

ISOLATION OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM (*HELMINTHOSTACHYS ZEYLANICA* (L.) HOOK) ROOT AS ANTIBACTERIAL BY AGAR DIFFUSION

Andi Mitra¹, Herwin¹, Siska Nuryanti¹

¹ Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, 90231, Indonesia

Article info Received: 06/08/2022 Review: 08/11/2022 Available online:02/05/2023	ABSTRACT <i>Tunjuk Langit (Helminthostachys Zelanica (L) Hook.) is a plant with family Opioglossaceae traditionally and empirically used as antibacterial with chemical compound flavonoid and saponin. This research aims to determine antibacterial activity of endophytic fungi isolate of Tunjuk Langit (Helminthostachys Zelanica (L) Hook.) root on bacteria that cause gastrointestinal infections. The result of the isolation endophytic fungi against from Tunjuk Langit (Helminthostachys Zelanica (L) Hook.) root using PDA+C medium and purification isolate obtained 7 pure isolates and analysis macroscopic from 8 isolates (IFATL-01, IFATL-02, IFATL-03, IFATL-04, IFATL-05, IFATL-05, IFATL-06, IFATL-07 and IFATL-08) obtained different characteristics. Production of secondary metabolites of isolate active (IFATL-05) by fermentation using maltose yeast broth (MYB) obtained supernatant and miselia. Metabolites supernatant were extracted using ethyl acetat, so obtained extract ethyl acetate supernatan. The result of the antibacterial activity of isolate endophytic fungi against V. cholerae, S. dysenteriae and E. coli bacteria by Agar diffusion obtained the largest diameter of the inhibition zone in isolate IFATL-05 = 29.13 mm active against S. dysenteriae bacteria. Based on phytochemical screening from isolate endophytic fungi IFATL-05 obtained saponin compound group.</i>
Corresponding Author: Andi Mitra Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, South Sulawesi, Indonesia email: andimitra15@gmail.com	
Keyword:	<i>Endophytic Fungi, Helminthostachys Zelanica (L) Hook. Root, Antibacterial</i>



Copyright ©2023 by Author
Journal Microbiology Science by Faculty of Pharmacy Universitas Muslim Indonesia is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

PENDAHULUAN

Tumbuhan Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook) merupakan jenis tumbuhan yang dapat hidup di dataran rendah dengan kondisi tanah yang lembab dan kaya akan humus dan bahan organik. Saat ini tumbuhan Tunjuk Langit sudah mulai sulit ditemukan, salah satu cara untuk tetap melestarikan tumbuhan setunjang langit serta agar khasiat dari tumbuhan ini dapat tetap digunakan adalah dengan

memanfaatkan metabolit sekunder jamur endofitik yang terdapat pada tumbuhan Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook). Mikroba endofit ini merupakan mikroba yang hidup dalam jaringan tumbuhan pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tumbuhan tanpa membahayakan inangnya. Tumbuhan yang sehat, banyak mikroba endofit yang sangat bersinergi dengan inangnya dan sebagian dari endofit mampu membuat kembali

nutrisi dari tumbuhan dengan cara menghasilkan senyawa khusus seperti metabolit sekunder untuk melindungi inangnya dari serangan hama atau mikroba lain yang sifatnya patogen¹.

Adanya resistensi obat yang terus meningkat yang disebabkan oleh adanya penggunaan obat antibakteri yang semakin meningkat dan pemakaian yang kurang teratur, maka terus dilakukan pencarian senyawa obat antibakteri baru untuk mencari alternatif dari berbagai jenis obat baru yaitu dari fungi endofit. Tumbuhan Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (Linn) Hook) merupakan jenis tumbuhan yang dapat hidup di dataran rendah dengan kondisi tanah yang lembab dan kaya akan humus dan bahan organik². Tumbuhan setunjang langit memiliki potensi sebagai penurun kadar asam urat darah. Berdasarkan uji fitokimia tumbuhan ini mengandung saponin, flavonoid dan fenolik. Tumbuhan Tunjuk Langit kaya akan metabolit sekunder yang berpotensi aktif secara biologis. Uji fitokimia menunjukkan tumbuhan Tunjuk Langit mengandung steroid, flavonoid, saponin dan polifenol. Uji aktivitas sitotoksik dengan metode brine sthrip letality test (BSLT) fraksi etil asetat akat tumbuhan Tunjuk Langit menunjukkan nilai LC50 adalah 27 ppm. Diketahui ada korelasi

