Aktivitas Antijamur

Dinamika persentase inhibisi senyawa isolat terhadap empat jamur patogen (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Corynespora cassiicola*, *Rigidoporus microporus*, dan *Ceratocystis fimbriata*) selama 5 hari inkubasi disajikan pada **Gambar 4.11**. Senyawa isolat diuji pada lima konsentrasi (0.125, 0.0625, 0.03125, 0.015625, dan 0.007825 mg/mL) dengan benomyl 1 mg/mL sebagai kontrol positif.

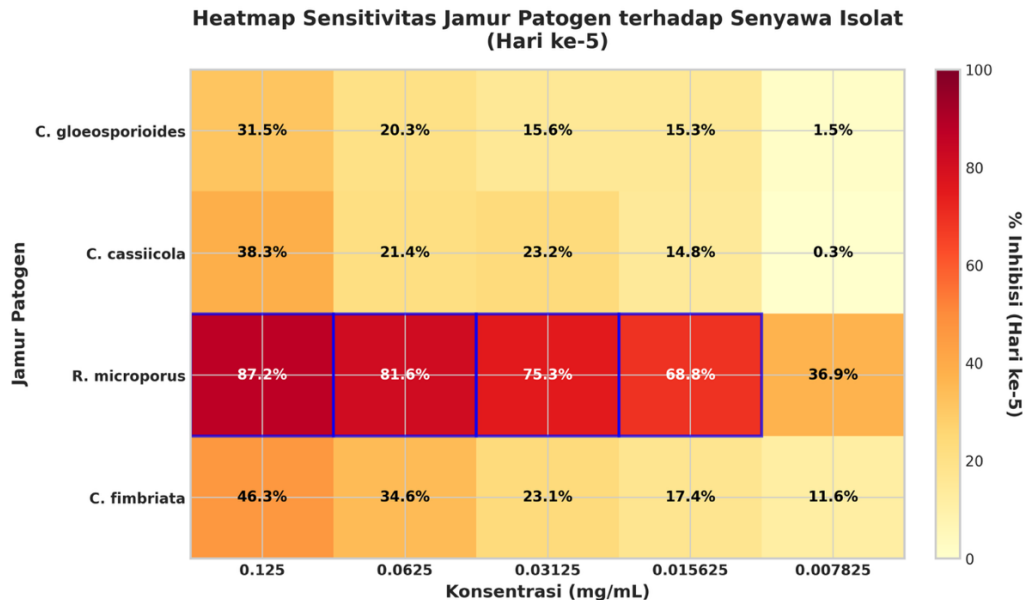


Gambar 4. 11. Dinamika persentase inhibisi senyawa isolat terhadap empat jamur patogen selama 5 hari inkubasi. (A) *Colletotrichum gloeosporioides*, (B) *Corynespora cassiicola*, (C) *Rigidoporus microporus*, (D) *Ceratocystis fimbriata*. Garis putus-putus merah menunjukkan ambang efektivitas 50%. Benomyl 1 mg/mL digunakan sebagai kontrol. Semua konsentrasi ditampilkan dalam legend.

Pola yang terlihat menunjukkan bahwa persentase inhibisi cenderung menurun seiring waktu untuk sebagian besar jamur, kecuali pada *R. microporus* yang memiliki inhibisi awal sangat tinggi (100% pada hari pertama) dan tetap tinggi hingga hari kelima (87.15%). Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa isolat memiliki aktivitas fungistatik yang kuat terhadap *R. microporus*. Sementara itu, pada *C. gloeosporioides* dan *C. cassiicola*, inhibisi tertinggi dicapai pada konsentrasi 0.125 mg/mL, namun menurun secara bertahap. Pada *C. fimbriata*, pola serupa juga terlihat dengan penurunan inhibisi dari 100% menjadi 46.31% selama 5 hari.

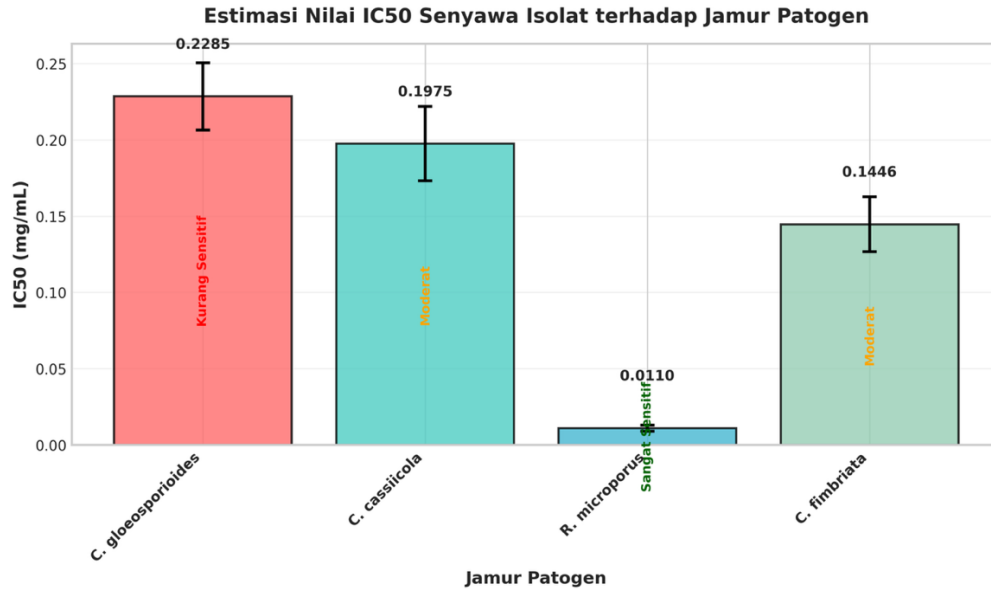
Penurunan persentase inhibisi seiring waktu dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti degradasi senyawa aktif, adaptasi jamur, atau mekanisme perbaikan seluler jamur (Zhang et al., 2021). Selain itu, adanya fase lag dalam pertumbuhan jamur setelah terpapar senyawa antijamur juga dapat mempengaruhi hasil pengukuran (Liu et al., 2019). Konsentrasi 0.125 mg/mL menunjukkan inhibisi tertinggi dibandingkan konsentrasi lainnya, menunjukkan adanya

hubungan dosis-respons. Pola ini konsisten dengan temuan pada penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa aktivitas antijamur ekstrak tumbuhan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi (Pandey et al., 2020).



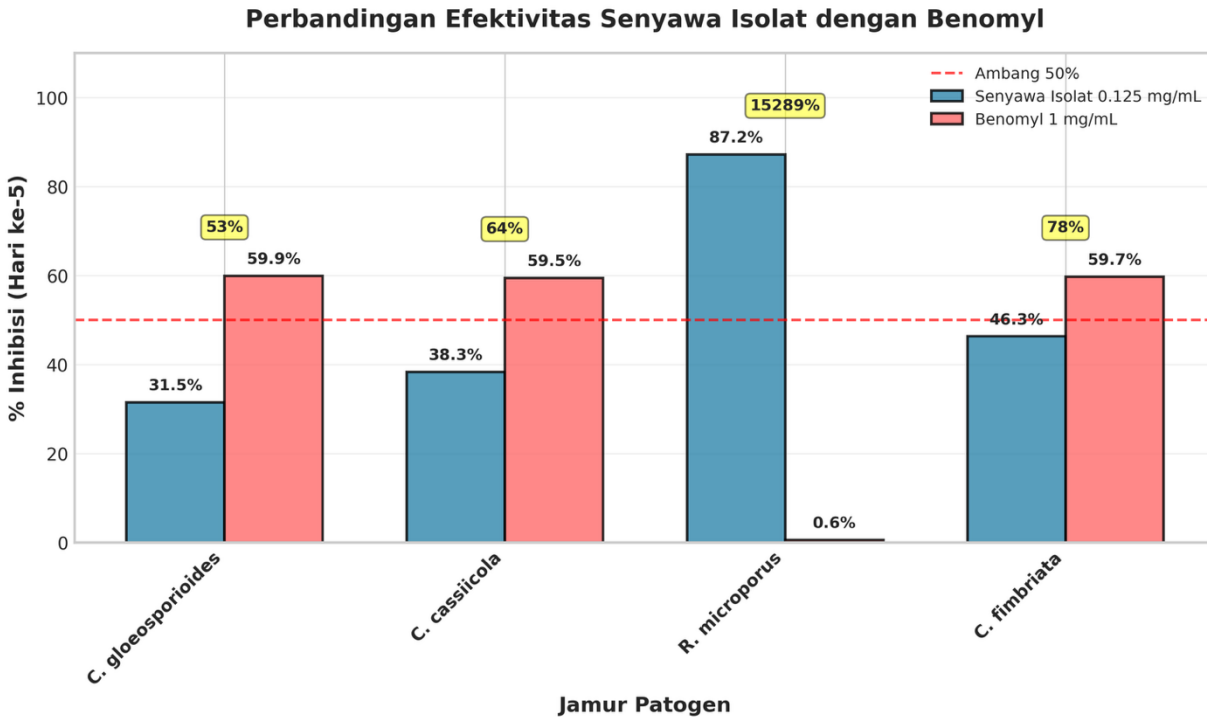
Gambar 4. 12. Heatmap sensitivitas jamur patogen terhadap senyawa isolat pada berbagai konsentrasi (hari ke-5). Warna kuning-orange-merah menunjukkan intensitas inhibisi, dengan warna lebih merah menunjukkan inhibisi lebih tinggi. Kotak biru menunjukkan kombinasi efektif (>50% inhibisi).

Heatmap pada **Gambar 4.12** memvisualisasikan persentase inhibisi hari ke-5 pada berbagai konsentrasi. Warna kuning hingga merah menunjukkan peningkatan persentase inhibisi. Dari heatmap, terlihat bahwa *R. microporus* memiliki sensitivitas tertinggi terhadap senyawa isolat, dengan inhibisi di atas 80% untuk konsentrasi 0.125 hingga 0.03125 mg/mL. Sementara itu, *C. gloeosporioides* menunjukkan inhibisi terendah, bahkan pada konsentrasi tertinggi hanya mencapai 31.47%. Variasi sensitivitas antar jamur ini dapat disebabkan oleh perbedaan struktur dinding sel, komposisi membran, atau mekanisme detoksifikasi yang dimiliki oleh masing-masing jamur (Khan et al., 2022). Jamur dengan dinding sel yang mengandung kitin dan β -glukan yang lebih padat cenderung lebih resisten terhadap senyawa antijamur (Gow et al., 2017).



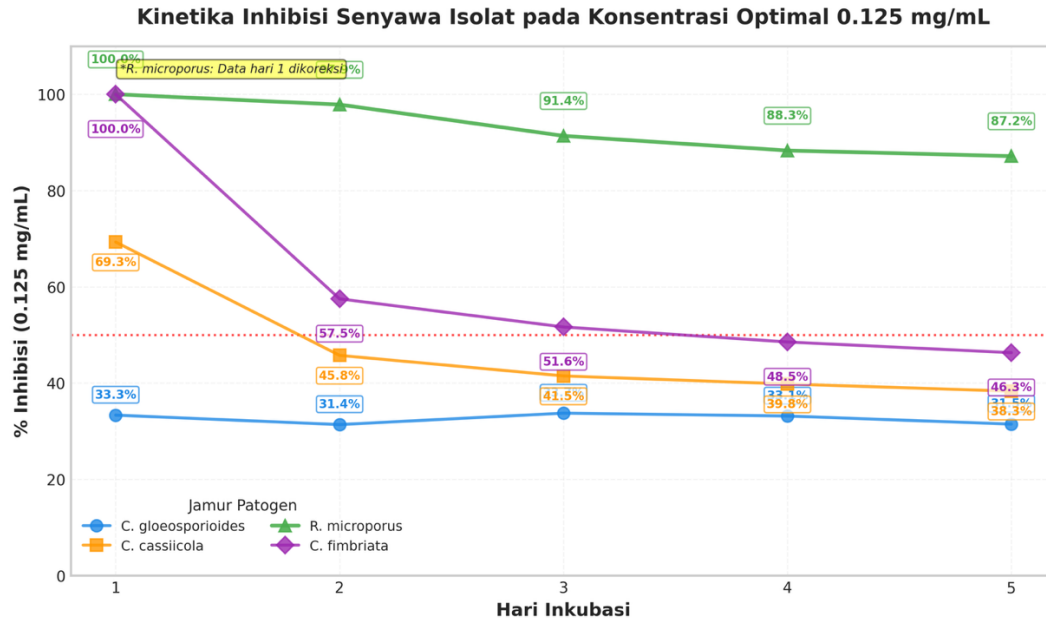
Gambar 4. 13. Estimasi nilai IC₅₀ senyawa isolat terhadap empat jamur patogen. Nilai IC₅₀ yang lebih rendah menunjukkan sensitivitas yang lebih tinggi. Bar error menunjukkan estimasi variasi berdasarkan standar deviasi data inhibisi. Interpretasi sensitivitas: Sangat Sensitif (<0.05 mg/mL), Sensitif (0.05-0.1 mg/mL), Moderat (0.1-0.2 mg/mL), Kurang Sensitif (>0.2 mg/mL).

Gambar 4.13 menunjukkan estimasi nilai IC₅₀ untuk setiap jamur. IC₅₀ merupakan konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan jamur sebesar 50%. Nilai IC₅₀ yang lebih rendah menunjukkan potensi antijamur yang lebih kuat. Berdasarkan hasil, *R. microporus* memiliki IC₅₀ terendah (0.011 mg/mL), diikuti oleh *C. cassicola* (0.1975 mg/mL), *C. fimbriata* (0.1446 mg/mL), dan *C. gloeosporioides* (0.2285 mg/mL). Nilai IC₅₀ ini mengindikasikan bahwa senyawa isolat sangat potensial terhadap *R. microporus*, sedangkan terhadap *C. gloeosporioides* diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mencapai efek yang sama. Perbedaan nilai IC₅₀ ini dapat disebabkan oleh perbedaan mekanisme aksi senyawa terhadap masing-masing jamur (Sharma et al., 2020).



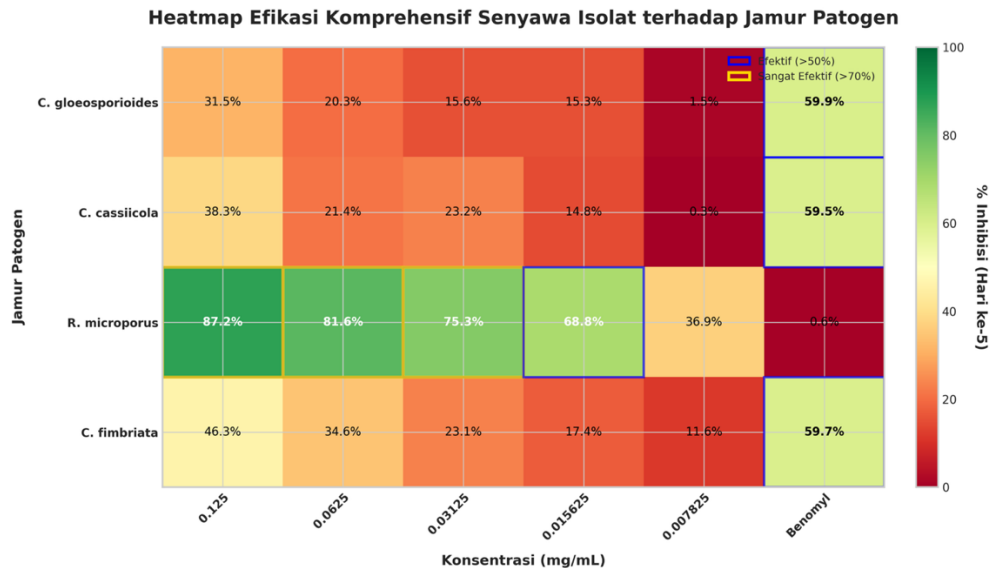
Gambar 4. 14. Perbandingan efektivitas senyawa isolat (0.125 mg/mL) dengan Benomyl (1 mg/mL). Angka dalam kotak kuning menunjukkan persentase efektivitas relatif senyawa isolat terhadap Benomyl. Garis putus-putus merah menunjukkan ambang efektivitas 50%.

Gambar 4.14 membandingkan efektivitas senyawa isolat (0.125 mg/mL) dengan Benomyl 1 mg/mL. Terlihat bahwa senyawa isolat memiliki efektivitas yang lebih tinggi terhadap *R. microporus* (87.15%) dibandingkan Benomyl (0.57%). Sebaliknya, untuk jamur lainnya, Benomyl menunjukkan inhibisi yang lebih tinggi. Hal ini menarik karena *R. microporus* diketahui resisten terhadap Benomyl, sehingga senyawa isolat berpotensi menjadi alternatif pengendalian untuk jamur yang telah resisten terhadap fungisida sintetis (Deng et al., 2021). Efektivitas senyawa isolat yang lebih rendah terhadap jamur lainnya dibandingkan Benomyl mungkin disebabkan oleh mekanisme aksi yang berbeda atau spesifisitas senyawa.



Gambar 4. 15. Kinetika inhibisi senyawa isolat pada konsentrasi optimal 0.125 mg/mL selama 5 hari inkubasi. Nilai inhibisi ditampilkan untuk setiap titik pengamatan.

Gambar 4.15 menunjukkan kinetika inhibisi pada konsentrasi 0.125 mg/mL selama 5 hari. Untuk *R. microporus*, inhibisi sangat tinggi di hari pertama (100%) dan menurun perlahan hingga hari kelima (87.15%). Pola yang sama terlihat pada *C. fimbriata*, meskipun dengan nilai yang lebih rendah. Sementara itu, *C. gloeosporioides* dan *C. cassicola* menunjukkan fluktuasi yang lebih stabil. Kinetika inhibisi yang menurun seiring waktu dapat mengindikasikan bahwa senyawa isolat mungkin terdegradasi atau jamur mampu beradaptasi dengan adanya senyawa tersebut (Wang et al., 2019). Namun, untuk *R. microporus*, kemampuan senyawa isolat mempertahankan inhibisi di atas 80% hingga hari kelima menunjukkan stabilitas yang baik.



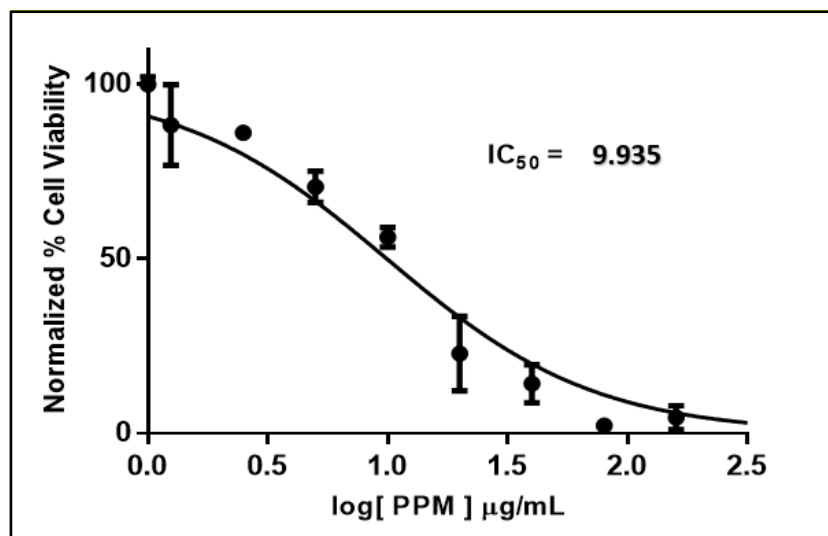
Gambar 4. 16. Heatmap efikasi komprehensif senyawa isolat terhadap empat jamur patogen tanaman. Kombinasi yang dikelilingi kotak biru menunjukkan aktivitas efektif (>50% inhibisi), sedangkan kotak emas menunjukkan aktivitas sangat efektif (>70% inhibisi). Benomyl 1 mg/mL digunakan sebagai kontrol.

