

Profil ADME, Toksisitas, dan Efikasi *In Silico* d-Limonene terhadap *Oryctes rhinoceros*

Andre Chandra^{1,*}, Zhafirah Amalia¹, Lusiana Hidayati¹, Maulin Eka Cahyani¹,
dan Fijar Muhamad Fathurohman¹

¹) Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman

*) Corresponding author: andrechndraa02@gmail.com

Abstrak

Kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) merupakan hama utama pada tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) yang tingkat infeksiya dapat mencapai hampir 100%, terutama di area peremajaan yang banyak terdapat sisa-sisa batang membusuk sebagai media perkembangbiakan. Pengendalian hama ini memerlukan alternatif yang lebih ramah lingkungan dibandingkan insektisida sintetis. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia kandidat bioinsektisida terbaik melalui pendekatan *in silico* terhadap protein target *Oryctes rhinoceros*. Metode yang digunakan meliputi skrining farmakokinetik (ADME) berdasarkan Aturan Lipinski dan Hao, analisis ekotoksisitas non-target menggunakan ProTox 3.0, toksisitas terhadap manusia menggunakan, serta *molecular docking* menggunakan PyRx, PyMOL, dan BIOVIA Discovery Studio terhadap tiga protein target, yaitu Defensin, Rhinocerosin, dan Scarabaecin. Sepuluh senyawa fitokimia dianalisis, meliputi d-Limonene, Eugenol, Citronellal, Dillapiole, Diplopterol, Clerodin, 12'-Hydroxy-7'-Multijuguinone, Azadirachtin, Squamocin, dan Rotenone. Berdasarkan profil ADME dan toksisitas menunjukkan bahwa d-Limonene, Eugenol, dan Citronellal merupakan senyawa fitokimia potensial yang layak dilanjutkan ke tahap penambatan molekuler. Hasil penambatan molekuler menunjukkan bahwa d-Limonene memiliki afinitas pengikatan tertinggi dan paling konsisten terhadap ketiga protein target (Rhinocerosin: -5,7 kkal/mol; Scarabaecin: -5,3 kkal/mol; Defensin: -4,3 kkal/mol), dengan interaksi didominasi ikatan hidrofobik Alkil dan Pi-Alkil terhadap residu PHE, TYR, LEU, VAL, dan ILE. Rotenone dan Squamocin didiskualifikasi karena toksisitas fatal pada manusia dan spektrum racun ekologis yang luas. Kesimpulannya, d-Limonene merupakan kandidat bioinsektisida paling prospektif terhadap *Oryctes rhinoceros* berdasarkan integrasi profil ADME, keamanan lingkungan, dan kekuatan interaksi molekuler terhadap protein target serangga.

Kata kunci: Kelapa sawit; *Oryctes rhinoceros*; bioinsektisida; molecular docking; d-Limonene

Abstract

The rhinoceros beetle (*Oryctes rhinoceros* L.) is a major pest of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.), with infection rates reaching nearly 100%, particularly in replanting areas where decaying trunk remnants serve as breeding grounds. Controlling this pest requires more environmentally friendly alternatives to synthetic insecticides. This study aims to identify the best candidate phytochemical compounds for bioinsecticides through an *in silico* approach targeting *Oryctes rhinoceros* proteins. The methods used included pharmacokinetic (ADME) screening based on Lipinski's and Hao's rules, non-target ecotoxicity analysis using ProTox 3.0, human toxicity analysis, and molecular docking using PyRx, PyMOL, and BIOVIA Discovery Studio against three target proteins: Defensin, Rhinocerosin, and Scarabaecin. Ten phytochemical compounds were analyzed, including d-Limonene, Eugenol, Citronellal, Dillapiole, Diplopterol, Clerodin, 12'-Hydroxy-7'-Multijuguinone, Azadirachtin, Squamocin, and Rotenone. Based on their ADME and toxicity profiles, d-limonene, eugenol, and citronellal are potential phytochemicals that warrant further study in the molecular docking phase. Molecular docking results show that d-Limonene has the highest and most consistent binding affinity for all three target proteins (Rhinocerosin: -5.7 kcal/mol; Scarabaecin: -5.3 kcal/mol; Defensin: -4.3 kcal/mol), with interactions dominated by alkyl and pi-alkyl hydrophobic bonds to the PHE, TYR, LEU, VAL, and ILE residues. Rotenone and Squamocin were disqualified due to their lethal toxicity to humans and broad ecological toxicity spectrum. In conclusion, d-Limonene is the most promising bioinsecticide candidate against *Oryctes rhinoceros* based on an

integrated assessment of its ADME profile, environmental safety, and the strength of its molecular interactions with insect target proteins.

Keywords: *Oil palm; Oryctes rhinoceros; bioinsecticide; molecular docking; d-limonene*

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elais guineensis* Jacq.) merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi sehingga berpotensi meningkatkan keuntungan yang besar (Daulay et al., 2025). Minyak dari kelapa sawit merupakan salah satu olahan yang menjadi produk unggulan kelapa sawit dunia. Indonesia sebagai negara produsen sawit terbesar dunia memiliki peran penting dalam memenuhi kebutuhan minyak sawit global. Data menurut Kementrian Pertanian Republik Indonesia (2024), luas perkebunan kelapa sawit Indonesia dari tahun 1980-2024 terus mengalami pertumbuhan luas. Produksi kelapa sawit juga menunjukkan kecenderungan meningkat seiring dengan perkembangan luas areal perkebunan. Tahun 2022 produksi minyak kelapa sawit Indonesia mencapai 46,82 juta ton dan diproyeksikan meningkat menjadi 51,45% ton pada tahun 2027. Akan tetapi, peningkatan produksi tersebut tidak sepenuhnya diikuti oleh peningkatan produktivitas tanaman (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2024)

Produktivitas tanaman kelapa sawit dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya serangan organisme pengganggu tanaman (OPT). Kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) merupakan salah satu hama penting yang menjadi kendala dalam budidaya kelapa sawit (Wong et al., 2022). Tingkat serangan hama ini bisa mencapai 100%, terutama di area permajaan kelapa sawit yang banyak terdapat sisa-sisa batang yang membusuk untuk dijadikan media perkembangbiakan (Tito et al., 2026; Maysaroh et al., 2026). Adanya tempat perkembangbiakan dapat menyebabkan populasi hama menjadi sangat tinggi.

Pengendalian *O. rhinoceros* dapat dilakukan dengan berbagai pendekatan, salah satunya dengan melakukan pengujian insektisida sintetis. Akan tetapi, penggunaan insektisida sintetis yang berlebihan dan tidak tepat dapat menimbulkan berbagai permasalahan lingkungan, gangguan terhadap organisme non-target, serta potensi dampak negatif terhadap kesehatan manusia (Ramadhani et al., 2025). Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengendalian yang efektif dan ramah lingkungan dibandingkan dengan insektisida sintetis. Salah satu alternatif yang berpotensi untuk dikembangkan adalah bioinsektisida yang berasal dari senyawa fitokimia.

Berbagai macam tumbuhan diketahui mengandung senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas insektisida, *antifeedant*, repelen, maupun penghambatan terhadap

berbagai proses fisiologis serangga (Sanjaya et al., 2021). Pengembangan senyawa fitokimia sebagai kandidat bioinsektisida juga memerlukan proses seleksi untuk mengetahui efektivitas, karakteristik farmakokinetik, serta tingkat keamanan senyawa. Pengujian secara konvensional terhadap banyak senyawa tersebut tentunya membutuhkan waktu, biaya dan sumber daya yang relatif besar. Salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk mempercepat proses seleksi kandidat senyawa ialah pendekatan *in silico*.

Pendekatan *in silico* memungkinkan prediksi karakteristik suatu senyawa berdasarkan struktur molekulnya (Manojkumar et al., 2024). Analisis penambatan molekuler dapat digunakan untuk memprediksi afinitas dan pola interaksi antara senyawa fitokimia dengan protein tertentu yang berperan dalam kehidupan serangga (Abdelli et al., 2021). Interaksi senyawa fitokimia dengan protein target dapat memberikan gambaran awal mengenai potensi suatu senyawa sebagai kandidat pengendali *O. rhinoceros*. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia kandidat bioinsektisida terbaik melalui pendekatan *in silico* terhadap protein target *Oryctes rhinoceros*. Pendekatan ini juga sebagai skrining awal sebelum lanjut ke tahap *in vitro*.

METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2026 di Laboratorium Perlindungan Tanaman, Program Studi Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman. Pengujian yang dipakai yaitu *in silico* dan hanya berfokus pada penambatan molekuler saja. Seluruh analisis dilakukan menggunakan perangkat komputer dengan spesifikasi standar penelitian bioinformatika (Ryzen 3 5000, grafis Amda Radeon) dan akses ke basis data.

Desain Penelitian

Rancangan penelitian ini didesain sebagai studi komputasional (*in silico*) yang mengombinasikan penapisan awal profil ADME (*Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion*), toksisitas terhadap manusia, toksisitas terhadap lingkungan dan penambatan molekuler (*molecular docking*) untuk mengevaluasi potensi 10 kandidat senyawa fitokimia (Tabel 1.). Senyawa yang dievaluasi mencakup Azadirachtin (*Azadirachta indica*) dan Rotenone (*Derris elliptica*) yang telah diuji langsung pada kumbang tanduk; Dillapiole (*Piper aduncum*), 12'-Hydroxy-7'-Multijuguinone (*Senna multijuga*), Squamocin (*Annona squamosa*), Clerodin (*Clerodendron infortunatum*), Eugenol (*Syzygium aromaticum*), dan

Diplopterol (*Adiantum latifolium*) yang telah diuji pada kumbang tanduk namun bukan menggunakan senyawa murni; serta Citronellal (*Cymbopogon nardus*) dan d-Limonene (*Citrus sinensis*) yang belum pernah diuji pada kumbang tanduk. Sebanyak tiga kandidat senyawa fitokimia terbaik dipilih dan dilanjutkan penambatan molekuler guna menguji afinitas pengikatan (kkal/mol) antara ketiga senyawa terpilih tersebut dengan tiga protein target kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros*) yang telah terdaftar serta ditinjau secara kurasi eksperimental (*reviewed*) di database UniProt, yaitu Defensin, Rhinocerosin, dan Scarabaecin.

