

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Syzygium merupakan salah satu marga dari keluarga *Myrtaceae* dengan jumlah spesies yang sangat besar dan memiliki tingkat keragaman yang tinggi, dimana tercatat lebih 1000 spesies yang tersebar di daerah tropis dan subtropis dengan jumlah yang sudah teridentifikasi sekitar 1.812 jenis yang tercatat didalam *International Plant Names Index* (IPNI, 2024). Genus *Syzygium* ini juga memiliki tingkat keragaman jenis yang sangat tinggi di Indonesia, dengan lebih dari 300 kspesies yang tersebar di berbagai ekosistem, mulai dari dataran rendah hingga dataran tinggi (Aprillia et al., 2021). Persebaran alami genus *Syzygium* juga dapat di jumpai di daratan Sulawesi, tercatat sekitar lebih dari 14 spesies *Syzygium* yang teridentifikasi dari hasil eksplorasi genus tersebut. (Ahmad et al., 2016).

Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin (UNHAS) merupakan kawasan hutan yang terletak di Provinsi Sulawesi Selatan. Kawasan hutan ini telah menjadi salah satu area penelitian penting untuk berbagai spesies tumbuhan termasuk genus *Syzygium*. Berdasarkan data penelitian yang dilakukan oleh Nurfadilla (2023) tercatat sekitar 7 spesies *Syzygium* yang teridentifikasi dan tersebar di kawasan Hutan Pendidikan UNHAS. Salah satu spesies *Syzygium* yang tumbuh di wilayah ini adalah spesies Makiang (*Syzygium nervosum*).

Makiang adalah pohon penghasil buah yang umumnya ditemukan di daerah tropis, terutama di wilayah Asia Tenggara termasuk di dataran Indonesia (Mudiana, 2009). Makiang memiliki berbagai potensi penting yang mendukung pemanfaatannya berbagai bidang, Selain sebagai sumber kayu yang dimanfaatkan sebagai kayu pertukangan dan bangunan rumah (Djarwanto et al., 2017), pohon ini juga memiliki nilai farmakologi sebagai bahan baku obat. Beberapa bagian pohon Makiang mengandung senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi Kesehatan seperti dapat dimanfaatkan untuk pengobatan inflamasi, gangguan pencernaan, antioksidan, antivirus, dan antimikroba. Salah satu kelompok senyawa aktif yang banyak ditemukan pada spesies Makiang adalah senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dari hasil metabolisme spesies Makiang (Pham et al., 2020). Senyawa metabolit sekunder tidak hanya dihasilkan dari proses metabolisme tanaman tetapi juga bisa dihasilkan dari mikroorganisme dari jaringan tanaman seperti kelompok fungi endofit (Pakaya et al., 2023).

Fungi endofit merupakan mikroorganisme yang terdapat didalam suatu sistem jaringan tanaman seperti akar, batang, daun, bunga dan biji. Fungi endofit yang berada pada jaringan tanaman tersebut mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotik sebagai bentuk perlindungan tanaman terhadap patogen (Noverita et al., 2009). keberadaan fungi endofit diketahui dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tanaman inangnya sebagai bentuk adaptasi ekologis. Spesies makiang sendiri dikenal memiliki kandungan senyawa bioaktif yang tinggi, dan kehadiran fungi endofit dalam jaringan tanaman ini dapat meningkatkan produksi

senyawa fungsional tersebut (Pham et al., 2020). Berbagai senyawa fungsional dapat dihasilkan oleh fungi endofit seperti steroid, terpenoid, fenolik, dan alkaloid yang tentunya berpotensi sebagai antimikroba (Pakadang et al., 2020). Kekayaan senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh fungi endofit sendiri menjadikannya sebagai potensi pengembangan sebagai antimikroba (Noverita et al., 2009).

Potensi fungi endofit yang berada pada spesies Makiang telah menjadi subjek penelitian karena potensinya dalam menghasilkan senyawa bioaktif. Untuk menguji potensi anti infeksi bakteri dari fungi endofit yang dihasilkan spesies Makiang, penelitian ini menggunakan dua bakteri uji, yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pemilihan kedua bakteri ini didasarkan pada relevansi klinisnya sebagai patogen umum yang sering menyebabkan infeksi pada manusia. *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sering digunakan dalam penelitian antimikroba karena keduanya mewakili kelompok bakteri gram positif dan gram negatif yang memiliki karakteristik dinding sel yang berbeda. Dua kelompok bakteri ini juga memiliki infeksi yang berbeda, *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan sedangkan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* bisa menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak (Ballo et al., 2021).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi fungi endofit pada spesies Makiang serta mengetahui efektivitas anti infeksi fungi dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi penting terkait Fungi endofit Potensial dalam pengembangan antimikroba alami yang efektif melawan infeksi bakteri, penelitian ini juga diharapkan berkontribusi dalam bidang kehutanan melalui pengelolaan dan pemanfaatan sumber daya hutan sebagai alternatif pengobatan infeksi yang lebih aman dan berkelanjutan.