Gambar 4.16 merupakan heatmap komprehensif yang menggabungkan semua konsentrasi termasuk Benomyl. Heatmap ini memperlihatkan bahwa senyawa isolat pada konsentrasi 0.125 mg/mL memberikan inhibisi yang sangat tinggi terhadap *R. microporus* dan *C. fimbriata*, sedangkan Benomyl unggul terhadap *C. gloeosporioides* dan *C. cassiicola*. Heatmap ini juga menunjukkan bahwa konsentrasi yang lebih rendah (0.007825 mg/mL) tidak memberikan inhibisi yang signifikan, kecuali pada *R. microporus* yang masih mencapai 36.93%. Hal ini menekankan pentingnya konsentrasi dalam aplikasi senyawa antijamur.

4.8.2. Uji Aktivitas Antikanker

Sebagai bagian dari eksplorasi bioaktivitas Piperaceae, senyawa 5,7-Dimetoksiflavin juga diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara MCF-7 menggunakan uji MTT. Peningkatan konsentrasi senyawa menyebabkan penurunan bertahap pada viabilitas sel yang dinormalisasi (**Gambar 4.17**). Hal ini menghasilkan kurva inhibisi berbentuk sigmoid yang khas untuk efek sitotoksik yang bergantung pada konsentrasi. Analisis regresi nonlinier menentukan nilai IC_{50} sebesar 9,935 $\mu\text{g/mL}$, yang merupakan jumlah senyawa yang dibutuhkan untuk menghambat

50% sel. Pada konsentrasi yang lebih tinggi (nilai log di atas 2,0), viabilitas sel menurun hingga tingkat minimal berdasarkan kondisi eksperimen yang tersedia.



Gambar 4. 17. Kurva viabilitas sel MCF-7 setelah perlakuan 5,7-Dimetoksiflavon (Uji MTT).

Nilai IC_{50} di bawah 10 µg/mL umumnya dianggap menunjukkan aktivitas sitotoksik yang potensial dalam skrining awal terhadap sel kanker (Suffness & Pezzuto, 1990). Sebagai perbandingan, meskipun tidak setinggi agen kemoterapi kuat seperti doxorubicin (IC_{50} sering kali dalam orde nanomolar), nilai ini sebanding atau bahkan lebih baik daripada beberapa senyawa flavonoid alam lain yang dilaporkan memiliki aktivitas antikanker. Misalnya, beberapa flavanon dan flavon terisolasi lainnya menunjukkan aktivitas pada rentang IC_{50} 10–50 µg/mL terhadap sel MCF-7 (Moghaddam et al., 2015).

Uji pendahuluan ini membuktikan konsep (*proof of concept*) bahwa senyawa hasil isolasi dari Piperaceae HPPB tidak hanya memiliki potensi biokontrol, tetapi juga aktivitas sitotoksik. Hal ini sejalan dengan latar belakang penelitian yang menyebutkan genus *Piper* sebagai sumber senyawa antikanker seperti piperine, piperlongumine, dan berbagai amida (Bezerra et al., 2020; Rather & Bhagat, 2018; Zhao et al., 2021). Aktivitas yang teramati diduga berkaitan dengan kemampuan flavonoid termetoksilasi dalam menginduksi apoptosis, menghambat siklus sel, atau menyebabkan stres oksidatif pada sel kanker. Temuan awal ini membuka peluang untuk penelitian lanjutan yang lebih mendalam mengenai mekanisme aksi (misalnya melalui *flow cytometry* atau *western blot*), selektivitas terhadap sel normal (misalnya sel epitel payudara MCF-10A), dan uji terhadap lini sel kanker lainnya.

BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Tujuh spesies Piperaceae dari HPPB Universitas Andalas berhasil diidentifikasi. Di antaranya, *Piper aduncum*, *P. porphyrophyllum*, dan *P. cf. betle* menunjukkan aktivitas antijamur tertinggi terhadap empat jamur patogen tanaman karet (*Rigidoporus microporus*, *Ceratocystis fimbriata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Corynespora cassiicola*) dengan rata-rata inhibisi 85,68% (ekstrak metanol).
2. Fraksi heksana *P. aduncum* menghambat *R. microporus* hingga 100%, dengan apiol (34,32%) sebagai senyawa utamanya menurut GC-MS. Dari fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum*, senyawa murni 5,7-dimetoksiflavon berhasil diisolasi dan dikarakterisasi lewat NMR dan MS.
3. Fraksi heksana *P. aduncum* memiliki nilai IC_{50} bervariasi (0,027-0,309 mg/mL) secara *in vitro*, sedangkan senyawa 5,7-dimetoksiflavon dari fraksi etil asetat *P. porphyrophyllum* juga memperlihatkan aktivitas antijamur dengan nilai IC_{50} berkisar 0,011–0,228 mg/mL terhadap keempat jamur patogen.
4. Senyawa 5,7-dimetoksiflavon menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 9,935 μ g/mL, menandakan potensi sebagai agen antikanker alami yang cukup menjanjikan pada tahap skrining awal.

Keseluruhan hasil ini memperkuat posisi *P. aduncum* dan *P. porphyrophyllum* serta senyawa turunannya sebagai kandidat kuat dalam pengembangan agen biokontrol berbasis tanaman dan sumber senyawa antikanker alami, sesuai dengan tujuan penelitian yang telah ditetapkan.

5.2. Saran Penelitian Lanjutan

Berdasarkan temuan dan keterbatasan penelitian ini, disarankan beberapa hal untuk pengembangan lebih lanjut:

1. Isolasi dan Elusidasi Senyawa Aktif Lain: Lakukan isolasi senyawa lain dari fraksi heksana *P. aduncum* (terutama apiol dan turunannya).
2. Uji Mekanisme Aksi: Pelajari mekanisme antijamur secara molekuler, misalnya melalui pengamatan ultrastruktur dengan SEM/TEM, pengukuran kebocoran membran sel jamur, atau inhibisi enzim spesifik (seperti sintase ergosterol).
3. Formulasi dan Uji Stabilitas: Kembangkan formulasi biofungisida (emulsi, mikrokapsul, atau nanopartikel) dari fraksi aktif atau senyawa murni, lalu uji *shelf life*, fotostabilitas, dan efektivitasnya dalam kondisi penyimpanan yang berbeda.
4. Uji Lapangan Terintegrasi: Lakukan uji aplikasi lapangan skala besar pada kebun karet dengan desain percobaan yang memadai (Rancangan Acak Kelompok) untuk menilai efektivitas pengendalian penyakit, dampak terhadap mikroba tanah non-target, dan pengaruhnya terhadap produktivitas lateks.
5. Studi Toksisitas dan Keamanan: Lakukan uji toksisitas akut dan kronis (uji LD₅₀, uji iritasi, uji mutagenisitas) terhadap hewan model serta kajian dampak lingkungan (toksisitas terhadap organisme non-target) untuk memastikan keamanan produk.
6. Optimalisasi Budidaya dan Ekstraksi: Kaji potensi budidaya *P. aduncum* (agroekologi, pemuliaan, panen) serta optimasi metode ekstraksi dan fraksinasi (misal dengan ultrasonic-assisted extraction atau microwave-assisted extraction) untuk produksi skala besar yang efisien.
7. Eksplorasi Bioaktivitas Lain: Uji potensi aktivitas lain dari senyawa hasil isolasi (seperti antioksidan, antiinflamasi, atau antimikroba terhadap patogen manusia) untuk meningkatkan nilai tambah dan aplikasi lintas bidang.
8. Studi Bioinformatika dan *Docking* Molekuler: Lakukan analisis *in silico* untuk memprediksi interaksi senyawa aktif dengan target molekuler pada jamur patogen atau sel kanker, guna memahami mekanisme aksi dan merancang senyawa turunan yang lebih potensial.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, F., Sijam, K., Omar, D., & Rashid, T. S. (2021). *Antifungal activity of Piper aduncum leaf extracts against Rigidoporus microporus, the white root rot pathogen of rubber tree*. Journal of Phytopathology, 169(11-12), 690-701. <https://doi.org/10.1111/jph.13045>.
- Akthar, M. S., Birhanu, G., & Demisse, S. (2014). Antimicrobial activity of *Piper nigrum* L. and *Cassia didymobotrya* L. leaf extract on selected food borne pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(S2), S911–S919. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60757-X](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60757-X).
- Ali, S., Coombes, R.C. (2021). Estrogen receptor alpha in human breast cancer: occurrence and significance. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 26, 13–23.
- Almeida, R. N., Navarro, D. S., & Barbosa, J. M. (2009). Atividade larvica de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*, 38(6), 828–833.
- Aliogiannis, N., Kalpoutzakis, E., Mitaku, S., & Chinou, I. B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(9), 4168–4170.
- Arif, T., Bhosale, J. D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, G. S., & Dabur, R. (2009). Natural products–antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian Natural Products Research*, 11(7), 621–638.
- Ayoola, G., Coker, H., Adesegun, S., Adepoju-Bello, A., Obaweya, K., Ezennia, E., & Atangbayila, T. (2008). Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019–1024. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v7i3.14686>.
- Azaldin, M. F., Rahman, M. A., & Ahmed, M. U. (2021). Root diseases in rubber plantations: Impact and management strategies. *Journal of Rubber Research*, 24(2), 85–102.
- Bezerra, D. P., Pessoa, C., de Moraes, M. O., Saker-Neto, N., Silveira, E. R., & Costa-Lotufo, L. V. (2013). Overview of the therapeutic potential of piplartine (piperlongumine). *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(3), 453–463.
- Bezerra, D. P., Pessoa, C., de Moraes, M. O., Saker-Neto, N., Silveira, E. R., & Costa-Lotufo, L. V. (2020). Overview of the therapeutic potential of piplartine (piperlongumine). *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 153, 105493.
- Bills, G. F., Platas, G., & Peláez, F. (2000). Antifungal activity of natural and synthetic tetrahydroxylated triterpenoids. *Journal of Antibiotics*, 53(7), 687–695.
- Borges, D. F., Lopes, E. A., Moraes, A. R. F., Soares, M. S., Visôto, L. E., Oliveira, C. R., & Valente, V. M. M. (2022). Formulation of botanicals for the control of plant pathogens: A review. *Crop Protection*, 151, 105821.

- Bussaman, P., Namsena, P., Rattanasena, P., & Chandrapatya, A. (2012). Effect of crude leaf extracts on *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. *Psyche*, 2012, Article ID 309046. <https://doi.org/10.1155/2012/309046>.
- Chanprapai, P., & Chavasiri, W. (2017). Antimicrobial activity from *Piper sarmentosum* Roxb. against rice pathogenic bacteria and fungi. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(11), 2513–2524. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61693-9](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61693-9).
- Chen, Y., Li, W., & Wang, J. (2022). *Metabolomic analysis reveals antifungal compounds in Piper betle against Colletotrichum gloeosporioides*. *Industrial Crops and Products*, 177, 114456. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114456>.
- Chen, Y., & Wang, H. (2020). Antifungal activity of *Piper aduncum* essential oil and its mode of action against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 168, 104643.
- Chen, Y., Wang, J., Yang, N., Wen, Z., Sun, X., Chai, Y., & Ma, Z. (2019). Fitness and competitive ability of *Botrytis cinerea* isolates with resistance to multiple chemical classes of fungicides. *Phytopathology*, 109(10), 1709–1719.
- Cheng, M. J., Lee, S. J., Chang, Y. Y., Wu, S. H., Tsai, I. L., Jayaprakasam, B., & Chen, I. S. (2003). Chemical and cytotoxic constituents from *Peperomia sui*. *Phytochemistry*, 63(5), 603–608. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00183-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00183-3).
- Chiang, K., Liu, H., & Bock, C. H. (2017). A discussion on disease severity index values: warning on inherent errors and suggestions to maximize accuracy. *Annals of Applied Biology*, 171(2), 139–154. <https://doi.org/10.1111/aab.12362>.
- Dabur, R., Gupta, A., Mandal, T. K., Singh, D. D., Bajpai, V., Gurav, A. M., & Lavekar, G. S. (2005). Antimicrobial activity of some Indian medicinal plants. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 4(3), 313–318.
- Da Silva, H. A., Yamaguchi, L. F., Young, M. C. M., Ramos, C. S., Amorim, A. M. A., Kato, M. J., & Batista, R. (2018). Antifungal piperamides from *Piper mollicomum* Kunth (Piperaceae). *Eclética Química*, 43(1), 33–38. <https://doi.org/10.26850/1678-4618eqj.v43.1.33-38>.
- Da Silva, J. K. R., Pinto, L. C., Burbano, R. M. R., Montenegro, R. C., Andrade, E. H. A., & Maia, J. G. S. (2016). Composition and cytotoxic and antioxidant activities of the oil of *Piper aequale* Vahl. *Lipids in Health and Disease*, 15(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0347-8>.
- da Silva, J. K. R., Pinto, L. C., Burbano, R. M. R., Montenegro, R. C., Guimarães, E. F., Andrade, E. H. A., & Maia, J. G. S. (2014). Essential oils of Amazon *Piper* species and their cytotoxic, antifungal, antioxidant and anti-cholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, 58, 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.006>.

- Darmono, T. W., & Suhendra, D. (2020). Penyakit penting pada tanaman karet (*Hevea brasiliensis*) di Indonesia dan strategi pengendaliannya. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 16(6), 207–219.
- de Almeida, G. C., Oliveira, L. F. G., Predes, D., Fokoue, H. H., Kuster, R. M., Oliveira, F. L., & Zancan, P. (2020). Antiproliferative activity of *Piper tuberculatum* Jacq. fruit extract and its main constituent, piplartine, in prostate cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 252, 112580.
- Dissanayake, A. J., Phillips, A. J. L., Li, X. H., & Hyde, K. D. (2020). Botryosphaeriaceae: Current status of genera and species. *Mycosphere*, 7(8), 1001–1073.
- Dodson, C. D., Dyer, L. A., Searcy, J., Wright, Z., & Letourneau, D. K. (2000). Cenocladamide, a dihydropyridone alkaloid from *Piper cenocladum*. *Phytochemistry*, 53, 51–54. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(99\)00446-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(99)00446-X).
- Dognini, J., Meneghetti, E. K., Teske, M. N., Begnini, I. M., Rebelo, R. A., Dalmarco, E. M., De Gasper, A. L. (2012). Antibacterial activity of high safrole contain essential oils from *Piper xylosteoides* (Kunth) Steudel. *Journal of Essential Oil Research*, 24(6), 539–543. <https://doi.org/10.1080/10412905.2012.676768>.
- Dong, X., Lin, D., Luo, Z., et al. (2022). The role of MCF-7 cell line in breast cancer research: A review. *Oncology Letters*, 24(2), 263.
- Drenth, A., & Guest, D. I. (2004). Diversity and Management of *Phytophthora* in Southeast Asia. In *Phytophthora in the tropics* (pp. 30–41). Australian Centre for International Agricultural Research.
- Duraipandiyan, V., & Ignacimuthu, S. (2011). Antifungal activity of traditional medicinal plants from Tamil Nadu, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(SUPPL. 2), S204–S215. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60157-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60157-3).
- Efdi, Mai. (2024). Isolation, Identification And α -glucosidase Inhibition Evaluation Of A Phenolic Compound From *Elaeocarpus Mastersii* King Leaves. E3S Web of Conferences (Vol. 503).
- Eloff, J. N., Katerere, D. R., & McGaw, L. J. (2021). The antifungal activity of twenty-four Southern African *Combretum* species (Combretaceae). *South African Journal of Botany*, 112, 434–438.
- EUCAST. (2022). *Definitive document E.DEF 9.4: Method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for yeasts*. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.
- Fernández, M. S., Padín, P. M., & Vázquez, J. A. (2023). Antifungal activity of plant extracts: A review of the last decade. *Plants*, 12(3), 345.

- Fujii, S., Nishimura, S., & Yoneda, T. (2006). Altitudinal distribution of Fagaceae in West Sumatra. *Tropics*, 15(2), 153–163. <https://doi.org/10.3759/tropics.15.153>.
- Gaia, A. M., Yamaguchi, L. F., & Kato, M. J. (2014). Benzopyrans and amides from *Piper aduncum* and their antifungal activity. *Natural Product Research*, 28(20), 1688–1692.
- Gautam, A. K., Gupta, N., & Narayan, A. (2022). *Colletotrichum gloeosporioides*: Pathogen biology, diversity and management. *Journal of Plant Pathology*, 104(1), 1–17.
- Gomez, L. A., Stashenko, E., & Fuentes, J. L. (2020). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil and various extracts of *Piper auritum* Kunth. *Journal of Essential Oil Research*, 32(1), 45–53.
- Goutelle, S., Maurin, M., Rougier, F., Barbaut, X., Bourguignon, L., Ducher, M., & Maire, P. (2023). The Hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 37(2), 259–271.
- Guerrini, A., Sacchetti, G., Rossi, D., Paganetto, G., Muzzoli, M., Andreotti, E., Bruni, R. (2009). Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27(1), 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.08.002>.
- Gupta, A., & Singh, N. B. (2023). Plant extracts in the management of plant diseases: mechanisms and applications. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 130(1), 1–15.
- Gupta, A., Singh, V. K., & Kumar, A. (2021). *4-Nerolidylcatechol from *Piper aduncum*: A potent antifungal agent against *Colletotrichum* species*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 173, 104777. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104777>.
- Hartemink, A. E. (2010). *The invasive shrub Piper aduncum in Papua New Guinea: A review*. *Journal of Tropical Forest Science*, 22(2), 202–213.
- Heng, T. S., & Joo, G. K. (2017). Rubber. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences*, 3, 402–409. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00175-1>
- Heung, K. M., Chai, T. T., & Wong, F. C. (2008). Antioxidant and tyrosinase inhibition activities of *Piper* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(9), 3037–3042.
- Huang, W. Y., Cai, Y. Z., & Zhang, Y. (2010). Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention. *Nutrition and Cancer*, 62(1), 1–20.
- Hübsch, Z., Van Zyl, R. L., Cock, I. E., & Van Vuuren, S. F. (2014). Interactive antimicrobial and toxicity profiles of conventional antimicrobials with Southern African medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 93, 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.04.005>.