yang positif antara aktivitas sitotoksik dan antioksidan dengan aktivitas antikanker³.

Secara empiris akar Tunjuk Langit telah lama digunakan masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengatasi batuk 100 hari, penyakit hidung dan tenggookan⁴. Beberapa hasil penelitian pada tumbuhan tunjuk langit telah dilakukan antara lain kandungan kimia dari akar tunjuk langit yaitu senyawa flavonoid yang memiliki potensi sebagai antiinflamasi⁵. Ekstrak etanol akar Tunjuk Langit memiliki potensi sebagai anti hiperurisemia serta akar tunjuk langit dari fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid yang aktif sebagai antikanker⁶. Berdasarkan latar belakang tersebut, sehingga dilakukan penelitian isolasi fungi endofit dari akat Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (Linn) Hook) sebagai antibakteri secara difusi agar.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, autoklaf (SIMC Model YX-280 B), cawan petri (Normax), enkas, gelas erlenmeyer (Iwaki Pyrex), gelas kimia (Iwaki Pyrex), inkubator (Mommert), oven (Mommert), timbangan analitik (Chyo). Dan bahan yang digunakan adalah alkohol 70%, etanol 70%, medium Nutrien Agar (NA), medium Dextrosa Agar (PDA), kloramphenicol, bakteri uji (*E. coli*,

S. dysenteriae, *V.cholerae*). Maltosa Yeast Broth (MYB), pereaksi Dragondorff, Mayer, Wagner, Asam klorida 2N, Liberman- Bourchard, FeCl₃ dan sampel yaitu akar Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (Linn) Hook).

Penyiapan sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah akar Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanic Linn.*), yang diperoleh dari Kabupaten Pinrang Provinsi Sulawesi Selatan kemudian disortasi basah dengan cara dicuci dengan air mengalir. Sampel akar tunjuk langir hasil sortasi didisinfeksi permukaan kulitnya menggunakan etanol 70% selama 2 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak 2-3 kali masing-masing selama 1 menit ⁷.

Isolasi fungi endofit

Akar tumbuhan Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanic Linn.*) yang telah disortasi basah dipotong kecil-kecil dan selanjutnya disterilisasi permukaan menggunakan etanol 70% selama 2-5 menit, kemudian sampel dibilas dengan aquadest steril \pm 1 menit diulang 2-3 kali lalu dikeringkan dengan tissue steril. Pengerjaan dilakukan secara aseptis di dalam Laminar Air Flow (LAF), dimana potongan kecil Akar tumbuhan tunjuk langit (*Helminthostachys zeylanic Linn.*) tersebut

selanjutnya diletakkan diatas permukaan medium Potato Dekstrosa Agar + *Cloramphenicol* (PDAC) di dalam cawan petri steril yang kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu kamar (25⁰C-30⁰C) selama 3 hari kemudian diinokulasi dan dimurnikan pada medium PDAC baru untuk mendapatkan biakan murni ^{8,9}.

Pemurnian fungi endofit

Setiap isolat yang berbeda dimurnikan dengan metode *quadrant streak*, kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 25⁰C-30⁰C selama 3 hari untuk memperoleh isolat tunggal. Isolat murni yang diperoleh diinokulasi pada medium agar miring sebagai stok ¹⁰.