Tabel 1. Kandidat Senyawa Fitokimia

Senyawa	Tanaman	Status	Fungsi
Dillapiole	<i>Piper aduncum</i>	Sudah diuji pada kumbang tanduk namun bukan uji senyawa murni.	Inhibisi asetilkolinesterase (AChE) mengalami kejang (<i>hyperexcitation</i>), tremor, kelumpuhan (<i>paralysis</i>), dan berujung pada kematian; menyebabkan peningkatan enzim esterase (α -EST, β -EST) dan glutathione-S-transferase pada organisme target sebagai respons detoksifikasi (Pereira Filho et al., 2024).
12'-Hydroxy-7'-Multijuguinone	<i>Senna multijuga</i>	Sudah diuji pada kumbang tanduk namun bukan uji senyawa murni.	Racun perut; inhibisi asetilkolinesterase (AChE) mengalami kejang (<i>hyperexcitation</i>), tremor, kelumpuhan (<i>paralysis</i>), dan berujung pada kematian (Serrano et al., 2010).
Squamocin	<i>Annona squamosa</i>	Sudah diuji pada kumbang tanduk namun bukan uji senyawa murni.	Menyerang sel-sel epitel usus tengah (<i>midgut</i>); menyebabkan sitoplasma sel pencernaan bervakuola, mikrovili hancur, dan membran sel lisis; penurunan laju respirasi yang menyebabkan <i>knockdown</i> ; penghambat makan (Fiaz et al., 2018).
Clerodin	<i>Clerodendron infortunatum</i>	Sudah diuji pada kumbang tanduk namun bukan uji senyawa murni.	Sebagai <i>antifeedant</i> ; Menyebabkan gangguan proses spermatogenesis, baik melalui hambatan mitosis pada sel germinal atau induksi apoptosis; gangguan pada sintesis makromolekul dan homeostasis energi.(Abbaszadeh et al., 2014; Sreeletha & Geetha, 2011).
Azadirachtin	<i>Azadirachta indica</i>	Sudah diuji pada kumbang tanduk.	<i>Antifeedant</i> melalui mekanisme kemoreseptor gustatori, <i>insect</i>

Senyawa	Tanaman	Status	Fungsi
			<i>growth disruptor</i> , sterilan, neuro-endokrin, induksi apoptosis pada <i>midgut</i> dan sel reproduksi serta repelen oviposisi (Kilani-Morakchi et al., 2021).
Rotenone	<i>Derris elliptica</i>	Sudah diuji pada kumbang tanduk.	Racun kontak dan racun perut berspektrum luas yang menyebabkan <i>antifeedant</i> , gangguan metabolisme energi dan asam amino, penghambatan biosintesis lemak yang memicu pengurasan cadangan lipid, serta kerusakan struktural pada membran sel (Akbar et al., 2019; Li et al., 2023).
Eugenol	<i>Syzygium aromaticum</i>	Sudah diuji pada kumbang tanduk namun bukan uji senyawa murni.	Induksi kematian sel terprogram (apoptosis) pada serangga melalui aktivasi enzim <i>caspase-like</i> serta perubahan morfologi sel seperti kondensasi dan fragmentasi kromatin (Fernandes et al., 2020).
Citronellal	<i>Cymbopogon nardus</i>	Belum diuji pada kumbang tanduk.	Menghambat AChE, penghambat aktivitas enzim <i>adenosine triphosphatases</i> (ATPases) dan repelen (Venancio et al., 2025).
d-Limonene	<i>Citrus sinensis</i>	Belum diuji pada kumbang tanduk.	Mengganggu sistem saraf yang memungkinkan terjadinya <i>knockdown</i> dan mengganggu sistem pernapasan melalui inhalasi (Mursiti et al., 2019).
Diplopterol	<i>Adiantum latifolium</i>	Sudah diuji pada kumbang tanduk namun bukan uji senyawa murni.	Menyebabkan histolisis pada jaringan usus, menghambat enzim pencernaan, dan terjadi peningkatan kadar 20-hydroxyecdysone dalam hemolimfa sehingga mengganggu proses molting (Kumar et al., 2019)

Analisis Profil ADME

Informasi mengenai senyawa fitokimia untuk mengendalikan kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros*) diambil dari berbagai literatur ilmiah. Parameter seperti formula dan struktur kimia diambil dari basis data PubChem NCBI (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Parameter seperti berat molekul, logP, *Ikatan Hidrogen acceptors*, *rotatable bonds*, and kelarutan dalam air diambil dari basis data SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) dengan cara menginput SMILES yang diambil dari basis data PubChem. Parameter tersebut digunakan untuk memenuhi aturan kemiripan insektisida (*pesticide-likeness*) dari Hao serta Aturan Lipinski (Chandra et al., 2026).

Evaluasi sifat fisikokimia dan potensi efikasi senyawa bioinsektisida dilakukan melalui pendekatan kriteria *drug-likeness* dan *pesticide-likeness*. Aturan Lima Lipinski (*Rule of Five*) digunakan sebagai panduan mendasar untuk mengevaluasi kelayakan suatu molekul biologis aktif agar memiliki sifat absorpsi dan permeabilitas membran yang optimal. Suatu senyawa cenderung memiliki tingkat absorpsi atau permeabilitas membran yang baik apabila memenuhi kriteria ideal berupa berat molekul > 500 g/mol, jumlah akseptor ikatan hidrogen > 10 , jumlah donor ikatan hidrogen > 5 , serta nilai lipofilisitas $\text{LogP} > 5$ (Lipinski et al., 1997).

Selain aturan Lipinski, aturan Hao digunakan sebagai kriteria penapisan pelengkap guna menilai kelayakan senyawa sebagai bioinsektisida. Aturan Hao menetapkan syarat kelayakan insektisida mencakup berat molekul ≤ 435 g/mol, nilai lipofilisitas ≤ 6 , jumlah donor ikatan hidrogen ≤ 2 , jumlah akseptor ikatan hidrogen ≤ 6 , dan jumlah ikatan terputar ≤ 9 (Hao et al., 2011). Sementara itu, tingkat kelarutan dalam air (*water solubility*) terbagi menjadi lima kategori utama, yaitu nilai 0 untuk sangat mudah larut, $-0,2$ untuk mudah larut, $-0,4$ untuk larut, $-0,6$ untuk sulit larut, hingga nilai -10 yang menunjukkan sifat tidak larut sama sekali.

Evaluasi Toksisitas terhadap Manusia

Evaluasi potensi toksisitas terhadap manusia dari senyawa fitokimia kandidat biofungisida dilakukan melalui pendekatan prediksi komputasi atau *in silico*. Parameter toksisitas utama yang meliputi nilai dosis mematikan median (LD_{50}), klasifikasi tingkat toksisitas, imunotoksikitas, serta sawar darah otak diprediksi menggunakan platform ProTox 3.0 (<https://tox.charite.de/protox3/>). Kategori prediksi toksisitas mengacu pada kriteria *Globally Harmonized System* (GHS) yang mengelompokkan senyawa berdasarkan nilai LD_{50} (mg/kg berat badan) ke dalam enam kelas, yaitu Kelas I (kurang dari atau sama dengan 5 mg/kg, sangat mematikan), Kelas II (5 sampai 50 mg/kg, mematikan), Kelas III (50 sampai 300 mg/kg, beracun), Kelas IV (300 sampai 2000 mg/kg, berbahaya), Kelas V (2000 sampai 5000 mg/kg, mungkin berbahaya), dan Kelas VI (lebih dari 5000 mg/kg, tidak beracun) (Banerjee et al., 2024). Analisis komplementer mengenai profil keamanan senyawa diakses melalui basis data Deep-PK (<http://www.biosig.lab.uq.edu.au/deeppk/>) untuk memprediksi parameter spesifik seperti toksisitas akut tikus, AMES mutagenesis, sensitisasi kulit, iritasi saluran pernapasan, serta potensi korosi mata.

Basis data Deep-PK memprediksi nilai toksisitas oral kronis pada tikus serta dosis toleransi maksimum pada manusia guna melengkapi evaluasi profil keamanan jangka

panjang dan paparan akut. Evaluasi toksisitas kronis tikus melibatkan penentuan dosis terendah yang mulai menimbulkan efek samping (*Lowest Observed Adverse Effect Level/LOAEL*) dan dosis tertinggi yang tidak menimbulkan efek samping (*No Observed Adverse Effect Level/NOAEL*) setelah paparan jangka panjang. Tingkat keamanan paparan harian pada manusia ditentukan melalui parameter *Maximum Recommended Tolerated Dose* (MRTD) berbasis data klinis, dengan nilai logaritmik MRTD kurang dari atau sama dengan 0,477 log(mg/kg/hari) mengindikasikan toksisitas rendah dan nilai lebih dari 0,477 log(mg/kg/hari) menandakan toksisitas tinggi. Penilaian bahaya dari paparan jangka pendek disempurnakan menggunakan uji toksisitas akut berbasis model QSAR yang divalidasi eksternal dari data hewan uji.

Evaluasi Potensi Dampak Lingkungan

Evaluasi potensi dampak lingkungan dari senyawa fitokimia dilakukan secara *in silico* menggunakan platform prediksi berbasis pembelajaran mesin. Parameter ekotoksikologi akuatik dan terestrial meliputi toksisitas *Fathead minnow* (FHM), *Tetrahymena pyriformis* (TPT), *Daphnia magna*, unggas, serta lebah madu, disamping parameter nasib lingkungan berupa biodegradasi dan faktor biokonsentrasi (*Bioconcentration Factor/BCF*), diakses melalui basis data Deep-PK (<http://www.biosig.lab.uq.edu.au/deeppk/>). Potensi daya herbisida dianalisis melalui basis data cropCSM (https://biosig.lab.uq.edu.au/crop_csm/).