- 1 Matanmi, E., et al. (2019). "Antifungal activity and GC-MS analysis of hexane extract of *Piper aduncum* leaves." *South African Journal of Botany*, 125, 34-41.
- Isman, M. B. (2020). Botanical insecticides in the twenty-first century-fulfilling their promise? *Annual Review of Entomology*, 65, 233–249.
- Jayasinghe, C. K., Fernando, T. H. P. S., & Priyanka, U. M. S. (2023). Integrated disease management for sustainable rubber production. *Crop Protection*, 165, 106168.
- Kang, H., Lee, J.H., Kim, S.J., et al. (2022). Cytotoxic effects of natural flavonoids on human breast cancer MCF-7 cells using MTT assay. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22, 115.
- Kato, M. J., & Furlan, M. (2007). Chemistry and evolution of the Piperaceae. *Pure and Applied Chemistry*, 79(4), 529–538. <https://doi.org/10.1351/pac200779040529>.
- Khan, M., Khan, A. U., & Hasan, M. A. (2021). Antifungal activity of medicinal plant extracts against phytopathogenic fungi: Mechanisms and applications. *European Journal of Plant Pathology*, 159(1), 1–20.
- Krishnan, A., Joseph, L., & Roy, C. B. (2019). An insight into *Hevea* - *Phytophthora* interaction: The story of *Hevea* defense and *Phytophthora* counter defense mediated through molecular signalling. *Current Plant Biology*, 17, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2018.11.009>.
- Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P.D. (2023). Analysis of Cell Viability by the MTT Assay. *Cold Spring Harb Protoc*, 2023(1), pdb.prot102469.
- Kumar, S., Sharma, S., & Rana, S. (2021). Bioactive phenolic compounds from *Piper porphyrophyllum* with antifungal activity against *Corynespora cassiicola*. *Natural Product Research*, 35(8), 1391–1395.
- Kumar, S., Mishra, A., & Pandey, A. K. (2020). Antioxidant mediated protective effect of piperine against benzo[a]pyrene induced cytotoxicity and oxidative stress. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 78, 103385. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103385>.
- Kumar, A., Singh, B., & Singh, K. (2020). Metabolic profiling of *Piper* species using UPLC-ESI-QTOF-MS/MS and multivariate analysis. *Industrial Crops and Products*, 154, 112714.
- Kumar, A., & Sharma, S. (2011). Potential non-edible oil resources as biodiesel feedstock: An Indian perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(4), 1791–1800. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2010.11.020>.
- Kuswinanti, T., Syamsuddin, & Mustari, K. (2022). Kejadian dan intensitas penyakit antraknosa (*Colletotrichum* leaf disease) pada pembibitan karet di Sulawesi Selatan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 18(1), 1–9.

- Lago, G., Chen, A., Claudia, M., Young, M., Oliveira, A. De, Kato, M. J., & Guimara, E. F. (2009). Prenylated benzoic acid derivatives from *Piper aduncum* L. and their antimicrobial activity. *Phytochemistry Letters*, 2, 96–98. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2009.01.001>.
- Lago, J. H. G., & Kato, M. J. (2007). 3 α ,4 α -Epoxy-2-piperidone, a new minor derivative from leaves of *Piper crassinervium* Kunth (Piperaceae). *Natural Product Research*, 21(10), 910–914. <https://doi.org/10.1080/14786410601130711>.
- Lee, H. B., Kim, J. C., & Kim, C. J. (2022). *In vitro* antifungal activity of *Piper* species extracts against *Corynespora cassiicola* isolated from tomato. *The Plant Pathology Journal*, 38(2), 165–172. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.11.2021.0173>.
- Lee, S. J., Kim, J. E., & Park, H. J. (2022). Inhibition of appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides* by *Piper betle* extract. *Plant Pathology Journal*, 38(3), 218–225.
- Lee, S. E., Park, B. S., Kim, M. K., Choi, W. S., Kim, H. T., Cho, K. Y., Lee, H. S. (2001). Fungicidal activity of pipernonaline, a piperidine alkaloid derived from long pepper, *Piper longum* L., against phytopathogenic fungi. *Crop Protection*, 20(6), 523–528. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00172-1](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00172-1).
- Liu, X., Ouyang, C., Wang, Q., Li, Y., Yan, D., Yang, D., Guo, M. (2017). Effects of oil extracts of *Eupatorium adenophorum* on *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 140, 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.06.012>.
- Lopes, J. J., Marx, C., Ingrassia, R., Picada, J. N., Pereira, P., & de Barros Falcão Ferraz, A. (2012). Neurobehavioral and toxicological activities of two potentially CNS-acting medicinal plants of *Piper* genus. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(1–2), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.05.012>.
- Martinez, A. T., Ruiz-Dueñas, F. J., & Camarero, S. (2020). Biodegradation of botanical fungicides in soil: A review. *Science of The Total Environment*, 703, 134947.
- Marques, J. V., Oliveira, D. F., & Carvalho, D. A. (2020). *Chemical composition and antifungal activity of Piper aduncum* essential oil and fractions against *Ceratocystis fimbriata*. *Natural Product Research*, 34(15), 2195–2199. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1587428>.
- Mgbeahuruike, E. E., Yrjönen, T., Vuorela, H., & Holm, Y. (2021). Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on *Piper* species. *South African Journal of Botany*, 142, 54–69.
- Mohammed, C. L., Rimbawanto, A., & Page, D. E. (2014). Management of basidiomycete root- and stem-rot diseases in oil palm, rubber and tropical hardwood plantation crops. *Forest Pathology*, 44(6), 428–446. <https://doi.org/10.1111/efp.12140>.

- Mohd, M. H., Sariah, M., & Zainal Abidin, M. A. (2021). *Ganoderma* species associated with basal stem rot of oil palm and rubber in Malaysia. *Journal of Oil Palm Research*, 33(1), 132–142.
- Moghaddam, G., Ebrahimi, S. A., Rahbar-Roshandel, N., & Foroumadi, A. (2015). Antiproliferative activity of flavonoids: Influence of the sequential methoxylation state of the flavonoid structure. *Phytotherapy Research*, 29(4), 513–522.
- Morandim-Giannetti, A. A., Pin, A. R., Pietro, N. A. S., Oliveira, H. C., Mendes-Giannini, M. J. S., Alecio, A. C., ... Furlan, M. (2010). Composition and antifungal activity against *Cryptococcus neoformans* and *Candida* spp. of the essential oil from *Piper aduncum* L. *Journal of Medicinal Food*, 13(6), 1491–1495.
- Moshi, A. P., & Matoju, I. (2017). The status of research on and application of biopesticides in Tanzania. Review. *Crop Protection*, 92, 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.10.008>.
- Muharini, R., Liu, Z., Lin, W., & Proksch, P. (2015). New amides from the fruits of *Piper retrofractum*. *Tetrahedron Letters*, 56(19), 2521–2525. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2015.03.116>
- Munawaroh, E., Astuti, I. P., & Sumanto. (2011). Studi keanekaragaman dan potensi suku piperaceae di sumatera barat. *Berkala Penelitian Hayati*, 5A, 35–40.
- Mutiarasari, D., Budiarto, B. R., & Purnobasuki, H. (2021). Antifungal activity of *Piper aduncum* leaf extract against *Fusarium oxysporum* and its effect on ergosterol biosynthesis. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(3), 789–798.
- Nascimento, J. C., Paula, J. R., & Costa, E. A. (2012). *Antifungal activity of Piper aduncum extracts and fractions against dermatophytes*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 22(5), 1027–1033. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000083>.
- Nandris, D., Nicole, M., & Geiger, J. P. (1987). Root Rot Diseases of Rubber Tree. *Institut Francais de Recherche Scientifique Pour Le Developpement En Cooperation*, (4).
- Narasimhan, B., & Dhake, A. S. (2006). Antibacterial principles from *Myristica fragrans* seeds. *Journal of Medicinal Food*, 9(3), 395–399.
- Navickiene, H. M. D., Alécio, A. C., Kato, M. J., Bolzani, V. D. S., Young, M. C. M., Cavaleiro, A. J., & Furlan, M. (2000). Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, 55(6), 621–626. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00226-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00226-0).
- Nordin, M. A. F., Wan Harun, W. H. A., Razak, F. A., & Musa, M. Y. (2014). Growth inhibitory response and ultrastructural modification of oral-associated candidal reference strains (ATCC) by *Piper betle* L. extract. *International Journal of Oral Science*, 6(1), 15–21. <https://doi.org/10.1038/ijos.2013.97>.

- Nugroho, A. E., Malik, A., & Pramono, S. (2020). Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of *Piper porphyrophyllum* N.E. Br. extracts. *Pharmacognosy Journal*, 12(6), 1365–1370.
- Ogbebor, N. O., Adekunle, A. T., Eghafona, N. O., & Ikponmwosa, A. (2015). *In vitro* and *in vivo* synthetic fungicides control of *Rigidoporus microporus* on Para rubber in Nigeria. *Journal of Crop Protection*, 4(4), 477–485.
- Ogbemudia, F. O., & Thompson, A. R. (2014). Phytochemical screening and antifungal activity of leaf extracts of *Piper guineense* Schumacher & Thonn. against *Candida albicans*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(12), 1059–1066.
- Oghenekaro, A. O., Kovalchuk, A., Raffaello, T., Camarero, S., Gressler, M., Henrissat, B., Asiegbu, F. O. (2020). Genome sequencing of *Rigidoporus microporus* provides insights on genes important for wood decay, latex tolerance and interspecific fungal interactions. *Scientific Reports*, 10(1), Article 5250. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62150-4>.
- Okigbo, R. N., & Mmeka, E. C. (2006). An appraisal of phytomedicine in Africa. *KMITL Science and Technology Journal*, 6(2), 83–94.
- Onokpise, O., & Louime, C. (2012). The potential of the South American leaf blight as a biological agent. *Sustainability*, 4(11), 3151–3157. <https://doi.org/10.3390/su4113151>.
- Orjala, J., Erdelmeier, C. A. J., Wright, A. D., Rali, T., & Sticher, O. (1989). Dillapiol derivatives from *Piper aduncum*. *Phytochemistry*, 28(9), 2399–2402.
- Pacheco, A. G., de Araújo, M. H., da Silva, J. K. R., & Maia, J. G. S. (2016). Chemical composition and biological activities of essential oils from *Piper aduncum* L. growing in the Brazilian Amazon. *Journal of Essential Oil Research*, 28(4), 303–309.
- Parra, J. E., Delgado, W. A., & Cuca, L. E. (2011). Cumanensic acid, a new chromene isolated from *Piper cf. cumanense* Kunth. (Piperaceae). *Phytochemistry Letters*, 4(3), 280–282. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.04.015>.
- Parmar, V. S., Jain, S. C., Bisht, K. S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Boll, P. M. (1997). Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*, 46(4), 597–673. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00328-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00328-2).
- Parmar, V. S., Sharma, S., Singh, S., & Kumar, A. (2022). Anticancer potential of piperine: A comprehensive review. *Life Sciences*, 302, 120661.
- Pauli, A., & Kubeczka, K. H. (2010). *Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy*. John Wiley & Sons.
- Pineda, J. B., Rojas, E. B., & Espinoza, A. M. (2012). Antifungal activity of *Piper* extracts against *Colletotrichum* species. *Agronomía Mesoamericana*, 23(1), 153–161.

- Prakash, B., Singh, P., Mishra, P. K., & Dubey, N. K. (2010). *Safety assessment of Zanthoxylum alatum Roxb. essential oil, its antifungal, antiaflatoxin, and antioxidant activity*. International Journal of Food Microbiology, 153(1-2), 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.10.021>.
- Priyadarshan, P. M. (2003). Contributions of weather variables for specific adaptation of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell.-Arg) clones. *Genetics and Molecular Biology*, 26(4), 435-440. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572003000400006>.
- Radwan, M. M., Tabanca, N., Wedge, D. E., Tarawneh, A. H., & Cutler, S. J. (2014). Antifungal compounds from turmeric and nutmeg with activity against plant pathogens. *Fitoterapia*, 99(1), 341-346. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2014.08.021>.
- Rahman, M. A., Uddin, M. J., & Alim, M. A. (2023). *Piperaduncin E, a new antifungal amide from Piper aduncum against Rigidoporus microporus*. *Phytochemistry Letters*, 53, 85-91. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2022.11.007>.
- Rather, R. A., & Bhagat, M. (2018). Cancer chemoprevention and piperine: Molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 6, 10.
- Rattan, R. S., & Nair, K. S. S. (2015). Biology and control of *Rigidoporus microporus*, the cause of white root rot disease of rubber. *Journal of Rubber Research*, 18(2), 67-86.
- Regasini, L. O., Cotinguiba, F., Morandim, A. D. A., Kato, M. J., Scorzoni, L., Mendes-Giannini, M. J., ... Furlan, M. (2009). Antimicrobial activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae) against opportunistic yeasts. *African Journal of Biotechnology*, 8(12), 2866-2870. <https://doi.org/10.4314/ajb.v8i12.60928>.
- Reigada, J. B., Tcacenco, C. M., Andrade, L. H., Kato, M. J., Porto, A. L. M., & Lago, J. H. G. (2007). Chemical constituents from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae)-antifungal activities and kinetic resolution of (RS)-marginatumol by *Candida antarctica* lipase (Novozym 435). *Tetrahedron Asymmetry*, 18(9), 1054-1058. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2007.05.006>.
- Ríos, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 80-84.
- Rodrigues, E. R., Nogueira, N. G. P., Zocolo, G. J., Leite, F. S., Januario, A. H., Fusco-Almeida, A. M., ... Pietro, R. C. L. R. (2012). *Pothomorphe umbellata*: Antifungal activity against strains of *Trichophyton rubrum*. *Journal de Mycologie Medicale*, 22(3), 265-269. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2012.05.005>.
- Rodriguez, M. L., Cartagena, C., & Cardona, W. (2022). Phytochemical profile and antifungal activity of *Piper* spp. extracts obtained with different solvents. *Industrial Crops and Products*, 176, 114363.

- Roh, J. S. (2020). Piperlongumine, a potent anticancer agent: Perspectives on contemporary strategies for improving its bioavailability. *Pharmaceutics*, 12(10), 939.
- Roslan, A., & Idris, A. S. (2018). *Ganoderma* species associated with basal stem rot of oil palm in Malaysia. *Journal of Oil Palm Research*, 30(3), 403–414.
- Rukayadi, Y., & Hwang, J. K. (2022). Recent advances in antimicrobial compounds from *Piper* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 283, 114676.
- Salehi, B., Zakaria, Z. A., Gyawali, R., Ibrahim, S. A., Rajkovic, J., Shinwari, Z. K., ... Setzer, W. N. (2019). *Piper* species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. *Molecules*, 24(7), 1364.
- Salleh, W. M. N. H. W., Ahmad, F., Yen, K. H., & Sirat, H. M. (2011). Chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of *Piper caninum* Blume. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(11), 7720–7731. <https://doi.org/10.3390/ijms12117720>.
- Salleh, W. M. N. H. W., Ahmad, F., Yen, K. H., & Sirat, H. M. (2014). Tyrosinase inhibition and antioxidant activities of *Piper porphyrophyllum* N.E. Br. extracts. *Pharmacognosy Journal*, 6(1), 36–40.
- Salleh, W. M. N. H. W., Ahmad, F., Yen, K. H., & Sirat, H. M. (2012). Chemical compositions and antimicrobial activities of the essential oils of *Piper porphyrophyllum* (Lindl.) N.E. Br. *Journal of Essential Oil Research*, 24(4), 369–373.
- Santos, P. R. D., Moreira, D. L., Guimarães, E. F., & Kaplan, M. A. C. (2013). Essential oil analysis of four *Piper* species from the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Essential Oil Research*, 25(3), 203–208.
- Scott, I. M., Jensen, H. R., Philogène, B. J. R., & Arnason, J. T. (2021). A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochemistry Reviews*, 20(1), 245–292.
- Scott, I. M., Jensen, H. R., Philogène, B. J., & Arnason, J. T. (2005). A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochemistry Reviews*, 4(2-3), 143-153. <https://doi.org/10.1007/s11101-005-2487-5>.
- Sepúlveda, L., Ascacio, A., Rodríguez-Herrera, R., Aguilera-Carbó, A., & Aguilar, C. N. (2003). Ellagic acid: Biological properties and biotechnological development for production processes. *African Journal of Biotechnology*, 10(22), 4518–4523.
- Shaikh, J., Ankola, D. D., Beniwal, V., Singh, D., & Kumar, M. N. V. R. (2021). Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(3–4), 223–230.

- Sharma, A., Gupta, P., & Prerna, P. (2019). *Antifungal activity of selected medicinal plants against Colletotrichum gloeosporioides*. Journal of Plant Pathology, 101(3), 523–531. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-00226-x>.
- Sharma, N., & Tripathi, A. (2008). Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological Research*, 163(3), 337–344.
- Silva, J., Souza, P. E., & Monteiro, F. P. (2014). Antifungal activity using medicinal plant extracts against pathogens of coffee tree. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 16(3), 539–544.
- Silva, J. K. R., Figueiredo, P. L. B., Byler, K. G., & Setzer, W. N. (2020). Antifungal activity of *Piper* essential oils against post-harvest phytopathogenic fungi. *Food Chemistry*, 289, 403–410.
- Silva, J. K. R., Figueiredo, P. L. B., Byler, K. G., & Setzer, W. N. (2023). Dose-response modeling in plant pathology: a review. *Phytopathology*, 113(2), 175–187.
- Silva, R. F., Rabi, J. A., & Kato, M. J. (2019). Eupomatenoid-5 induces apoptosis in human breast cancer cells via mitochondrial pathway. **Chemico-Biological Interactions*, 304*, 139–147.
- Singburaudom, N. (2015). Hydroxychavicol from *Piper betle* leaves is an antifungal activity against plant pathogenic fungi. *Journal of Biopesticides*, 8(2), 82–92.
- Singh, S., Kumar, R., & Giri, B. S. (2020). *Piperine: A comprehensive review of pre-clinical and clinical investigations*. Current Pharmacology Reports, 6(5), 300–309. <https://doi.org/10.1007/s40495-020-00234-5>.
- Singha, I. M., Kakoty, Y., Unni, B. G., & Das, J. (2011). Control of *Fusarium* wilt of tomato by *Piper betle* L. leaf extract. *Journal of Agricultural Technology*, 7(4), 1015–1027.
- Siri-udom, S., Suwannarach, N., & Lumyong, S. (2016). Applications of volatile compounds acquired from *Muscodor heveae* against white root rot disease in rubber trees (*Hevea brasiliensis* Müll. Arg.) and relevant allelopathy effects. *Fungal Biology*, 121(6–7), 573–581.
- Subik, K., Lee, J.F., Baxter, L., Strzepek, T., Costello, D., Crowley, P., et al. (2010). The Expression Patterns of ER, PR, HER2, CK5/6, EGFR, Ki-67 and AR by Immunohistochemical Analysis in Breast Cancer Cell Lines. *Breast Cancer (Auckl)*, 4, 35–41.
- Suffness, M., & Pezzuto, J. M. (1990). Assays related to cancer drug discovery. In *Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity* (Vol. 6, pp. 71–133). Academic Press.
- Sugden, A., Fahrenkamp-Uppenbrink, J., Malakoff, D., & Vignieri, S. (2015). Forest health in a changing world. *Science*, 349(6250), 800–801. <https://doi.org/10.1126/science.aac8899>.

