BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jamur *Ganoderma sp*. merupakan salah satu patogen tular tanah yang bersifat sangat merusak dan menjadi penyebab utama penyakit busuk akar pada berbagai tanaman, seperti kelapa sawit, karet, kakao, serta beberapa jenis tanaman hutan. Infeksi jamur ini menyebabkan pembusukan jaringan akar dan batang sehingga menghambat penyerapan unsur hara serta air oleh tanaman, yang pada akhirnya menurunkan produktivitas bahkan menyebabkan kematian tanaman (Suryanto dkk., 2018). Menurut Hidayat dan Rivai (2019), penyakit busuk akar oleh *Ganoderma sp*. sulit dikendalikan karena jamur ini mampu membentuk struktur keras (sklerotium) yang dapat bertahan lama di dalam tanah. Oleh sebab itu, upaya pengendalian *Ganoderma* dengan cara yang efektif dan ramah lingkungan menjadi hal yang penting dilakukan.

Penggunaan fungisida kimia sintetis selama ini memang terbukti mampu menekan perkembangan jamur patogen, namun memiliki dampak negatif seperti pencemaran lingkungan, residu pada tanah, serta munculnya resistensi mikroba terhadap bahan kimia (Nurlaela dkk 2020). Hal tersebut mendorong peneliti untuk mengembangkan alternatif pengendalian berbasis bahan alami, terutama dari ekstrak tumbuhan yang memiliki kandungan metabolit sekunder dengan aktivitas antimikroba dan antifungi. Menurut Fitriani dkk (2021), ekstrak tumbuhan yang mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid terbukti mampu menghambat pertumbuhan berbagai jenis jamur patogen secara *in vitro.*

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai sumber senyawa antimikroba alami adalah kitolod (*Hippobroma longiflora*). Tanaman ini dikenal luas dalam pengobatan tradisional di Indonesia dan beberapa negara tropis lainnya. Daun kitolod telah dilaporkan mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, dan steroid (Yuliana dkk., 2020). Menurut Lestari dkk. (2021), senyawa-senyawa tersebut berperan sebagai antimikroba dan antifungi dengan mekanisme menghambat sintesis dinding sel, merusak membran plasma, serta mengganggu metabolisme sel jamur.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kitolod memiliki aktivitas antifungi terhadap jamur patogen lain. Penelitian yang dilakukan oleh Hartati dkk. (2020) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun kitolod mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan zona hambat yang cukup tinggi pada konsentrasi 70%. Sementara itu, penelitian oleh Puspitasari dkk. (2022) juga menunjukkan bahwa ekstrak daun kitolod efektif dalam menekan pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* secara *in vitro*. Hal ini menunjukkan adanya potensi kuat dari senyawa bioaktif dalam daun kitolod untuk digunakan sebagai bahan antifungi alami terhadap berbagai jenis jamur patogen.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini difokuskan pada pengaruh pemberian ekstrak daun kitolod (*Hippobroma longiflora*) terhadap pertumbuhan jamur *Ganoderma sp*. secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak daun kitolod mampu menghambat pertumbuhan jamur *Ganoderma sp*., menentukan konsentrasi ekstrak yang memberikan daya hambat paling efektif, serta membandingkan efektivitas ekstrak daun kitolod dengan perlakuan kontrol

(tanpa pemberian ekstrak) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Ganoderma sp.* secara *in vitro.*

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun kitolod terhadap pertumbuhan jamur *Ganoderma sp.* secara *in vitro.*
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun kitolod yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Ganoderma sp*. secara *in vitro.*
3. Untuk membandingkan efektivitas ekstrak daun kitolod dengan kontrol terhadap pertumbuhan jamur *Ganoderma sp*. secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai dasar ilmiah pemanfaatan tanaman kitolod sebagai agen antifungi alami. Hasil penelitian ini dapat menambah informasi mengenai potensi senyawa bioaktif kitolod dalam menghambat pertumbuhan *Ganoderma sp,* yang merupakan patogen penting pada tanaman perkebunan dan kehutanan. Secara praktis, penelitian ini dapat menjadi rujukan dalam pengembangan alternatif pengendalian penyakit tanaman yang lebih ramah lingkungan dibandingkan fungisida kimia. Selain itu, penelitian ini juga memberi manfaat akademik sebagai sumber referensi bagi peneliti selanjutnya yang ingin mengembangkan riset terkait fitokimia, biokontrol, maupun pemanfaatan tanaman obat sebagai antifungi. Penelitian ini diharapkan mampu membuka peluang penelitian lanjutan terkait formulasi, konsentrasi efektif, maupun aplikasi lapangan dari ekstrak daun kitolod.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kitolod