Penentuan kategori toksisitas FHM mengklasifikasikan senyawa ke dalam kelompok toksisitas akut tinggi apabila memiliki nilai LC_{50} lebih besar dari 0,5 mmol/L, serta kelompok toksisitas akut rendah (low acute FHMT) jika nilai LC_{50} kurang dari atau sama dengan 0,5 mmol/L. Potensi toksisitas *Tetrahymena pyriformis* ditentukan berdasarkan nilai $pIGC_{50}$ (logaritma negatif dari konsentrasi hambatan pertumbuhan 50%), dengan kriteria nilai lebih besar dari -0,5 dikategorikan sebagai TPT dan nilai kurang dari atau sama dengan -0,5 dikategorikan sebagai non-TPT. Evaluasi toksisitas *Daphnia magna* didasarkan pada mortalitas 50% populasi uji dalam waktu pendedahan 48 jam, menggunakan nilai LC_{50} yang diekspresikan sebagai $-\log_{10}[(\text{mg/L})/(1000 \times \text{MW})]$. Estimasi toksisitas pada unggas merujuk nilai LC_{50} dari basis data PA Ecotox yang mencakup 17 spesies avia. Klasifikasi biodegradasi senyawa dibagi menjadi aman (mudah terurai) atau toksik (sulit terurai) berdasarkan ambang nilai kebutuhan oksigen biologis (*Biological Oxygen Demand/BOD*). Penilaian akumulasi dalam organisme hidup dilakukan melalui faktor biodegradasi dengan menghitung rasio konsentrasi senyawa pada jaringan

biota akibat penyerapan melalui permukaan respirasi air dalam kondisi kesetimbangan (*steady state*). Faktor biokonsentrasi yang rendah menunjukkan risiko bioakumulasi yang rendah. Prediksi aktivitas herbisida dijalankan memanfaatkan model prediktif cropCSM yang telah dilatih dan divalidasi menggunakan kumpulan data eksperimental lebih dari 4.500 senyawa uji.

Penambatan Molekuler

Berdasarkan evaluasi profil ADME dan toksisitas, sebanyak tiga kandidat senyawa fitokimia terbaik dipilih untuk dilanjutkan ke tahap penambatan molekuler. Penambatan molekuler dilakukan menggunakan perangkat lunak PyRx untuk mengetahui afinitas pengikatan antara senyawa fitokimia dan protein target kumbang tanduk. Afinitas pengikatan (kcal/mol) dijadikan sebagai indikator utama stabilitas molekuler, di mana nilai terendah mengindikasikan ikatan yang paling stabil. Seluruh pasangan ligan-reseptor ditapis guna menjaring kandidat bioinsektisida paling potensial (Benatar et al., 2025).

Konformasi ligan dengan skor energi terbaik diekstraksi menggunakan PyMOL. Perangkat lunak ini digunakan untuk menyelaraskan struktur (*superposition/alignment*) serta menggabungkan posisi ligan dan protein ke dalam satu file kompleks berformat .pdb. Langkah ini memastikan geometri pengikatan berada pada orientasi yang presisi sebelum dilakukan pemetaan interaksi atomik.

Hasil ekstraksi PyMOL kemudian dianalisis menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer untuk memetakan interaksi non-kovalen dua dimensi (2D) dan tiga dimensi (3D) secara spesifik pada tiga kandidat senyawa fitokimia. Analisis difokuskan pada tipe interaksi dan keterlibatan residu asam amino pada kantung pengikatan. Data visual ini menjadi bukti kualitatif pendukung nilai afinitas pengikatan kuantitatif, sekaligus memberikan pemahaman mekanistik mengenai hubungan struktur-aktivitas dalam mengganggu fungsi fisiologis kumbang tanduk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil ADME Kandidat Senyawa

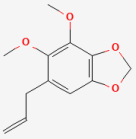
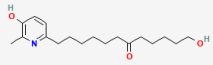
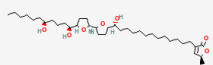
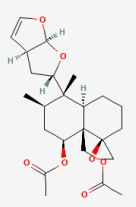
Berdasarkan parameter berat molekul, d-Limonene tampil sebagai senyawa dengan ukuran paling kecil (136,23 g/mol) dibandingkan kandidat lain seperti Azadirachtin (720,71 g/mol). Berat molekul yang rendah pada senyawa monoterpenoid sangat menguntungkan karena berkorelasi dengan volatilitas tinggi, yang mana sejalan dengan tinjauan Reis et al. (2016) bahwa monoterpen lebih mudah mencapai sistem

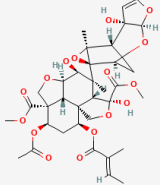
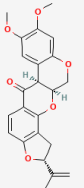
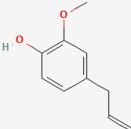
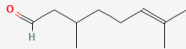
trakea/pernapasan serangga melalui fase uap. Sifat ini sangat mendukung mekanisme kerja fumigan d-limomene untuk mengendalikan *O. rhinoceros* di celah-celah titik tumbuh pucuk kelapa sawit yang sulit dijangkau kontak langsung.

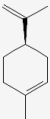
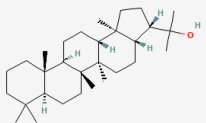
Dari aspek lipofisilitas (LogP), berbagai kajian menunjukkan bahwa lapisan lilin kutikula serangga bersifat hidrofobik, sehingga senyawa lipofilik lebih mudah berpartisipasi dan menembus lapisan tersebut (Tak & Isman, 2015; Tak & Isman, 2017). Nilai LogP d-limomene (3,53) berada pada kisaran yang menguntungkan untuk penetrasi kontak. Relevansi parameter ini diperkuat oleh laporan Mursiti et al. (2019) yang menyebutkan bahwa d-limomene bekerja mengganggu sistem saraf serangga setelah terjadinya penetrasi topikal/inhalasi. Kondisi ini lebih ideal dibandingkan senyawa dengan lipofisilitas ekstrem seperti Diplopterol (LogP 8,04), yang rentan terperangkap secara termodinamika pada epikutikula. Selain itu, ketiadaan akseptor maupun donor ikatan hidrogen pada d-limomene memastikan hambatan desolvasi molekul saat berpartisipasi ke lapisan lipid kutikula menjadi sangat minimal.

Struktur d-limomene juga memiliki keunggulan pada aspek rigiditas karena hanya memiliki 1 ikatan berotasi bebas (RB=1). Secara termodinamika, kekakuan struktur ini menurunkan *conformational entropy penalty* ketika molekul berikatan dengan target protein, sehingga berkontribusi pada afinitas pengikatan yang sangat konsisten dan kuat pada hasil penambatan molekuler. Perpaduan volatilitas tinggi, daya tembus kutikula optimal, rigiditas struktur pengikatan, dan kemudahan formulasi menjadikannya pilihan dengan keseimbangan profil ADME paling menguntungkan.

Tabel 2. Profil ADME Kandidat Senyawa Fitokimia

Senyawa Fitokimia	Formula	Struktur Kimia	Berat Molekul (g/mol)	LogP	H-Bond Donor	H-Bond Acceptor	Rotatable Bond	Kelarutan dalam Air
<i>Dillapiole</i>	C ₁₂ H ₁₄ O ₄		222,24	2,33	0	4	4	-2,96 (Larut)
<i>12'-Hydroxy-7'-Multijuguinone</i>	C ₁₈ H ₂₉ NO ₃		307,43	3,33	2	4	12	-3,03 (Larut)
<i>Squamocin</i>	C ₃₇ H ₆₆ O ₇		622,92	7,61	3	7	25	-8,05 (Sulit Larut)
<i>Clerodin</i>	C ₂₄ H ₃₄ O ₇		434,52	3,04	0	7	6	-4,12 (Cukup Larut)

Senyawa Fitokimia	Formula	Struktur Kimia	Berat Molekul (g/mol)	LogP	H-Bond Donor	H-Bond Acceptor	Rotatable Bond	Kelarutan dalam Air
<i>Azadirachtin</i>	C ₃₅ H ₄₄ O ₁₆		720,71	0,37	3	16	10	-4,34 (Cukup Larut)
<i>Rotenone</i>	C ₂₃ H ₂₂ O ₆		394,42	3,53	0	6	3	-4,98 (Cukup Larut)
<i>Eugenol</i>	C ₁₀ H ₁₂ O ₂		164.20	2,22	1	2	3	-2,46 (Larut)
<i>Citronellal</i>	C ₁₀ H ₁₈ O		154.25	3,05	0	1	5	-2,88 (Larut)

Senyawa Fitokimia	Formula	Struktur Kimia	Berat Molekul (g/mol)	LogP	H-Bond Donor	H-Bond Acceptor	Rotatable Bond	Kelarutan dalam Air
<i>d-Limonene</i>	C ₁₀ H ₁₆		136,23	3,53	0	0	1	-3,50 (Larut)
<i>Diplopterol</i>	C ₃₀ H ₅₂ O		428,73	8,04	1	1	1	-8,66 (Sulit Larut)

