

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki tingkat keanekaragaman yang tinggi. Tercatat bahwa Indonesia memiliki 31.750 jenis tumbuhan, di mana 25.000 di antaranya sekitar 15.000 jenis tumbuhan di Indonesia memiliki potensi khasiat obat, namun baru sekitar 7.000 spesies yang dimanfaatkan sebagai bahan baku obat (Setiawan, 2022). Kelompok tanaman yang memiliki potensi manfaat sebagai bahan baku obat adalah kelompok *Syzygium*. Persebaran alami genus *Syzygium* 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 Pendidikan UNHAS termasuk kedalam Kawasan hutan yang memiliki tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi. Keanekaragaman hayati ini menyebabkan *bioresource* tanaman-tanaman tersebut memiliki bioaktivitas tersendiri sesuai dengan kandungan kimianya (Walewangko et al., 2019). 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 passui (*Syzygium polecephalum*).

Passui adalah tanaman penghasil buah yang termasuk kedalam keluarga jambu-jambuan (*Myrtaceae*). Passui sendiri termasuk kedalam salah satu jenis tanaman endemik yang tersebar diseluruh wilayah Indonesia seperti di daratan Sulawesi (Mauliddiyah, 2021). Spesies ini memiliki berbagai potensi di berbagai bidang seperti sebagai sumber makanan, pewarna alami, sebagai kayu bakar, dan penghias kebun, dan potensi dibidang farmakologi. Spesies ini diketahui memiliki banyak kandungan senyawa bioaktif yaitu senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari hasil proses metabolisme tanaman tersebut (Chabibah, 2020). Senyawa metabolit sekunder dihasilkan dari proses metabolisme tanaman, kehadiran fungi endofit juga dapat menghasilkan senyawa metabolit yang sama dengan tanaman inangnya.

Fungi endofit adalah fungi yang hidup di dalam sistem jaringan tumbuhan tanpa menimbulkan efek negatif atau penyakit secara langsung bagi tumbuhan inangnya. Fungi endofit berguna bagi tanaman karena mampu memproduksi metabolit sekunder yang dapat mencegah tumbuhan inangnya dari serangan fungi patogen. Fungi endofit mampu menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif, misalnya senyawa antibakteri, antikanker, antivirus & antifungi (Hasanah et al., 2015). Fungi endofit bersinergis dengan tumbuhan inangnya melalui hubungan simbiois mutualisme. Fungi endofit berfungsi untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik serta penanganan penyakit pada manusia, tumbuhan dan hewan. (Suni et al., 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Asmin (2025) yaitu menguji potensi anti-infeksi fungi endofit pada sampel Makiang, menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam pengembangan antimikroba alami. Penelitian tersebut memberikan wawasan penting tentang bagaimana fungi endofit dapat berkontribusi dalam mengatasi masalah infeksi

mikroba, sehingga penelitian mengenai potensi fungi endofit dari passui yang secara garis besar belum pernah dilakukan menjadi perhatian penting, mengingat passui merupakan tanaman dari marga *Syzygium* yang kaya akan senyawa bioaktif dan memiliki potensi besar dalam bidang farmakologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi fungi endofit yang terdapat pada spesies passui (*Syzygium polycephalum*) yang berpotensi sebagai sumber antimikroba alami. Dan diharapkan dapat menambah pengetahuan ilmiah mengenai potensi fungi endofit pada spesies passui, yang belum banyak diteliti sebelumnya. Secara praktis, penelitian ini diharapkan dapat menyediakan sumber potensial antimikroba alami untuk mengatasi infeksi mikroba patogen yang resisten terhadap antibiotik konvensional, sehingga mendukung pengembangan produk-produk kesehatan berbasis bahan alam. Hasil penelitian ini memiliki manfaat ekologis dan ekonomi dengan mendorong konservasi tumbuhan lokal yang memiliki nilai bioaktif, menjadi referensi bagi studi lanjutan terkait eksplorasi sumber daya hayati Indonesia dalam bidang farmasi dan kesehatan.

1.2 Landasan Teori

Passui adalah tanaman penghasil buah yang termasuk kedalam keluarga jambu-jambuan (*Myrtaceae*). Termasuk kedalam salah satu jenis tanaman endemik yang tersebar diseluruh wilayah Indonesia seperti di daratan Sulawesi (Mauliddiyah, 2021). Memiliki berbagai potensi di berbagai bidang. Selain sebagai sumber makanan, pewarna alami, sebagai kayu bakar, dan penghias kebun, memiliki potensi dibidang farmakologi, memiliki banyak kandungan senyawa bioaktif yaitu senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari hasil proses metabolisme tanaman tersebut (Chabibah, 2020).

Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang dihasilkan oleh tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme, tidak memiliki peran langsung dalam pertumbuhan atau perkembangan organisme tersebut. Meskipun tidak esensial untuk kehidupan sehari-hari organisme, metabolit sekunder memiliki peran yang sangat penting dalam interaksi organisme dengan lingkungan. Metabolit sekunder adalah senyawa yang dihasilkan oleh tanaman dengan peran biologis dan ekologi berfungsi sebagai pembawa pesan antarorganisme, melibatkan interaksi dengan lingkungan dan organisme lain. Selain itu, beberapa metabolit sekunder dapat berperan sebagai senyawa pelindung untuk tanaman, untuk membantu bertahan dari herbivor, patogen, atau stres lingkungan (Jones et al., 2012). Tanaman tidak hanya menghasilkan senyawa kimia dari metabolisme primer seperti karbohidrat, protein, dan lemak tetapi juga berfungsi sebagai sumber senyawa metabolit sekunder. Senyawa-senyawa ini termasuk alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, saponin, dan tanin, memiliki peran penting dalam fungsi biologis dan ekologis tanaman (Agustina et al., 2016). Senyawa metabolit sekunder tidak hanya dihasilkan dari proses metabolisme tanaman inang, tetapi senyawa bioaktif juga dihasilkan oleh mikroorganisme. Salah satu mikroorganisme yang bisa menghasilkan senyawa aktif adalah fungi endofit.

Fungi endofit merupakan fungi yang dapat hidup di dalam tumbuhan, berasosiasi dalam jaringan tumbuhan, dan mempertahankan inangnya terhadap herbivora, serangga, dan patogen melalui hubungan mutualistik. Fungi endofit mampu menghasilkan beberapa senyawa seperti steroid, terpenoid, fenolik, alkaloid yang

berpotensi sebagai antioksidan, anti kanker, antibakteri, antivirus, antifungi. Keberadaan kapang endofit dalam jaringan karena kemampuan penetrasi koloni kapang tanpa merusak sel inangnya dan senyawa bioaktif yang paling sering ditemukan adalah alkaloid (Pakadang et al., 2021). Fungi endofit merupakan mikroba yang hidup pada waktu tertentu dan bertahan hidup berkoloni pada jaringan tersebut tetapi tidak merugikan inangnya (simbiosis mutualisme atau simbiosis komensalisme). Fungi endofit yang dapat menghasilkan zat biologis yang diduga merupakan hasil koevolusi atau rekombinasi genetik dari tanaman inangnya menjadi mikroba endofit dapat ditemukan pada setiap tanaman tingkat tinggi. Kemampuan fungi endofit untuk menghasilkan metabolit sekunder yang sama atau mirip dengan tanaman inangnya merupakan peluang besar untuk dimanfaatkan salah satunya sebagai antimikroba.

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada manusia yang terdapat padakulit dan selaput mukosa pada manusia. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan struktur dinding sel. Bakteri ini tidak memiliki flagel, tidak motil dan tidak membentuk spora. Bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37°C dengan waktu inkubasi yang relatif pendek yaitu 1-8 jam. Bakteri *Staphylococcus aureus* juga dapat tumbuh pada pH 4,5-9,3 optimumnya yaitu pH 7,0-7,5. *Staphylococcus aureus* adalah salah satu bakteri patogen penting yang berkaitan dengan virulensi toksin, invasif, dan ketahanan terhadap antibiotik.

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang lurus, 1,1-1,5 µm x 2,0-6,0 µm, motil dengan flagelum peritrikus atau non motil. Tumbuh dengan mudah pada medium nutrisi sederhana. Laktose difermentasi oleh sebagian besar galur dengan produksi asam dan gas (Pelczar, 1988; Holt, 1994). Bakteri *E. coli* seringkali menyebabkan infeksi pada usus, dan merupakan penghuni normal (flora normal) usus. *E. coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *E. coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *E. coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Pratiwi et al., 2022)

Pengujian efektivitas antiinfeksi mikroba yang akan dilakukan pada dua bakteri pathogen tersebut dapat diamati melalui Zona hambat pertumbuhan/zona bening. Zona hambat ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar kertas cakram, yang digunakan untuk mengukur aktivitas daya hambat antibakteri, dimana semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, maka semakin kuat kemampuan senyawa dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Pratiwi et al., 2022)

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus – November 2024. Pengambilan sampel dilakukan di KHDTK Hutan Pendidikan Unhas, 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.

