

Isolation of Endophytic Fungus from Bay Leaves (*Syzygium polyanthum* Wight.) as Antibacterials Against Bacteria Causing Digestive Tract Infections by Bioautography-TLC

Jihan Fahirah¹, Herwin^{2*}, Selpida Handayani³

¹ Undergraduate Program in Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, 90231, Indonesia

² Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, 90231, Indonesia

³ Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, 90231, Indonesia

Article info

Received: 14/01/2025

Available online: 21/11/2025

J Fahirah, Herwin, S Handayani

Corresponding Author: Herwin

Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, 90231, Indonesia
email: herwin@umi.ac.id

ABSTRACT

Salam (Syzygium polyanthum (Wight) Walp), belonging to the Myrtaceae family, are noted for their potential antibacterial properties targeting bacteria linked to gastrointestinal infections. This study aims to identify endophytic fungus isolates from bay leaves that produce antibacterial compounds effective against bacteria responsible for gastrointestinal infections, utilizing TLC-Bioautography as a method of analysis. The endophytic fungus from bay leaves was isolated, yielding 17 pure isolates. The findings from the antagonist test of pure isolates of endophytic fungus revealed two isolates with the most significant inhibitory zone diameters: IFSP-8 and IFSP-15. These isolates demonstrated effectiveness against Escherichia coli, Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, and Vibrio cholerae bacteria. The active isolate was then extracted by liquid-liquid extraction to obtain ethyl acetate extract for the IFSP-8 and IFSP-15 isolates. The antibacterial activity results of the ethyl acetate extract, analyzed through TLC-Bioautography with a chloroform: methanol (9:1) eluent, indicated the values of Rf1 0,76; Rf2 0,56; Rf3 0,47 for the IFSP-8 isolate. In contrast, the IFSP-15 isolate exhibited the values of Rf1 0,81; Rf2 0,69; Rf3 0,56, demonstrating inhibition of bacteria responsible for gastrointestinal infections.

Keyword:

Antibacterial, Endophytic fungi, *Syzygium polyanthum* (Wight), Bioautography-TLC

Copyright ©2025 by Author

Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).



PENDAHULUAN

Infeksi menjadi salah satu penyakit yang paling sering terjadi di negara berkembang seperti Indonesia. Penyakit infeksi yang paling sering diderita adalah penyakit infeksi saluran pencernaan¹. Penggunaan antibakteri merupakan solusi untuk menangani berbagai penyakit infeksi. Antibakteri merupakan senyawa yang

mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Penggunaan antibakteri yang tidak terkontrol dapat mendorong terjadinya resistensi². Dalam mengatasi resistensi ini diperlukan pencarian antibakteri jenis baru, salah satunya adalah fungi endofit. Fungi endofit adalah fungi yang hidup di dalam sistem jaringan tumbuhan tanpa menimbulkan efek negatif atau penyakit

secara langsung bagi tumbuhan inangnya. Fungi endofit mampu menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif, misalnya senyawa antibakteri, antikanker, antivirus dan antifungi³.

Fungi endofit yang terdapat pada tanaman berperan dalam mempengaruhi interaksi dan adaptasi tanaman agar dapat mempertahankan diri dari lingkungannya. Hal tersebut dilakukan dengan cara memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya, bertujuan agar dapat melindungi dan mengantisipasi adanya serangan dari bakteri atau jamur patogen pada inangnya⁴. Hal ini terjadi karena adanya kemungkinan transfer genetik antara tanaman inang dan mikroba endofit, sehingga zat-zat yang bermanfaat di tanaman juga dapat dihasilkan oleh mikroba endofitnya⁵. Mikroorganisme endofit dilingkungan masuk ke dalam jaringan tanaman melalui lentisel, stomata atau luka yang terdapat pada akar lateral dan akar yang sedang berkecambah⁶. Jika mikroba endofit diisolasi dari tanaman obat maka senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan sama seperti yang terkandung di tanaman inangnya⁵. Mekanisme kerja antibakteri pada metabolisme sekunder yang diproduksi oleh fungi endofit dilakukan mulai dari adanya penghambatan dengan penentuan target yang akan merusak dinding sel bakteri, merubah kenaikan permeabilitas pada dinding sel hingga dengan mengkoagulasi sitoplasma⁴.