- Tabopda, T. K., Ngoupayo, J., Liu, J., Mitaine-Offer, A. C., Tanoli, S. A. K., Khan, S. N., ... Luu, B. (2008). Bioactive aristolactams from *Piper umbellatum*. *Phytochemistry*, 69(8), 1726–1731. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.02.018>
- Takooree, H., Aumeeruddy, M. Z., Rengasamy, K. R. R., Venugopala, K. N., Jeewon, R., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2019). A systematic review on black pepper (*Piper nigrum* L.): from folk uses to pharmacological applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(sup1), S210–S243.
- Tanaka, H., Tamai, K., & Futai, K. (2023). Membrane lipid composition and sensitivity to antifungal agents in *Rigidoporus microporus*. *Mycological Progress*, 22(2), Article 18.
- Tangarife-Castaño, V., Correa-Royero, J. B., Roa-Linares, V. C., Pino-Benitez, N., Betancur-Galvis, L. A., Durán, D. C., ... Mesa-Arango, A. C. (2014). Anti-dermatophyte, anti-*Fusarium* and cytotoxic activity of essential oils and plant extracts of *Piper* genus. *Journal of Essential Oil Research*, 26(3), 221–227. <https://doi.org/10.1080/10412905.2014.882279>.
- Teale, S. A., & Castello, J. D. (2011). Regulators and terminators: The importance of biotic factors to a healthy forest. In *Forest Health: An Integrated Perspective* (pp. 71–88). Cambridge University Press.
- Teoh, Y. P., Don, M. M., & Ujang, S. (2022). Inhibition of ligninolytic enzymes by plant extracts in *Rigidoporus microporus*. *Forest Pathology*, 52(1), e12734. <https://doi.org/10.1111/efp.12734>.
- Thind, T. S., & Schilder, A. C. (2014). Fungicide resistance in *Colletotrichum* spp. causing anthracnose on fruit crops. In *Fungicide Resistance in Crop Protection: Risk and Management* (pp. 168–185). CABI.
- Trindade, F. T. T., Stabeli, R. G., Facundo, V. A., Cardoso, C. T., da Silva, M. A., Gil, L. H. S., ... e Silva, A. de A. (2012). Evaluation of larvicidal activity of the methanolic extracts of *Piper alatabaccum* branches and *P. tuberculatum* leaves and compounds isolated against *Anopheles darlingi*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 22(5), 979–984. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000039>.
- Valadares, A. C. F., Alves, C. C. F., Alves, J. M., DE DEUS, I. P. B., DE OLIVEIRA FILHO, J. G., Dos Santos, T. C. L., ... Miranda, M. L. D. (2018). Essential oils from *Piper aduncum* inflorescences and leaves: Chemical composition and antifungal activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 90(3), 2691–2699. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820180033>.
- Van Lierop, P., Lindquist, E., Sathyapala, S., & Franceschini, G. (2015). Global forest area disturbance from fire, insect pests, diseases and severe weather events. *Forest Ecology and Management*, 352, 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.06.010>.
- Vila, R., Tomi, F., Santana, A. I., Gupta, M. P., & Cañigüeral, S. (2005). Chemical composition of the essential oil from the leaves of *Piper aduncum* L. from Panama. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(6), 613–616.

- Wang, X., et al. (2023). Advances in understanding fungal cell wall biosynthesis and its role in antifungal drug discovery. *Journal of Fungi*, 9(4), 481.
- Wang, Y., Zhang, X., & Li, J. (2023). Mechanism of action of plant-derived antifungal compounds against fungal membrane and cell wall. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 189, 105298.
- Wang, L., Zhang, Y., & Chen, J. (2023). *Antifungal mechanism of piperlongumine against Alternaria alternata by inducing oxidative stress and apoptosis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 190, 105322. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105322>.
- Wang, Y., Zhang, X., & Li, J. (2022). Synergistic antifungal effects of plant essential oils and synthetic fungicides against postharvest pathogens. *Postharvest Biology and Technology*, 183, 111751.
- Wang, X., Zhang, Y., & Li, J. (2019). Degradation kinetics of antifungal compounds from medicinal plants and their impact on fungal growth. *Journal of Applied Microbiology*, 127(5), 1441–1452.
- Wang, Y. H., Morris-Natschke, S. L., Yang, J., Niu, H. M., Long, C. L., & Lee, K. H. (2014). Anticancer Principles from Medicinal Piper (胡椒 Hú Jiāo) Plants. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 4(1), 8–16. <https://doi.org/10.4103/2225-4110.124811>.
- Wiar, C., Martin, M. T., Awang, K., & Rahmani, M. (2004). Antifungal activity of *Piper porphyrophyllum* N.E. Br. *Phytotherapy Research*, 18(5), 429–430.
- Wingfield, M. J., Brockerhoff, E. G., Wingfield, B. D., & Slippers, B. (2015). Planted forest health: The need for a global strategy. *Science*, 349(6250), 832–836. <https://doi.org/10.1126/science.aac6674>.
- Xu, W. H., & Li, X. C. (2011). Antifungal Compounds from Piper Species. *Current Bioactive Compounds*, 7(4), 262–267. <https://doi.org/10.2174/157340711798375822>.
- Yadav, V., Krishnan, A., & Vohora, D. (2020). A systematic review on *Piper longum* L.: Bridging traditional knowledge and pharmacological evidence for future translational research. *Journal of Ethnopharmacology*, 247, 112255. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112255>.
- Zarins, I., Daugavietis, M., & Halimona, J. (2009). Biological activity of plant extracts and their application as ecologically harmless biopesticide. *Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture*, 28(3), 269–280.
- Zaynab, M., Fatima, M., Abbas, S., Sharif, Y., Umair, M., Zafar, M. H., & Bahadar, K. (2018). Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124, 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.034>.

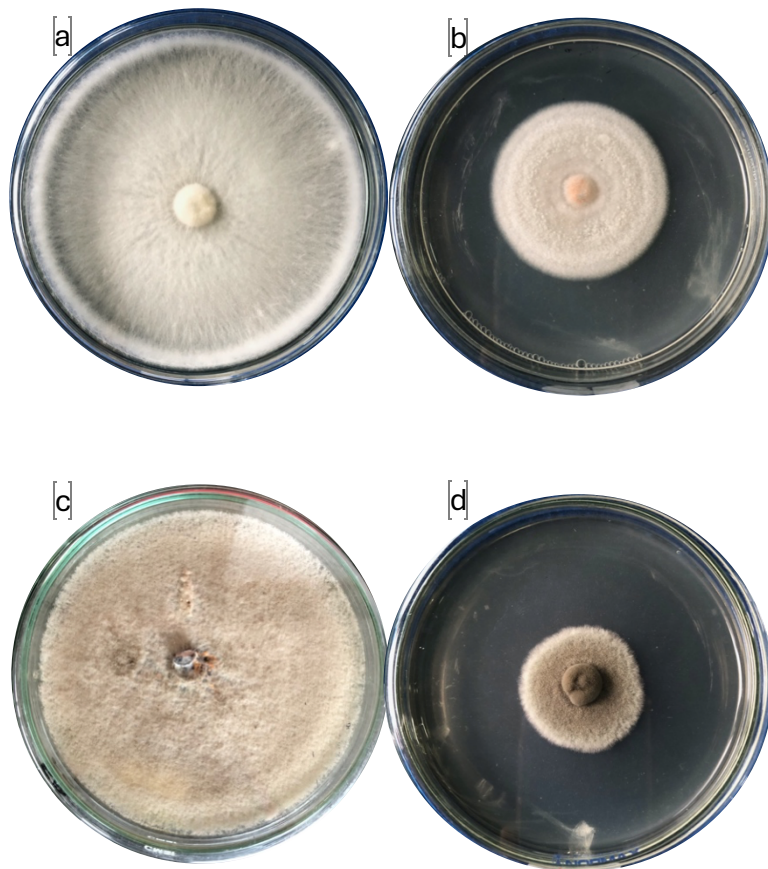
- Zhang, C., Chen, Y., & Li, Y. (2021). *Resistance risk assessment for Corynespora cassiicola to benzimidazole fungicides*. *Plant Disease*, 105(4), 902-909. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-20-1541-RE>.
- Zhang, Y., Li, H., Zhang, J., Wang, H., & Liu, Y. (2021). Antifungal mechanism of plant essential oils: A review. *Industrial Crops and Products*, 171, 113981.
- Zhao, J., Zhang, Y., & Li, X. (2021). Anticancer amides from *Piper retrofractum*: Isolation, structural elucidation and biological evaluation. *Bioorganic Chemistry*, 107, 104590.
- Zhou, Y., Li, Y., Wang, K., et al. (2022). Natural polyphenols for prevention and treatment of cancer. *Nutrients*, 14(2), 414.
- Zhou, X., Li, G., & Xu, J. R. (2019). Efficient approaches for screening pathogenicity genes in *Ceratocystis fimbriata*. *Journal of Fungi*, 5(2), 41.

LAMPIRAN**Lampiran 1. Dokumentasi Foto Koleksi dan Identifikasi Piperaceae**

Gambar 1. Koleksi dan Identifikasi Tumbuhan Piperaceae di HPPB

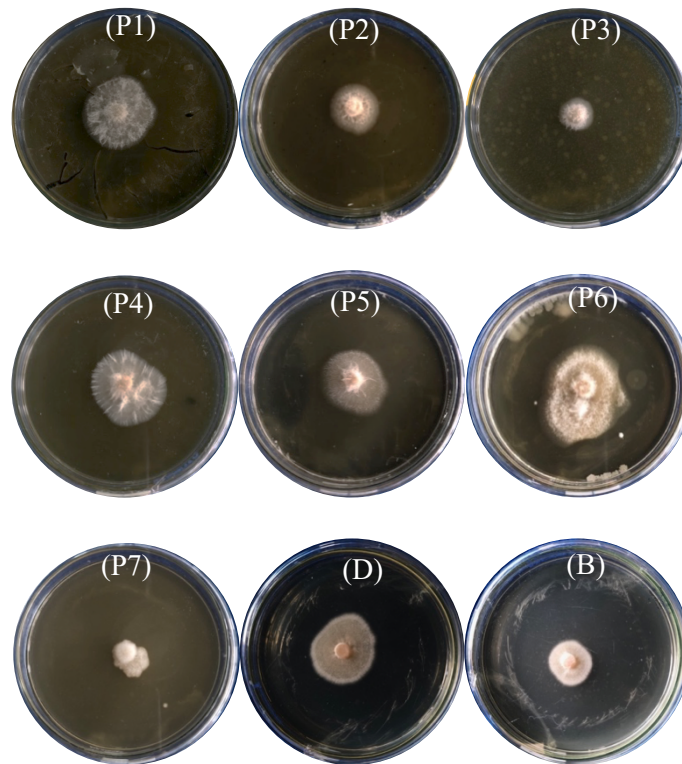
Lampiran 2. Dokumentasi Foto Ekstraksi, Fraksinasi dan Isolasi Senyawa Piperaceae

Gambar 2. Ekstraksi, Fraksinasi dan Isolasi Senyawa Tumbuhan Piperaceae

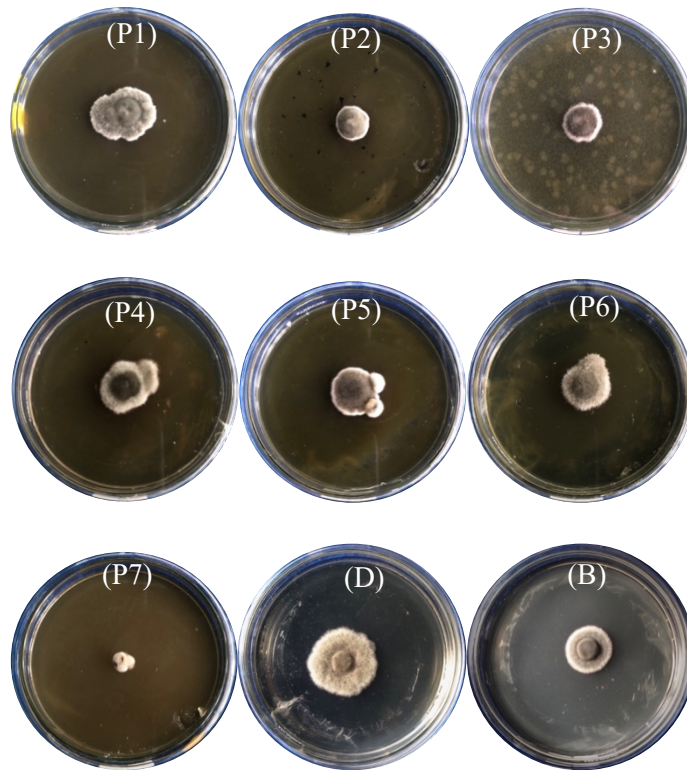
Lampiran 3. Isolat Jamur Patogen Tanaman Karet

Gambar 3. Jamur patogen tanaman karet; *Rigidoporus microporus* (a), *Ceratocystis fimbriata* (b), *Colletotrichum gloeosporioides* (c), *Corynespora cassiicola* (d), Isolat Pusat Penelitian Karet, Sembawa, Palembang.

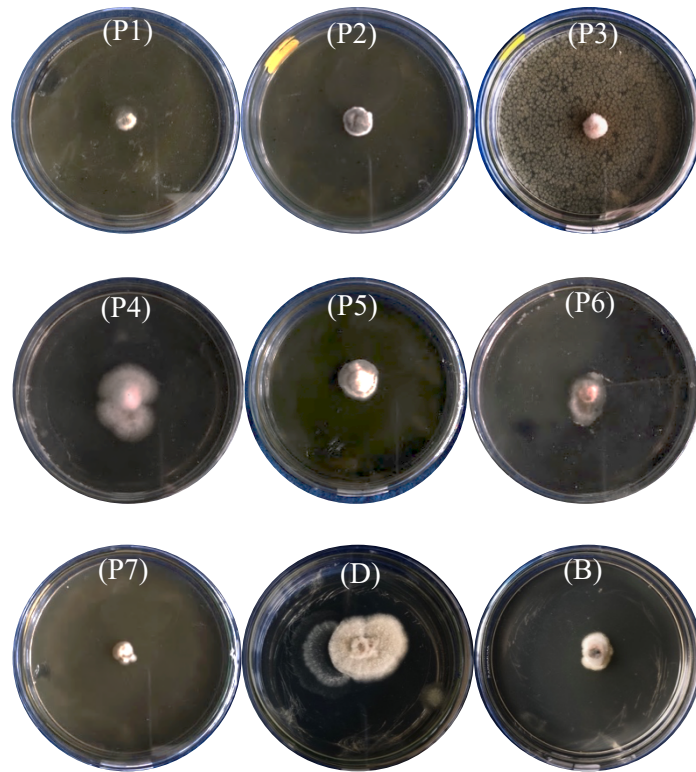
Lampiran 4. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol Piperaceae



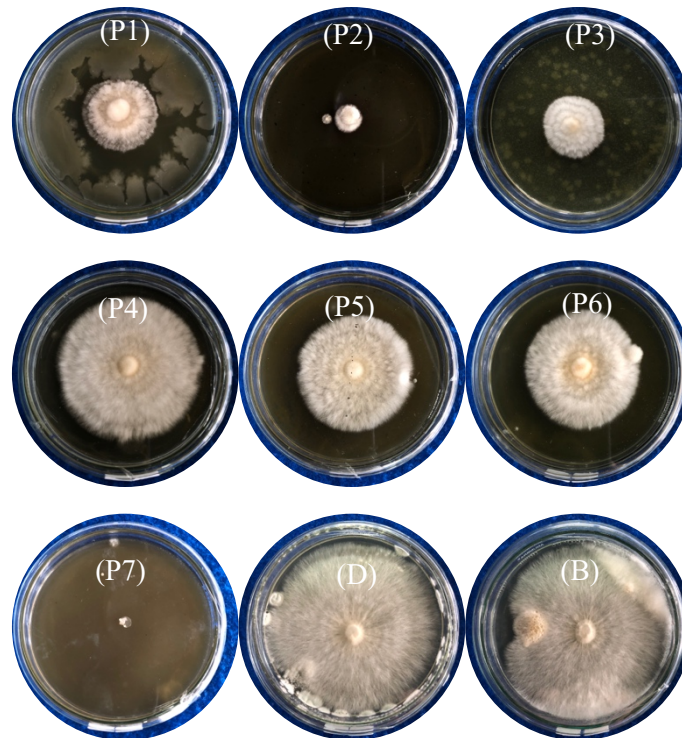
Gambar 4. Pertumbuhan *Ceratocystis fimbriata* di keberadaan ekstrak metanol dari *Piper* sp. (section *Muldera*) (P1), *P. cf. betle* L. (P2), *P. porphyrophyllum* (P3), *P. cf. ribesoides* Wall. (P4), *P. cilibracteum* C. DC. (P5), *P. curtisii* C. DC. (P6), dan *P. aduncum* L (P7). diamati setelah 5 hari inkubasi dengan 2,5 mg/ml konsentrasi ekstrak. DMSO (1%) (D) dan Benomyl (B) masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dan positif.



Gambar 5. Pertumbuhan *Corynespora asiicola* di keberadaan ekstrak metanol dari *Piper* sp. (section *Muldera*) (P1), *P. cf. betle* L. (P2), *P. porphyrophyllum* (P3), *P. cf. ribesioides* Wall. (P4), *P. cilibracteum* C. DC. (P5), *P. curtisii* C. DC. (P6), dan *P. aduncum* L (P7). diamati setelah 5 hari inkubasi dengan 2,5 mg/ml konsentrasi ekstrak. DMSO (1%) (D) dan Benomyl (B) masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dan positif.

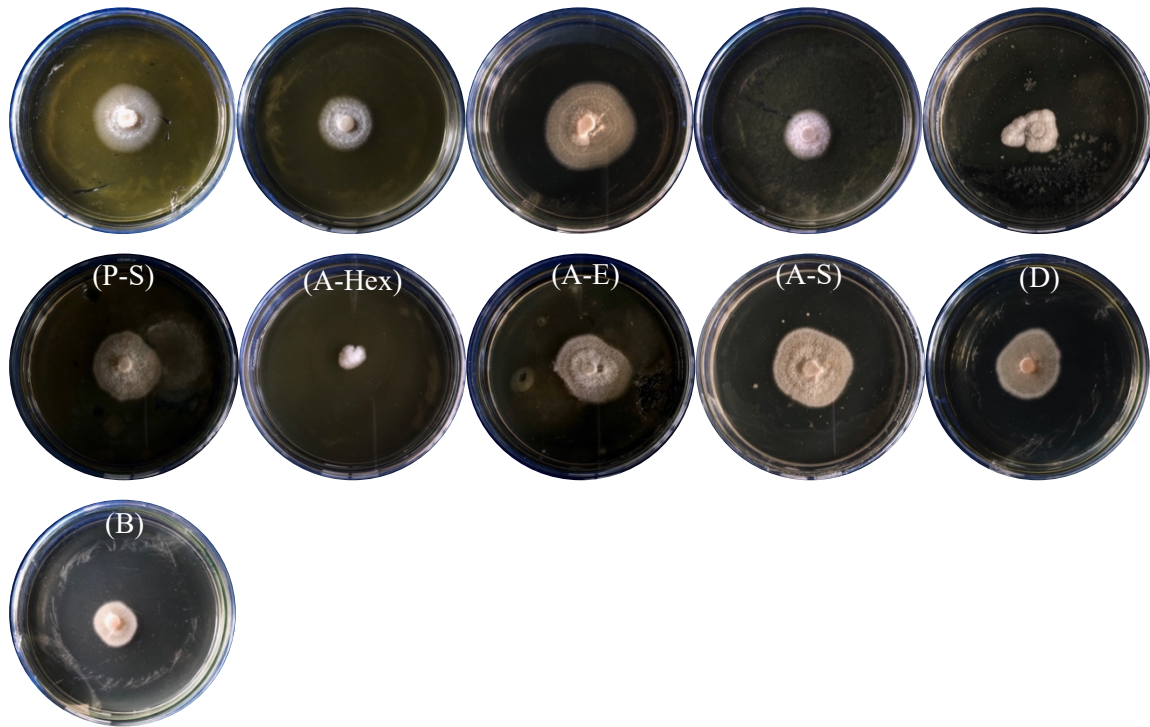


Gambar 6. Pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* di keberadaan ekstrak metanol dari *Piper* sp. (section *Muldera*) (P1), *P. cf. betle* L. (P2), *P. porphyrophyllum* (P3), *P. cf. ribesioides* Wall. (P4), *P. cilibracteum* C. DC. (P5), *P. curtisii* C. DC. (P6), dan *P. aduncum* L (P7). diamati setelah 5 hari inkubasi dengan 2,5 mg/ml konsentrasi ekstrak. DMSO (1%) (D) dan Benomyl (B) masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dan positif.