Kitolod (*Hippobroma longiflora*) merupakan jenis tumbuhan liar yang berpotensi, sebagai bahan baku obat yang berasal dari Hindia Barat dan banyak dijumpai di Indonesia hingga ketinggian 1.100 mdpl (Rabbaniyyah, 2018). Syarat tumbuh kitolod dengan tanah yang ph mendekati netral 5,79- 6,97, tumbuhan ini biasanya tumbuh di sekitar semak, di pinggiran sungai, selokan, dinding-dinding tua atau ditempat yang lembab (Hapsari dkk 2016).



Gambar 2.1 Tanaman kitolod (Wineta dan Kristiani. 2021)

Hasil determinasi yang telah dilakukan oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (*Indonesian Institute Of Sciences*) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, klasifikasi dari tumbuhan kitolod menurut Wineta dan Kristiani (2021). sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Devisi : *Magnoliophyta,*

Kelas :*Magnoliopsida,*

SubKlas : *Asteridae,*

Ordo : *Campanulales,*

Famili : *Campanulaceae,*

Spesies : (*Hippobroma*)

Kitolod (*Isotoma Longiflora*) termasuk tumbuhan yang mengandung senyawa metabolit sekunder, senyawa metabolit sekunder yaitu alkoloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan juga steroid (Hapsari dkk, 2016), yang ada di dalam tumbuhan kitolod.

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun kitolod terbukti senyawa antioksidan pada ekstrak etanol longiflora terbanyak terdapat pada bagian daun, sedangkan senyawa antioksidan terendah ada pada bagian akar (Fazil dkk, 2017). Ekstak Kitolod memiliki kandungan metabolit sekunder tersebut banyak memiliki efek terapi contohnya sebagai anti inflanmasi, anti bakteri, anti kanker, anti jamur, anti oksidan, sebagai anal gerik, mampu megobati dan mencegah glaukoma dan hyperlipidemia (Alkandahri dkk, 2018). Senyawa flavonoid menunjukan aktivitas dalam penghambatan antitumor dan merupakan kandidat multidrug resistance-reversing agent dalam kemoterapi kanker (Hapsari dkk, 2016).

Aktivitas farmakologi dari tumbuhan kitolod berdasarkan jurnal penelitian diantaranya Anti kanker. Kanker merupakan penyebab kematian terbesar kedua di dunia, khususnya di negara berkembang Indonesia termasuk bagian negara berkembang tersebut pada tahun 2012, jumlah kematian yang disebabkan oleh kanker sekitar 8,2 juta orang (Kemenkes RI, 2015). Mekanisme kerja dari flavonoid yaitu menghambat P-glycoprotein pada kemoterapi kanker,ditingkatkannya efikasi obat anti kanker dan melawan kerja dari multi-drug resistance (MDR) kemudian Antiinflamasi, Inflamasi yaitu suatu respon yang ditimbulkan oleh rusaknya jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat

kimia atau zat mikrobiologik. Kandungan flavonoid dan polifenol yang terdapat pada tanaman kitolod tersebut juga mempunyai aktivitas anti inflamasi sehingga dapat menurunkan neovaskularisasi pada kornea yang terbentuk akibat paparan zat kimia basa pada mata (Arsyad dkk, 2020).

2.2 *Ganoderma sp*

Ganoderma sp. merupakan jamur lignolitik yang dikenal dengan kemampuan mendegradasi lignin pada kayu dan meninggalkan selulosa berwarna putih (Surendran *et al.,* 2017). Klasifikasi *Ganoderma sp*. berdasarkan Susanto (2011), yaitu: Regnum: Fungi, Phylum: *Basidiomycota,* Classis: *Agarimycetes*, Ordo: Polyporales, Familia: *Ganodermataceae*, Genus: *Ganoderma*, Species: *Ganoderma boninense*. Karakterisasi secara morfologi pada studi in vitro dijelaskan bahwa *Ganoderma sp* memiliki struktur permukaan bergelombang pada daerah gelap, Basidiokarp yang dibentuk seringkali berdekatan, bersambungan, dan saling menutupi sehingga menjadi suatu susunan yang besar. Konveks atau bagian atas permukaan basidiokarp memiliki warna yang bervariasi, coklat muda hingga coklat tua, tampak mengkilap khususnya pada basidiokar p muda, memiliki zonazona, dan kurang rata. Permukaan bawah basidiokarp berwarna putih pucat, memiliki basidiomata yang terbentuk dari miselium berwarna putih yang kemudian berkembang menjadi struktur kecil berwarna putih seperti yang terlihat pada (Gambar 2.1. (a), dapat tumbuh pada suhu optimum 30°C dengan pH 3 - 8,5 (Chong *et al.,* 2017). *Ganoderma sp* memiliki ciri khas yaitu adanya basidiokarp yang berukuran besar, tubuh buah *Ganoderma sp* biasanya berbentuk kipas yang melekat pada batang pohon kelapa sawit yang