1.2 Landasan Teori

Hutan Indonesia merupakan habitat bagi flora dan fauna, dan menjadikannya salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang sangat tinggi. Keanekaragaman hayati ini menyebabkan *bioresource* Dimana tanaman-tanaman tersebut memiliki bioaktivitas tersendiri sesuai dengan kandungan kimianya (Walewangko et al., 2019). Salah satu wilayah di Indonesia yang memiliki tingkat keanekaragaman yang tinggi adalah wilayah Sulawesi. Berdasarkan data yang diperoleh tercatat sekitar 5000 spesies tumbuhan dapat dijumpai di Sulawesi dan terdapat sekitar 57 jenis tumbuhan endemik yang berada di wilayah Sulawesi.

Hutan Pendidikan UNHAS adalah salah satu hutan sekunder yang terletak di Sulawesi Selatan. Berdasarkan Surat Keputusan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan No.SK.619/MenLHK-PKTL/KUH/PLA.2.2/2017, Hutan Pendidikan UNHAS ditetapkan sebagai Kawasan Hutan dengan Tujuan Khusus (KHDTK) yang mencakup Hutan Lindung dan Hutan Produksi Tetap dalam kelompok Hutan Camba Register. Kawasan ini berada di wilayah administratif Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan, dengan luas mencapai 1.453,25 hektar. Sebagian besar area (68,09%) terdiri dari hutan alam tipe sekunder (Nasri et al., 2022). Keanekaragaman tanaman

yang dimiliki Hutan Pendidikan UNHAS menghasilkan sumber daya alam yang banyak dan memberikan manfaat dalam dunia Kesehatan salah satunya adalah spesies Makiang.

Makiang diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid, terpenoid, dan phloroglucinol, yang memberikan manfaat signifikan di bidang farmakologi, termasuk sebagai agen antimikroba. Senyawa utama yang terdapat pada spesies Makiang yaitu, 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone (DMC) yang dimanan telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba yang efektif terhadap berbagai patogen. Studi menunjukkan bahwa senyawa ini dapat menghambat aktivitas bakteri melalui penghambatan enzim penting dan gangguan integritas membran sel. Selain itu, manfaat farmakologis lainnya mencakup aktivitas antikanker, di mana DMC mampu menginduksi apoptosis dan meningkatkan sensitivitas terhadap kemoterapi, serta antidiabetik melalui penghambatan enzim pencernaan seperti α -glukosidase dan α -amilase. Secara tradisional, ekstrak daun dan bunga spesies Makiang digunakan untuk pengobatan inflamasi, gangguan pencernaan, dan penyakit kulit, sementara penelitian modern mendukung penggunaannya sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antivirus, dan antimikroba. Kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada spesies Makiang menjadikannya sebuah potensi dalam pengembangan Farmakologis anti infeksi (Pham et al., 2020).

Penyakit infeksi merupakan salah satu penyebab morbiditas dan mortalitas penduduk dunia yang menyebabkan penurunan kualitas hidup penduduk di negara berkembang maupun di negara maju. Penyakit infeksi juga merupakan salah satu masalah kesehatan yang paling utama di negara-negara berkembang termasuk Indonesia (Mutsaqof et al., 2016). Penyebab penyakit infeksi adalah virus, bakteri, parasit dan fungi. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diatasi dengan penggunaan antimikroba. Antimikroba adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba patogen, terutama yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Salah satu jenis bakteri yang dapat menyebabkan infeksi sekaligus memiliki dampak potensi negatif terhadap kesehatan manusia adalah jenis bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Ballo et al., 2021).