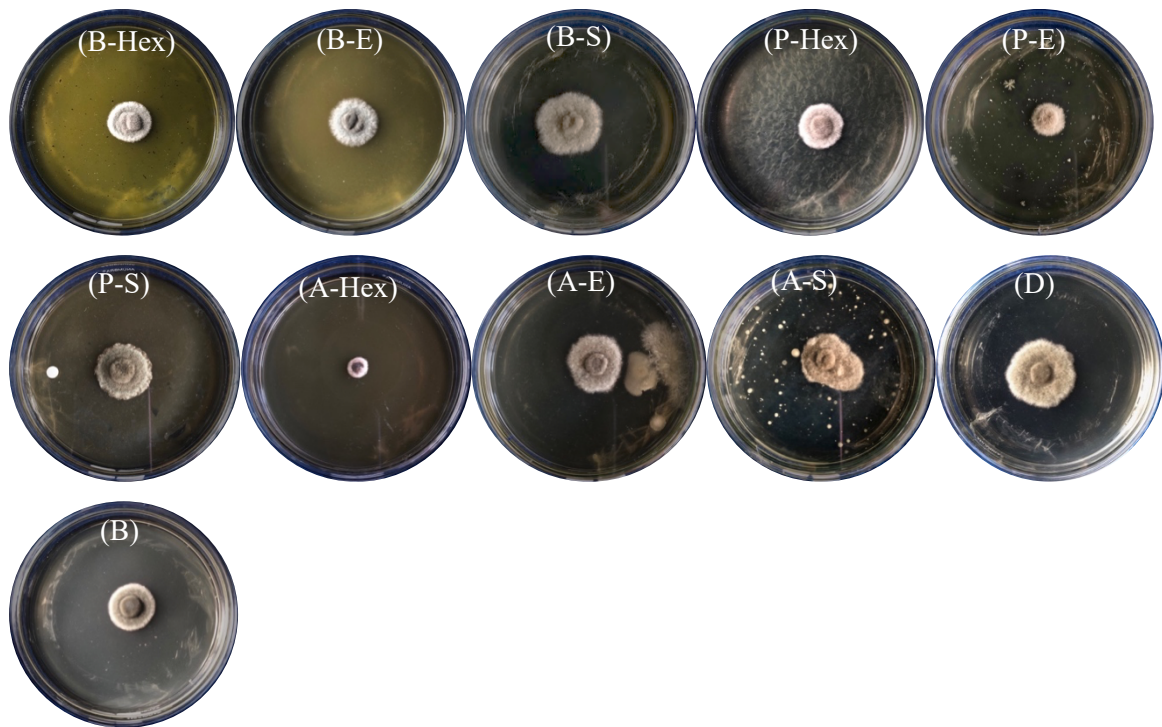


Gambar 7. Pertumbuhan *Rigidoporus microporus* di keberadaan ekstrak metanol dari *Piper* sp. (section *Muldera*) (P1), *P. cf. betle* L. (P2), *P. porphyrophyllum* (P3), *P. cf. ribesoides* Wall. (P4), *P. cilibracteum* C. DC. (P5), *P. curtisii* C. DC. (P6), dan *P. aduncum* L (P7). diamati setelah 5 hari inkubasi dengan 2,5 mg/ml konsentrasi ekstrak. DMSO (1%) (D) dan Benomyl (B) masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dan positif.

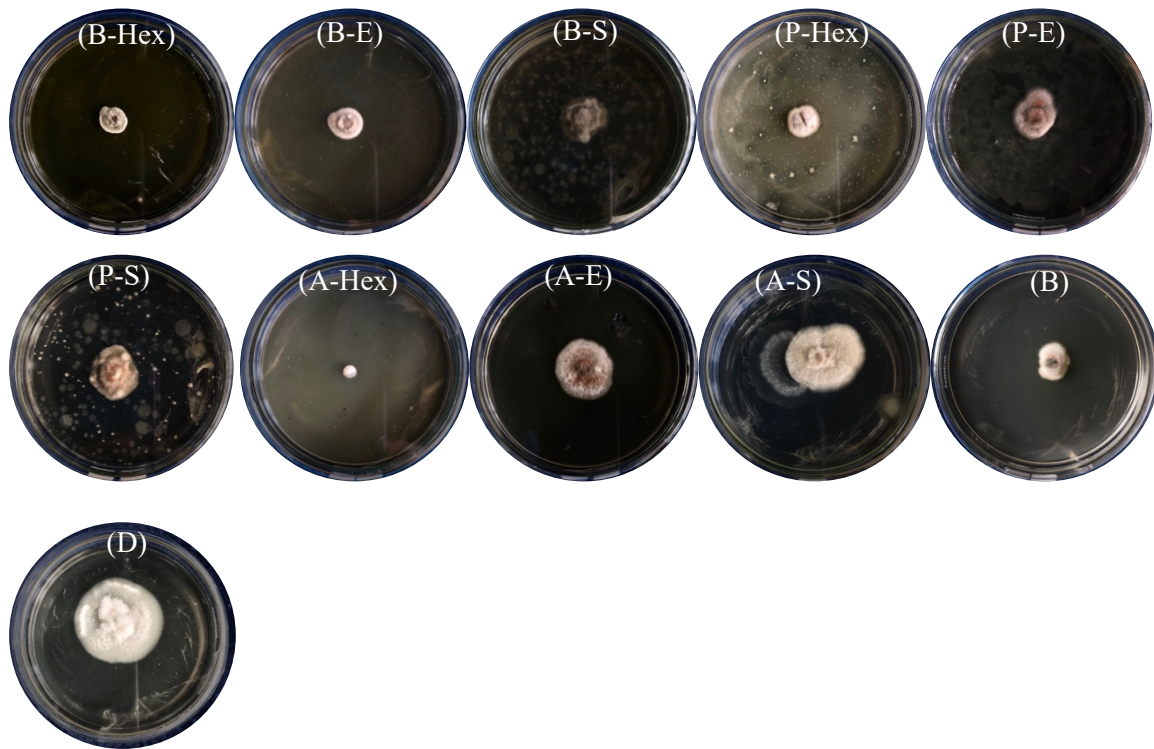
Lampiran 5. Uji Antijamur Fraksi Piper



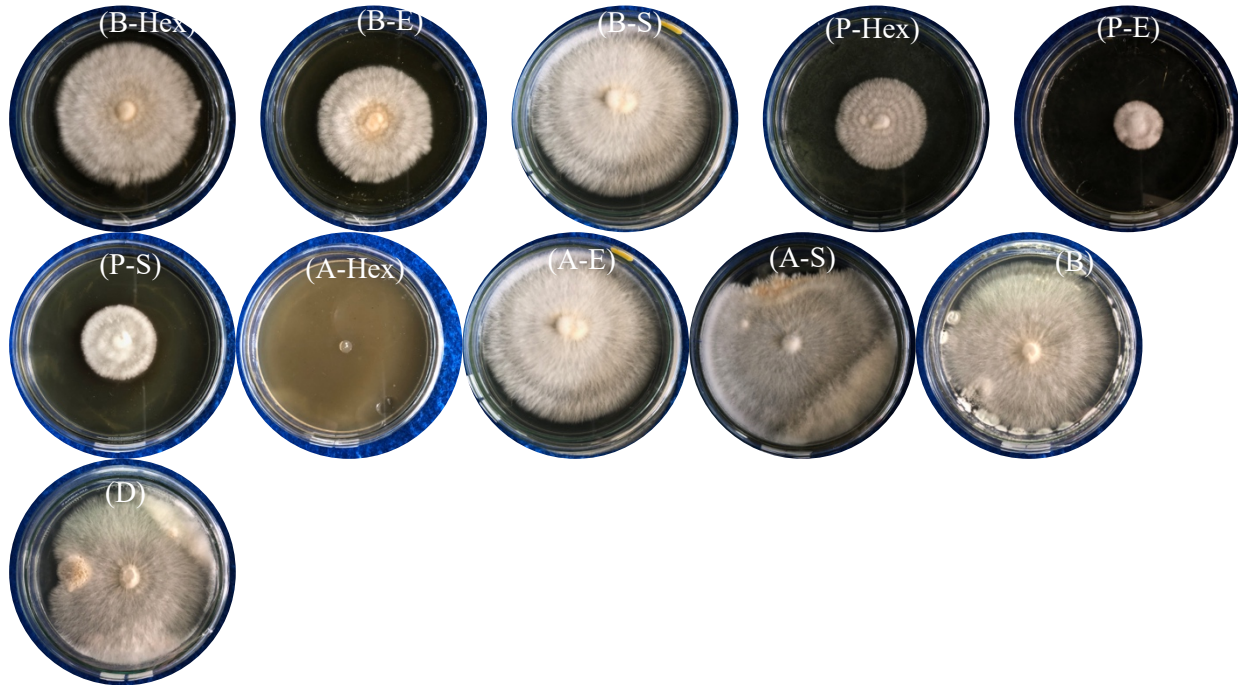
Gambar 8. Pertumbuhan *Ceratocystis fimbriata* di keberadaan fraksi dari tiga spesies *Piper* (*P. aduncum*, *P. betle*, *P. porphyrophyllum*) dan kontrol positif Benomyl setelah 5 hari inkubasi. Kode: A = *P. aduncum*, B = *P. betle*, P = *P. porphyrophyllum*; Hex = fraksi heksana, E = fraksi etil asetat, S = fraksi sisa.



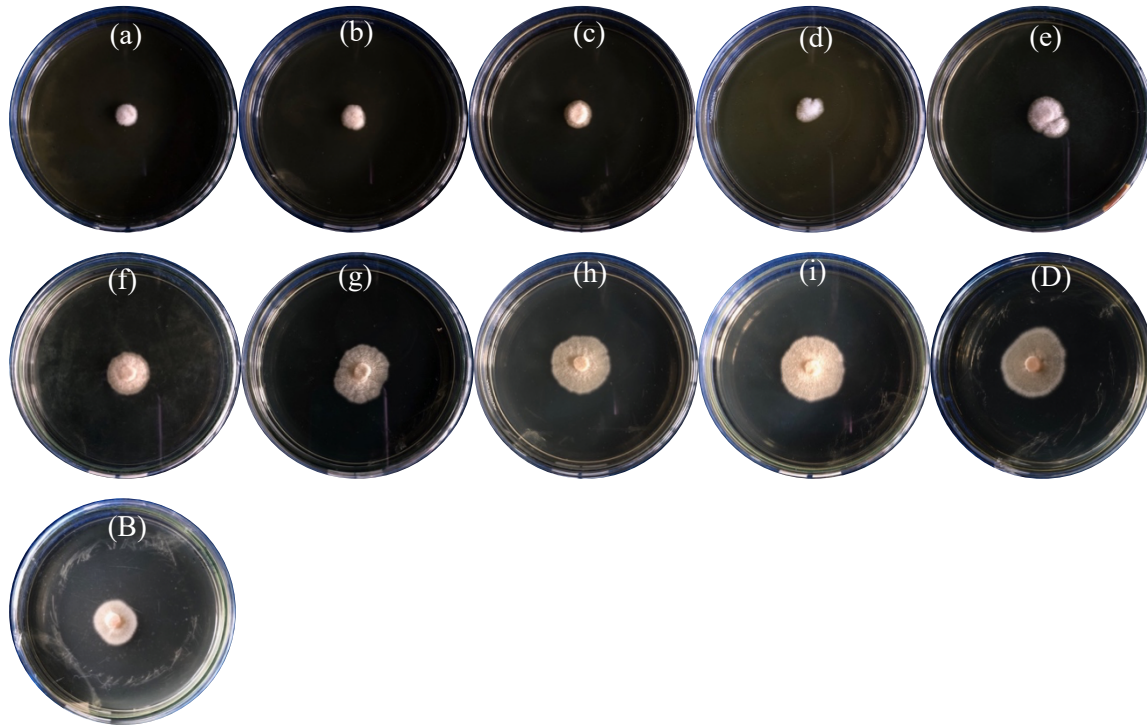
Gambar 9. Pertumbuhan *Corynespora asiicola* di keberadaan fraksi dari tiga spesies *Piper* (*P. aduncum*, *P. betle*, *P. porphyrophyllum*) dan kontrol positif Benomyl setelah 5 hari inkubasi. Kode: A = *P. aduncum*, B = *P. betle*, P = *P. porphyrophyllum*; Hex = fraksi heksana, E = fraksi etil asetat, S = fraksi sisa.



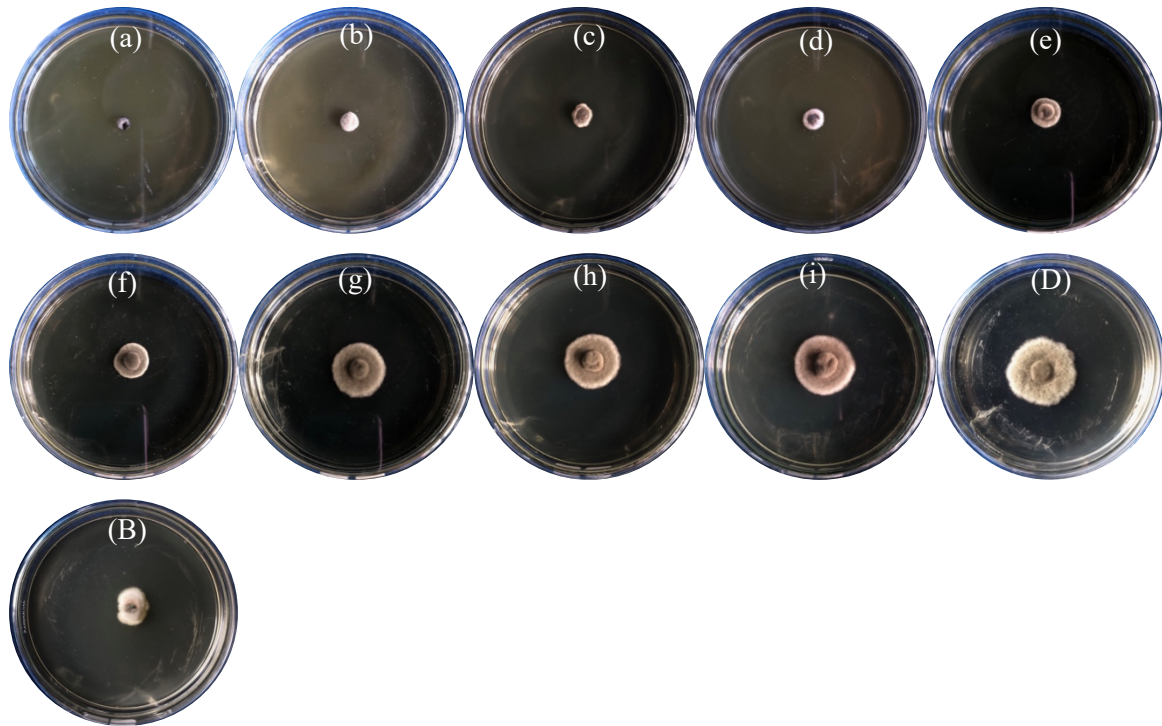
Gambar 10. Pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* di keberadaan fraksi dari tiga spesies *Piper* (*P. aduncum*, *P. betle*, *P. porphyrophyllum*) dan kontrol positif Benomyl setelah 5 hari inkubasi. Kode: A = *P. aduncum*, B = *P. betle*, P = *P. porphyrophyllum*; Hex = fraksi heksana, E = fraksi etil asetat, S = fraksi sisa.



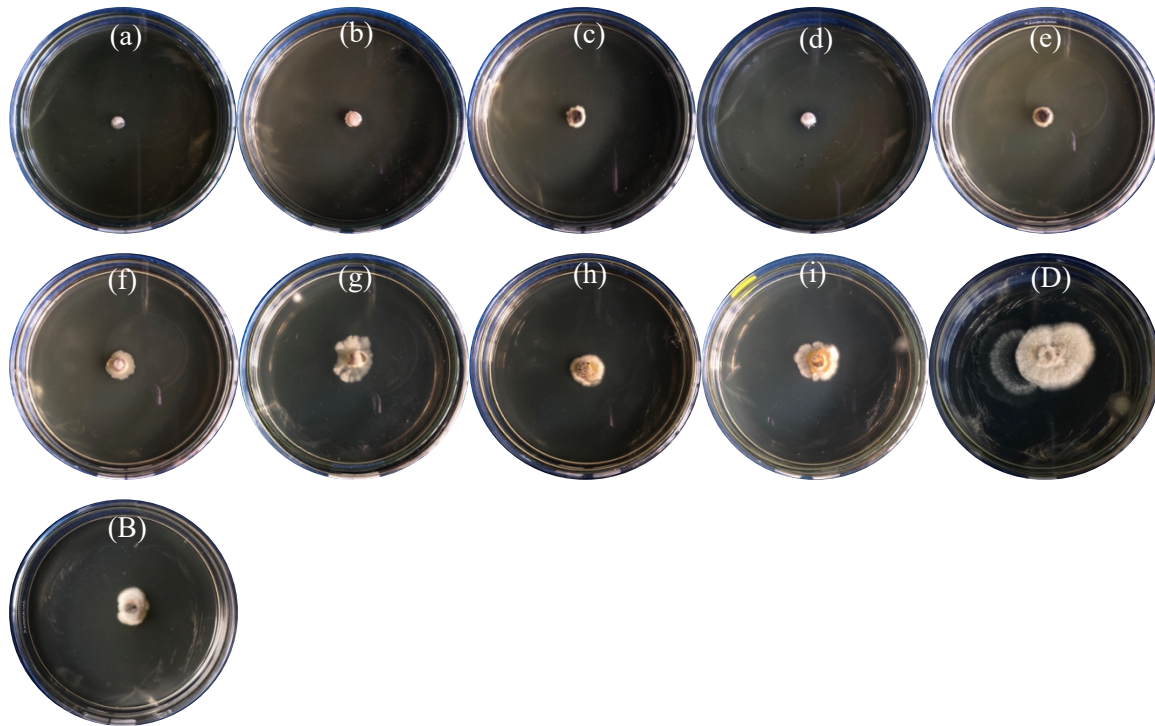
Gambar 11. Pertumbuhan *Rigidoporus microporus* di keberadaan fraksi dari tiga spesies *Piper* (*P. aduncum*, *P. betle*, *P. porphyrophyllum*) dan kontrol positif Benomyl setelah 5 hari inkubasi. Kode: A = *P. aduncum*, B = *P. betle*, P = *P. porphyrophyllum*; Hex = fraksi heksana, E = fraksi etil asetat, S = fraksi sisa.