Pemeriksaan makroskopik dan mikroskopik

Setiap isolat diambil satu ose, lalu diinokulasikan di atas medium PDAC dengan metode titik, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3x24 jam. Hasil dari makroskopik tersebut diamati dengan melihat tepi, elevasi dan bentuk-bentuk koloni (11; 12). Biakan murni jamur diambil diambil secara aseptis menggunakan jarum prepat dan diletakkan diatas permukaan object glass, lalu diberi pewarna yakni *lactophenol cotton blue* untuk melihat struktur mikroskopisnya. Prepat ditutup dengan cover glass dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x.

Uji skrining aktifitas antibakteri isolate fungi endofit

Skrining aktivitas isolat fungi endofit secara dilusi padat dari akar tumbuhan Tunjuk Langit ditumbuhkan kedalam medium PDAC. Kertas cakram dikasukkan kedama isolat fungi endofit yang telah disuspensikan kemudian kertas cakram dimasukkan kedalam cawan petri yang berisi medium Nutrien Agar (NA) yang telah bercampur dengan suspensi bakteri uji *E.coli*, *V. cholerae* dan *S. disenteriae*. Selanjutnya di inkubasi selama 1 hari pada suhu 37⁰C. Masing-masing isolat diamati kemampuannya dalam menghambat bakteri uji yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram uji ^{9, 10}.

Fermentasi Isolat Fungi Endofit

Isolat aktif kemudian diinokulasi dengan menggunakan ose dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 250 mL medium cair Maltosa Yeast Broth (MYB), selanjutnya dilakukan fermentasi menggunakan *Rotary shaker* dengan kecepatan 200 rpm pada suhu ruangan selama 14 hari ¹³.

Uji Skrining Fitokimia Hasil Fermentasi Skrining Fitokimia Kualitatif.

a. Identifikasi Alkaloid

Filtrat 3 ml ditempatkan pada kaca arloji kemudian tambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff LP, jika terjadi endapan coklat maka mengandung alkaloid. Jika dengan pereaksi Mayer terbentuk

endapan menggumpal berwarna putih atau kuning yang larut dalam metanol maka ada kemungkinan terdapat alkaloid, jika menggunakan pereaksi Wagner akan terbentuk presipitat kecoklatan/kemerahan.

b. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 1 mL larutan diuapkan, sisa dilarutkan dalam 1-2 mL etanol (95%) P, tambahkan 500 mg serbuk seng P dan 2 ml, asam klorida 2 N, diamkan selama 1 menit, tambahkan 10 tetes asam klorida pekat, jika dalam 2-5 menit terbentuk warna merah berarti mengandung flavonoid.

c. Identifikasi Tanin

Filtrat 5 mL ditempatkan pada tabung reaksi, teteskan pereaksi besi (III) klorida, bila terjadi warna hitam kehijauan menunjukkan adanya golongan senyawa tanin.

d. Identifikasi Saponin

Filtrat lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dikocok kuat-kuat selama 10 detik sampai terbentuk buih putih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, jika pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang, menunjukkan bahwa didalam bahan tersebut mengandung saponin.

e. Identifikasi Steroid/Triterpenoid

Diambil 3 tetes filtrat lalu ditempatkan pada kaca arloji, diteteskan pereaksi Lieberman-Bourchard (asam asetat glasial-asam sulfat pekat), bila terbentuk warna merah atau hijau pada bahan yang diuji menunjukkan adanya senyawa steroid/triterpenoid.