terinfeksi memiliki spora berdinding ganda, dengan lapisan berwarna kecoklatan (Agustina, 2020).

Ganoderma sp merupakan fungi lignolitik yang dikenal dengan kemampuan mendegradasi lignin pada kayu dan meninggalkan selulosa berwarna putih (Sasmita, 2024). Karakterisasi secara morfologi jamur *Ganoderma sp* pada studi *in vitro* dijelaskan bahwa *Ganoderma sp* memiliki struktur permukaan bergelombang pada daerah gelap, memiliki basidiomata yang terbentuk dari miselium berwarna putih yang kemudian berkembang menjadi struktur kecil, berwarna putih seperti kancing seperti, dapat tumbuh pada suhu optimum 30° C dengan pH 3-8,5 (Vidyasari, 2022).

Sedangkan menurut Fitriani (2017) Badan buah *Ganoderma sp.* memiliki basidiokarp berbentuk seperti kipas, bergelombang, terdapat lingkaran tahunan, permukaannya memiliki warna coklat keunguan pada bagian tepi berwarna putih. Bagian bawah badan buah *Ganoderma* sp. berwarna putih kekuningan dan memiliki pori-pori. karakteristik morfologi isolat *Ganoderma sp.* berwarna putih dengan tekstur kasar, tekstur permukaan berombak. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Isolat *Ganoderma sp*.

2.3 Metode Maserasi

Metode maserasi merupakan cara penyaringan yang sederhana yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut hingga seluruh serbuk simplisia terendam seluruhnya. Larutnya kandungan kimia simplisia saat proses maserasi, umumnya akan terjadi apabila pelarut menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, dalam rongga sel inilah terdapat senyawa aktif yang dapat larut di dalam pelarut (Muzafri, 2019). Metode ini digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang seperti benzoin, stiraks dan lilin. Penggunaan metode ini misalnya pada sampel yang berupa daun, contohnya pada penggunaan pelarut *eter* atau *aseton* untuk melarutkan lemak lipid (Dirjen POM, 2014).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Selain itu, kerusakan pada komponen kimia sangat minimal. Adapun kerugian cara maserasi ini adalah pengerjaannya lama dan penyaringannya kurang sempurna (Ditjen POM, 1986).

2.4. Gejala Serangan

Gejala penyakit busuk pangkal batang kelapa sawit yang disebabkan oleh Ganoderma dapat diketahui dari mahkota pohon. Pohon sakit mempunyai jamur (daun yang belum membuka) lebih banyak dari biasa. Daun- daun berwarna hijau pucat. Daun-daun tua layu, patah pada pelepah dan menggantung disekitar batang (Semangun, 1989).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Pasir Pengaraian, Desa Rambah, Kecamatan Rambah Hilir, Kabupaten Rokan Hulu. Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan Desember 2025 sampai Juni 2026.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun kitolod (*Hippobroma longiflora*) segar sebagai bahan utama, etanol 70% (atau metanol sesuai kebutuhan), isolat *Ganoderma sp.* yang diperoleh dari sampel kayu terserang ataupun koleksi laboratorium, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), air suling, Mg,HCL,FeCL,H2 SO4 serta bahan tambahan lain seperti NaCl.

Alat yang digunakan terdiri atas oven pengering, blender atau alat penggiling untuk menghaluskan simplisia, erlenmeyer, kertas saring, rotary evaporator atau water bath untuk proses penguapan pelarut, cawan petri steril, mikropipet sebagai alat ukur, kulkas bersuhu 4°C untuk penyimpanan, inkubator atau ruang inkubasi, laminar air flow untuk kegiatan aseptik, steri loop, dan autoklaf untuk proses sterilisasi.

