

## AKTIVITAS INHIBITOR $\alpha$ -AMILASE ISOLAT KHAMIR ENDOFIT DARI TUMBUHAN BROTOWALI (*Tinospora crispa* L.)

**Marisa Dian Pramitasari, Sri Pujiyanto, Agung Suprihadi**

Laboratorium Bioteknologi  
Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang  
Jln Prof. Soedarto, SH, Semarang, 50275, Telp: (024)7474754; Fax (024) 76480923  
Email : [marisadian16@gmail.com](mailto:marisadian16@gmail.com)

### Abstract

Diabetes mellitus is a carbohydrate, fat, and protein metabolism disorder characterized by high blood sugar level. The  $\alpha$ -amylase inhibitor may inhibit the carbohydrates digestion and cause a rate decrease of glucose absorption. The  $\alpha$ -amylase inhibitors are found in a plant that potentially containing antidiabetic compounds, such as Brotowali (*Tinospora crispa* L.). The exploration of endophytic microbial is expected can produce secondary metabolites with similar properties to those produced by host plant metabolites. The purpose of this research were to obtain endophytic yeast isolates which can produce the best  $\alpha$ -amylase inhibitors and to determine the ability of selected isolates to produce  $\alpha$ -amylase inhibitors on varied carbon source and pH production media. This research was conducted by isolating endophytic yeast from roots, stems, and leaves of brotowali. The best isolate was selected by considering its inhibitory activity. The  $\alpha$ -amylase inhibitor test was determined by measuring the resulting reduction sugar. This research used Completely Randomised Design. First treatment was carbon source media, such as starch, sucrose, maltose and lactose. The best carbon source then was used for further tests. Second treatment was pH media including pH of 5, 6, 7 and 8. The data obtained later were analyzed using One Way ANOVA. The selection results showed that DG26 isolate had the best  $\alpha$ -amylase inhibition value of 68.27% with 72 hours optimal time production. The statistical result test on the varied carbon source treatment showed insignificant effect ( $P > 0,05$ ) with the best  $\alpha$ -amylase inhibition value of 19,98% at starch treatment. The statistical result test on the varied pH treatment showed a significant different effect ( $P < 0.05$ ) with the best  $\alpha$ -amylase inhibition value of 44.91% at pH 7.

Keywords:  $\alpha$ -amylase inhibitor, endophytic yeast, *Tinospora crispa*, carbon source, pH

### Abstrak

Diabetes mellitus merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang ditandai dengan gula darah di atas normal. Inhibitor  $\alpha$ -amilase dapat menghambat pencernaan karbohidrat dan menyebabkan penurunan tingkat penyerapan glukosa. Inhibitor  $\alpha$ -amilase terdapat pada tanaman yang berpotensi memiliki senyawa antidiabetes, termasuk Brotowali (*Tinospora crispa* L.). Eksplorasi mikroba endofit diharapkan menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki sifat mirip dengan yang dihasilkan oleh metabolit tanaman inang. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat khamir endofit dengan kemampuan menghasilkan inhibitor  $\alpha$ -amilase terbaik serta mengetahui kemampuan isolat terpilih dalam menghasilkan inhibitor  $\alpha$ -amilase pada media produksi yang memiliki variasi sumber karbon dan pH. Penelitian dilakukan dengan mengisolasi khamir endofit dari akar, batang, dan daun Brotowali. Isolat terbaik dipilih dengan memperhatikan aktivitas penghambatannya. Uji Inhibitor  $\alpha$ -amilase ditentukan dengan mengukur gula reduksi yang dihasilkan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap bertahap. Perlakuan pertama yaitu sumber karbon media meliputi amilum, sukrosa, maltosa dan laktosa. Sumber karbon terbaik digunakan untuk uji selanjutnya. Perlakuan kedua yaitu pH media meliputi pH 5, 6, 7 dan 8. Data yang diperoleh dianalisis dengan *One Way* ANOVA. Hasil seleksi menunjukkan isolat DG26 memiliki nilai inhibisi  $\alpha$ -amilase terbaik yaitu 68,27 %. Waktu optimal produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase isolat DG26 yaitu 72 jam. Hasil uji statistik pada perlakuan variasi sumber karbon menunjukkan