Salah satu tanaman obat yang berpotensi memiliki fungi endofit adalah Tanaman Salam. Bagian dari Tanaman Salam terutama yang sering digunakan adalah bagian daun, disamping sebagai alat rempah untuk masak. Daun Salam juga berfungsi sebagai antibakteri maupun antijamur⁷. Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Senyawa-senyawa itu diduga mempunyai sifat antibakteri⁸.

Pengujian antibakteri isolat dapat dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan metode KLT bioautografi. Salah satu keuntungan metode bioautografi dibandingkan dengan metode lain seperti difusi agar dan pengenceran adalah dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas biologi secara langsung dari senyawa yang kompleks, terutama yang terkait dengan kemampuan suatu senyawa untuk menghambat pertumbuhan mikroba, selain untuk pemisahan dan identifikasi. Kelebihan lainnya, metode bioautografi tersebut cepat, mudah untuk dilakukan, murah, hanya membutuhkan peralatan sederhana dan interpretasi hasilnya relatif mudah dan akurat⁹.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Widyanti dan Maryati (2023) menunjukkan bahwa ekstrak daun salam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus*, yang merupakan penyebab penyakit diare.

Dengan menggunakan uji KLT-bioautografi, ditemukan bahwa senyawa aktif seperti flavonoid dan tanin berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri tersebut. Penelitian ini mengindikasikan potensi ekstrak daun salam sebagai alternatif dalam pengobatan penyakit diare akibat bakteri tertentu¹⁰. Selaras dengan penelitian tersebut, penelitian Asjur (2021) lebih lanjut memperkuat potensi antibakteri daun salam. Melalui metode difusi agar, Asjur berhasil mengisolasi dua fungi endofit dari daun salam, yakni isolat XP1 dan XP2. Isolat XP1 menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Salmonella typhosa*, sedangkan isolat XP2 efektif menghambat bakteri *Bacillus subtilis* dan *Salmonella typhosa*. Penelitian ini menyoroti peran fungi endofit sebagai agen antibakteri yang potensial untuk mengatasi infeksi saluran pencernaan¹¹.

Dengan demikian, kedua penelitian ini memberikan gambaran yang saling melengkapi mengenai potensi daun salam, baik dari ekstrak langsungnya maupun fungi endofitnya, sebagai sumber senyawa antibakteri untuk pengobatan infeksi saluran pencernaan. Berdasarkan uraian di atas, hal inilah yang mendasari perlunya dilakukan penelitian tentang Isolasi Fungi Endofit Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) Sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Pencernaan Secara KLT-Bioautografi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf (Smic® model YX-280 B), cawan petri (Normax), inkubator (Memmert®), Laminar Air Flow (LAF), spektrofotometer (tipe Evolution 201), oven (Memmert®), shaker (IKA KS 4000i), timbangan analitik (Chyco®). Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kloroform, metanol, alkohol 70%, NaOCl 5,25%, kloramfenikol, pelarut etil asetat (*Merck, 1.09263.1000*), lempeng KLT G60 F254 (E.Merck), larutan NaCl fisiologis 0,9%, medium Nutrient Agar (NA). medium Potato Dextrosa Agar (PDA) (*Merck, 1.10130.0500*), medium Maltosa Yeast Broth (MYB) yaitu Maltosa Monohidrat (*Merck, 1.05910.0500*); Yeast extract granulated (*Merck, 1.03753.0500*); Pepton aus Casein (*Merck, 1.07213.1000*); D(+)-Glucose monohydrate (*Merck, 1.08342.1000*), mikroba uji *Escherichia coli*(ATCC 25923), *Salmonella typhi*(NCTC 789), *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* dan sampel Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.).

Penyiapan sampel

Sampel Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) yang berasal dari Kecamatan Panakkukang, Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan. Daun di sortasi basah dengan cara dicuci bersih dengan air mengalir dan disterilisasi permukaan menggunakan alkohol 70% selama 1 menit, Natrium Hipoklorit selama 1 menit, dibilas

dengan aquadest steril sebanyak 3 kali untuk menghilangkan kotoran, maupun organisme epifit yang menempel pada permukaannya¹². Daun di potong berbentuk persegi dengan ukuran $\pm 1-2$ cm menggunakan pisau steril. Potongan daun selanjutnya dikeringkan menggunakan kertas tisu steril.