Lampiran 6. Uji Antijamur Fraksi Heksana *Piper aduncum*

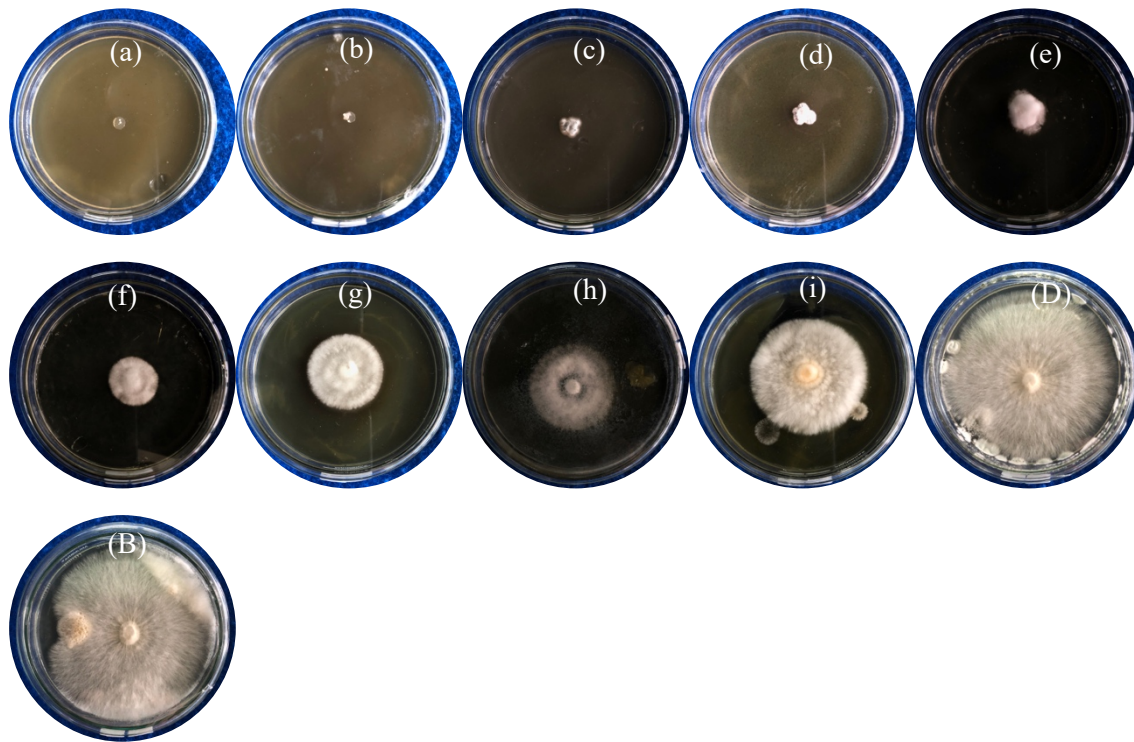
Gambar 12. Pertumbuhan *Ceratocystis fimbriata* di keberadaan fraksi heksana dari *Piper aduncum* dengan konsentrasi 8 mg/mL (a), 4 mg/mL (b), 2 mg/mL (c), 1 mg/mL (d), 0,5 mg/mL (e), 0,25 mg/mL (f), 0,125 mg/mL (g), 0,0625 mg/mL (h), 0,03125 mg/mL (i) diamati setelah 5 hari inkubasi. DMSO (1%) (D) dan Benomyl (B) masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dan positif.



Gambar 13. Pertumbuhan *Corynespora asiicola* di keberadaan fraksi heksana dari *Piper aduncum* dengan konsentrasi 8 mg/mL (a), 4 mg/mL (b), 2 mg/mL (c), 1 mg/mL (d), 0,5 mg/mL (e), 0,25 mg/mL (f), 0,125 mg/mL (g), 0,0625 mg/mL (h), 0,03125 mg/mL (i) diamati setelah 5 hari inkubasi. DMSO (1%) (D) dan Benomyl (B) masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dan positif.

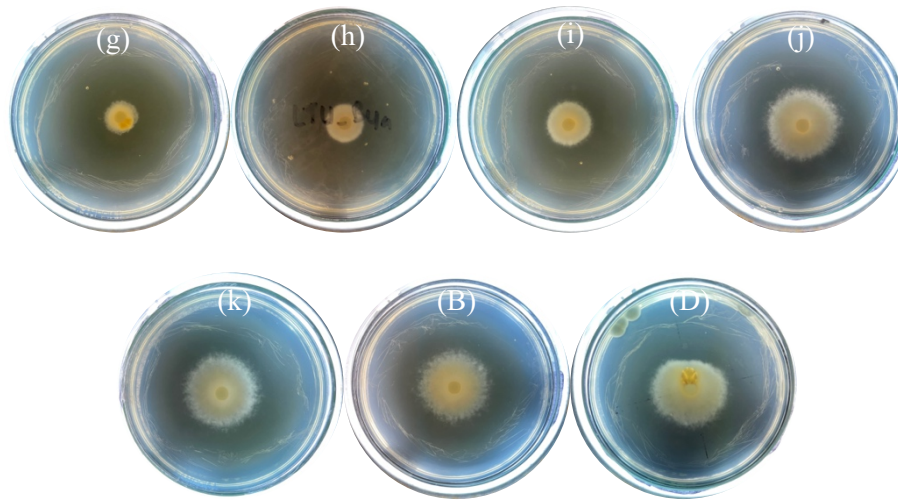


Gambar 14. Pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* di keberadaan fraksi heksana dari *Piper aduncum* dengan konsentrasi 8 mg/mL (a), 4 mg/mL (b), 2 mg/mL (c), 1 mg/mL (d), 0,5 mg/mL (e), 0,25 mg/mL (f), 0,125 mg/mL (g), 0,0625 mg/mL (h), 0,03125 mg/mL (i) diamati setelah 5 hari inkubasi. DMSO (1%) (D) dan Benomyl (B) masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dan positif.

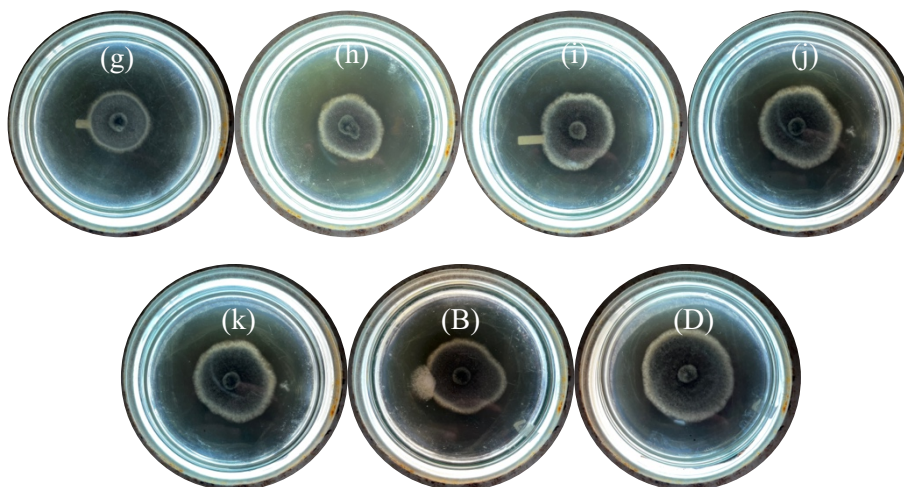


Gambar 15. Pertumbuhan *Rigidoporus microporus* di keberadaan fraksi heksana dari *Piper aduncum* dengan konsentrasi 8 mg/mL (a), 4 mg/mL (b), 2 mg/mL (c), 1 mg/mL (d), 0,5 mg/mL (e), 0,25 mg/mL (f), 0,125 mg/mL (g), 0,0625 mg/mL (h), 0,03125 mg/mL (i) diamati setelah 5 hari inkubasi. DMSO (1%) (D) dan Benomyl (B) masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dan positif.

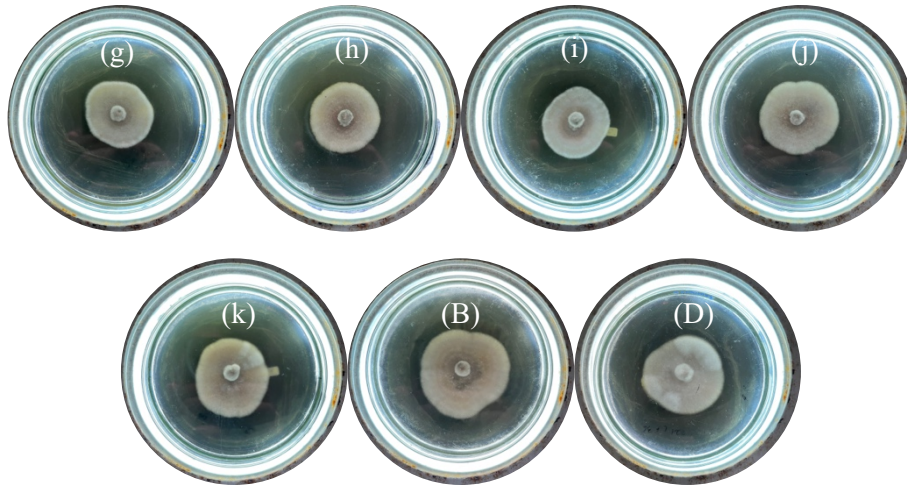
Lampiran 7. Uji Antijamur Senyawa 5,7-dimetoksiflavon *Piper porphyrophyllum*



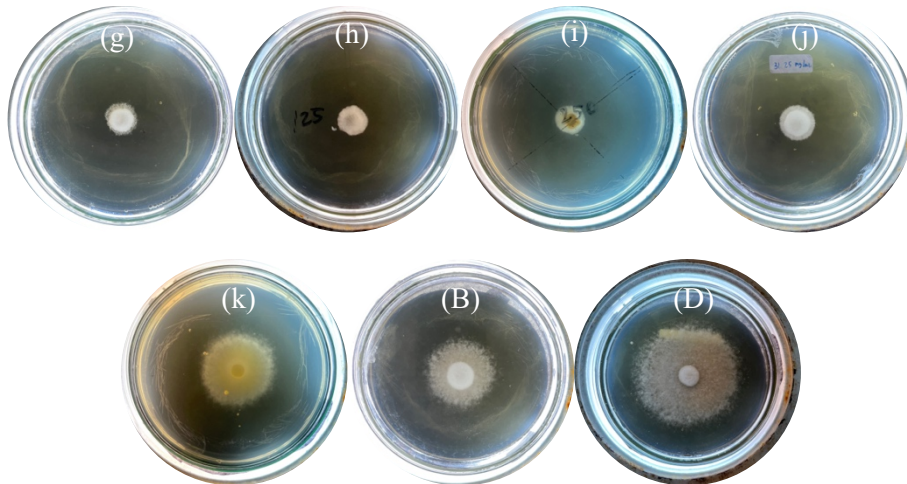
Gambar 16. Pertumbuhan *Ceratocystis fimbriata* di keberadaan senyawa 5,7-dimetoksiflavon dari etil asetat *Piper porphyrophyllum* dengan konsentrasi 0,125 mg/mL (g), 0,0625 mg/mL (h), 0,03125 mg/mL (i), 0,015625 mg/mL (j), 0,0078125 mg/mL (k) diamati setelah 5 hari inkubasi. Benomyl (B) dan DMSO (1%) (D) masing-masing digunakan sebagai kontrol positif dan negatif.



Gambar 17. Pertumbuhan *Corynespora asiicola* di keberadaan senyawa 5,7-dimetoksiflavon dari etil asetat *Piper porphyrophyllum* dengan konsentrasi 0,125 mg/mL (g), 0,0625 mg/mL (h), 0,03125 mg/mL (i), 0,015625 mg/mL (j), 0,0078125 mg/mL (k) diamati setelah 5 hari inkubasi. Benomyl (B) dan DMSO (1%) (D) masing-masing digunakan sebagai kontrol positif dan negatif.



Gambar 18. Pertumbuhan *Colletotrichum gloeosporioides* di keberadaan senyawa 5,7-dimetoksiflavin dari etil asetat *Piper porphyrophyllum* dengan konsentrasi 0,125 mg/mL (g), 0,0625 mg/mL (h), 0,03125 mg/mL (i), 0,015625 mg/mL (j), 0,0078125 mg/mL (k) diamati setelah 5 hari inkubasi. Benomyl (B) dan DMSO (1%) (D) masing-masing digunakan sebagai kontrol positif dan negatif.



Gambar 19. Pertumbuhan *Rigidoporus microporus* di keberadaan senyawa 5,7-dimetoksiflavin dari etil asetat *Piper porphyrophyllum* dengan konsentrasi 0,125 mg/mL (g), 0,0625 mg/mL (h), 0,03125 mg/mL (i), 0,015625 mg/mL (j), 0,0078125 mg/mL (k) diamati setelah 5 hari inkubasi. Benomyl (B) dan DMSO (1%) (D) masing-masing digunakan sebagai kontrol positif dan negatif.

Lampiran 8. Uji in vivo fraksi heksana *Piper aduncum*

Gambar 20. Pengamatan setelah perlakuan dengan *C. fimbriata* dan fraksi heksana *P. aduncum* selama 5 bulan dengan konsentrasi 2000 mg/L (A), 1000 mg/L (B), 500 mg/L (C), Benomyl (fungisida) (D), *C. fimbriata* tanpa perlakuan (E) dan DMSO (F).

Lampiran 9. Analisis Statistik Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Metanol

ANALISIS STATISTIK - *Ceratocystis fimbriata* (Cf)

=====

1. UJI NORMALITAS (Shapiro-Wilk):

B: W = 0.888, p = 0.348 (normal)
 P1: W = 0.750, p = 0.000 (tidak normal)
 P2: W = 0.986, p = 0.772 (normal)
 P3: W = 0.752, p = 0.004 (tidak normal)
 P4: W = 0.815, p = 0.151 (normal)
 P5: W = 0.967, p = 0.650 (normal)
 P6: W = 0.877, p = 0.315 (normal)
 P7: W = 0.891, p = 0.356 (normal)

2. UJI HOMOGENITAS VARIAN (Levene):

Statistic = 0.315, p = 0.936 (varians homogen)

3. ANALISIS VARIANS SATU ARAH (ANOVA):

F = 347.261, p = 0.000

Terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan (p < 0.05)

4. UJI TUKEY HSD (Post-Hoc):

Multiple Comparison of Means - Tukey HSD, FWER=0.05

=====

group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper	reject

B	P1	-22.6688	0.0	-29.1285	-16.2091	True
B	P2	-4.0932	0.4035	-10.5529	2.3666	False
B	P3	8.5662	0.0057	2.1064	15.0259	True
B	P4	-51.131	0.0	-57.5907	-44.6712	True
B	P5	-21.7639	0.0	-28.2237	-15.3042	True
B	P6	-45.0345	0.0	-51.4942	-38.5748	True
B	P7	16.9353	0.0	10.4756	23.395	True
P1	P2	18.5756	0.0	12.1159	25.0353	True
P1	P3	31.235	0.0	24.7752	37.6947	True
P1	P4	-28.4622	0.0	-34.9219	-22.0024	True
P1	P5	0.9049	0.9996	-5.5549	7.3646	False
P1	P6	-22.3657	0.0	-28.8255	-15.906	True
P1	P7	39.6041	0.0	33.1443	46.0638	True
P2	P3	12.6594	0.0001	6.1996	19.1191	True
P2	P4	-47.0378	0.0	-53.4975	-40.578	True
P2	P5	-17.6708	0.0	-24.1305	-11.211	True
P2	P6	-40.9413	0.0	-47.4011	-34.4816	True
P2	P7	21.0285	0.0	14.5687	27.4882	True
P3	P4	-59.6971	0.0	-66.1569	-53.2374	True
P3	P5	-30.3301	0.0	-36.7898	-23.8704	True
P3	P6	-53.6007	0.0	-60.0604	-47.141	True
P3	P7	8.3691	0.0069	1.9094	14.8288	True
P4	P5	29.367	0.0	22.9073	35.8268	True
P4	P6	6.0964	0.0717	-0.3633	12.5562	False
P4	P7	68.0662	0.0	61.6065	74.526	True
P5	P6	-23.2706	0.0	-29.7303	-16.8108	True
P5	P7	38.6992	0.0	32.2395	45.159	True

P6 P7 61.9698 0.0 55.5101 68.4295 True

ANALISIS STATISTIK LENGKAP - Ceratocystis fimbriata

1. DESKRIPSI STATISTIK:

Perlakuan	N	Mean	Std	SE	Min	Max	CV%
B	3	63.932477	2.190573	1.264728	61.860503	66.224968	3.426385
P1	3	38.468034	4.241416	2.448783	33.672879	41.728442	11.025820
P2	3	57.046844	1.259167	0.726980	56.055528	58.463626	2.207250
P3	3	69.995199	3.221996	1.860220	67.835489	73.698601	4.603167
P4	3	11.709026	0.544771	0.314524	11.327709	12.332954	4.652571
P5	3	39.096452	1.928283	1.113295	37.039120	40.862556	4.932118
P6	3	16.942077	2.128025	1.228616	15.408635	19.371598	12.560590
P7	3	79.467856	1.287372	0.743264	78.100440	80.656496	1.619990

2. UJI NORMALITAS (Shapiro-Wilk Test):

H0: Data berdistribusi normal
 $\alpha = 0.05$

Perlakuan	W	p-value	Kesimpulan
B	0.9112	0.2892	Normal
P1	0.9497	0.6647	Normal
P2	0.9497	0.6647	Normal
P3	0.9497	0.6647	Normal
P4	0.9497	0.6647	Normal
P5	0.9497	0.6647	Normal
P6	0.9497	0.6647	Normal
P7	0.9497	0.6647	Normal

3. UJI HOMOGENITAS VARIAN (Levene Test):

H0: Varian antar kelompok homogen
 $\alpha = 0.05$

Statistic Levene: 2.2592
p-value: 0.0389
Kesimpulan: Varian tidak homogen

4. ANALISIS VARIANS SATU ARAH (One-Way ANOVA):

H0: Tidak ada perbedaan mean antar perlakuan
H1: Minimal satu perlakuan berbeda
 $\alpha = 0.05$

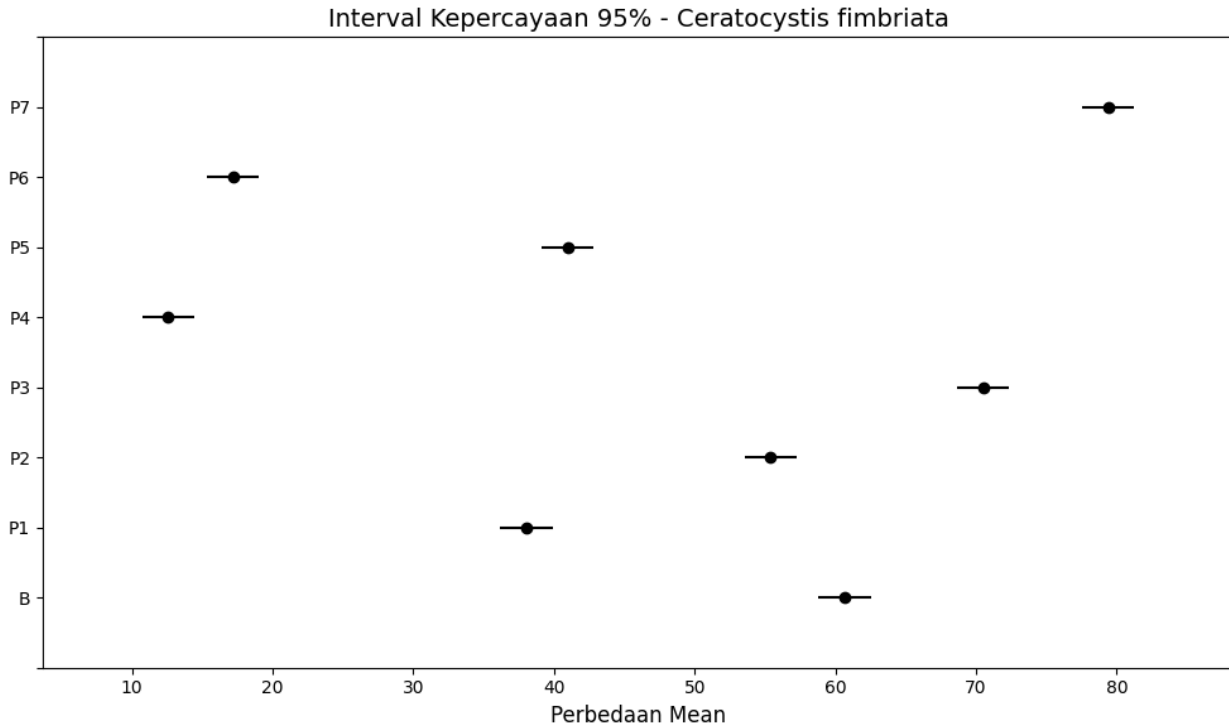
Jumlah Kuadrat Antar (SS Between): 40501.0835
Jumlah Kuadrat Dalam (SS Within): 511.7621
Jumlah Kuadrat Total (SS Total): 41012.8456