pengaruh yang tidak signifikan ( $P > 0,05$ ) dengan nilai inhibisi  $\alpha$ -amilase terbaik pada perlakuan amilum yaitu 19,98 %. Hasil uji statistik pada perlakuan variasi pH menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ( $P < 0,05$ ) dengan nilai inhibisi  $\alpha$ -amilase terbaik pada pH 7 yaitu 44,91 %.

Kata kunci: inhibitor  $\alpha$ -amilase, khamir endofit, *Tinospora crispa*, sumber karbon, pH

## PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit yang disebabkan oleh gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein dalam tubuh. Gangguan metabolisme tersebut disebabkan karena kurangnya produksi hormon insulin yang mengakibatkan terjadinya hiperglikemia (Lanywati, 2001). Menurut data IDF yang dikutip dalam depkes RI, terdapat 382 juta orang di dunia sebagai penderita diabetes pada tahun 2013. Pada tahun 2035 jumlah tersebut diperkirakan akan mengalami peningkatan menjadi 592 juta orang (Depkes RI, 2014). Upaya pencegahan perlu dilakukan untuk menekan jumlah penderita DM. Salah satunya dengan memanfaatkan inhibitor  $\alpha$ -amilase.

Amilase adalah kelompok enzim yang mengkatalisis hidrolisis pati dan oligosakarida lainnya. Inhibitor amilase dapat mengendalikan hidrolisis pati (Alagesan *et al*, 2012). Inhibitor  $\alpha$ -amilase merupakan senyawa yang berperan dalam pencernaan pati dan dianggap sebagai strategi untuk pengobatan gangguan penyerapan karbohidrat, seperti diabetes dan obesitas (Michelle de Sales *et al.*, 2012). Pati harus hidrolisis menjadi molekul karbohidrat yang lebih sederhana agar dapat digunakan dalam sistem metabolisme. Terhambatnya pemecahan pati oleh inhibitor  $\alpha$ -amilase maka tubuh tidak mendapatkan kebutuhan karbohidrat (Bahagiawati, 2005). Inhibitor  $\alpha$ -amilase biasanya terdapat pada tanaman yang berpotensi memiliki senyawa antidiabetes, misalnya brotowali.

Tanaman brotowali (*Tinospora crispa* L.) merupakan salah satu tanaman

obat yang telah banyak digunakan untuk pengobatan tradisional dan memiliki aktivitas sebagai antidiabetes (Rosidah *et al.*, 2015). Ekstrak *Tinospora crispa* L. secara signifikan menghambat hidrolisis pati dan meningkatkan kadar insulin. Brotowali merupakan tanaman herba memanjat yang dianggap pertumbuhannya lambat. Sejumlah besar biomassa dan pasokan yang konsisten diperlukan untuk menghasilkan senyawa aktif pada skala besar. Pertumbuhan yang lambat adalah kendala utama untuk aplikasi secara luas. Untuk itu, pendekatan baru harus dilakukan misalnya mengeksplorasi kemampuan mikroba endofit yang berada di jaringan tanaman *T. crispa* (Lestari *et al.*, 2015).