Tabel 3. Toksisitas Kandidat Senyawa Fitokimia terhadap Manusia dan Mamalia

Senyawa Fitokimia	Prediksi LD ₅₀ (mg/kg_bw)	Prediksi Toksisitas Kelas	Imunotoksitas	Sawar Darah-Otak (SDO)	Toksisitas Akut Tikus (pLD ₅₀ , mol/kg)	Toksisitas Oral Kronis Tikus (mg/kg_bb/hari)	AMES Mutagenesis	Sensitisasi Kulit	Gangguan Sistem Pernapasan	Dosis Toleransi Maksimum (mg/Kg/hari)	Korosi Mata
Dillapiole	1000	4	Toksik	Toksik	2,26	1,48	Aman	Toksik	Aman	0,77	Aman
12'-	650	4	Aman	Toksik	2,05	2,23	Aman	Toksik	Aman	1,1	Aman
Hydroxy-7'-Multijuguino											
ne											
Squamocin	11210	6	Toksik	Toksik	3,08	2,51	Aman	Toksik	Toksik	-2,84	Aman
Clerodin	2000	4	Toksik	Toksik	3,58	1,68	Toksik	Toksik	Toksik	0,29	Aman
Azadirachtin	2000	4	Toksik	Aman	5,38	3,17	Aman	Aman	Toksik	0,55	Aman
Rotenone	3	1	Toksik	Toksik	3,67	1,81	Aman	Aman	Aman	0,09	Aman
Eugenol	1930	4	Aman	Toksik	2,06	2,19	Aman	Toksik	Aman	0,54	Toksik
Citronellal	2420	5	Aman	Toksik	1,54	1,47	Aman	Toksik	Toksik	0,71	Toksik
d-Limonene	4400	5	Aman	Toksik	1,54	1,76	Aman	Toksik	Aman	0,01	Toksik
Diplopterol	500	4	Toksik	Toksik	2,29	1,59	Aman	Toksik	Toksik	2,2	Aman

Tabel 4. Toksisitas Kandidat Senyawa Fitokimia terhadap Ekotoksikologis dan Lingkungan

Senyawa Fitokimia	Burung	Lebah	<i>Daphnia magna</i> (pLC50, mg/L)	<i>Tetrahymena pyriformis</i> (pIGC50,ug/L)	<i>Fathead minnow</i> (mol/L)	Biodegradasi	Faktor Biokonsentrasi (L/kg)	Aktivitas Herbisida
Dillapiole	Aman	Toksik	7,2	3,91	4,36	Aman	1,73	No
12'-Hydroxy-7'-Multijuguinone	Aman	Toksik	4,57	4,0	3,92	Aman	0,86	No
Squamocin	Toksik	Toksik	4,97	-33788,71	57,74	Toksik	-2,0	No
Clerodin	Aman	Toksik	5,64	-67,33	3,92	Aman	0,1	No
Azadirachtin	Aman	Toksik	5,94	-912778,25	1160,12	Aman	-9,12	No
Rotenone	Aman	Toksik	7,87	-34,89	5,08	Aman	1,19	No

Senyawa Fitokimia	Burung	Lebah	<i>Daphnia maga</i> (pLC50, mg/L)	<i>Tetrahymena pyriformis</i> (pIGC50,ug/L)	<i>Fathead minnow</i> (mol/L)	Biodegradasi	Faktor Biokonsentrasi (L/kg)	Aktivitas Herbisida
Eugenol	Aman	Aman	5,53	3,65	3,98	Toksik	1,02	No
Citronellal	Aman	Toksik	5,12	2,77	4,04	Toksik	0,94	No
d-Limonene	Aman	Toksik	5,02	1,47	3,93	Aman	2,27	No
Diplopterol	Aman	Toksik	6,14	-35,23	3,88	Aman	0,73	No

Tabel 5. Penambatan molekuler pada tiga kandidat senyawa terpilih

Senyawa	Protein Target	Afinitas Pengikatan	Kategori	Tipe	Situs Interaksi	Dari Kimia	Ke Kimia
Citronellal	Defensin	−3,9	Hidrofobik	Pi-Sigma Alkil	PHE4 ARG3, VAL6, ILE10	C-H Alkil	Pi-Orbitals Alkil
	Rhinocerosin	−5,1	Hidrofobik	Pi-Alkil	PHE7	Pi-Orbitals	Alkil
				Pi-Sigma Alkil	TYR114 VAL116, VAL 7, ILE11, LEU4	C-H Alkil	Pi-Orbitals Alkil
				Pi-Alkil	PHE8, TYR114, TYR140	Pi-Orbitals	Alkil
	Scarabaecin	−4,3	Ikatan Hidrogen Hidrofobik	Ikatan Hidrogen	TYR16:OH	H-Donor	H-Acceptor
				Pi-Sigma Alkil	PHE19 LEU15	C-H Alkil	Pi-Orbitals Alkil
				Pi-Alkil	TYR16, PHE19, PHE20	Pi-Orbitals	Alkil
	d-Limonene	Defensin	−4,3	Hidrofobik	Pi-Sigma Alkil	PHE7 ARG3	C-H Alkil
Rhinocerosin		−5,7	Hidrofobik	Pi-Alkil Alkil	PHE7 LEU4, VAL116, ILE11	Pi-Orbitals Alkil	Alkil
				Pi-Alkil	TYRE114, TYR140, PHE8	Pi-Orbitals	Alkil
				Scarabaecin	−5,3	Hidrofobik	Alkil

Senyawa	Protein Target	Afinitas Pengikatan	Kategori	Tipe	Situs Interaksi	Dari Kimia	Ke Kimia
Eugenol	Defensin	-3,7	Hidrofobik	Pi-Alkil	TYR16, PHE19, PHE20	Pi-Orbitals	Alkil
				Pi-Pi Stacked	PHE7	Pi-Orbitals	Pi-Orbitals
	Rhinocerosin	-5,5	Hidrofobik	Pi-Alkil	PHE7	Pi-Orbitals	Alkil
				Pi-Sigma	LEU4:CDI	C-H	Pi-Orbitals
				Pi-Pi Stacked	TYR114	Pi-Orbitals	Pi-Orbitals
				Alkil	VAL116, VAL7	Alkil	Alkil
	Scarabaecin	-4,5	Hidrofobik	Pi-Alkil	VAL116, PHE8	Pi-Orbitals	Alkil
				Pi-Pi Stacked	TYR16	Pi-Orbitals	Pi-Orbitals
				Pi-Pi T-shaped	PHE19	Pi-Orbitals	Pi-Orbitals
				Alkil	LEU15	Alkil	Alkil
				Pi-Alkil	PHE19	Pi-Orbitals	Alkil

Potensi Toksisitas terhadap Manusia dan Mamalia

Berdasarkan Tabel 3, pada parameter prediksi LD₅₀ oral akut, Squamocin menunjukkan nilai terbaik yaitu 11210 mg/kg_{bb}, sementara Rotenone memiliki nilai terburuk dengan angka 3 mg/kg_{bb}. Urutan tersebut sesuai dengan Prediksi Toksisitas Kelas, di mana Squamocin berada di kelas terbaik (Kelas 6) dan Rotenone di kelas terburuk (Kelas 1), sedangkan d-Limonene dan Citronellal berada di tingkat aman yaitu Kelas 5. Dalam parameter Imunotoksisitas, sebagian besar senyawa termasuk dalam kategori aman, antara lain d-Limonene, Eugenol, dan Citronellal. Senyawa Clerodin, Azadirachtin, Rotenone, dan Diplopterol menunjukkan hasil yang paling buruk karena bersifat toksik. Penilaian Sawar Darah-Otak (SDO) menyatakan bahwa Azadirachtin adalah satu-satunya senyawa yang diprediksi aman atau tidak menembus SDO, sedangkan sembilan senyawa lainnya menyatakan tidak aman karena mampu menembus sistem saraf pusat. Untuk toksisitas akut pada tikus (pLD₅₀), d-Limonene dan Citronellal memiliki nilai terbaik, yaitu paling tidak toksik dengan kadar 1,54 mol/kg, sedangkan Azadirachtin memiliki nilai terburuk yaitu 5,38 mol/kg. Dalam hal toksisitas oral kronis pada tikus, Azadirachtin menunjukkan toleransi tertinggi yaitu 3.17 mg per kilogram berat badan per hari, sedangkan Citronellal memiliki toleransi terendah yaitu 1.47 mg per kilogram berat badan per hari. Dalam parameter uji mutagenesis AMES, sembilan senyawa terbukti tidak berbahaya secara mutagenik, sedangkan senyawa Clerodin diduga berpotensi toksik atau mutagenik.

Parameter Sensitisasi Kulit menunjukkan bahwa Azadirachtin dan Rotenone merupakan senyawa yang terbaik karena tidak memicu sensitivitas, sedangkan delapan senyawa lainnya menunjukkan hasil toksik/mengiritasi kulit. Pada parameter Gangguan Sistem Pernapasan, d-Limonene, Eugenol, Dillapiole, 12'-Hydroxy-7'-Multijuguinone, dan Rotenone terbukti paling aman, sementara Citronellal, Squamocin, Clerodin, Azadirachtin, dan Diplopterol bersifat toksik terhadap saluran pernapasan. Penilaian Dosis Toleransi Maksimum (MTD) menunjukkan Diplopterol sebagai yang terbaik (2.2 mg/kg/hari) dan Squamocin sebagai yang terburuk (-2.84 mg/kg/hari), di mana d-Limonene mencatatkan MTD yang relatif rendah (0.01 mg/kg/day). Pada parameter Korosi Mata, kelompok senyawa makromolekul dan kompleks seperti Squamocin, Azadirachtin, dan Rotenone terbukti aman, sedangkan d-Limonene, Eugenol, dan Citronellal bersifat toksik/korosif. Secara komparatif, Eugenol menjadi senyawa unik karena aman pada sistem imun dan

pernapasan, serta aman secara bersamaan bagi organisme non-target seperti burung dan lebah.

Penilaian kelayakan senyawa makromolekul dan diterpenoid/triterpenoid menunjukkan bahwa Azadirachtin, Clerodin, Squamocin, Rotenone, dan Diplopterol terbukti tidak layak dipakai sebagai agen biologis berprofil ideal. Azadirachtin memiliki kelebihan berupa LD₅₀kronis yang tinggi serta aman dari sensitisasi kulit, namun kekurangannya terletak pada sifat imunotoksik, toksisitas pernapasan, serta pLD₅₀ akut yang sangat tinggi (5.38 mol/kg). Clerodin sangat tidak layak dipakai karena menunjukkan profil toksisitas terburuk pada hampir seluruh parameter, termasuk bersifat mutagenik dan imunotoksik. Squamocin memiliki kelebihan LD₅₀oral akut yang sangat tinggi, namun kelemahannya fatal pada parameter imunotoksitas, iritasi pernapasan, dan nilai MTD yang negatif (-2.84 mg/kg/hari). Rotenone terbukti paling tidak layak karena memiliki tingkat toksisitas akut yang ekstrim (LD₅₀ 3 mg/kg_bb) dan bahaya imunotoksik. Diplopterol juga dinyatakan tidak layak dipakai karena berstatus tidak aman pada organ pernapasan, sistem kekebalan tubuh, serta berpotensi menembus SDO.