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang paling sering menyebabkan infeksi. Bakteri ini tergolong dalam bakteri patogen gram positif. Infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah infeksi tenggorokan, pneumonia, meningitis, keracunan makanan, bisul dan impetigo. Tanda khas yang timbul akibat infeksi *Staphylococcus aureus* yaitu peradangan, nekrosis, dan dapat menyebabkan pembentukan abses. Bakteri ini dapat menyebar melalui kontak langsung dengan kulit yang terinfeksi atau melalui permukaan yang terkontaminasi (Eng, 2022).

Bakteri *Escherichia coli* adalah bakteri yang sering ditemukan di saluran pencernaan manusia dan hewan. Bakteri ini tergolong sebagai bakteri gram negatif. Beberapa efek negatif *Escherichia coli* dapat menyebabkan berbagai infeksi seperti diare, infeksi saluran kemih, dan sindrom hemolitik uremik. Infeksi *Escherichia coli* sering kali terjadi akibat konsumsi makanan atau air yang terkontaminasi. Gejala yang muncul dapat bervariasi, mulai dari kram perut, diare berdarah, hingga demam.

Dalam kasus yang lebih serius dapat mengakibatkan komplikasi yang berpotensi mengancam jiwa (Rahayu et al., 2018).

Pemberian antibiotik merupakan salah satu upaya dalam mengatasi infeksi *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, tetapi bila digunakan dengan tidak tepat maka dapat menimbulkan resistensi antibiotik. Resistensi dapat menyebabkan penyakit serius, resistensi tidak dapat dihilangkan tetapi apabila digunakan sesuai kadar kontrol konsumsi dapat menghambat resistensi. Antimikroba adalah senyawa yang digunakan untuk melawan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme berbahaya, serta memainkan peran penting dalam dunia medis untuk mencegah dan mengobati infeksi. Berbagai jenis antimikroba dikembangkan berdasarkan target mikroorganismenya, namun, penggunaan meningkatnya resistensi mikroba terhadap obat-obat ini mendorong pencarian sumber antimikroba baru, termasuk senyawa bioaktif alami dari tumbuhan (Ballo et al., 2021). Senyawa bioaktif tidak hanya dihasilkan dari proses metabolisme tumbuhan tetapi juga bisa dihasilkan dari kelompok mikroorganisme seperti kelompok Mikroba endofit (Pakaya et al., 2023).

Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya (simbiosis mutualisme atau simbiosis komensalisme). Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik (*genetic recombination*) dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit (Higginbotham et al., 2013). Kemampuan mikroba endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut (Muthmainnah, 2017).

Fungi endofit dapat menghasilkan berbagai senyawa fungsional berupa senyawa antikanker, antivirus, antibakteri, antifungi serta hormon pertumbuhan tanaman. Fungi endofit banyak menghasilkan senyawa bioaktif yang digunakan untuk meningkatkan ketahanan inang dari serangan patogen. Jamur endofit menginfeksi tumbuhan yang sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mikotoksin, enzim serta antibiotik (Noverita et al., 2009).

Fungi endofit telah banyak berhasil diisolasi dari tanaman inangnya, dan telah dibiakkan dalam media biakan yang sesuai. Begitupun dengan senyawa bioaktif yang diproduksi oleh mikroba endofit tersebut telah berhasil diisolasi dan dimurnikan serta telah dielusidasi struktur molekulnya. Sebagai contoh *fonsecinone A* dan (*R*)-*3-hydroxybutanonitrile* adalah antifungi dan antibakteri yang diisolasi dari fungi endofit *Aspergillus* sp. pada tumbuhan *Melia azedarach* yang efektif menghambat fungi fitopatogenik (*Gibberella saubinetii*, *Magnaporthe grisea*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides* dan *Alternaria solani*) dengan rentang MIC sebesar 6.25-50 μM dan bakteri patogenik (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*) dengan rentang MIC sebesar 25-100 μM (Xiao et al., 2014).

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus - Desember 2024. Pengambilan sampel dilakukan di Hutan Pendidikan Universitas Hasanuddin, untuk penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon fakultas kehutanan dan Laboratorium PKR Mikroba Karst di Lembaga Penelitian dan pengabdian kepada Masyarakat Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