Isolasi, pemurnian, dan pemeriksaan makroskopik fungi endofit

Potongan daun ditanam pada media agar yang dibuat dari PDA bersama dengan kloramfenikol dicawan petri. Sebelumnya ditambahkan kedalam media agar untuk mencegah pertumbuhan bakteri lainnya. Cawan petri yang berisi Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) tersebut selanjutnya ditutup¹³. Kemudian diinkubasi pada suhu 25°C-30°C selama 3 hari. Setelah 3 hari fungi yang tumbuh, kemudian diisolasi dan dimurnikan pada medium Potato Dekstrosa Agar (PDA) yang baru. Selama pekerjaan dilakukan secara aseptis didalam Laminar Air Flow (LAF)¹⁴. Fungi yang telah tumbuh selanjutnya dilakukan pemurnian dengan cara diambil menggunakan ose bulat dan dipindahkan ke medium Potato Dekstrosa Agar (PDA) yang baru. Kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 hari. Selanjutnya dilakukan pengamatan secara makroskopis meliputi permukaan koloni, bentuk koloni, tepi dan sudut elevasinya¹³.

Peremajaan dan Pembuatan Suspensi bakteri uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bakteri yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* dibiakan masing-masing satu ose kemudian diinokulasi dengan cara digoreskan pada medium Nutrient Agar (NA) miring lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, setelah itu dapat digunakan sebagai bakteri uji. Biakan bakteri uji dibuat suspensi berdasarkan stancar McFarland (1×10^8 kol/sel) dengan cara dilarutan dalam NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan kedalam kuvet, kemudian diukur transmitannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada 25% T untuk bakteri. Sebagai blanko digunakan NaCl fisiologi 0,9%¹⁵.

Uji Antagonis

Isolat murni fungi endofit diinokulasikan kedalam cawan petri yang berisi medium Nutrient Agar (NA) sebanyak 15 mL yang masing-masing telah diinokulasikan dengan bakteri uji *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*, dimana isolat tersebut diletakkan diatas permukaan medium. Kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C lalu diamati zona hambat yang terbentuk¹³.

Produksi Metabolit Sekunder dan Ekstraksi

Isolat terpilih yaitu IFSP8 dan IFSP15 masing-masing dimasukkan kedalam 20 mL medium produksi yaitu medium MYB

(Maltosa Yeast Broth), lalu diinkubasi pada suhu kamar 25°C selama waktu 3 x 24 jam (kultur starter). Isolat yang memiliki zona hambat paling besar pada uji skrining selanjutnya akan difermentasi pada medium Maltosa Yeast Broth (MYB). Starter isolat aktif dimasukkan ke dalam labu erlemeyer yang berisi 500 mL medium cair Maltosa Yeast Broth (MYB), selanjutnya dilakukan fermentasi menggunakan rotary shaker dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 25°C selama 14 hari hingga diperoleh supernatant dan miselia¹³. Fermentat disaring menggunakan kertas saring lalu diambil supernatannya dan diekstraksi menggunakan etil asetat¹⁶. Supernatant diekstraksi dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v), lalu hasil ekstraksi kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kering¹⁷.

Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Lempeng KLT sebelum digunakan diaktifkan terlebih dahulu dengan pemanasan pada oven suhu 100°C selama 30 menit sebelum digunakan. Ekstrak kental fermentat fungi endofit Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) diidentifikasi secara Kromatografi Lapis Tipis/KLT dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (9 : 1). Kemudian ekstrak fermentat yang telah dilarutkan dengan pelarut kloroform:metanol (1:1) ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 7x1 cm menggunakan pipa kapiler. Kemudian dielusi dengan menggunakan eluen kloroform:metanol (9:1) dan lempeng dimasukkan kedalam

chamber. Lempeng dikeluarkan dari chamber dan diangin-anginkan sehingga cairan pengelusnya menguap. Kemudian kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm¹⁷.