Penilaian kelompok senyawa alilbenzena dan monoterpena menempatkan Dillapiole dan 12'-Hydroxy-7'-Multijuguinone pada tingkat kurang layak, sementara Eugenol, Citronellal, dan d-Limonene terbukti sangat potensial. Dillapiole aman pada saluran napas dan mata, tetapi kekurangannya pada sifat imunotoksik serta sensitisasi kulit membatasi kelayakannya. 12'-Hydroxy-7'-Multijuguinone memiliki profil imunologis dan pernapasan yang aman, tetapi berpotensi memicu sensitisasi kulit serta penetrasi SDO. Eugenol sangat layak dipakai karena aman dari imunotoksitas, gangguan pernapasan, dan AMES mutagenesis, dengan keunggulan ekotoksikologi utama berupa keamanan pada burung dan lebah. Penelitian yang dilakukan oleh Rolanda et al. (2024) juga menyatakan bahwa senyawa eugenol memiliki aroma yang khas dan digunakan sebagai bioinsektisida. Citronellal tergolong layak dengan LD₅₀ tinggi (Kelas 5) dan non-imunotoksik, meskipun memiliki kelemahan pada korosi mata dan iritasi pernapasan. d-Limonene menonjol sebagai senyawa paling layak dipakai karena memiliki kombinasi LD₅₀ akut yang sangat aman (Kelas 5, 4400 mg/kg_bw), pLD₅₀ akut terendah (1.54 mol/kg), bebas imunotoksitas, non-mutagenik, dan aman bagi saluran pernapasan.

Keunggulan d-Limonene dari segi parameter LD₅₀ Kelas Toksisitas 5, pLD₅₀ akut, serta ketiadaan imunotoksitas maupun gangguan pernapasan. Hambatan fisikokimia seperti potensi sensitisasi kulit, korosi mata, dan penetrasi SDO pada d-Limonene merupakan karakteristik umum monoterpena yang dapat dimitigasi melalui formulasi

emulsi terdispersi atau enkapsulasi berbasis teknologi bioinsektisida. Keamanan hayati yang tinggi ini menunjukkan bahwa penggunaan d-Limonene sebagai bioinsektisida tidak akan membahayakan aplikator maupun ekosistem perkebunan kelapa sawit. Pernyataan ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Qasim et al. (2024) yang menyatakan bahwa senyawa monoterpena seperti d-Limonene berpotensi dikembangkan sebagai kandidat bioinsektisida karena dapat mengganggu sistem olfaktori dan target saraf serangga, sehingga mendukung kajian efikasi *in silico* d-Limonene terhadap *O. rhinoceros*.

Potensi Dampak Ekotoksikologis dan Lingkungan

Studi ekotoksikologis dan lingkungan secara *in silico* berfungsi untuk menilai kelayakan senyawa fitokimia sebagai insektisida sebelum pengujian *in vivo*. Sepuluh kandidat senyawa fitokimia akan dinilai kelayakannya berdasarkan parameter pada Tabel 4. Eugenol menjadi satu-satunya senyawa fitokimia yang aman terhadap burung dan lebah, tidak seperti kesembilan senyawa fitokimia lainnya. Di sisi lain, Eugenol dilaporkan dapat menekan aktivitas enzim esterase dan asetilkolinesterase pada lebah (*Apis mellifera*) jika terkena kontak langsung sehingga perlu perlakuan khusus (Caren et al., 2025).

Pada organisme akuatik, nilai pLC₅₀ *Daphnia magna* yang relatif rendah yaitu 12'-Hydroxy-7'-Multijugunone (4,57) dan Squamocin (4,97) relatif paling rendah pada skala ini meski nilainya masih tergolong tinggi. Hal ini berbanding terbalik dengan Rotenone (7,87) yang memiliki nilai pLC₅₀ paling tinggi, yang artinya paling toksik. Rotenone juga menunjukkan mortalitas 100% pada berbagai konsentrasi rendah terhadap zooplankton seperti *Daphnia pulex* (Dalu et al., 2015). Nilai pIGC₅₀ *Tetrahymena pyriformis* pada setiap senyawa bervariasi, namun tidak ada satupun senyawa yang dikategorikan aman. Clerodin (-67,33) dan Diplopterol (-35,23) termasuk nilai moderat, yang secara proporsional dapat dipertimbangkan.

Pada biodegradasi, d-Limonene dikategorikan aman atau mudah terurai, yang artinya karakteristik sangat dibutuhkan dalam pembuatan insektisida ramah lingkungan. Selain itu, senyawa d-Limonene dilaporkan dapat menghambat patogen seperti *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum gloeosporioides*, and *Phomopsis amygdali* (Feng et al., 2020). Faktor biokonsentrasi yang rendah menegaskan bahwa persistensi lingkungan yang rendah pada insektisida sehingga meminimalkan risiko bioakumulasi dan kontaminasi badan air. Pengecualian jika nilainya minus seperti Azadirachtin (-9,12) dan Squamocin (-2,0) yang diindikasikan memiliki toksisitas yang tinggi. Semua senyawa fitokimia diprediksi tidak memiliki aktivitas herbisida.

Berdasarkan evaluasi tersebut, hasil menunjukkan bahwa Eugenol, Citronellal dan d-Limonene sebagai kandidat dengan toksisitas yang relatif aman pada hampir seluruh parameter. Squamocin, Azadirachtin dan Rotenone meskipun berpotensi efektif sebagai insektisida namun membawa risiko terhadap organisme non target yang lebih tinggi. Temuan Sacco et al. (2025), menemukan bahwa Azadirachtin memiliki efek letal dan subletal pada berbagai organisme akuatik akibat paparan akut maupun kronis. Meskipun Azadirachtin sudah dikenal sebagai insektisida ramah lingkungan karena cepat terdegradasi di tanah, namun dengan adanya temuan ini perlu adanya mitigasi secara khusus guna meminimalisir hal tersebut.

Penambatan Molekuler

Simulasi penambatan molekuler (*molecular docking*) terhadap tiga senyawa fitokimia utama, yaitu d-Limonene, Eugenol, dan Citronellal menunjukkan afinitas pengikatan yang bervariasi terhadap tiga protein target, yakni Defensin, Rhinocerosin, dan Scarabaedin (Tabel 5). Nilai afinitas pengikatan mencerminkan tingkat stabilitas termodinamika kompleks ligan-protein, di mana skor yang lebih kuat dan stabil, Analisis komparatif menunjukkan bahwa d-Limonene mencatatkan afinitas pengikatan terkuat secara konsisten di ketiga makromolekuler target. Energi pengikatan d-Limonene bernilai -4,3 kkal/mol pada Defensin, -5,7 kkal/mol pada Rhinocerosin, dan -5,3 kkal/mol pada Scarabaecin. Keunggulan termodinamika tertinggi d-Limonene teramati pada protein Rhinocerosin melalui pembentukan geometri pengikatan yang sangat presisi di dalam kantong hidrofobik. Interaksi pada Rhinocerosin berlangsung murni melalui jenis interaksi Alkil dan Pi-Alkil yang melibatkan residu-residu non-polar utama, meliputi LEU4, VAL116, ILE11, TYR114, TYR140, dan PHE08. Konsistensi nilai afinitas tinggi pada ketiga protein target menjadikan d-Limonene sebagai kandidat paling prospektif tanpa menunjukkan kelemahan signifikan pada salah satu target spesifik.

Eugenol merupakan kualitas dan kekayaan jenis interaksi molekuler paling beragam di antara seluruh senyawa yang diuji. Nilai afinitas pengikatan Eugenol tercatat sebesar -3,7 kkal/mol pada Defensin, -5,5 kkal/mol pada Rhinocerosin, dan -4,5 kkal/mol pada Scarabaecin. Penurunan nilai afinitas Eugenol pada Defensin dikompensasi secara signifikan oleh kemampuannya membentuk ragam tipe interaksi yang sangat kaya. Kehadiran interaksi aromatik spesifik seperti Pi-Pi Stacked dan Pi-Pi T-Shaped pada Rhinocerosin (-5,5 kkal/mol) dan Scarabaecin (-5 kkal/mol) mencerminkan tumpang tindih cincin fenol yang sangat stabil secara termodinamika. Interaksi Pi-Pi Stacked dengan

residu TYR114 pada Rhinocerosin memperkuat orientasi molekul di pusat katalitik. Kekayaan tipe interaksi ini mengindikasikan bahwa Eugenol berikatan melalui mekanisme yang lebih spesifik dan selektif, sehingga sangat menguntungkan dalam menekan risiko ikatan non-spesifik (*off-target binding*) pada sistem biologis.

Struktural dari Citronellal memiliki keistimewaan struktural berupa kemampuan membentuk ikatan hidrogen konvensional secara spesifik. Data penambatan mencatatkan nilai afinitas pengikatan Citronellal sebesar -3,9 kkal/mol pada Defensin, -5,1 kkal/mol pada Rhinocerosin, dan -4,3 kkal/mol pada Scarabaecin. Pembentukan ikatan hidrogen ini merupakan temuan kritis mengingat ikatan hidrogen memiliki sifat terarah, spesifik, dan memerlukan energi disosiasi yang lebih tinggi dibandingkan interaksi hidrofobik murni. Ikatan hidrogen yang terbentuk memberikan nilai tambah berupa selektivitas tinggi yang tidak dimiliki oleh d-Limonene maupun Eugenol pada situs aktif Scarabaecin.