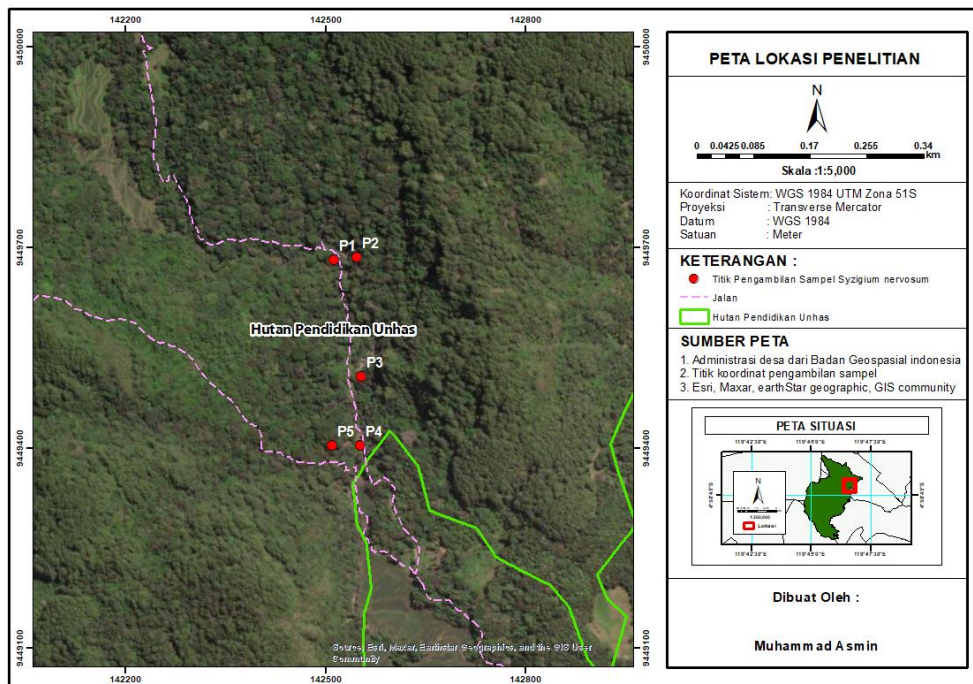
Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat tulis kerja, masker, *handscoon*, kamera, aplikasi SW Maps, amplop sampel, plastik klip, pulpen OHP, kantong plastik, cawan petri, cawan *disposable*, *Laminary Air Flow*, *hot plate stirrer*, *magnetic stirrer*, oven, *Microwave*, autoklaf, gunting, jangka sorong, spatula, jarum ose, jarum preparat, bunsen, korek api, mikroskop, wadah plastik, timbangan analitik, erlenmeyer, gelas ukur, *photo box*, kaca objek, botol kultur, pipet tetes.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sampel daun dan ranting spesies Makiang, alkohol, aquades, spiritus, natrium hipoklorit, Larutan KOH, etanol, plastik klip, media *Potato Dextrose Agar*, media *Nutrient Broth*, sukrosa, agar, plastik wrap, *novaclor*, label, *tissue*, *alumunium foil*, bakteri *Escherichia coli*, bakteri *Staphylococcus aureus*.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Pengambilan sampel

Pengambilan sampel bertempat di Kawasan Hutan dengan Tujuan Khusus (KHDTK) Hutan Pendidikan UNHAS tepatnya di Desa Rompegading. Peta Lokasi penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 5 individu pohon spesies Makiang dengan mengambil bagian daun dan ranting. Pengambilan sampel daun dilakukan dengan memilih daun dengan kriteria sehat tanpa adanya bercak ataupun tanda adanya serangan patogen begitupun dengan bagian ranting. Sampel daun yang telah diambil dimasukkan kedalam amplop sampel dan untuk ranting dimasukkan kedalam plastik klip untuk peruntukan identifikasi fungi endofit. Sampel daun dan ranting yang telah diambil di lapangan kemudian dibawa ke Laboratorium untuk dilakukan tahap isolasi dan uji antagonis.

2.3.2 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan menggunakan metode sterilisasi bertingkat. Alat yang berbahan dasar glass dicuci bersih kemudian dikeringkan, setelah alat kering alat glass dibungkus menggunakan kertas bekas lalu dilakukan proses sterilisasi uap panas menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 20 menit. Setelah dilakukan sterilisasi uap panas, dilakukan sterilisasi panas kering dengan menggunakan oven dengan suhu 150°C selama 2 jam.

