

### BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga April 2022.

#### 3.2. Subyek Penelitian

Fungi endofit dari pelepah pisang mas (*Musa acuminata*) dan daun wedelia (*Sphagnethicola trilobata*).

#### 3.3. Metode Pengumpulan Data

Pelepah pisang mas (*Musa acuminata*) dan daun wedelia (*Sphagnethicola trilobata*) diperoleh dari Dusun Patrol, Kecamatan Rancaekek, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Sampel dideterminasi terlebih dahulu di Herbarium Jatinangor Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjajaran sebelum dilakukan pengujian. Lakukan sterilisasi alat dan bahan termasuk sampel. Untuk alat dan media tanam disterilkan menggunakan autoklaf dan untuk sampel dengan cara membersihkan dahulu permukaan sampel dengan air mengalir, kemudian sampel dipotong dan direndam dengan alkohol 70%, NaOCl yang kemudian dibersihkan kembali menggunakan *aquadest* steril. Kemudian dilakukan isolasi dan pemurnian fungi endofit dengan menyimpan sampel pada permukaan media PDA, diinkubasi selama 7 hari pada suhu 25°C, pemurnian dilakukan dengan memindahkan koloni fungi endofit yang berbeda ke media PDA baru dan diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu 25°C. Kemudian dilakukan pengujian antagonis untuk melihat apakah fungi endofit yang telah didapatkan mampu menghambat bakteri patogen. Pengukuran kurva pertumbuhan fungi dilakukan sebelum proses fermentasi. Fermentasi dilakukan dengan menginokulasikan fungi endofit kedalam erlenmeyer yang berisi media cair PDY dan setelah itu dilakukan sonikasi untuk mendapatkan metabolit sekunder fungi endofit. Tahap akhir dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode mikrodilusi dengan diuji secara tunggal dan kombinasi.

#### 3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh yaitu berupa absorbansi untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum yang diukur menggunakan microplate reader pada pengujian aktivitas antibakteri. Absorbansi yang diperoleh dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ penghambatan} = \left( 1 - \frac{\text{abs sampel} - \text{abs pembanding}}{\text{abs kontrol positif} - \text{abs kontrol negatif}} \right) \times 100\%$$

(Efendi dan Hertiani., 2013;Sari dkk., 2018;Rollando dkk., 2019).