Berdasarkan data simulasi penambatan molekuler seluruh kombinasi ligan dan protein target menghasilkan nilai energi bebas pengikatan bernilai negatif yang berkisar antara -3,7 kkal/mol hingga -5,7 kkal/mol. Nilai kuantitatif negatif yang dihasilkan menandakan bahwa pembentukan kompleks yang terbentuk antara senyawa metabolit sekunder tumbuhan dengan peptida imun *O. rhinoceros* terjadi secara spontan dan memiliki stabilitas termodinamika dalam kondisi kesetimbangan simulasi. Perbedaan energi menggambarkan tingkat kompatibilitas konformasi molekuler, *binding pocket*, serta distribusi gaya antar-molekul di dalam situs aktif target.

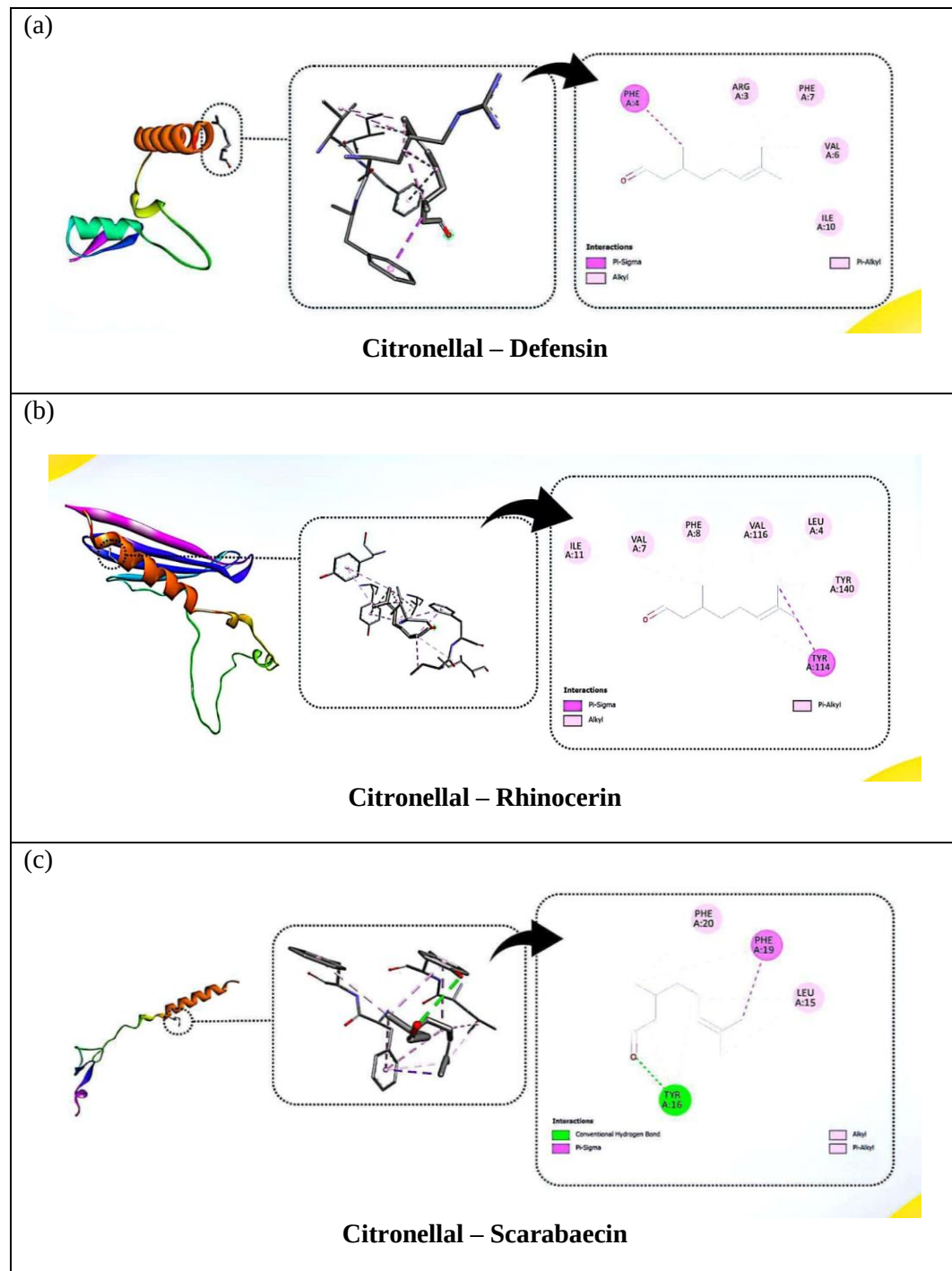
Analisis komparatif terhadap makromolekul target menunjukkan bahwa protein Rhinocerosin secara universal merupakan reseptor yang paling responsif dan memiliki afinitas pengikatan tertinggi terhadap ketiga senyawa uji. Stabilitas kompleks paling optimal dicapai pada pasangan d-Limonene-Rhinocerosin dengan nilai -5,7 kkal/mol yang diikuti oleh Eugenol-Rhinocerosin dengan nilai -5,5 kkal/mol, serta Citronellal-Rhinocerosin dengan -5,1 kkal/mol. Peringkat stabilitas termodinamika kedua ditempati oleh Scarabaecin yang mencatatkan nilai energi pengikatan intermediet pada rentang -4,3 kkal/mol hingga -5,3 kkal/mol hingga -5,3 kkal/mol. Protein Defensin secara konsisten menunjukkan nilai afinitas terkecil melintasi seluruh ligan dengan kisaran energi bebas hanya -3,7 kkal/mol hingga -4,3 kkal/mol.

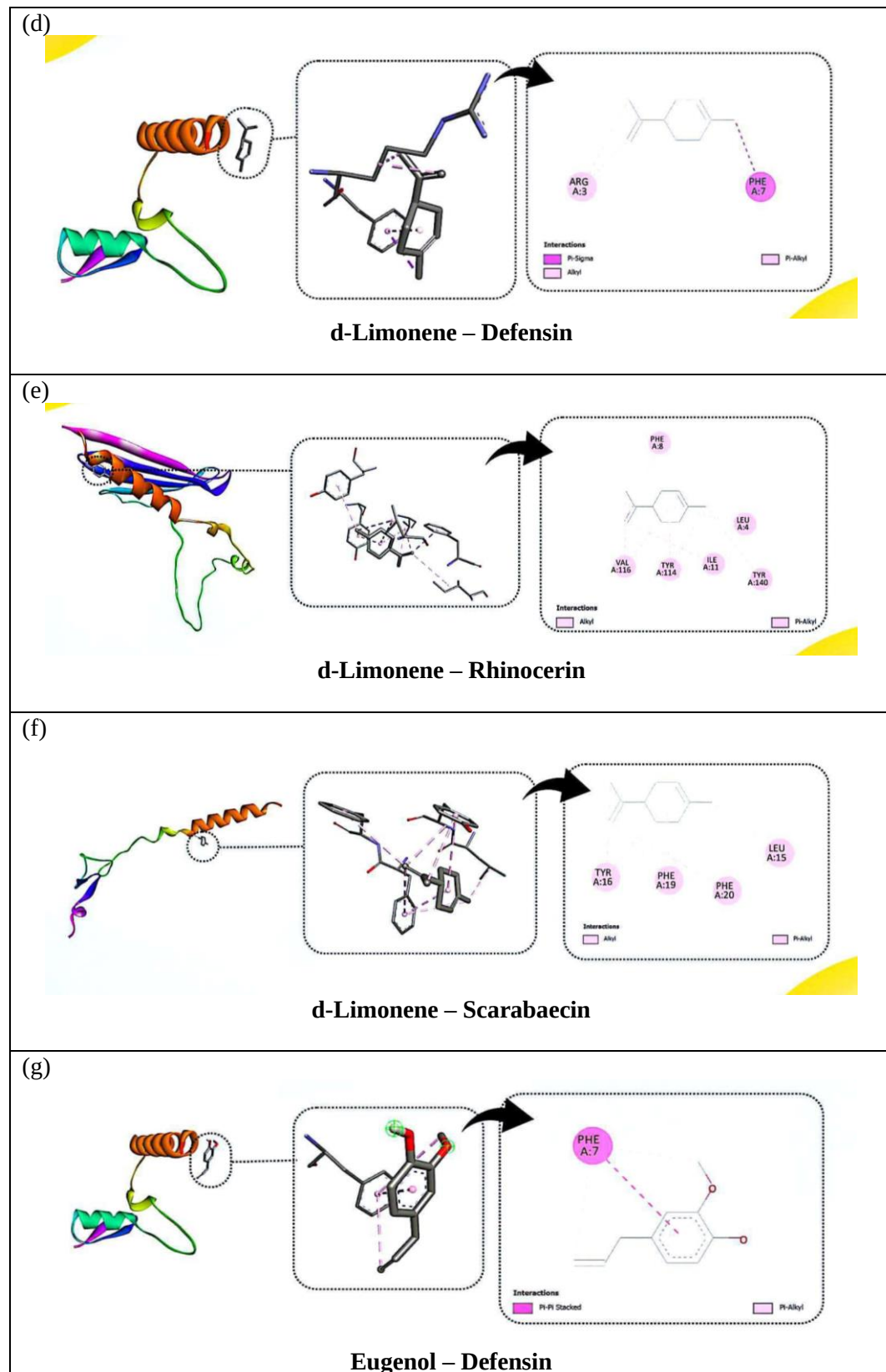
d-Limonene terbukti sebagai kandidat fitokimia terbaik secara keseluruhan berdasarkan konsistensi afinitas pengikatan yang kuat pada ketiga protein target. Defensin (-4,3 kkal/mol), Scarabaecin (-5,3 kkal/mol), dan Rhinocerosin (-5,7 kkal/mol). Rhinocerosin memiliki stabilitas kompleks yang dipacu secara murni oleh kontribusi