Uji KLT-Bioautografi

Hasil identifikasi KLT dengan eluen yang terbaik dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi dengan cara medium NA sebanyak 10 mL dituang kedalam cawan petri dan ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 20 µL lalu dihomogenkan, lempeng KLT yang telah dielusi diletakkan diatas permukaan medium agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji, kemudian dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu lempeng diangkat dan dikeluarkan, selanjutnya diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37° C kemudian diamati bercak yang memberikan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji¹³, lalu dilakukan pengamatan dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk pada bekas lempeng¹⁸.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada saat penyiapan dan sterilisasi permukaan sampel penggunaan etanol 70% dan NaOCl 5,25% karena dengan konsentrasi tersebut efektif menghambat pertumbuhan bakteri dan dibilas dengan aquadest steril agar cairan NaOCl yang masih menempel pada daun salam dapat hilang¹⁹. Pada proses isolasi digunakan medium Potato Dextrose Agar yang

ditambahkan dengan Chloramphenicol (PDAC). Medium PDA (Potato Dextrose Agar) diketahui memiliki sumber karbohidrat, dan dextrosa sebagai sumber karbon untuk menunjang pertumbuhan fungi endofit. Sedangkan, fungsi dari penambahan kloramfenikol ialah untuk mencegah pertumbuhan bakteri di medium yang dapat mengkontaminasi sehingga nantinya yang tumbuh pada permukaan medium hanyalah fungi endofit yang berasal dari daun salam¹³.

Hasil isolasi fungi endofit pada daun salam diperoleh 17 koloni fungi yang akan dilanjutkan ke uji pemurnian menggunakan

medium Potato Dekstrosa Agar (PDA). Pemurnian bertujuan untuk memisahkan atau mengisolasi 1 jenis isolat sehingga didapatkan biakan murni/ isolat fungi endofit yang tunggal tanpa adanya kontaminasi dari mikroorganisme lainnya. Diperoleh 17 isolat murni yang selanjutnya dilakukan karakterisasi morfologi fungi dengan mengamati beberapa karakter secara makroskopik meliputi bentuk koloni, bentuk tepi, bentuk elevasi, dan warna¹³. Hasil uji makroskopik dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan Makroskopik isolat fungi endofit pada Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.)

Kode sampel	Bentuk koloni	Bentuk Tepi	Bentuk elevasi	Warna koloni
IFSP-1	<i>Concentric</i>	<i>Wavy</i>	<i>Hilly</i>	Putih kehijauan
IFSP-2	<i>Concentric</i>	<i>Wavy</i>	<i>Hilly</i>	Putih coklat
IFSP-3	<i>Filiform</i>	<i>Ciliate</i>	<i>Raised</i>	Abu-abu hitam
IFSP-4	<i>Concentric</i>	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	Putih orens
IFSP-5	<i>Flamentous</i>	<i>Branching</i>	<i>Hilly</i>	Putih
IFSP-6	<i>Concentric</i>	<i>Smooth</i>	<i>Flat</i>	Putih kekuningan
IFSP-7	<i>Rhizoid</i>	<i>Wooly</i>	<i>Raised</i>	Putih
IFSP-8	<i>Rhizoid</i>	<i>Wooly</i>	<i>Raised</i>	Putih
IFSP-9	<i>Round with Raised Margin</i>	<i>Ciliate</i>	<i>Hilly</i>	Putih
IFSP-10	<i>Round</i>	<i>Ciliate</i>	<i>Raised</i>	Putih
IFSP-11	<i>L-Form</i>	<i>Ciliate</i>	<i>Raised</i>	Putih kekuningan
IFSP-12	<i>L-Form</i>	<i>Branching</i>	<i>Raised</i>	Putih kekuningan
IFSP-13	<i>Rhizoid</i>	<i>Wooly</i>	<i>Hilly</i>	Putih
IFSP-14	<i>Flamentous</i>	<i>Branching</i>	<i>Raised</i>	Putih coklat
IFSP-15	<i>Filiform</i>	<i>Ciliate</i>	<i>Flat</i>	Putih agak kekuningan
IFSP-16	<i>Rhizoid</i>	<i>Wooly</i>	<i>Raised</i>	Putih
IFSP-17	<i>L-Form</i>	<i>Ciliate</i>	<i>Raised</i>	Putih hitam kekuningan