Uji Aktivitas antibiotika Secara Difusi Agar

Medium NA steril sebanyak 10 ml dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat. Selanjutnya 5 ml medium NA yang telah ditambahkan 20 µl (0,02 ml) suspensi bakteri, dihomogenkan kemudian dituang dan dibiarkan memadat. Setelah itu, antimicrobial susceptibility test disc dilarutkan dalam sampel dan dimasukkan dalam cawan petri yang telah berisi medium. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Lalu diamati dan diukur diameter zona hambatan (14).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tumbuhan Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook) merupakan jenis tumbuhan yang dapat hidup di dataran rendah dengan kondisi tanah yang lembab dan kaya akan humus dan bahan organik. Tumbuhan ini memiliki

nilai penting sebagai obat khususnya di Asia Tenggara dan Australia. Secara empiris akar tunjuk langit telah lama digunakan masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengatasi batuk 100 hari, penyakit hidung dan tenggookan. Fungi endofit adalah sebagai mikroorganisme yang baik itu fungi maupun bakteri yang hidup di dalam tanaman tanpa menimbulkan kerusakan yang tampak. Manfaat fungi endofit menunjukkan dapat memberi manfaat positif pada tanaman inangnya. Bagi tanaman inang, fungi endofit memberikan nutrisi bagi tanaman inang hingga memberikan perlindungan dan manfaat tersebut diperoleh dari adanya metabolit sekunder pada tanaman ¹⁵.

Isolasi fungi endofit dari akar Tunjuk Langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook).

Berdasarkan dari isolasi fungi endofit akar Tunjuk Langit pada medium PDAC diperoleh 8 isolat fungi endofit yaitu (IFATL-01, IFATL-02, IFATL-03, IFATL-04, IFATL-05, IFATL-05, IFATL-06, IFATL-07 dan IFATL-08), sebagaimana pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil isolasi fungi endofit akar tunjuk langit (*Helminthostachys zeylanica* (L.) Hook)

No	Kode isolat	Biakan jamur
1.	IFATL-01	Biakan jamur ke-01
2.	IFATL-02	Biakan jamur ke-02

3.	IFATL-03	Biakan jamur ke-03
4.	IFATL-04	Biakan jamur ke-04
5.	IFATL-05	Biakan jamur ke-05
6.	IFATL-06	Biakan jamur ke-06
7.	IFATL-07	Biakan jamur ke-07
8.	IFATL-08	Biakan jamur ke-08

Pemurnian dan pemeriksaan makroskopik isolat fungi endofit

Koloni fungi endofit yang telah diperoleh, dimurnikan dengan metode quadran steak kedalam media PDA yang dituang hingga menutupi permukaan cawan petri dan diinkubasi pada suhu

25⁰C selama 3x24 jam hingga diperoleh isolate murni. Isolat murni dilakukan pemeriksaan morfologi secara makroskopik berupa bentuk, warna, tepi dan elevasi. Hasil analisis makroskopik, terlihat pada tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil pengamatan makroskopik isolat fungi endofit akar tunjuk langit (*Helminthostachys zelanica* (L). Hook)

Kode Isolat	Warna	Bentuk Koloni	Tepi	Elevasi
IFATL-01	Kuning	<i>Rhizoid</i>	<i>Wavy</i>	<i>Hilly</i>
IFATL-02	Putih	<i>L-form</i>	<i>Branching</i>	<i>Convex</i>
IFATL-03	Putih kecoklatan	<i>Concentric</i>	<i>Wooly</i>	<i>Hilly</i>
IFATL-04	Putih kehitaman	<i>Rhizoid</i>	<i>Lobate</i>	<i>Umbonate</i>
IFATL-05	Kuning	<i>Round (Bulat)</i>	<i>Smooth (halus)</i>	<i>Covex</i>
IFATL-06	Putih	<i>Round with scalloped margin</i>	<i>Smooth (halus)</i>	<i>Umbonate</i>
IFATL-07	Putih	<i>Irregular and spreading</i>	<i>Lobate</i>	<i>Hilly</i>
IFATL-08	Putih	<i>Irregular and spreading</i>	<i>Lobate</i>	<i>Hilly</i>