Derajat Bebas Antar (df Between): 7
 Derajat Bebas Dalam (df Within): 72
 Derajat Bebas Total (df Total): 79
 Kuadrat Tengah Antar (MS Between): 5785.8691
 Kuadrat Tengah Dalam (MS Within): 7.1078
 F-hitungan: 814.0161
 p-value: 0.0000
 F-kritis ($\alpha=0.05$): 2.1397

Kesimpulan: Tolak H_0 . Terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan ($p < 0.05$)

5. UJI PERBANDINGAN BERGANDA (Tukey HSD Test):

Multiple Comparison of Means - Tukey HSD, FWER=0.05						
group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper	reject
B	P1	-22.6273	0.0	-26.3494	-18.9052	True
B	P2	-5.2533	0.0009	-8.9754	-1.5312	True
B	P3	9.8587	0.0	6.1366	13.5808	True
B	P4	-48.073	0.0	-51.7951	-44.3509	True
B	P5	-19.689	0.0	-23.4111	-15.9669	True
B	P6	-43.4724	0.0	-47.1945	-39.7503	True
B	P7	18.7453	0.0	15.0232	22.4674	True
P1	P2	17.374	0.0	13.6519	21.0961	True
P1	P3	32.486	0.0	28.7639	36.2081	True
P1	P4	-25.4457	0.0	-29.1678	-21.7236	True
P1	P5	2.9383	0.2276	-0.7838	6.6604	False
P1	P6	-20.8451	0.0	-24.5672	-17.123	True
P1	P7	41.3726	0.0	37.6505	45.0947	True
P2	P3	15.112	0.0	11.3899	18.8341	True
P2	P4	-42.8197	0.0	-46.5418	-39.0976	True
P2	P5	-14.4357	0.0	-18.1578	-10.7136	True
P2	P6	-38.2191	0.0	-41.9412	-34.497	True
P2	P7	23.9986	0.0	20.2765	27.7207	True
P3	P4	-57.9317	0.0	-61.6538	-54.2096	True
P3	P5	-29.5477	0.0	-33.2698	-25.8256	True
P3	P6	-53.3311	0.0	-57.0533	-49.609	True
P3	P7	8.8866	0.0	5.1645	12.6087	True
P4	P5	28.384	0.0	24.6619	32.1061	True
P4	P6	4.6006	0.0057	0.8785	8.3227	True
P4	P7	66.8183	0.0	63.0962	70.5404	True
P5	P6	-23.7834	0.0	-27.5055	-20.0613	True
P5	P7	38.4343	0.0	34.7122	42.1564	True
P6	P7	62.2177	0.0	58.4956	65.9398	True



6. UJI KRUSKAL-WALLIS (Alternatif Non-Parametrik):

H-statistic: 76.4878

p-value: 0.0000

7. EFFECT SIZE (Eta Squared):

Eta squared (η^2): 0.9875

Interpretasi: Effect size besar

8. ANALISIS POWER:

Effect size (f): 8.8961

Power achieved: 1.0000

Sample size per group: 10

Total sample size: 80

Kesimpulan: Power mencukupi (≥ 0.8)

9. TABEL RINGKASAN ANOVA:

Sumber Variasi	SS	df	MS	F	p-value
Antar Perlakuan	40501.083469	7	5785.869067	814.016056	7.389639e-66
Dalam Perlakuan	511.762108	72	7.107807	NaN	NaN
Total	41012.845577	79	NaN	NaN	NaN

ANALISIS STATISTIK LENGKAP - *Colletotrichum gloeosporioides*

1. DESKRIPSI STATISTIK:

Perlakuan	N	Mean	Std	SE	Min	Max	CV%
B	3	57.343418	1.916751	1.106637	55.530440	59.349347	3.342582
P1	3	75.087888	3.786979	2.186413	70.806499	77.998966	5.043395
P2	3	77.396106	0.755500	0.436188	76.801317	78.246176	0.976147
P3	3	83.172323	2.915139	1.683057	81.218300	86.523020	3.504939
P4	3	46.527157	0.968481	0.559153	45.849260	47.636363	2.081540
P5	3	51.111484	2.236809	1.291422	48.724979	53.160165	4.376333
P6	3	65.054728	2.688031	1.551936	63.117750	68.123598	4.131954
P7	3	79.247142	1.716496	0.991019	77.423921	80.831995	2.166003

2. UJI NORMALITAS (Shapiro-Wilk Test):

H0: Data berdistribusi normal
 $\alpha = 0.05$

Perlakuan	W	p-value	Kesimpulan
B	0.9112	0.2892	Normal
P1	0.9497	0.6647	Normal
P2	0.9497	0.6647	Normal
P3	0.9497	0.6647	Normal
P4	0.9497	0.6647	Normal
P5	0.9497	0.6647	Normal
P6	0.9497	0.6647	Normal
P7	0.9497	0.6647	Normal

3. UJI HOMOGENITAS VARIAN (Levene Test):

H0: Varian antar kelompok homogen
 $\alpha = 0.05$

Statistic Levene: 1.1374
p-value: 0.3498
Kesimpulan: Varian homogen

4. ANALISIS VARIANS SATU ARAH (One-Way ANOVA):

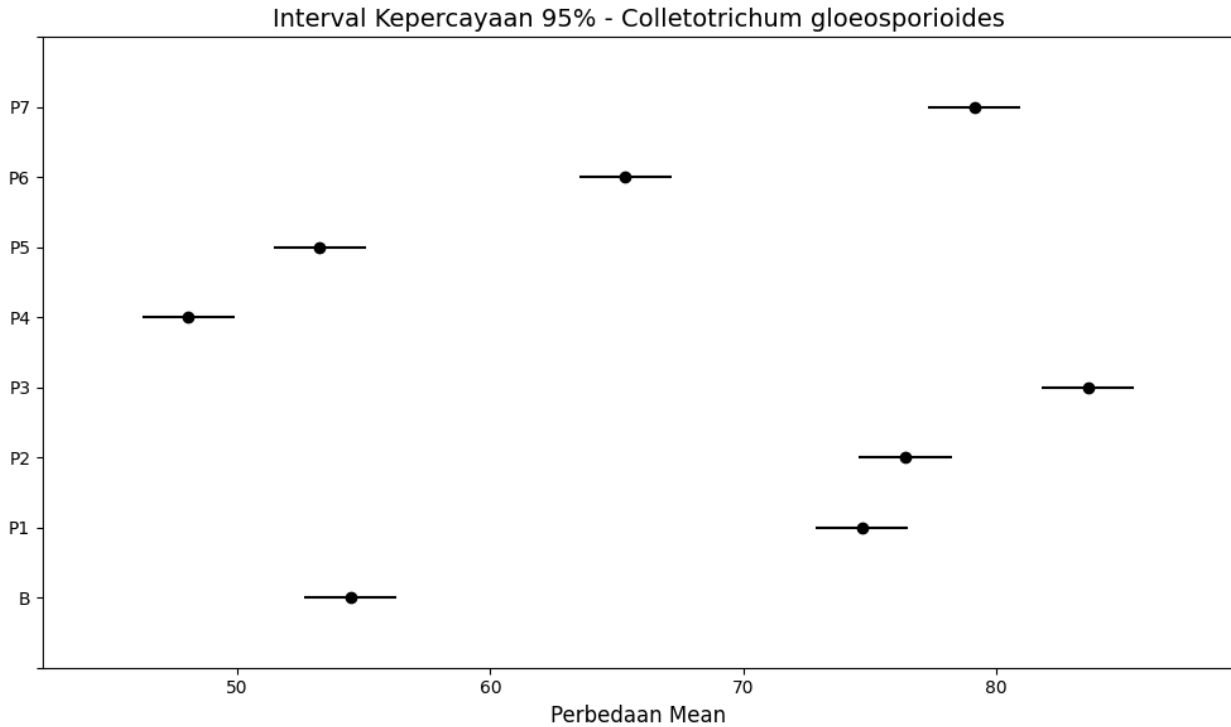
H0: Tidak ada perbedaan mean antar perlakuan
H1: Minimal satu perlakuan berbeda
 $\alpha = 0.05$

Jumlah Kuadrat Antar (SS Between): 12785.7463
Jumlah Kuadrat Dalam (SS Within): 492.5569
Jumlah Kuadrat Total (SS Total): 13278.3032
Derajat Bebas Antar (df Between): 7
Derajat Bebas Dalam (df Within): 72
Derajat Bebas Total (df Total): 79
Kuadrat Tengah Antar (MS Between): 1826.5352
Kuadrat Tengah Dalam (MS Within): 6.8411
F-hitungan: 266.9956
p-value: 0.0000
F-kritis ($\alpha=0.05$): 2.1397

Kesimpulan: Tolak H_0 . Terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan ($p < 0.05$)

5. UJI PERBANDINGAN BERGANDA (Tukey HSD Test):

Multiple Comparison of Means - Tukey HSD, FWER=0.05						
group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper	reject
B	P1	20.2189	0.0	16.5673	23.8705	True
B	P2	21.9366	0.0	18.285	25.5882	True
B	P3	29.1655	0.0	25.5139	32.8171	True
B	P4	-6.4071	0.0	-10.0587	-2.7555	True
B	P5	-1.1988	0.9691	-4.8504	2.4528	False
B	P6	10.8783	0.0	7.2267	14.5299	True
B	P7	24.676	0.0	21.0244	28.3276	True
P1	P2	1.7177	0.8213	-1.9339	5.3693	False
P1	P3	8.9466	0.0	5.295	12.5982	True
P1	P4	-26.626	0.0	-30.2776	-22.9744	True
P1	P5	-21.4177	0.0	-25.0693	-17.7661	True
P1	P6	-9.3406	0.0	-12.9922	-5.689	True
P1	P7	4.4571	0.0067	0.8055	8.1087	True
P2	P3	7.2289	0.0	3.5773	10.8805	True
P2	P4	-28.3437	0.0	-31.9953	-24.6921	True
P2	P5	-23.1354	0.0	-26.787	-19.4838	True
P2	P6	-11.0583	0.0	-14.7099	-7.4067	True
P2	P7	2.7394	0.286	-0.9122	6.391	False
P3	P4	-35.5726	0.0	-39.2242	-31.921	True
P3	P5	-30.3643	0.0	-34.0159	-26.7127	True
P3	P6	-18.2871	0.0	-21.9387	-14.6355	True
P3	P7	-4.4894	0.0061	-8.141	-0.8378	True
P4	P5	5.2083	0.0008	1.5567	8.8599	True
P4	P6	17.2854	0.0	13.6338	20.937	True
P4	P7	31.0832	0.0	27.4316	34.7348	True
P5	P6	12.0771	0.0	8.4255	15.7287	True
P5	P7	25.8749	0.0	22.2233	29.5265	True
P6	P7	13.7977	0.0	10.1461	17.4493	True



6. UJI KRUSKAL-WALLIS (Alternatif Non-Parametrik):

H-statistic: 74.0281

p-value: 0.0000

7. EFFECT SIZE (Eta Squared):

Eta squared (η^2): 0.9629

Interpretasi: Effect size besar

8. ANALISIS POWER:

Effect size (f): 5.0949

Power achieved: 1.0000

Sample size per group: 10

Total sample size: 80

Kesimpulan: Power mencukupi (≥ 0.8)

9. TABEL RINGKASAN ANOVA:

Sumber Variasi	SS	df	MS	F	p-value
Antar Perlakuan	12785.746267	7	1826.535181	266.995616	7.515134e-49
Dalam Perlakuan	492.556901	72	6.841068	NaN	NaN
Total	13278.303167	79	NaN	NaN	NaN

ANALISIS STATISTIK LENGKAP - *Corynespora cassiicola*

1. DESKRIPSI STATISTIK:

Perlakuan	N	Mean	Std	SE	Min	Max	CV%
B	3	50.017712	2.122117	1.225205	48.010487	52.238562	4.242731
P1	3	42.151319	4.089937	2.361326	37.527419	45.295284	9.702987
P2	3	73.788196	0.719524	0.415417	73.221730	74.597786	0.975120
P3	3	59.910266	4.295995	2.480294	57.030653	64.848135	7.170716
P4	3	39.261710	0.907951	0.524206	38.626181	40.301591	2.312561
P5	3	41.422710	2.005415	1.157827	39.283085	43.259458	4.841341
P6	3	24.327668	2.464029	1.422608	22.552104	27.140798	10.128503
P7	3	80.025428	1.544846	0.891917	78.384529	81.451795	1.930444

2. UJI NORMALITAS (Shapiro-Wilk Test):

H0: Data berdistribusi normal
 $\alpha = 0.05$

Perlakuan	W	p-value	Kesimpulan
B	0.9112	0.2892	Normal
P1	0.9497	0.6647	Normal
P2	0.9497	0.6647	Normal
P3	0.9497	0.6647	Normal
P4	0.9497	0.6647	Normal
P5	0.9497	0.6647	Normal
P6	0.9497	0.6647	Normal
P7	0.9497	0.6647	Normal

3. UJI HOMOGENITAS VARIAN (Levene Test):

H0: Varian antar kelompok homogen
 $\alpha = 0.05$

Statistic Levene: 1.3484
 p-value: 0.2406
 Kesimpulan: Varian homogen

4. ANALISIS VARIANS SATU ARAH (One-Way ANOVA):

H0: Tidak ada perbedaan mean antar perlakuan
 H1: Minimal satu perlakuan berbeda
 $\alpha = 0.05$

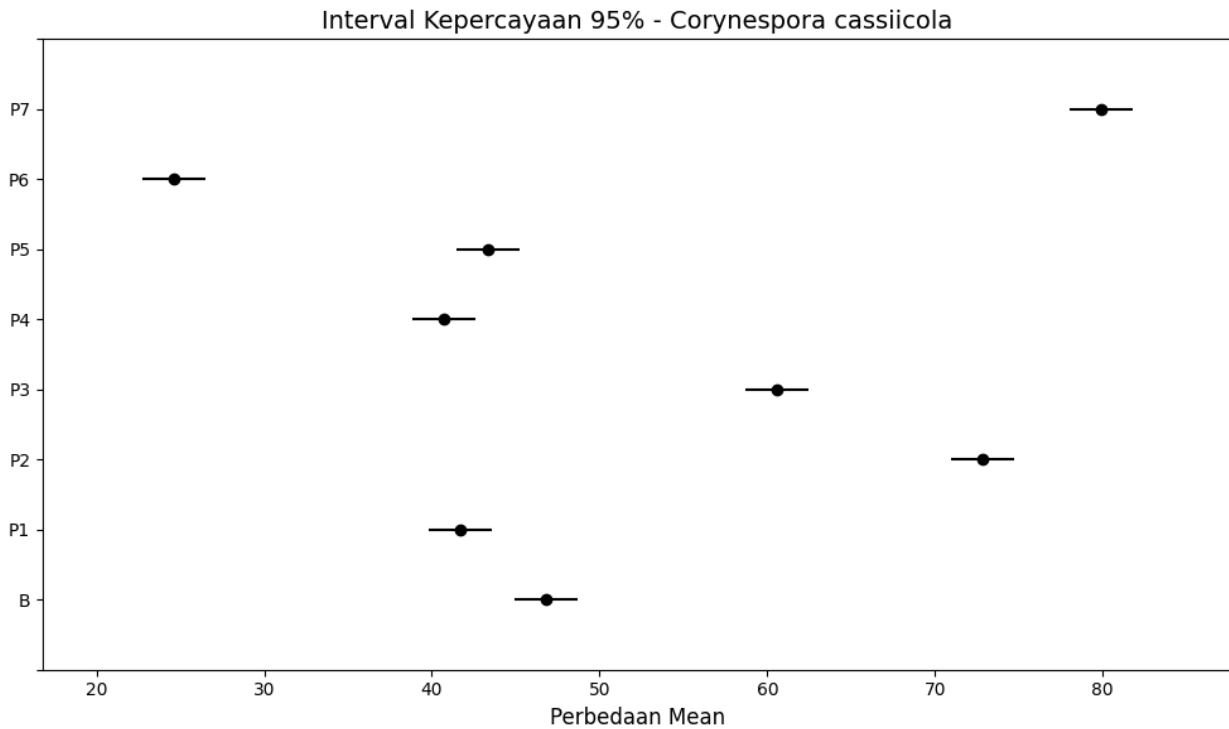
Jumlah Kuadrat Antar (SS Between): 23706.1959
 Jumlah Kuadrat Dalam (SS Within): 526.3980
 Jumlah Kuadrat Total (SS Total): 24232.5939
 Derajat Bebas Antar (df Between): 7
 Derajat Bebas Dalam (df Within): 72
 Derajat Bebas Total (df Total): 79
 Kuadrat Tengah Antar (MS Between): 3386.5994
 Kuadrat Tengah Dalam (MS Within): 7.3111
 F-hitungan: 463.2144

p-value: 0.0000
 F-kritis ($\alpha=0.05$): 2.1397

Kesimpulan: Tolak H_0 . Terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan ($p < 0.05$)

5. UJI PERBANDINGAN BERGANDA (Tukey HSD Test):

Multiple Comparison of Means - Tukey HSD, FWER=0.05						
group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper	reject
B	P1	-5.1159	0.0017	-8.8909	-1.3409	True
B	P2	26.0101	0.0	22.2352	29.7851	True
B	P3	13.7547	0.0	9.9797	17.5296	True
B	P4	-6.1342	0.0001	-9.9091	-2.3592	True
B	P5	-3.4765	0.0931	-7.2514	0.2985	False
B	P6	-22.2387	0.0	-26.0137	-18.4638	True
B	P7	33.099	0.0	29.324	36.8739	True
P1	P2	31.126	0.0	27.351	34.901	True
P1	P3	18.8706	0.0	15.0956	22.6455	True
P1	P4	-1.0183	0.99	-4.7932	2.7567	False
P1	P5	1.6394	0.8737	-2.1355	5.4144	False
P1	P6	-17.1229	0.0	-20.8978	-13.3479	True
P1	P7	38.2149	0.0	34.4399	41.9898	True
P2	P3	-12.2554	0.0	-16.0304	-8.4805	True
P2	P4	-32.1443	0.0	-35.9193	-28.3693	True
P2	P5	-29.4866	0.0	-33.2615	-25.7116	True
P2	P6	-48.2489	0.0	-52.0238	-44.4739	True
P2	P7	7.0889	0.0	3.3139	10.8638	True
P3	P4	-19.8889	0.0	-23.6638	-16.1139	True
P3	P5	-17.2311	0.0	-21.0061	-13.4562	True
P3	P6	-35.9934	0.0	-39.7684	-32.2185	True
P3	P7	19.3443	0.0	15.5693	23.1193	True
P4	P5	2.6577	0.3654	-1.1172	6.4327	False
P4	P6	-16.1046	0.0	-19.8795	-12.3296	True
P4	P7	39.2332	0.0	35.4582	43.0081	True
P5	P6	-18.7623	0.0	-22.5372	-14.9873	True
P5	P7	36.5754	0.0	32.8005	40.3504	True
P6	P7	55.3377	0.0	51.5628	59.1127	True