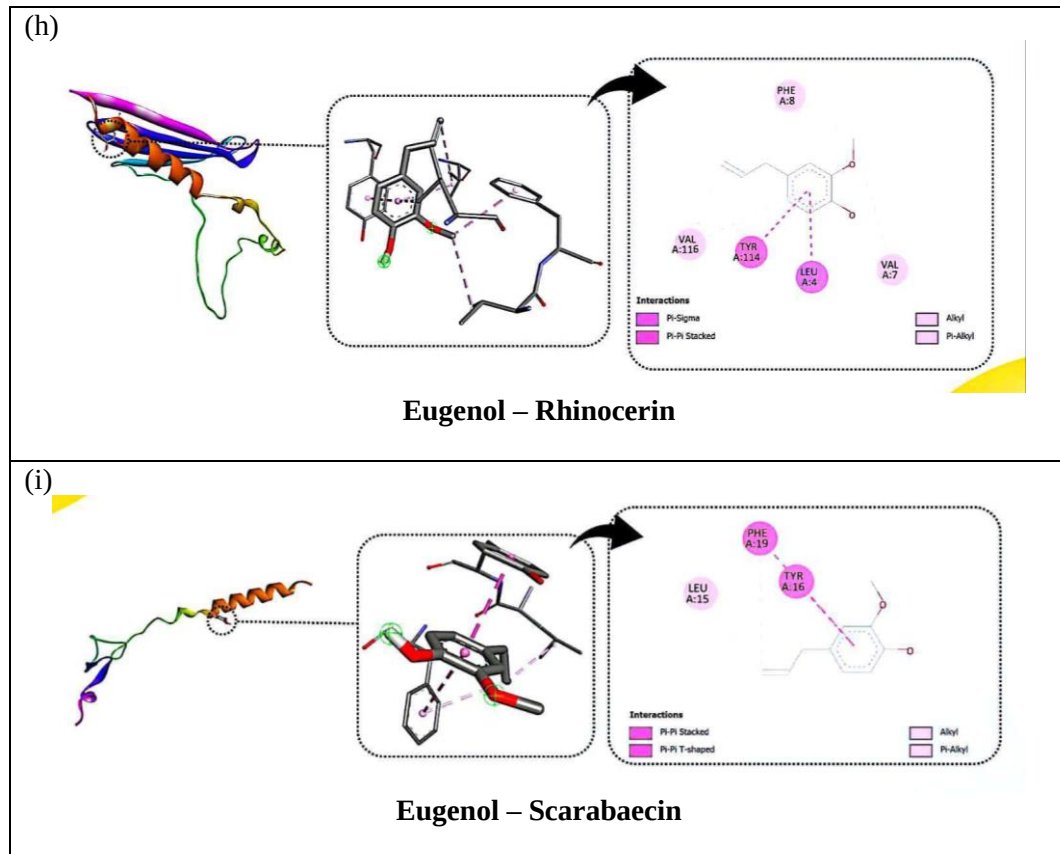
interaksi hidrofobik tipe Alkil dan Pi-Alkil yang melingkupi residu LEU4, VAL116, ILE11, TYR114, TYR140, dan PHE8. Keunggulan yang dimiliki d-Limonene terletak pada ketiadaan target yang efektif secara universal pada semua protein target.

Eugenol mencatatkan afinitas terendah pada protein Defensin yaitu $-3,7$ kkal/mol, Eugenol mengompensasinya melalui kualitas dan variasi interaksi molekuler yang paling kaya dibandingkan senyawa lainnya. Senyawa fenilpropanoid akan membentuk kombinasi interaksi hidrofobik yang sangat beragam, seperti Pi-Sigma, Alkil, Pi-Alkil, serta interaksi aromatik spesifik berupa Pi-Pi Stacked dan Pi-Pi T-Shaped pada Rhinocerosin ($-5,5$ kkal/mol) dan Scarabaecin ($-4,5$ kkal/mol). Interaksi Pi-Pi Stacked yang terbentuk bersama residu TYR114 pada Rhinocerosin serta TYR16 pada Scarabaecin mencerminkan adanya *overlapping* elektron yang sangat stabil secara termodinamika. Keberagaman tipe interaksi yang terjadi mengindikasikan bahwa Eugenol berikatan melalui mekanisme konformasi yang presisi, selektif, dan rigid, yang memberikan keuntungan signifikan dalam meminimalkan potensi pengikatan di luar target.

Citronellal memiliki struktural yang tidak dimiliki oleh d-Limonene maupun Eugenol, Citronellal memiliki kemampuan membentuk ikatan hidrogen konvensional dengan residu TYR16:OH pada protein Scarabaecin. Gugus karbonil aldehida pada Citronellal bertindak sebagai *H-acceptor* yang menangkap *H-donor* dari gugus hidroksil rantai samping TYR16. Ikatan hidrogen yang terbentuk bersifat mengarah, spesifik, dan membutuhkan energi aktivasi yang lebih tinggi untuk terputus dibandingkan interaksi hidrofobik non-arah. Nilai energi bebas pengikatan total Citronellal tidak selalu menjadi yang tertinggi, Defensin ($-3,9$ kkal/mol), Rhinocerosin ($-5,1$ kkal/mol), dan Scarabaecin ($-4,3$ kkal/mol), pembentukan ikatan hidrogen tunggal memberikan nilai tambah berupa penjangkaran konformasi dan selektivitas target yang sangat kuat pada situs aktif Scarabaecin.







Gambar 1. Visualisasi senyawa fitokimia

Visualisasi dan analisis pemetaan residu asam amino mengungkapkan bahwa gaya hidrofobik (*Hidrofobik interactions*) bertindak sebagai pendorong utama (*main driving force*) dalam memfasilitasi penstabilan kompleks protein-ligan. *Binding pocket* pada Rhinocerosin dan Scarabaecin kaya akan residu asam amino aromatik serta rantai samping alifatik non-polar yang memberikan lingkungan lipofilik ideal untuk mengikat kerangka karbon monoterpen dan fenilpropanoid. Makromolekul Rhinocerosin (142 asam amino), tingkat stabilitas yang tinggi didukung oleh keberadaan kluster asam amino aromatik TYR114, TYR140, dan PHE8 yang dikombinasikan dengan residu alifatik LEU4, VAL7, ILE11, dan VAL116. Senyawa d-Limonene menempati kavitas secara presisi melalui pembentukan ikatan Alkil dengan LEU4, VAL116, dan ILE11, serta jaringan interaksi Pi-Alkil intensif dengan TYR114, TYR140, dan PHE8. Eugenol memanfaatkan cincin benzena aromatik untuk membentuk kontribusi interaksi Pi-Pi Stacked langsung dengan TYR114, ikatan Pi-Sigma dengan LEU4:CD1 serta ikatan Alkil dengan Pi-Alkil bersama VAL116, VAL7, dan PHE8. Citronellal sebagai molekul rantai terbuka yang lebih

fleksibel membentuk ikatan Pi-Sigma pada TYR114 serta deretan ikatan Alkil yang luas mencakup VAL116, VAL7, ILE11, dan LEU4.

Peptida Scarabaecin (66 asam amino), saku pengikatan didominasi oleh residu aromatik TYR16, PHE19, PHE20, dan residu alifatik LEU15, meskipun Citronellal membentuk ikatan hidrogen konvensional pada TYR16:OH, nilai energi bebas pengikatan total Citronellal-Scarabaecin (-5,3 kkal/mol) membuktikan bahwa kerapatan interaksi hidrofobik d-Limonene yang melibatkan Pi-Alkil pada kluster aromatik TYR16, PHE19, PHE20, dan Alkil pada LEU15 memberikan kontribusi penstabilan total yang lebih dominan daripada satu ikatan hidrogen tunggal. Eugenol pada Scarabaecin memperlihatkan variasi interaksi, meliputi Pi-Pi Stacked dengan TYR16, Pi-Pi T-Shaped dengan PHE19, serta Pi-Alkil dengan PHE19 dan LEU15.

Binding pocket pada peptida Defensin (79 asam amino) lebih dangkal dan kurang fleksibel dalam menampung molekul ligan. Interaksi pada Defensin terkontaminasi pada residu PHE7, ARG3, PHE4, VAL6, dan ILE10. Senyawa d-Limonene dan Citronellal sama-sama berinteraksi dengan residu bermuatan positif ARG3 melalui ikatan Alkil serta residu tunggal (PHE7) yang menjelaskan mengapa kompleks Eugenol-Defensin memiliki afinitas terendah yaitu -3,7 kkal/mol.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penapisan *in silico*, d-Limonene terbukti sebagai kandidat bioinsektisida terbaik untuk *Oryctes rhinoceros* karena memiliki ukuran molekul ideal, sifat lipofilik yang mendukung penetrasi kutikula, serta afinitas pengikatan paling kuat dan konsisten pada seluruh protein target (*Rhinocerosin*, *Scarabaecin*, dan *Defensin*) dengan profil keamanan yang relatif aman bagi mamalia dan lingkungan. Oleh karena itu, disarankan untuk melanjutkan penelitian ke tahap simulasi dinamika molekuler untuk diuji kestabilan kompleksnya serta uji validasi *bioassay* (*in vitro* dan *in vivo*) pada larva serta imago *O. rhinoceros*, dikembangkan dalam sistem formulasi terenkapsulasi untuk menjaga stabilitas volatilitasnya di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

Abbaszadeh, G., Srivastava, C., & Walia, S. (2014). Insecticidal and antifeedant activities of clerodane diterpenoids isolated from the Indian bhant tree, *Clerodendron infortunatum*, against the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Insect Science*, 14(29), 1–13. <https://doi.org/10.1093/jis/14.1.29>