Berdasarkan uji makroskopik didapatkan hasil yaitu isolat fungi endofit dari daun salam paling banyak memiliki

bentuk *concentric* dan *rhizoid*, bentuk tepi *ciliate*, bentuk elevasi *raised*, warna koloni putih. Setelah dilakukan pengamatan

makroskopik dilakukan uji skrining. Uji skrining bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat fungi endofit dalam memperlihatkan aktivitas antibakterinya terhadap bakteri uji¹³. Bakteri uji yang digunakan diremajakan terlebih dahulu dengan tujuan memperoleh bakteri yang tidak terkontaminasi dan mempertahankan

bakteri tersebut agar tetap berfungsi. Biakan dari hasil peremajaan bakteri selanjutnya dibuat suspensi¹. Adapun bakteri uji yang digunakan yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae*. Hasil dari uji antagonis dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian skrining aktivitas antibakteri isolat fungi endofit Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.)

Kode isolat	Diameter Rerata Zona Hambat (mm)			
	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>V. cholerae</i>
IFSP-1	0	0	0	0
IFSP-2	0	0	0	0
IFSP-3	0	0	0	0
IFSP-4	0	0	0	0
IFSP-5	0	0	0	0
IFSP-6	0	0	0	0
IFSP-7	0	0	0	0
IFSP-8	10.64	12.79	11.27	10.15
IFSP-9	9.38	0	0	0
IFSP-10	0	0	0	0
IFSP-11	0	0	0	0
IFSP-12	0	0	0	0
IFSP-13	0	0	0	0
IFSP-14	0	0	0	0
IFSP-15	10.06	12.54	13.47	12.73
IFSP-16	9.95	9.99	0	10.06
IFSP-17	0	0	0	9.76

Keterangan : *E.coli* : *Escherichia coli*, *S. Typhi* : *Salmonella.typhi*, *S.dysenteriae* : *Shigella dysenteriae*, *V.cholerae* : *Vibrio cholerae*

Berdasarkan hasil pengamatan uji skrining diperoleh hasil isolat fungi endofit kode IFSP-8 dan IFSP-15 yang memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri saluran pencernaan yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji. Semakin besar

zona jernih yang dihasilkan semakin besar pula kemampuan senyawa antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Mekanisme penghambatan terhadap bakteri uji dapat terjadi melalui mekanisme penghambatan sintesis dinding sel, penghambatan fungsi membran,

penghambatan sintesis protein dan penghambatan sintesis asam nukleat. Sehingga isolat dengan kode IFSP-8 dan IFSP-15 yang digunakan untuk dilanjutkan kepengujian selanjutnya karena memiliki kemampuan senyawa bioaktif yang lebih kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri²⁰.

Dilanjutkan keuji fermentasi dengan membuat kultur starter terlebih dahulu dari isolat terpilih, dalam fermentasi digunakan medium *Maltosa Yeast Broth* (MYB) karena media ini merupakan media cair yang mengandung ekstrak yeast sebagai sumber protein, maltosa dan dekstrosa sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber asam amino, yang dibutuhkan dalam pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme mikroorganisme²¹. Difermentasi selama 14 hari pada kecepatan 200 rpm dimana waktu dan kecepatan ini diharapkan fermentasi fungi mencapai fase stasioner karena fungi endofit dapat menghasilkan metabolit sekunder secara maksimum setelah mencapai fase stasioner. Fase stasioner yaitu dimana mikroorganisme mulai kekurangan nutrisi sehingga mikroorganisme tersebut akan berusaha mempertahankan hidupnya dengan cara menghasilkan metabolit sekunder yang berupa bahan-bahan toksik yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain¹³.

Dalam fermentasi fungi endofit, senyawa metabolit yang dihasilkan dapat memiliki sifat polaritas yang bervariasi sehingga etil asetat dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa tersebut. Etil asetat adalah pelarut semi polar yang sering digunakan dalam mengekstraksi kultur fungi endofit. Sehingga diharapkan dapat mengekstrak lebih banyak komponen polar maupun non polar dan mudah dipisahkan dengan cairan MYB yang bersifat polar²². Setelah diuapkan dan diperoleh ekstrak kental hasil fermentasi, maka dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode KLT-Bioautografi. Pengujian KLT-Bioautografi diawali dengan melakukan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