3.3 Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan konsentrasi ekstrak daun *Hippobroma longiflora* (kitolod) dan kontrol. Setiap perlakuan diulang 5 kali. Pengukuran pertumbuhan *Ganoderma sp*. dilakukan secara in vitro menggunakan teknik *poisoned food* (media keracunan).

Perlakuan:

P0 = Kontrol (tidak ada ekstrak)

P1 = Ekstrak 4 ml

P2 = Ekstrak 6 ml

P3 = Ekstrak 8 ml

Replikasi = 5→ total petri per pengukuran = 20)

3.4 Pelaksanaan penelitian

3.4.1 Penyediaan Ekstrak daun kitolod

Penyediaan ekstrak daun kitolod dimulai dengan pengumpulan dan preparasi sampel, yaitu mengumpulkan daun sehat kitolod, mencucinya bersih, lalu meniriskannya; selanjutnya, daun tersebut dikeringkan di oven pada suhu 40–45°C sampai mencapai berat konstan (atau dengan pengeringan udara teduh bila diperlukan) dan digiling menjadi serbuk halus. (Dewanto *et al*., 2002)

Untuk ekstraksi dengan macerasi sederhana, timbang 100 g serbuk kering, masukkan ke dalam labu, lalu tambahkan 1 L etanol 70% dengan rasio 1:10 w/v, kemudian lakukan macerasi selama 72 jam dengan pengadukan sesekali pada suhu kamar; selanjutnya, untuk pelarutan stok dan pembuatan konsentrasi kerja, larutkan ekstrak pekat dalam sedikit etanol (atau DMSO dengan konsentrasi akhir ≤1%) untuk membuat stok (misalnya 100 g/L), kemudian encerkan dengan air steril atau medium untuk mendapatkan konsentrasi kerja (dimana ppm sama dengan mg/L), dan pastikan pelarut kontrol (untuk P0) mengandung volume atau persentase pelarut yang sama. (CLSI, 2012; Andrews, 2001)

3.4.2 Sterilisasi Alat

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

3.4.3 Pembuatan Media Potato Dextrose Agar(PDA)

Media yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu media PDA instan yang telah tersedia di laboratorium. Cara pembuatan media PDA adalah dengan menimbang 4 g PDA instan sebanyak 4 . Masukkan PDA kedalam 4 tabung erlemeyer dan tambahkan 100 ml aquadest kemudian tutup elemeyer dengan alumunium foil setelah itu dihomogenkan. Setelah homogen kemudian disterilisasi dengan autoklave pada suhu 121 oC dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.4.4 Isolasi *Ganoderma sp*

Tubuh buah yang baru diambil dari lapangan, langsung dibawa ke laboratorium. Tubuh buah dipotong kecil-kecil dengan menggunakan pisau yang telah disterilkan dengan ukuran ± 1 cm x 1 cm, lapisan tubuh buah yang paling luar dikikis dengan ketebalan ± I mm, kemudian direndam di dalam larutan clorox (NaOCl) 10 % selama 10 menit setelah itu kembali dicuci dengan air aquadest

steril lalu dikeringkan diatas kertas filter steril. Fahrida Yanti dan Agus Susanto (2004)

3.4.5 Identifikasi Jamur Patogen

Identifikasi jamur meliputi karakter makroskopis dan mikroskopis (Watanabe, 2002). Karakter makroskopis didapatkan dengan membuat kultur murni di dalam media PDA. Karakter mikroskopis didapatkan dengan membuat preparat. Preparat disiapkan dengan cara mengambil miselium jamur seujung ose kemudian diletakkan pada kaca objek yang sebelumnya telah disterilkan dengan alkohol 70%, kemudian ditetesi dengan methylene blue. Selanjutnya ditutupi dengan cover glass, koloni diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali.