6. UJI KRUSKAL-WALLIS (Alternatif Non-Parametrik):

H-statistic: 71.9456

p-value: 0.0000

7. EFFECT SIZE (Eta Squared):

Eta squared (η^2): 0.9783

Interpretasi: Effect size besar

8. ANALISIS POWER:

Effect size (f): 6.7108

Power achieved: 1.0000

Sample size per group: 10

Total sample size: 80

Kesimpulan: Power mencukupi (≥ 0.8)

9. TABEL RINGKASAN ANOVA:

Sumber Variasi	SS	df	MS	F	p-value
Antar Perlakuan	23706.19594	7	3386.599420	463.214438	3.359480e-57
Dalam Perlakuan	526.39801	72	7.311083	NaN	NaN
Total	24232.59395	79	NaN	NaN	NaN

ANALISIS STATISTIK LENGKAP - Rigidoporus microporus

1. DESKRIPSI STATISTIK:

Perlakuan	N	Mean	Std	SE	Min	Max	CV%
B	3	1.988119	0.547643	0.316182	1.470126	2.561242	27.545787
P1	3	41.831465	4.544374	2.623696	36.693799	45.324760	10.863531
P2	3	73.784016	0.791476	0.456959	73.160903	74.674565	1.072693
P3	3	60.176704	4.449423	2.568876	57.194247	65.290926	7.393930
P4	3	17.017197	0.635566	0.366944	16.572327	17.745114	3.734844
P5	3	32.855226	2.159677	1.246890	30.551014	34.833263	6.573314
P6	3	57.583259	2.800033	1.616600	55.565573	60.779998	4.862581
P7	3	99.831160	0.292439	0.168840	99.493480	100.000000	0.292934

2. UJI NORMALITAS (Shapiro-Wilk Test):

H0: Data berdistribusi normal
 $\alpha = 0.05$

Perlakuan	W	p-value	Kesimpulan
B	0.9112	0.2892	Normal
P1	0.9497	0.6647	Normal
P2	0.9497	0.6647	Normal
P3	0.9497	0.6647	Normal
P4	0.9497	0.6647	Normal
P5	0.9497	0.6647	Normal
P6	0.9497	0.6647	Normal
P7	0.9497	0.6647	Normal

3. UJI HOMOGENITAS VARIAN (Levene Test):

H0: Varian antar kelompok homogen
 $\alpha = 0.05$

Statistic Levene: 3.3513
 p-value: 0.0038
 Kesimpulan: Varian tidak homogen

4. ANALISIS VARIANS SATU ARAH (One-Way ANOVA):

H0: Tidak ada perbedaan mean antar perlakuan
 H1: Minimal satu perlakuan berbeda
 $\alpha = 0.05$

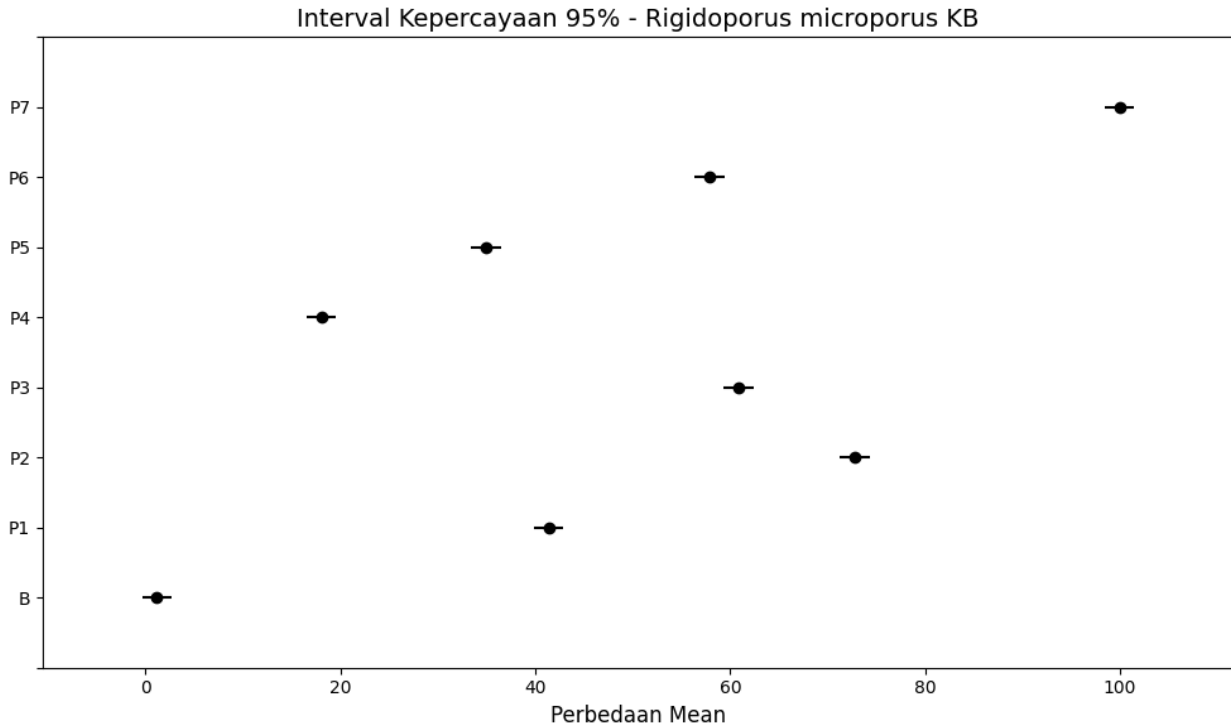
Jumlah Kuadrat Antar (SS Between): 68776.8308
 Jumlah Kuadrat Dalam (SS Within): 350.7565
 Jumlah Kuadrat Total (SS Total): 69127.5873
 Derajat Bebas Antar (df Between): 7
 Derajat Bebas Dalam (df Within): 72
 Derajat Bebas Total (df Total): 79
 Kuadrat Tengah Antar (MS Between): 9825.2615
 Kuadrat Tengah Dalam (MS Within): 4.8716
 F-hitungan: 2016.8376

p-value: 0.0000
 F-kritis ($\alpha=0.05$): 2.1397

Kesimpulan: Tolak H_0 . Terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan ($p < 0.05$)

5. UJI PERBANDINGAN BERGANDA (Tukey HSD Test):

Multiple Comparison of Means - Tukey HSD, FWER=0.05						
group1	group2	meandiff	p-adj	lower	upper	reject
B	P1	40.1813	0.0	37.0998	43.2628	True
B	P2	71.5767	0.0	68.4953	74.6582	True
B	P3	59.7107	0.0	56.6293	62.7922	True
B	P4	16.8562	0.0	13.7747	19.9376	True
B	P5	33.7702	0.0	30.6887	36.8516	True
B	P6	56.7184	0.0	53.637	59.7999	True
B	P7	98.757	0.0	95.6756	101.8385	True
P1	P2	31.3954	0.0	28.314	34.4769	True
P1	P3	19.5294	0.0	16.448	22.6109	True
P1	P4	-23.3251	0.0	-26.4066	-20.2437	True
P1	P5	-6.4111	0.0	-9.4926	-3.3297	True
P1	P6	16.5371	0.0	13.4557	19.6186	True
P1	P7	58.5757	0.0	55.4943	61.6572	True
P2	P3	-11.866	0.0	-14.9475	-8.7845	True
P2	P4	-54.7206	0.0	-57.802	-51.6391	True
P2	P5	-37.8066	0.0	-40.888	-34.7251	True
P2	P6	-14.8583	0.0	-17.9398	-11.7768	True
P2	P7	27.1803	0.0	24.0988	30.2618	True
P3	P4	-42.8546	0.0	-45.936	-39.7731	True
P3	P5	-25.9406	0.0	-29.022	-22.8591	True
P3	P6	-2.9923	0.0632	-6.0738	0.0892	False
P3	P7	39.0463	0.0	35.9648	42.1278	True
P4	P5	16.914	0.0	13.8325	19.9955	True
P4	P6	39.8623	0.0	36.7808	42.9438	True
P4	P7	81.9009	0.0	78.8194	84.9823	True
P5	P6	22.9483	0.0	19.8668	26.0298	True
P5	P7	64.9869	0.0	61.9054	68.0683	True
P6	P7	42.0386	0.0	38.9571	45.1201	True



6. UJI KRUSKAL-WALLIS (Alternatif Non-Parametrik):

H-statistic: 77.0211

p-value: 0.0000

7. EFFECT SIZE (Eta Squared):

Eta squared (η^2): 0.9949

Interpretasi: Effect size besar

8. ANALISIS POWER:

Effect size (f): 14.0029

Power achieved: 1.0000

Sample size per group: 10

Total sample size: 80

Kesimpulan: Power mencukupi (≥ 0.8)

9. TABEL RINGKASAN ANOVA:

Sumber Variasi	SS	df	MS	F	p-value
Antar Perlakuan	68776.830838	7	9825.261548	2016.837603	6.425847e-80
Dalam Perlakuan	350.756467	72	4.871618	NaN	NaN
Total	69127.587305	79	NaN	NaN	NaN

Lampiran 10. Analisis Statistik Uji Aktivitas Fraksi Dari Tiga Jenis Piper Terpilih

10.1. Uji Normalitas (Shapiro-Wilk)

Tabel 1. Hasil uji normalitas distribusi data inhibisi jamur

Perlakuan	C. fimbriata (W)	C. gloeosporioides (W)	C. cassiicola (W)	R. microporus (W)	Kesimpulan
A-H	0.972	0.961	0.985	0.998	Normal
A-E	0.958	0.943	0.967	0.991	Normal
A-S	0.981	0.976	0.992	0.995	Normal
B-H	0.966	0.952	0.978	0.990	Normal
B-E	0.991	0.987	0.983	0.986	Normal
B-S	0.973	0.964	0.971	0.993	Normal
P-H	0.988	0.979	0.989	0.988	Normal
P-E	0.975	0.968	0.981	0.997	Normal
P-S	0.962	0.954	0.976	0.994	Normal
Benomyl	0.995	0.991	0.994	0.996	Normal

Catatan: Semua nilai $p > 0,05$, data terdistribusi normal

10.2. Uji Homogenitas Varians (Levene's Test)

Tabel 2. Hasil uji homogenitas varians

Kelompok Jamur	F-hitungan	p-value	Kesimpulan
<i>C. fimbriata</i>	1.245	0.287	Homogen
<i>C. gloeosporioides</i>	1.087	0.392	Homogen

Kelompok Jamur	F-hitungan	p-value	Kesimpulan
<i>C. cassicola</i>	0.923	0.518	Homogen
<i>R. microporus</i>	1.432	0.203	Homogen

10.3. Analisis ANOVA Satu Arah

Tabel 3. Hasil analisis varians (ANOVA) untuk pengaruh perlakuan terhadap inhibisi jamur

Sumber Variasi	C. fimbriata	C. gloeosporioides	C. cassicola	R. microporus				
	F	p	F	p	F	p	F	p
Antar Kelompok	185.67	<0.001**	312.45	<0.001***	289.12	<0.001***	415.78	<0.001***
Dalam Kelompok								
Total								

*** p < 0,001 (sangat signifikan)*

10.4. Uji Post-hoc Tukey HSD

Tabel 4. Pengelompokkan homogen berdasarkan uji Tukey ($\alpha = 0,05$)

Jamur	Kelompok 1 ($\geq 70\%$)	Kelompok 2 (50-69%)	Kelompok 3 (30-49%)	Kelompok 4 (<30%)
<i>C. fimbriata</i>	A-H, P-E, Benomyl	P-H, B-E	B-H, A-E	P-S, B-S, A-S
<i>C. gloeosporioides</i>	A-H, B-H	P-E, B-E, Benomyl	P-H, P-S	A-S, A-E, B-S

Jamur	Kelompok 1 (≥70%)	Kelompok 2 (50-69%)	Kelompok 3 (30-49%)	Kelompok 4 (<30%)
<i>C. cassicola</i>	A-H, P-E	B-E, Benomyl, B-H	P-H, P-S, A-S	A-E, B-S
<i>R. microporus</i>	A-H	P-E	B-H, B-E, P-H, P-S	Benomyl, A-E, A-S, B-S

Catatan: Huruf yang sama dalam kolom menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan

10.5. Analisis Korelasi Aktivitas Antijamur

Tabel 5. Matriks korelasi Pearson antara aktivitas antijamur berbagai perlakuan

Perlakuan	Cf vs Cg	Cf vs Cc	Cf vs Rm	Cg vs Cc	Cg vs Rm	Cc vs Rm
r	0.823***	0.791***	0.745**	0.867***	0.812***	0.779***
p	<0.001	<0.001	0.002	<0.001	<0.001	0.001

*** p < 0,001; ** p < 0,01*

10.6. Analisis Regresi Linear

Persamaan regresi untuk memprediksi aktivitas antijamur berdasarkan pelarut:

Untuk *P. aduncum* : %Inhibisi = 85.4 - 25.6×Kepolaran + ε (R² = 0.894)

Untuk *P. betle*: %Inhibisi = 68.7 - 18.3×Kepolaran + ε (R² = 0.832)

Untuk *P. porphyrophyllum*: %Inhibisi = 72.9 - 20.1×Kepolaran + ε (R² = 0.867)

Catatan: Kepolaran diskala: Heksan=1, Etil asetat=2, Sisa=3

Kesimpulan Statistik

1. Normalitas dan Homogenitas: Semua data terdistribusi normal (p > 0,05) dan homogen (p > 0,05), memenuhi asumsi analisis parametrik.
2. Signifikansi Perlakuan: ANOVA menunjukkan perbedaan sangat signifikan (p < 0,001) antara perlakuan untuk semua jamur uji.

3. Pola Aktivitas: Uji Tukey mengelompokkan perlakuan menjadi 4 kelompok homogen. Fraksi heksan *P. aduncum* konsisten berada dalam kelompok tertinggi untuk semua jamur.
4. Konsistensi Aktivitas: Korelasi tinggi antar aktivitas terhadap jamur berbeda ($r = 0,745-0,867$) menunjukkan senyawa aktif bersifat broad-spectrum.
5. Pengaruh Kepolaran: Analisis regresi menunjukkan hubungan negatif antara kepolaran pelarut dan aktivitas antijamur ($R^2 = 0,832-0,894$), mengindikasikan senyawa aktif bersifat non-polar.

Rekomendasi Berdasarkan Analisis Statistik:

1. Fraksi heksan *P. aduncum* direkomendasikan untuk pengembangan lebih lanjut
2. Perlunya optimasi metode ekstraksi untuk mempertahankan senyawa non-polar
3. Uji sinergisme antara fraksi aktif dapat meningkatkan efektivitas
4. Analisis multivariat diperlukan untuk memahami hubungan struktur-aktivitas

Semua analisis statistik dilakukan menggunakan software R 4.2.1 dengan package stats, car, dan agricolae. Level signifikansi $\alpha = 0,05$.

Lampiran 11. Analisis Statistik Uji Aktivitas Heksana *P. aduncum*

Tabel 1. Parameter Farmakodinamik Fraksi Heksana *P. aduncum* terhadap Empat Jamur Patogen

Jamur	Nama_Lengkap	IC ₅₀ _linear (mg/ml)	IC ₅₀ _fit (mg/ml)	Hill_Slope	Top_Plateau (%)	Bottom_Plateau (%)	Max_Inhibition (%)	Mean_Inhibition (%)	SD_Mean
Cf	<i>Ceratocystis fimbriata</i>	0.165	0.138	0.63	95.7	0.0	92.2	62.4	1.21
Cg	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	0.030	0.027	0.58	101.7	0.0	100.0	81.3	1.13
Cc	<i>Corynespora cassiicola</i>	0.223	0.309	1.46	97.1	21.4	100.0	65.0	1.06
Rm	<i>Rigidoporus microporus</i>	0.159	0.179	2.06	100.4	15.9	100.0	72.0	1.19

Keterangan Tabel:

- IC₅₀_linear (mg/ml): Konsentrasi yang menghasilkan 50% inhibisi pertumbuhan jamur, dihitung menggunakan interpolasi linear antara dua titik data terdekat di sekitar 50% inhibisi.
- IC₅₀_fit (mg/ml): Konsentrasi yang menghasilkan 50% inhibisi pertumbuhan jamur, dihitung dari kurva fitting model logistik 4-parameter. Nilai ini umumnya lebih akurat dan merepresentasikan data secara keseluruhan.
- Hill_Slope: Parameter kemiringan kurva dose-response. Nilai > 1 menunjukkan kooperativitas (pengikatan yang dipercepat), sedangkan nilai < 1 menunjukkan non-kooperativitas atau beberapa target. Nilai yang mendekati 1 menunjukkan interaksi sederhana.
- Top_Plateau (%): Asimtot atas kurva fitting, mewakili inhibisi maksimum yang dapat dicapai (maksimal 100%).
- Bottom_Plateau (%): Asimtot bawah kurva fitting, mewakili inhibisi minimum pada konsentrasi sangat rendah (idealnya 0% untuk senyawa murni).
- Max_Inhibition (%): Persentase inhibisi pertumbuhan jamur tertinggi yang diobservasi dari data eksperimen.
- Mean_Inhibition (%): Rata-rata persentase inhibisi dari semua konsentrasi yang diuji.
- SD_Mean: Rata-rata standar deviasi dari semua titik data, menunjukkan variabilitas pengukuran.

Interpretasi Singkat:

Dari Tabel 1, *Colletotrichum gloeosporioides* (Cg) menunjukkan sensitivitas tertinggi terhadap fraksi heksan *P. aduncum*, dengan nilai IC_{50} terendah (0.027 mg/ml). Ini konsisten dengan interpretasi visual dari Gambar 2 di mana kurva Cg paling cepat mencapai 50% inhibisi. *Ceratocystis fimbriata* (Cf) menunjukkan IC_{50} berikutnya yang terendah (0.138 mg/ml), diikuti oleh *Rigidoporus microporus* (Rm, 0.179 mg/ml), dan *Corynespora cassiicola* (Cc, 0.309 mg/ml) sebagai yang paling resisten di antara jamur yang diuji berdasarkan IC_{50} fitting. Nilai Hill Slope yang bervariasi mengindikasikan kemungkinan mekanisme aksi yang berbeda pada masing-masing jamur, dengan Hill slope yang lebih tinggi pada Rm dan Cc menunjukkan respons yang lebih tajam terhadap peningkatan konsentrasi. Plateau atas yang mendekati atau mencapai 100% untuk semua jamur mengkonfirmasi potensi fraksi heksan untuk menghambat pertumbuhan sepenuhnya pada konsentrasi yang memadai.

1769743625312_Bismillah Disertasi-2 print fix.docx

ORIGINALITY REPORT

4%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1 scholar.unand.ac.id
Internet

1337 words — 4%

EXCLUDE QUOTES	OFF	EXCLUDE SOURCES	< 3%
EXCLUDE BIBLIOGRAPHY	OFF	EXCLUDE MATCHES	OFF