Pada pengujian KLT Lempeng KLT yang akan digunakan sebelumnya dipanaskan terlebih dahulu dengan suhu 105°C selama 20 menit bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat dalam lempeng. Pemisahan senyawa ekstrak fermentat menggunakan perbandingan eluen kloroform : metanol (9:1). Pemilihan eluen ini didasarkan pada hasil orientasi eluen yang telah dilakukan yang dimana pada eluen ini menghasilkan pemisahan terbaik setelah dideteksi bercak pada lampu UV 254 nm dan 366 nm. Karakteristik eluen yang baik ditandai dengan banyaknya spot yang muncul, spot yang terbentuk tidak berekor, dan jarak antara spot satu dengan spot lainnya²³. Adapun faktor-faktor yang dapat

memengaruhi nilai Rf yaitu jumlah penotolan, suhu, dan uap dalam bejana pengembangan yang digunakan. Faktor ini dapat menyebabkan perbedaan nilai Rf pada pengulangan yang dilakukan dan hasil

yang didapatkan bisa saja berbeda jauh²⁴. Hasil identifikasi KLT dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Hasil identifikasi KLT ekstrak fermentat isolat fungi endofit Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) dengan kode IFSP-8

Bercak	Nilai Rf	Profil Bioautogram	
		UV 254 nm	UV 366 nm
1	0,76	Hijau	Biru
2	0,65	Hijau	Biru
3	0,56	Hijau	Biru berpendar
4	0,47	Hijau	Biru terang
5	0,4	Hijau	Biru berpendar
6	0,3	Hijau kebiruan	Biru
7	0,21	Hijau	Biru

Tabel 4. Hasil identifikasi KLT ekstrak fermentat isolat fungi endofit Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) dengan kode IFSP-15

Bercak	Nilai Rf	Profil Bioautogram	
		UV 254 nm	UV 366 nm
1	0,81	-	Biru
2	0,69	Hijau	Biru berpendar
3	0,56	Hijau	Biru berpendar
4	0,47	-	Biru berpendar
5	0,38	Biru	Biru
6	0,27	Hijau	Biru

Hasil Identifikasi KLT didapatkan 7 bercak pada kode IFSP-8 dan 6 bercak pada kode IFSP-15. Untuk mengetahui bercak yang memiliki aktivitas dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode KLT-Bioautografi. Pengujian KLT-Bioautografi merupakan pengujian lanjutan setelah dilakukannya pemisahan senyawa pada

kromatografi lapis tipis (KLT). Metode yang digunakan dalam KLT Bioautografi adalah metode kontak, pemilihan metode ini dikarenakan dapat memudahkan dalam proses pengamatan komponen yang aktif. Selain itu, keuntungan lain dari metode ini adalah ekonomis, aman pada saat pengerjaan dan sederhana²¹. Kelebihan

lainnya metode bioautografi dibandingkan dengan metode lain seperti difusi agar dan pengenceran adalah dapat digunakan untuk mengetahui aktivitas biologi secara langsung dari senyawa yang kompleks, terutama yang terkait dengan kemampuan suatu senyawa untuk menghambat pertumbuhan mikroba, selain untuk pemisahan dan identifikasi. Serta metode bioautografi tersebut cepat dan interpretasi hasilnya relatif mudah dan akurat²⁵. Potensi

keterbatasan metode ini adalah proses penyerapan kromatogram ke dalam media sedikit sulit sehingga membuat hasil yang didapatkan tidak terlihat karena terdapat senyawa yang tetap berikatan dengan matriks kromatogram sehingga tidak dapat mengalami perpindahan²⁶. Hasil pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak fermentat daun salam secara KLT-Bioautografi dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil pengujian KLT-Bioautografi dari kromatogram fermentat isolat fungi endofit Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.)

Kode isolat	Nilai Rf (cm)	Warna		Bakteri uji yang dihambat
		UV 254 nm	UV 366 nm	
IFSP-8	0,76	Hijau	Ungu	<i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. dysenteriae</i> .
	0,56	Hijau	Ungu	<i>E. coli</i>
	0,47	Hijau	Ungu	<i>E. coli</i>
IFSP-15	0,81	Hijau	Ungu	<i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. dysenteriae</i> .
	0,69	Hijau	Ungu	<i>E. coli</i> , <i>S. dysenteriae</i> .
	0,56	Hijau	Ungu	<i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>S. dysenteriae</i> .