Pemeriksaan Mikroskopik

Pengamatan secara mikroskopik dilakukan dengan cara sebagai berikut: inokulum fungi yang tumbuh pada media biakan yang telah dimurnikan diambil dengan menggunakan jarum suntik steril dan ditempel ke *object glass*, kemudian ditetesi metilenblue lalu diamati dibawah

mikroskop dengan perbesaran yang sesuai, tujuan dilakukannya pengamatan mikroskopik untuk mengetahui ciri-ciri mikroskopisnya meliputi ada tidaknya spora atau konidia, tipe hifa, bentuk koloni dan bentuk konidia, sebagaimana pada tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil pengamatan secara mikroskopik fungi endofit akar tunjuk langit (*Helminostacys zelanica* (L). Hook)

Kode isolat	Pengamatan mikroskopik
IFATL-01	memiliki konidifor panjang, aseptat dan hyalin
IFATL-02	memiliki konidifor panjang, aseptat dan hyalin. Hifa bersepta dan hyalin.
IFATL-03	memiliki konidifor panjang, aseptat dan hyalin. Hifa bersepta dan hyalin.
IFATL-04	memiliki konidifor panjang, aseptat dan hyalin. Hifa bersepta dan hyalin.
IFATL-05	memiliki konidifor panjang, aseptat dan hyalin. Hifa bersepta dan hyalin
IFATL-06	terdapat konidifor panjang, aseptat dan hyalin. Hifa aseptat dan hyalin.
IFATL-07	konidia biasanya tersusun secara silindris dan pendek, hyalin, tidak terdapat konidifor. Hifa aseptat dan hyalin
IFATL-08	memiliki konidifor panjang, aseptat dan hyalin. Hifa bersepta dan hyalin

Uji Skrining aktivitas antibakteri

Pengujian skrining dilakukan dengan cara isolat fungi endofit dari akar Tunjuk Langit (*Helminostacys zelanica* (L.) Hook.), diinokulasikan lalu diletakkan pada media NA yang telah berisi bakteri uji. Tujuannya adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dan kemampuan isolat fungi endofit dari akar Tunjuk Langit (*Helminostacys zelanica* (L). Hook) terhadap bakteri uji penyebab infeksi saluran cerna berdasarkan sifat

aktivitasnya baik bersifat bakteriostatik maupun bersifat bakterizid dengan bakteri uji *Vibrio cholerae*, *Shigella dysenteriae* dan *Escherichia coli*. Hasil skrining aktivitas isolate terlihat pada tabel 4 berikut.

Hasil skrining aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa terdapat 7, isolat yang memiliki zona hambatan terhadap bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan yaitu bakteri *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* dan *Shigella dysenteriae*

Tabel 4. Hasil pengamatan diameter zona hambat dari Isolat fungi endofit akar tunjuk langit (*Helmintostacys zelanica* (L). Hook).

No	Isolat fungi	Diameter Zona Hambatan (mm)		
		<i>V.cholerae</i>	<i>E.coli</i>	<i>S. disenteriae</i>
1.	IFATL-01	14,50	14,99	13,14
2.	IFATL-02	15,77	14,89	
3.	IFATL-03	12,22	12,22	12,99
4.	IFATL-04	15,03	15,03	10,52
5.	IFATL-05	14,41	14,41	29,13
6.	IFATL-06	8,47	8,47	11,66
7.	IFATL-07	3,01	13,01	18,78

dengan diameter hambatan yang masuk dalam kategori kuat. Sehingga berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa isolat fungi endofit dengan kode IFATL 01, 04, 05, dan 07 menunjukkan aktivitas antibakteri yang terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Isolat aktif di fermentasi dalam medium Maltosa Yeast Broth (MYB) karena media ini merupakan media cair yang mengandung ekstrak yeast sebagai sumber protein, maltosa dan dekstroksa yang berfungsi sebagai sumber karbon dan pepton sebagai sumber asam amino yang dibutuhkan dalam pertumbuhan, sintesis

sel dan keperluan energi dalam metabolisme mikroorganisme. Fermentasi ini dilakukan selama 14 x 24 jam, sambil disheaker dengan kecepatan 200 rpm agar selama fermentasi fungi endofit akan mencapai fase stasioner dan menghasilkan metabolit sekunder.