2.3.3 Media Biakan Mikroba

a. Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Media biakan yang digunakan untuk pertumbuhan Fungi adalah media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Berdasarkan komposisinya, PDA termasuk dalam media semi sintetik karena tersusun atas bahan alami kentang dan bahan sintetik dextrose dan agar. Media PDA memiliki formulasi nutrisi yang sederhana. Komponen-komponen yang sederhana di dalam medium membuat cendawan mudah menyerap nutrisi (Wantini & Octavia, 2018). Media PDA dibuat dengan konsentrasi PDA sebanyak 39 gram kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi aquades sebanyak 1000 ml. PDA yang telah dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisi aquades dihomogenkan menggunakan *hot plate stirrer* dan *magnetic stirrer* selama 15-20 menit, kemudian dimasukkan kedalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 20 menit. Setelah media PDA selesai di autoklaf, media kemudian dituang ke dalam cawan petri.

b. Media NB (*Nutrient Broth*)

Media *Nutrient Broth* termasuk ke dalam media umum yang digunakan untuk menumbuhkan biakan secara general. NB diformulasikan dengan sumber karbon dan nitrogen supaya dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri. Komposisi NB terdiri dari *beef extract* sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber nitrogen (Mulyadi et al., 2017). Media NB dibuat dengan konsentrasi NB 2,5 gram, sukrosa 2,5 gram dan Agar 5,25 gram. Hasil penimbangan konsentrasi media kemudian dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi aquades 200 ml. bahan yang telah dimasukkan kedalam erlenmeyer dihomogenkan menggunakan *hot plate stirrer* dan *magnetic stirrer* selama 15-20 menit atau sampai homogen. kemudian dimasukkan kedalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 20 menit. Setelah media NB selesai di autoklaf, media kemudian dituang ke dalam cawan petri.

2.3.4 Isolasi

Teknik isolasi fungi endofit ini dilakukan dengan metode tanam langsung. Proses pengerjaan isolasi dilakukan didalam *Laminary Air Flow* (LAF). Bagian daun dan Batang terlebih dahulu dicuci dengan air mengalir terlebih dahulu. Bagian daun dan ranting dilakukan sterilisasi permukaan sampel dengan cara direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, direndam dalam NaOCl, selama 1 menit, setelah itu direndam kedalam aquades selama 1 menit, dan terakhir direndam Kembali menggunakan aquades selama 1 menit. untuk proses isolasi bagian daun dan ranting memiliki cara yang berbeda, yaitu:

- 1) Proses isolasi pada batang dilakukan dengan cara batang dipotong dengan ukuran Panjang 1 cm kemudian dibuka dengan cara membelah batang menjadi 2 bagian menggunakan pisau steril.
- 2) Proses isolasi pada daun dilakukan dengan cara menentukan bagian pada helaian daun yang tidak memiliki kerusakan atau tidak terdapat serangan patogen. Daun dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm menggunakan gunting steril. Masing-masing potongan diletakkan pada permukaan medium PDA yang telah memadat dengan posisi bagian jaringan batang menempel pada medium.

Diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari hingga tampak koloni pertumbuhan fungi endofit.

2.3.5 Pemurnian

Pemurnian (*purification*) bertujuan agar diperoleh biakan murni yang diinginkan tanpa ada kontaminan dari mikroba lain. Pemilihan koloni mikroba yang dimurnikan berdasarkan perbedaan kenampakan ciri morfologi koloni, baik dari segi bentuk, warna pada penampang depan dan belakang (*Reverse of colony*) cawan petri. Pada pemurnian isolat fungi menggunakan metode titik dalam proses pemindahan ke dalam media PDA (Feni et al., 2019). Isolat yang telah dilakukan proses pemurnian kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari.