Keterangan: IFSP: Isolat Fungi *Syzygium polyanthum*

Profil kromatogram dari aktivitas antibakteri ekstrak fermentat isolat fungi endofit Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) secara KLT-Biautografi didapatkan beberapa hasil bercak aktif pada isolat dengan kode IFSP-8 terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan nilai Rf₁ 0,76; Rf₂ 0,56; Rf₃ 0,47, dan untuk bakteri *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Vibrio cholerae* dengan nilai Rf₁ 0,76. Kemudian, isolat dengan kode IFSP-15 terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*

dengan nilai Rf₁ 0,81; Rf₂ 0,69; Rf₃ 0,56 dan untuk bakteri *Vibrio cholerae* dan *Salmonella typhi* dengan nilai Rf₁ 0,81; Rf₃ 0,56. Nilai Rf KLT yang baik menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2 – 0,8 menunjukkan aktivitas antibakteri dan untuk mendapatkan nilai Rf yang baik terdapat pada pelarut²⁶. Senyawa metabolit sekunder yang mungkin saja dihasilkan yang memiliki rentang nilai rf 0,2-0,8 yaitu senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid. Meskipun nilai

Rf antara 0.2-0.8 bisa menunjukkan kemungkinan adanya senyawa-senyawa tersebut, identifikasi lebih lanjut diperlukan untuk memastikan jenis senyawa yang sebenarnya. Perlu juga diingat bahwa nilai Rf dapat bervariasi tergantung pada jenis fase diam, fase gerak, dan kondisi KLT yang digunakan.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fungi endofit dari daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight.), khususnya isolat IFSP-8 dan IFSP-15, memiliki potensi menghasilkan senyawa antibakteri yang efektif terhadap bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan, yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, dan *Vibrio cholerae*. Pada uji KLT-Bioautografi, nilai Rf untuk isolat IFSP-8 adalah 0,76; 0,56; dan 0,47, sedangkan nilai Rf untuk isolat IFSP-15 adalah 0,81; 0,69; dan 0,56, yang mengindikasikan aktivitas antibakteri pada senyawa yang dihasilkan.

Penelitian ini menegaskan bahwa fungi endofit dapat menjadi sumber senyawa antibakteri baru yang berpotensi dikembangkan lebih lanjut untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik. Namun, penelitian ini masih terbatas pada analisis aktivitas antibakteri menggunakan metode KLT-Bioautografi. Studi lanjutan diperlukan untuk mengidentifikasi struktur kimia senyawa aktif dan mengevaluasi efektivitasnya pada model biologis yang

lebih kompleks ataupun pengujian terhadap jenis bakteri lain .

DAFTAR PUSTAKA

1. Rabbana R, Kosman R, Nuryanti S. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kayu Jawa (*Lannea coromandelica* (Houtt.) Merr.) terhadap Bakteri Penyebab Infeksi Saluran Pencernaan dengan Metode Difusi Agar. *Makassar Pharmaceutical Science Journal*. 2023;1(2):66–75.
2. Saputera MMA, Marpaung TWA, Ayuchecaria N. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar Ekstrak Etanol Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) terhadap Bakteri *Escherichia coli* melalui Metode Sumuran. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 2019;5(2):167–173.
3. Ngole MDAS, Mu'nisa A, Ali A. Isolasi Jamur Endofit pada Tanaman Obat Tradisional serta Uji Aktivitas Antijamur terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Proseding Seminar Nasional Biologi dan Pembelajaranya*. 2017;2(1):233–243.
4. Dion R, Maharani NA, Akbar MF, Wijayanti P, Nurlindasari Y. Review: Eksplorasi Pemanfaatan Jamur Endofit pada Tanaman *Curcuma* dan *Zingiber* sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 2021;5(1):16–29.
5. Jamilatun M, Aminah A, Shufiyani S. Uji Daya Hambat Antibakteri Kapang Endofit dari Tanaman Alang-Alang (*Imperata cylindrica* (L.) Beauv.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. [*Jurnal tidak tercantum*]. 2020;7(Nov):335–346.
6. Chusniasih D, Azizah NN, Mulyadi SP, Oktariyani FR. Isolasi dan Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder Jamur Endofit Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* Linn.). *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*. 2024;11(2):28–37.
7. Yahya I, Advinda L, Angraini F. Isolation and Activity Test of Antimicrobial Endophytic Bacteria from Leaf Salam (*Syzygium polyanthum* Wight). *BioScience*. 2017;1(2):62.
8. Norhaliza S, Zamzani I, Nor I. Potensi Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dengan Metode UAE sebagai Antibakteri terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella*