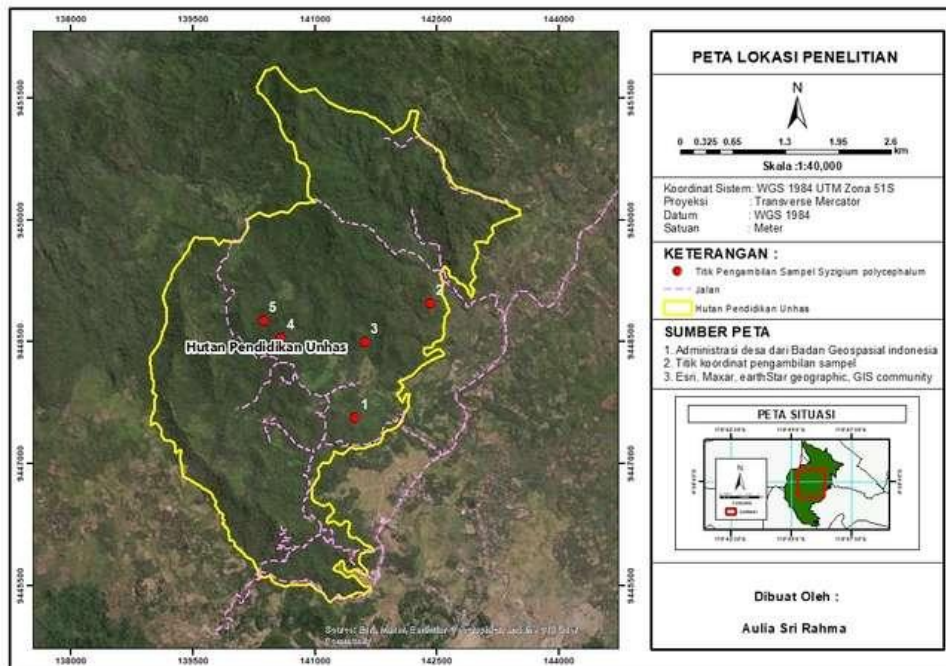
2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Alat Pelindung Diri (APD) standar Laboratorium, alat tulis kerja, *handscoon*, kamera, 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 *passui*, 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



Gambar 1. Peta Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 5 individu pohon passui (*Syzigium Polycephalum*) 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 plastic klip untuk peruntukan identifikasi fungi endofit.

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 autoclaf 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 Mikroorganisme

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 semisintetik 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 di buat dengan konsentrasi PDA sebanyak 39gram kemudian dimasukkan kedalam erlenmyer 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 autoclaf dengan suhu 121°C selama 20 menit. Setelah media PDA selesai di autoclaf, media kemudian dituang kedalam cawan petri.

b. Media NB (*Nutrient Broth*)

Media *Nutrient Broth* (NB) termasuk ke dalam media umum yang digunakan untuk menumbuhkan biakan bakteri 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 sebanyak 2,5 gram, sukrosa sebanyak 2,5 gram dan agar 5,25 gram. Hasil penimbangan konsentrasi media kemudian dimasukkan kedalam erlenmyer yang berisi aquades 200 ml. bahan yang telah dimasukkan kedalam erlenmyer dihomogenkan menggunakan *hot plate stirrer* dan *magnetic stirrer* selama 15-20 menit atau sampai homogen. kemudian dimasukkan kedalam autoclaf dengan suhu 121°C selama 20 menit. Setelah media NB selesai di autoclaf, media kemudian dituang kedalam cawan petri.

2.3.4 Isolasi

Isolasi fungi endofit dilakukan dengan metode tanam langsung di dalam *Laminary Air Flow* (LAF). Sampel daun dan batang dicuci dengan air mengalir sebelum dilakukan sterilisasi permukaan. Proses sterilisasi meliputi perendaman dalam alkohol 70% selama 1 menit, dilanjutkan dengan NaOCI 5,25% selama 1 menit, kemudian dibilas dengan aquades selama 1 menit sebanyak dua kali. Isolasi batang dilakukan dengan memotong batang sepanjang 1 cm, kemudian dibelah menjadi dua menggunakan pisau steril. Sementara itu, isolasi daun dilakukan dengan memilih bagian helaian daun yang tidak rusak atau tidak terinfeksi patogen, kemudian dipotong berukuran 1 x 1 cm menggunakan gunting steril. Potongan sampel tersebut diletakkan pada medium PDA yang telah memadat, dengan posisi jaringan batang menempel pada medium, lalu diinkubasi hingga koloni fungi endofit tumbuh.