Analisis skrining fitokimia

Pengujian skrining fitokimia terdiri dari uji identifikasi alkaloid yang menggunakan pereaksi Dragendorf LP, Mayer dan Wagner, identifikasi flavonoid menggunakan pereaksi asam klorida pekat, identifikasi tanin menggunakan pereaksi besi (III) klorida, identifikasi saponin

Tabel 5. Hasil uji skrining fitokimia Isolat fungi endofit akar tunjuk langit (*Helmintostacys zelanica* (L). Hook).

Senyawa aktif Isolat	Hasil Fermentasi
Alkaloid	Negatif (-)
Flavonoid	Negatif (-)
Tanin	Negatif (-)
Saponin	Positif (+)
Steroid/Triterpenoid	Negatif (-)

menggunakan pereaksi asam klorida 2N dan identifikasi steroid/triterpenoid menggunakan pereaksi Liebermann-Bourchard (asam asetat glasial-asam sulfat pekat). Dilakukan pengujian tersebut untuk mengetahui senyawa yang terkandung pada akar Tunjuk Langit (*Helmintostacys zelanica* (L). Hook). Hasil skrining aktivitas fitokimia sebagaimana pada tabel 5 berikut.

Aktivitas antibakteri ekstrak isolat fungi endofit akar Tujuk Langit

Untuk hasil fermentasi terhadap beberapa mikroba uji. Dimana metode yang digunakan dalam pengujian ini adalah metode difusi agar dengan menggunakan *antimicrobial suspensibility test discs*. Pengujian aktivitas ini dilakukan terhadap beberapa mikroba uji *V. cholerae* yang merupakan bakteri penghasil enterotoksin, *E. coli* penyebab utama diare kronik, *S. dysenteriae* penyebab penyakit disentri. Hasil

fermentasi atau fermentat kemudian dimasukkan kedalam vial steril sebanyak 2 ml untuk perendaman disk blank. Pada pengujian ini pengamatan dilakukan berdasarkan zona bening disekitar disk blank. Timbulnya zona bening disekitar disk blank tersebut disebabkan karena pertumbuhan dari mikroba uji tersebut terhambat karena adanya aktivitas antibakteri dari isolat yang terdapat dalam disk blank. Hasil pengujian dari aktivitas antibakteri menunjukkan semua isolat fungi endofit akar Tunjuk Langit (*Helmintostacys zelanica* (L). Hook) memberikan aktivitas terhadap bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona hambatan yang terbentuk. Isolat 01, 04, 05, dan 07 menunjukkan aktivitas terhadap bakteri *V.cholerae*, *E. coli*, *S. dysenteriae*, sebagaimana pada tabel 6 berikut.

Tabel 6. Hasil pengamatan diameter zona hambat uji aktivitas antibakteri dari isolat akar Tunjuk Langit (*Helmintostacys zelanica* (L). Hook).

Diameter zona hambatan (mm)				
No.	Isolat fungi	<i>V. cholerae</i>	<i>E.coli</i>	<i>S.dysenteriae</i>
1	IFATL-01	12,57	11,34	9,41
2	IFATL-04	10,58	8,81	8,03
3	IFATL-05	9,31	7,98	8,45
4	IFATL-07	9,58	7,61	7,62