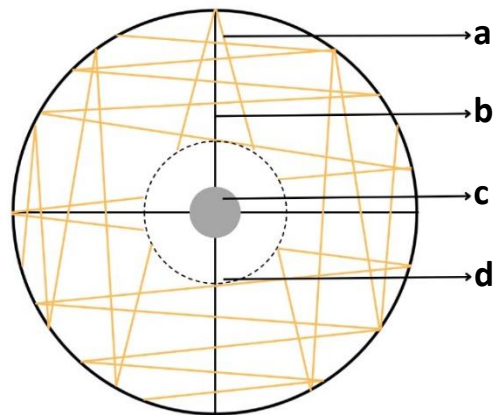
2.3.6 Identifikasi Fungi Endofit

Identifikasi cendawan dilakukan setelah fungi murni tumbuh di media PDA selama $\pm$ 1 minggu. Identifikasi cendawan mengacu pada buku identifikasi cendawan yaitu "*Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi*" (Watanabe, 2010) dan berbagai referensi. Identifikasi cendawan dilakukan secara deskriptif, penentuan tingkat genus dengan melihat ciri-ciri makroskopis seperti warna, tekstur, dan diameter, sedangkan ciri-ciri mikroskopis dengan melihat hifa dan spora. Adapun proses identifikasi mikroskopis cendawan dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- 1) Cendawan yang telah tumbuh di media PDA selama $\pm$ 1 minggu diambil dengan menggunakan jarum preparat. Preparat difiksasi pada nyala api dari Bunsen berisi spiritus dan dibiarkan mengering hingga suhu panasnya berkurang. Cendawan diletakkan pada kaca preparat dengan metode titik kemudian ditetesi aquades steril, setelah itu ditutupi dengan *cover glass*.
- 2) Cendawan diamati menggunakan alat bantu berupa mikroskop dengan melihat ciri-ciri morfologinya.
- 3) Mencocokkan gambar hifa dan spora yang didapatkan dengan gambar literatur.

2.3.7 Uji Antagonis

Uji antagonis pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode *Agar Block* (Rastina et al., 2015). Metode *agar block* dilakukan dengan cara memotong isolat fungi endofit murni sampel makiang yang telah diisolasi dan dimurnikan lalu diletakkan pada inokulan bakteri Patogen. Uji antagonis dilakukan dengan tujuan untuk melihat aktivitas langsung terhadap mikroorganisme uji dan menyeleksi isolat yang memiliki aktivitas antimikroba. Hal ini dapat diamati dengan terbentuknya zona bening sebagai zona hambat pertumbuhan. Tujuannya untuk mengetahui kemampuan fungi endofit dalam menekan pertumbuhan dan perkembangan bakteri patogen. Media isolat fungi endofit yang telah ditumbuhkan kemudian dipotong dan diambil menggunakan *cork borer* lalu ditanam pada media NB yang telah diinokulasi bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Proses inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu ruang untuk melihat aktivitas fungi endofit dalam menghambat bakteri uji yang dapat diamati dari zona bening yang terbentuk.



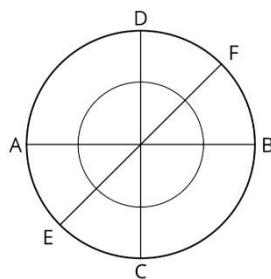
Gambar 2. Ilustrasi Uji antagonis (a) Bakteri, (b) garis pengukuran Zona hambat (Hz dan Vt), (c) fungi endofit, (d) Zona bening (Pratiwi, 2022).

2.4 Jenis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan data kualitatif yaitu dengan melakukan uji efektivitas anti infeksi bakteri fungi endofit spesies makiang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* melalui perhitungan zona bening/hambat yang terbentuk.

2.5 Pengolahan dan Analisis Data

Perhitungan untuk penentuan luas zona bening dari uji efektivitas anti infeksi bakteri fungi endofit spesies makiang terhadap bakteri *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilakukan dengan mengukur zona penghambatan (Edi et al., 2018) yaitu sebagai berikut (Edi et al., 2018) :



Gambar 3. Pengukuran diameter zona Hambat fungi endofit terhadap bakteri pathogen

Pengukuran lebar zona hambat dilakukan sebanyak tiga kali. Pengukuran tersebut meliputi pengukuran pada arah vertikal, horizontal dan diagonal. Adapun rumus yang digunakan dalam analisis data yaitu sebagai berikut (Edi et al., 2018) :

$$Zona\ Hambat\ (mm) = \frac{AB + CD + EF}{3}$$

Keterangan:

Garis AB : Diameter zona bening yang terbentuk arah horizontal

Garis CD : Diameter zona bening yang terbentuk arah Vertikal

Garis EF : Diameter zona bening yang terbentuk arah Diagonal

Pengamatan diameter zona hambat dilakukan 24 jam untuk memonitoring laju serta diameter zona reaksi fungi terhadap bakteri patogen (Pratiwi, 2022). Setelah dilakukan pengamatan, data hasil pengukuran dijumlah dan dibagi berdasarkan jumlah arah pengukuran untuk mendapatkan nilai standar kekuatan (zona bening) dan kategorisasi kekuatan daya antimikroba pada fungi endofit. Standar kekuatan daya antimikroba dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Standar kekuatan daya antimikroba menurut Davis dan Stout, (1971)

Diameter zona Bening (mm)	Kategori
>20	Sangat kuat
10-20	Kuat
5-10	Sedang
<5	Lemah