- typhi*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 2022;3(2):94–101.
9. Raymon M, Taebe B, Ali A, Khairuddin. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Sawo Manila (*Achras zapota* L.) dengan Berbagai Cairan Penyari terhadap *Salmonella typhimurium*. *J Pharm Med Sci*. 2016;1(1):6–11.
10. Widyanti ID, Maryati M. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst & G. Forst) terhadap Bakteri *Shigella sonnei* dan *Bacillus cereus*. *Usadha: Journal of Pharmacy*. 2023;2(1):60–71.
11. Asjur AV. Karakterisasi Fungi Endofit *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. berdasarkan Gen ITS sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2021;3(3):404–409.
12. Rori CA, Kandou FEF, Tangapo AM. Aktivitas Enzim Ekstraseluler dari Bakteri Endofit Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina*. *Jurnal Bios Logos*. 2020;11(2):48.
13. Rusli, Kosman R, Muthmainnah, Nurung AH. Aktivitas Antibakteri Fermentat Fungi Endofit Daun Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.) Asal Galesong terhadap Bakteri Uji Penyebab Infeksi Kulit. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2023;15(1):37–45.
14. Asnita, Herwin, Kosman R, Nurung A. Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Batang Sesuru (*Euphorbia antiquorum* L.) sebagai Penghasil Antibakteri dengan Metode KLT-Bioautografi. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2020;12(2):144–149.
15. Maryam S, Juniasti S, Kosman R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Asal Kota Watampone. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*. 2015;7(1):60–69.
16. Ramadhana ER, Herwin, Nuryanti S. Isolation of Endophytic Fungi from *Aloe vera* Against Bacteria that Cause Digestive Tract Infections by TLC-Bioautography and Agar Diffusion. *J Microbiol Sci*. 2024;4(1):1–10.
17. Deponda RA, Fitriana F, Nuryanti S, Herwin H. Isolasi Fungi Endofit Kulit Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) yang Berpotensi sebagai Antibakteri secara Metode KLT-Bioautografi. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*. 2019;11(2):147–153.
18. Herwin, Mile FA. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Batang *Phytocrene macrophylla* Blume. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*. 2017;9(2):165–172.
19. Rianto A, Isrul M, Anggarini S, Saleh A. Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) sebagai Antibakteri terhadap *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*. 2018;4(2):109–121.
20. Judianti OWD, Asri MT, Trimulyono G. Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan Kerang Pisau (*Solen* sp.). *Sains & Matematika*. 2015;4(1):8–15.
21. Asri MI, Sabaruddin S, Fitriana F. Isolasi Fungi Endofit Daun Srikaya (*Annona muricata* L.) sebagai Antioksidan secara KLT-Autografi. *J Microbiol Sci*. 2021;1(1):16–22.
22. Nuryanti S, Suhaenah A, Syamsu RF, Andriani R. Aktivitas Antioksidan Fungi Endofit Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*. 2023;15(1):46–53.
23. Aslah A, Lolo WA, Jayanto I. Aktivitas Antibakteri dan Analisis KLT-Bioautografi dari Fraksi Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Pharmacon*. 2019;8(2):505–515.
24. Fajriani N, Kurniawan H, Nugraha F. Identify the Rhodamin B on Lipsticks in the Market Using Thin Layer Chromatography (TLC) Method. *J Syifa Sci Clin Res*. 2022;4(3):671–678.
25. Raymon M, Taebe B, Ali A, Khairuddin. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Buah Sawo Manila (*Achras zapota* L.) dengan Berbagai Cairan Penyari terhadap *Salmonella typhimurium*. *J Pharm Med Sci*. 2016;1(1):6–11.
26. Alyidrus R, Wahyuni, Nurhikma A, Kasman N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Laruna (*Chromolaena odorata* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *InHealth: Indonesian Health Journal*. 2022;1(1):62–70.