Berdasarkan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri bahwa

apabila diameter zona hambat yang terbentuk pada pengujian difusi agar

berukuran dari 5 mm, aktivitas penghambatan dikategorikan lemah. Apabila zona hambatan berukuran 5-10 mm dikategorikan sedang, sedangkan apabila zona hambatan berukuran 10-19 mm dikategorikan kuat, dan apabila zona hambatan berukuran 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Hasil analisis diameter zona hambat aktivitas antibakteri dari isolat akar Tunjuk Langit (*Helmintostacys zelanica* (L). Hook) menunjukkan bahwa terdapat 4 isolat yang memiliki zona hambatan terhadap bakteri penyebab infeksi saluran cerna yaitu isolat dengan kode IFATL-01, IFATL -04, IFATL -05, dan IFATL-07. Dan terdapat beberapa isolat yang memiliki zona hambatan yang berbeda. Berdasarkan kriteria tersebut, untuk isolat fungi endofit kode IFATL-01 memberikan aktivitas yang baik terhadap bakteri *Vibrio cholera*, dengan diameter hambatan 12,57 mm masuk dalam kategori kuat. Kode IFATL-04 memberikan aktivitas dengan diameter hambatan 10,58 mm masuk dalam kategori kuat. Kode IFATL-05 dengan diameter hambatan 9,31 mm masuk dalam kategori sedang. Kode IFATL-07 dengan diameter hambatan 9,58 mm masuk dalam kategori sedang. Untuk bakteri *Escherichia coli* Kode IFATL-01 memberikan aktivitas dengan diameter hambatan 11,34 mm dan masuk dalam kategori kuat. Kode IFATL-04 memberikan aktivitas dengan diameter

hambatan 8,81 mm dan masuk dalam kategori sedang. IFATL-05.

Bakteri yang digunakan merupakan bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan yaitu bakteri *E. coli* menyebabkan diare hingga dapat menghasilkan racun yang mampu merusak dinding dari usus kecil dan mengakibatkan terjadinya diare yang bercampur dengan darah. Bakteri *V. cholerae* adalah penyakit infeksi dari usus yang dapat menyebabkan diare berat. Penyebab kolera jika bakteri *V. cholera* sampai masuk ke tubuh, akan mengeluarkan toksin atau sejenis racun yang dapat menyebabkan terperasnya cairan tubuh keluar dari badan lewat usus halus dan menimbulkan diare parah. Infeksi bakteri penyebab kolera biasanya terjadi melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi bakteri tersebut dan atau bila seseorang berada di daerah yang sedang ditimpa wabah kolera. Dan bakteri *S. dysenteriae* merupakan jenis enterobacteria, menyebabkan penyakit pada saluran pencernaan, salah satunya seperti penyakit Shigellosis. Kekuatan daya hambat isolat fungi endofit didasarkan atas ukuran diameter zona hambatnya, yaitu lemah (<5mm), sedang (5-10mm), kuat (10-20mm) dan sangat kuat (>20mm)¹⁶.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dari itu dapat disimpulkan bahwa :