3.5 Teknik Inokulasi dan Inkubasi

Setelah media PDA yang telah dicampur dengan ekstrak daun kitolod mengeras, satu potongan agar *Ganoderma sp*. berdiameter 5 mm diletakkan tepat di bagian tengah cawan Petri. Cawan kemudian ditutup rapat dan diberi label yang mencantumkan perlakuan, ulangan, serta tanggal inokulasi. Selanjutnya, cawan diinkubasi pada suhu 25–28°C dalam kondisi gelap atau ruang tertutup sesuai kebutuhan pertumbuhan *Ganoderma sp*. Pengamatan terhadap pertumbuhan miselium dilakukan setiap 2–3 hari hingga koloni hampir menutupi seluruh permukaan media, yang umumnya terjadi dalam waktu 7–14 hari tergantung pada kecepatan pertumbuhan isolat.(Suwandi *et al*., 2012)

3.6 Parameter Pengamatan

3.6.1 karakteristik Cendawan Patogen (*Ganoderma sp*)

Pengamatan makroskopis dengan cara langsung melihat warna koloni, bentuk koloni dan permukaan koloni jamur. Pengamatan ciri-ciri mikroskopis

meliputi ada tidaknya spora atau konidia, tipe hifa, bentuk spora dan konidia dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40 x 100. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengambil jamur menggunakan jarum ose. Kemudian diletakkan pada kaca objek yang telah ditetesi methylene blue kemudian ditutup dengan cover glass dan dilakukan pengamatan jamur pada mikroskop. Jamur yang telah diisolasi dan dimurnikan kemudian di karakterisasi berdasarkan buku panduan Pengenalan Kapang Tropik Umum (Gandjar *et al.* 1999).

3.6.2 Diameter Koloni *Ganoderma sp*

Pengukuran dimulai pada hari ke-3 setelah inokulasi dan dilanjutkan setiap 2–3 hari hingga akhir percobaan. Kecepatan pertumbuhan radial jamur dihitung dengan membagi perubahan diameter koloni terhadap jumlah hari pengamatan (mm/hari). Selain itu, efektivitas ekstrak daun kitolod dalam menghambat pertumbuhan jamur dinyatakan dalam persentase penghambatan yang dihitung menggunakan rumus: % Inhibisi = ((Dc - Dt) / Dc) × 100, di mana Dc merupakan diameter rata-rata koloni pada kontrol dan Dt adalah diameter rata-rata koloni pada perlakuan. Selama pengamatan, juga dicatat perubahan morfologi koloni secara kualitatif seperti warna, kerapatan miselium, dan pembentukan spora, serta waktu ketika koloni berhenti tumbuh untuk melengkapi data hasil penelitian.

3.6.3 Uji Kandungan Ekstrak daun Kitolod

Uji Flavonoid

Ekstrak kitolod sebanyak 0,5 gram, 0,1 mg serbuk magnesium serta larutan amil alkohol 1:1 dimasukkan kedalam tabung reaksi. Selanjutnya tambahkan

alkohol 96% sebanyak 4 ml. Uji dikatakan positif jika larutan berubah warna kuning, jingga, dan merah ((Cahyaningsih *et al*.,)

Uji Tanin Dan Fenolik

Uji tanin dilakukan dengan cara memasukkan ekstrak kitolod sebanyak 05 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian diteteskan FeCl3 5% sebanyak 3 tetes. Uji dikatakan positif jika larutan berubah warna menjadi hijau kehitaman. Pada uji fenolik ekstrak sebanyak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian diteteskan FeCl3 1% sebanyak 3 tetes. Uji dikatakan positif jika larutan berubah warna menjadi hijau hingga merah (Retno, 2021).

Uji Saponin

Sebanyak 10 ml air panas dan 0,5 g ekstrak kitolod dimasukkan kedalam tabung elemeyer, lalu didinginkan dan dihomogenkan selama 10 detik. Apabila terbentuk buih selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan jika ditambahkan 1 tetes HCl 2 N. Buih tidak hilang maka ekstrak tersebut mengandung saponin (Depkes RI, 1995).

Uji Steroid

Ekstrak kitolod sebanyak 0,5 gram diletakkan pada plat tetes dan ditambahkan asam asetat sampai semua sampel terendam, dibiarkan 15 menit kemudian 6 tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Perubahan warna yang terjadi diamati dan digunakan sebagai ukuran relatif kandungan steroid dalam sampel. Adanya warna biru. (Sangi *et al.*, 2012).

Uji Alkaloid

Ekstrak kitolod sebanyak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dimasukkan sebanyak 1 mL pereaksi Mayer. Setelah itu tunggu beberapa saat. Uji dikatakan positif jika terbentuk endapan jingga dan kuning. (Elisa *et al*. 2018).

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan karakteristik, diamater koloni dan uji ekstrak daun kitolod terhadap *Ganoderma sp* di sajikan dalam bentuk deskriptif.