- Abdelli, I., Hassani, F., Bekkel Brikci, S., & Ghalem, S. (2021). *In silico* study the inhibition of angiotensin converting enzyme 2 receptor of COVID-19 by *Ammoides verticillata* components harvested from Western Algeria. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(9), 3263–3276. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1763199>
- Akbar, M. J., & Rustam, R. (2019). Uji beberapa konsentrasi ekstrak akar tuba (*Derris elliptica* Benth) untuk mengendalikan larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* Linnaeus) pada tanaman kelapa sawit. *Jurnal Agrotek Tropika*, 3(2), 65–74. <https://doi.org/10.25077/jpt.3.2.65-74.2019>
- Banerjee, P., Kemmler, E., Dunkel, M., & Preissner, R. (2024). ProTox 3.0: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, 52(W1), W513–W520. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae303>
- Benatar, G. V., Nurhayati, Y., & Ridwan, N. F. (2025). Molecular docking and dynamics reveal the potential of limonene and β -linalool as natural fungicides against mango anthracnose pathogen. *ChemistrySelect*, 10(4), e202404250. <https://doi.org/10.1002/slct.202404250>
- Caren, J., Zhu, Y.-C., Read, Q. D., & Du, Y. (2025). Risk assessment of effects of essential oils on honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insects*, 16(3), 303. <https://doi.org/10.3390/insects16030303>
- Chandra, A., Amalia, Z., Hidayati, L., Adinale, M. P., & Soesanto, L. (2026). Virtual screening of the antibacterial compound *Paenibacillus polymyxa* against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Jurnal Biologi Tropis*, 26(2), 815–830. <https://doi.org/10.29303/jbt.v26i2.11894>
- Dalu, T., Wasserman, R. J., Jordaan, M., Froneman, W. P., & Weyl, O. L. (2015). An assessment of the effect of rotenone on selected non-target aquatic fauna. *PLoS ONE*, 10(11), e0142140. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142140>
- Daulay, N. P., Alyani Putri, A., Ramadani, O. N., Agata, E. V., & Hamid, M. (2025). Analisis perkembangan produksi kelapa sawit berdasarkan luas lahan dan jumlah pabrik kelapa sawit (Studi pada Kabupaten Rokan Hulu). *Jurnal Pengabdian Masyarakat dan Riset Pendidikan*, 4(2), 11335–11342. <https://doi.org/10.31004/jerkin.v4i2.3935>
- Delaney, J. S. (2004). ESOL: Estimating aqueous solubility directly from molecular structure. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 44(3), 1000–1005. <https://doi.org/10.1021/ci034243x>

- Feng, J., Wang, R., Chen, Z., Zhang, S., Yuan, S., Cao, H., & Yang, W. (2020). Formulation optimization of D-limonene-loaded nanoemulsions as a natural and efficient biopesticide. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 596, 124746. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.124746>
- Fernandes, M. J. G., Pereira, R. B., Pereira, D. M., Fortes, A. G., Castanheira, E. M. S., & Gonçalves, M. S. T. (2020). New eugenol derivatives with enhanced insecticidal activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 9257. <https://doi.org/10.3390/ijms21239257>
- Fiaz, M., Martínez, L. C., Costa, M. da S., Cossolin, J. F. S., Plata-Rueda, A., Gonçalves, W. G., Sant'Ana, A. E. G., Zanuncio, J. C., & Serrão, J. E. (2018). Squamocin induce histological and ultrastructural changes in the midgut cells of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.080>
- Hao, G., Dong, Q., & Yang, G. (2011). A comparative study on the constitutive properties of marketed pesticides. *Molecular Informatics*, 30(6-7), 614–622. <https://doi.org/10.1002/minf.201100009>
- Kilani-Morakchi, S., Morakchi-Goudjil, H., & Sifi, K. (2021). Azadirachtin-based insecticide: Overview, risk assessments, and future directions. *Frontiers in Agronomy*, 3, 676208. <https://doi.org/10.3389/fagro.2021.676208>
- Kumar, R. P., Dinesh Babu, K. V., & Evans, D. A. (2019). Isolation, characterization and mode of action of a larvicidal compound, 22-hydroxyhopane from *Adiantum latifolium* Lam. against *Oryctes rhinoceros* Linn. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 153, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.11.018>
- Li, P., Tian, Y., Du, M., Xie, Q., Chen, Y., Ma, L., Huang, Y., Yin, Z., Xu, H., & Wu, X. (2023). Mechanism of rotenone toxicity against *Plutella xylostella*: New perspective from a spatial metabolomics and lipidomics study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(1), 211–222. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c06292>
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23(1–3), 3–25. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1)
- Manojkumar, S., Thandeeswaran, M., Thangavel, S. K., Arjunan, A., Muthuselvam, M., Kalaiarasi, G., & Gnanajothi, K. (2024). Phytochemical screening, *in silico*

- molecular docking, ADME properties, and *in vitro* antioxidant, anticancer, and antidiabetic activity of marine halophyte *Suaeda maritima* (L.) Dumort. *ACS Omega*, 9(10), 11200–11216. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05591>
- Maysaroh, U., Pradipta, A. P., & Amelia, I. (2026). Habitat study and breeding site potential of *Oryctes rhinoceros* in oil palm plantations Sei Silau Plantations, Asahan Regency, North Sumatra. *Jurnal Riset Perkebunan*, 7(1), 9–16. <https://doi.org/10.25077/jrp.7.1.9-16.2026>
- Mursiti, S., Lestari, N. A., Febriana, Z., Rosanti, Y. M., & Ningsih, T. W. (2019). The activity of D-limonene from sweet orange peel (*Citrus sinensis* L.) extract as a natural insecticide controller of bedbugs (*Cimex cisticola*). *Oriental Journal of Chemistry*, 35(4), 1420–1425. <https://doi.org/10.13005/ojc/350424>
- Pereira Filho, A. A., do Vale, V. F., de Oliveira Monteiro, C. M., Barrozo, M. M., Stanton, M. A., Yamaguchi, L. F., Kato, M. J., & Araújo, R. N. (2024). Effects of *Piper aduncum* (Piperales: Piperaceae) essential oil and its main component dillapiol on detoxifying enzymes and acetylcholinesterase activity of *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae). *International Journal of Molecular Sciences*, 25(10), 5420. <https://doi.org/10.3390/ijms25105420>
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. (2024). *Outlook kelapa sawit*. Sekretariat Jenderal - Kementerian Pertanian.
- Qasim, M., Islam, W., Rizwan, M., Hussain, D., Noman, A., Khan, K. A., & Han, X. (2024). Impact of plant monoterpenes on insect pest management and insect-associated microbes. *Heliyon*, 10(20), e39120. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e39120>
- Ramadhani, R. H., Santi, I. S., & Tarmadja, S. (2025). Efektivitas bioinsektisida untuk mengendalikan larva kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros*) pada cacahan batang kelapa sawit. *Agroforetech*, 3(3), 1749–1756.
- Reis, S. L., Mantello, A. G., Macedo, J. M., Gelfuso, E. A., da Silva, C. P., Fachin, A. L., Cardoso, A. M., & Beleboni, R. O. (2016). Typical monoterpenes as insecticides and repellents against stored grain pests. *Molecules*, 21(3), 258. <https://doi.org/10.3390/molecules21030258>
- Rolanda, V., Riza, F., Aulia, N., & Agustina, A. (2024). Cengkeh leave (*Syzygium aromaticum* L.) a natural repellent of salt fish in Simuelue Islands. *Berkala Perikanan Terubuk*, 52(3), 2654–2714.

- Sacco, D., Velíšek, J., & Mikušková, N. (2025). Toxicological effects of azadirachtin on aquatic species: A review of its role in biopesticides. *Aquatic Toxicology*, 278, 107547. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2024.107547>
- Sanjaya, Y., Dinyati, A., Syahwa, D., Aulia, I., Rijal, M., Priyanti, Khairiah, A., Riyanti, R., Lathifah, S., & M, D. (2021). Studi eksplorasi pemanfaatan jenis-jenis tanaman sebagai insektisida nabati di Perumahan Pondok Arum, Kecamatan Karawaci, Kota Tangerang, Banten. *Prosiding Seminar Nasional BIO*, 1, 267–279.
- Serrano, M. A. R., Pivatto, M., Francisco, W., Danuello, A., Regasini, L. O., Lopes, E. M. C., Lopes, M. N., Young, M. C. M., & Bolzani, V. S. (2010). Acetylcholinesterase inhibitory pyridine alkaloids of the leaves of *Senna multijuga*. *Journal of Natural Products*, 73(3), 482–484. <https://doi.org/10.1021/np900644x>
- Sreeletha, C., & Geetha, P. R. (2011). Pesticidal effects of *Clerodendron infortunatum* on the fat body of *Oryctes rhinoceros* (Linn.) male. *Journal of Biopesticides*, 4(1), 13–17.
- Tak, J.-H., & Isman, M. B. (2015). Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia ni*. *Scientific Reports*, 5, 12690. <https://doi.org/10.1038/srep12690>
- Tak, J.-H., & Isman, M. B. (2017). Penetration-enhancement underlies synergy of plant essential oil terpenoids as insecticides in the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Scientific Reports*, 7, 42432. <https://doi.org/10.1038/srep42432>
- Tito, S. I., Zayadi, H., Laili, S., & Djuhari. (2026). Effectiveness test of Marshal 5G on larvae and imago *Oryctes rhinoceros* in a community oil palm plantation Pelalawan Regency, Riau, Indonesia. *BIO Web of Conferences*, 209, 01011. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202620901011>
- Venancio, A. N., Silva, M. J., Parreira, L. A., Júlio, A. A., Souza, G. R., Conceição Santos, M. F., & Menini, L. (2025). Citronellal: A natural aldehyde with important properties. *Natural Product Research*, 39(5), 1199–1212. <https://doi.org/10.1080/14786419.2024.2332949>
- Wong, A. J., Hidrayani, Hamid, H., Ikhsan, Z., & Oktavia, A. (2022). Populasi dan tingkat serangan kumbang tanduk (*Oryctes rhinoceros* L.) pada pertanaman kelapa sawit di PT. Cakra Alam Sejati, Provinsi Riau. *Jurnal Riset Perkebunan*, 3, 1–11.