Isolat fungi endofit dari akar Tunjuk Langit (*Helminthostachys zelanica* (L.) Hook.) diperoleh 8 isolat dan terdapat 7 isolat yang berpotensi sebagai penghasil senyawa antibakteri terhadap bakteri uji penyebab infeksi saluran cerna yaitu isolat (IFATL-01, IFATL-02, IFATL-03, IFATL-04, IFATL-05, IFATL-06, IFATL-07 dan IFATL-08) . Hasil pengujian aktivitas antibakteri isolate fungi endofit secara difusi agar endofit dari akar Tunjuk Langit (*Helminthostachys zelanica* (L.) Hook.) terhadap bakteri *V. cholera*, *S dysenteriae*, dan *E. coli* dengan diameter zona hambat terbesar pada isolate IFATL-01 terhadap bakteri *V. cholera* sebesar 12.57 mm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Taechowisan T, Lu C, Shen Y, Lumayong S. 4-Arylcoumarin From Endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and Their Antifungal Activity. Journal Annals of Microbiology, 2005, Vol.55: 63-66.
2. Hartini S. *Helminthostachys zeylanica* (Linn) Hook. : Potential As Future Medicine. Bogor Botanical Gardens Center for Plant Conservation. 2011, Vol.11(1), LIPI. Page: 34-37.
3. Rante H, Taebe B, Intan S. Isolation Endophytic Fungus Producing Antimicrobial Compounds from Katakokkon (*Capsicum annuum* L Var.Chinensis) Leaves dan Biauotography-TLC Profiles. Pharmacy And Pharmacology Magazine, 2013;17(2): 39-46.
4. Rahim N, Teruna HT, Jusril. (2017). Isolasi dan Karakteristik Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Akar Tumbuhan Tunjuk Langit (*Helmythostachys Zeylanica*). Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia, 2017,5(2): 1-5.
5. Huang YC., Hwang TL, Chang VS, Yang YL, Shen CN, Liao WY, Ch en SC, and Liaw CC. 2009. Anti-inflammatory Flavonoids from the Rhizome of *Helminthostachys zelanica*. Natural Product,2009;5(2): 62-66.
6. Fitrya dan Muharani. Hipourisemia Ekstrak Etanol Akar Tumbuhabn Tunjuk Langit (*Helminthostachis zeylanica* (L.) Hook.) Terhadap Mencit Jantan Galur Swiss. Traditional Medicine Journal, 2014;19 (1): 14-18.
7. Nurlaila E, dan Tukiran. Analysis of Spektrofotometri UV-Vis and FTIR from Isolation of Compounds Chloroform Extract Of Plant Salam Bark (*Syzygium polyanthum*). Journal of Chemistry, 2017;6(1): 32-35.
8. Setiawan, MA, & Musdalipah. Uji Daya Hambat Antibakteri Fungi Endofit Daun Beluntas (*Pluchea inhidica* (L.) Less.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*', Jurnal mandala Pharmacon Indonesia, 2018;4 (1): 55-56.
9. Tejamukti EP, Setyaningsih W, Irnawati, Yasir B, Alam G, dan Rohman A. Application of FTIR Spectroscopy and HPLC Combined with Multivariate Calibration for Analysis of Xanthones in Mangosteen Extracts. Journal Scientia

- Pharmaceutica (Sci.Pharm.), 2020;88(3). Bioautography-TLC. Journal As-Syifaa, 2020;12(02): 144-149.
10. Rohman A, Sudjadi D, Ramadhani D, Nugroho A. Analysis of Curcumin in *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorrhiza* using FTIR Spectroscopy and Chemometrics. *Res. J. Med. Plant*, 2015;9:179–186.
 11. Fitriana,., Maryam, S., Naid,T, Maryana.(2016). 'Penelusuran Fungi Endofit Sebagai Penghasil Senyawa Antibiotika Dari Daun Nanas (*Ananas comosus(L) Meer*)', *Jurnal As-Syifaa*, Vol.08(01). Hal.1-3.
 12. Herwin. Isolation of Antibiotic Producing Endophytic Fungus From Red Algae Type *Gracilaria verrucosa* By Bioautography-TLC. *Journal As-Syifaa*, 2018;10(01): 83-91.
 13. Asnita, Kosman R, Herwin, Nurung HA. Isolation And Identification of Sesuru (*Eufhorbia antiquorum L.*) Stem as Antibacterial Producers by Bioautography-TLC. *Journal As-Syifaa*, 2020;12(02): 144-149.
 14. Herwin, Baits M, Ririn. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Talas Ketan (*Colocasia esculenta*) Terhadap Bakteri *Saphylococcus aureus* Dan *Salmonella thypi* Secara Difusi Agar. *As-Syifaa*, 2016;08 (01): 69-75.
 15. Hakim SS. Fungi Endofit: Potensi Pemanfaatannya Dalam Budidaya. Tanaman Kehutanan. Balai Kehutanan Banjarbaru, 2015;1(1): 2-3.
 16. Panaungi NS, and Sakka L. Comparison of Activity of Kepok Kuning Banana Peel Ethanol Extract with Raw Kepok Banana Peel Ethanol Extract Against *Salmonella typhi* Causing Thyphoid. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 2022;4(1): 101-107.