2.3.5 Pemurnian

Pemurnian (*purification*) bertujuan untuk mendapatkan biakan murni yang bebas dari kontaminasi mikroba lain, sehingga isolat yang diperoleh dapat dianalisis dengan lebih akurat. Dalam proses ini, pemilihan koloni mikroba yang akan dimurnikan dilakukan dengan mengamati perbedaan karakteristik morfologi koloni, seperti bentuk dan warna, baik pada permukaan depan maupun bagian belakang (*reverse of colony*) dari cawan petri. Karakteristik ini menjadi indikator penting dalam menentukan koloni yang memiliki potensi untuk dipurifikasi lebih lanjut. Pada isolasi fungi, pemurnian dilakukan dengan menggunakan metode titik, di mana koloni yang telah dipilih dipindahkan ke medium PDA (*Potato Dextrose Agar*) untuk ditumbuhkan secara spesifik. Proses ini bertujuan untuk memastikan bahwa hanya satu jenis fungi yang berkembang tanpa adanya mikroba lain yang dapat mengganggu hasil isolasi, sehingga penelitian terhadap isolat dapat dilakukan dengan lebih akurat dan optimal (Feni et al., 2019).

2.3.6 Identifikasi Fungi Endofit

Identifikasi fungi dilakukan setelah fungi murni tumbuh pada media PDA selama kurang lebih satu minggu. Proses ini mengacu pada buku referensi seperti *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi* karya (Watanabe, 2010) serta berbagai sumber lainnya. Identifikasi dilakukan secara deskriptif dengan menentukan tingkat genus berdasarkan karakteristik morfologi, yang terbagi menjadi dua metode utama yaitu :

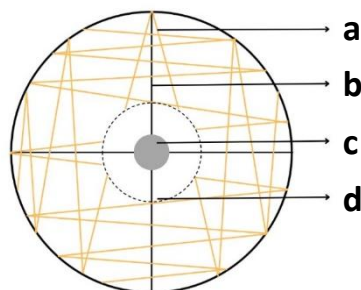
1. Identifikasi Makroskopis, ini dilakukan dengan mengamati ciri-ciri fisik fungi yang terlihat secara kasat mata. Karakteristik yang diamati meliputi warna koloni, tekstur, tepi, bentuk dan elevasi permukaan pertumbuhan pada media PDA. Ciri-ciri ini digunakan sebagai indikator awal dalam menentukan genus fungi yang diamati.
2. Identifikasi mikroskopis, dilakukan untuk menganalisis struktur hifa dan spora fungi. Proses ini dimulai dengan pengambilan fungi yang telah tumbuh pada media PDA menggunakan jarum preparat. Sampel kemudian difiksasi di atas nyala api Bunsen yang menggunakan spiritus hingga kering dan suhunya menurun. Setelah itu, fungi diletakkan pada kaca preparat menggunakan metode titik, ditetesi KOH steril, lalu ditutup dengan *cover glass*. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop

untuk mengidentifikasi karakteristik morfologi fungi secara lebih rinci. Hasil pengamatan kemudian dibandingkan dengan gambar hifa dan spora dalam literatur untuk memastikan kesesuaian identifikasi.

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 *passui* yang telah diisolasi dan dimurnikan secara keseluruhan sampel isolat. 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.

Teknik dalam melakukan uji antagonis memiliki standar dan prosedur kerja yang memiliki Tingkat ketelitian yang tinggi, karena dalam pengujian ini menggunakan bakteri patogen yang tentunya bisa menginfeksi manusia yang bisa berdampak pada Kesehatan. Proses uji antagonis dilakukan dengan menggunakan Alat Pelindung Diri (APD) lengkap dan memastikan bahwa tubuh benar-benar dalam keadaan steril sebelum dan sesudah melakukan pengerjaan. Teknik Media isolat fungi endofit yang telah ditumbukan kemudian dipotong dan diambil menggunakan *corkborer* lalu ditanam pada media NB yang telah diinokulasi bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Proses inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C untuk melihat aktivitas fungi endofit dalam menghambat bakteri uji yang dapat diamati dari zona bening yang terbentuk.

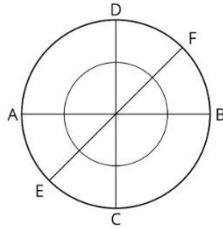


Gambar 2. Ilustrasi Uji antagonis : (A) Bakteri, (B) garis pengukuran Zona hambat (Hz dan Vt), (C) fungi endofit, (D) Zona bening (Pratiwi et al., 2022).

2.4 Pengolahan dan Analisis Data

Perhitungan untuk penentuan luas zona bening dari uji efektivitas antiinfeksi bakteri fungi endofit spesies *passui* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

dapat dilakukan dengan menggunakan rumus zona penghambatan sesuai pada arah pengukuran Gambar 3 yaitu sebagai berikut :



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

Rumus :

$$\text{Zona Penghambatan (mm)} = \frac{ab + cd + ef}{3}$$

Ketereangan:

Garis ab : Diameter Zona Bening yang terbentuk arah Horizontal

Garis cd : Diameter Zona Bening yang terbentuk arah Vertikal

Garis ef : Diagonal Zona Bening yang terbentuk arah Diagonal

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