Mikroorganisme endofit adalah mikroorganisme yang ada di dalam jaringan tanaman tanpa memiliki dampak negatif pada tanaman inang (Golinska *et al.*, 2015). Eksplorasi mikroba endofit diharapkan menghasilkan metabolit sekunder penting yang memiliki sifat yang mirip dengan yang dihasilkan oleh metabolit tanaman inang (Pujiyanto *et al.*, 2012). Khamir endofit memiliki potensi untuk produksi skala industri di bidang obat (Doty, 2013). Isolasi khamir endofit dari Brotowali (*Tinospora crispa* L.) diharapkan dapat memperoleh inhibitor  $\alpha$ -amilase dalam jumlah yang besar dan dalam waktu yang lebih cepat.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan bulan Juni 2017 di Laboratorium Bioteknologi, Departemen

Biologi, Fakultas Sains dan Matematika,

### **Sampel tumbuhan brotowali dan isolasi khamir endofit**

Akar, batang dan daun tumbuhan brotowali (*Tinospora crispa* L.) yang digunakan sebagai sumber isolat diambil dari bagian tumbuhan yang sehat. Akar, batang dan daun yang akan diisolasi endofitnya dicuci bersih kemudian disterilisasi permukaan dengan cara merendam dalam larutan natrium hipoklorit 1% selama 1 menit, natrium hipoklorit 1% 5 menit, alkohol 70% 1 menit dan terakhir dibilas dengan akuades steril. Isolasi dilakukan dengan dua cara yaitu sayatan dan gerusan (Pujiyanto & Ferniah, 2010). Cara sayatan dilakukan dengan menanam potongan akar, batang dan daun brotowali di dalam media HV agar dengan cara menyayat bagian tumbuhan dan meletakkan pada posisi telungkup. Cara gerusan dilakukan menggerus potongan tumbuhan secara aseptis dengan ditambahkan garam fisiologis 4 ml. Sebanyak 100 µl suspensi larutan disebar pada media *Humic Acid Vitamin* (HV) agar yang mengandung 50 ppm nistatin dan 30 ppm kloramfenikol. Inkubasi dilakukan selama 1 minggu pada suhu ruang. Koloni khamir yang tumbuh dimurnikan secara bertahap pada medium *Yeast Malt Agar* (YMA). Koleksi isolat khamir disimpan di dalam lemari pendingin sebelum diuji lebih lanjut.

### **Produksi inhibitor -amilase**

Isolat khamir endofit ditumbuhkan pada medium *Pepton Starch* cair dengan komposisi : 0,1% *soluble starch*, 0,5% pepton dan 0,15 % *yeast* ekstrak dengan pH 7 (Pujiyanto & Ferniah, 2010). Kultur diinkubasi selama 3 hari dengan agitasi 120 rpm pada suhu ruang. Sel khamir selanjutnya dipisahkan dengan cara sentrifugasi pada 5000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh diuji daya hambatnya terhadap aktivitas enzim -amilase.

Universitas Diponegoro, Semarang.

### **Uji inhibitor -amilase**

Uji penghambatan enzim dilakukan berdasarkan pada pemecahan substrat untuk menghasilkan produk berwarna yang diukur dengan metode spektrofotometri. Menurut Dastjerdi *et al.* (2015), larutan *soluble starch* (0,5 %) dibuat dengan melarutkan 0,25 g amilum ke dalam 50 ml akuades steril. Larutan enzim (0,5 U/ml) disiapkan dengan mencampurkan 0,01 g -amilase (Sigma) ke dalam 200 ml buffer fosfat pH 6,9. Sebanyak 0,5 ml enzim dan 0,5 ml sampel dicampurkan dan diinkubasi pada suhu 25 °C selama 10 menit. Larutan *soluble starch* 1 ml ditambahkan ke dalam campuran reaksi dan diinkubasi pada suhu 25 °C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2 ml larutan DNS kemudian ditempatkan ke dalam air mendidih selama 15 menit. Glukosa yang dihasilkan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm. Larutan Acarbose 0,1% digunakan sebagai pembanding. Penghambatan aktivitas enzim -amilase ditentukan dengan rumus: 
$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{(c-s)}{c} \times 100\%$$

Keterangan: c adalah kontrol dan s adalah sampel

### **Seleksi khamir endofit penghasil inhibitor -amilase**

Seleksi isolat khamir berdasarkan pada hasil uji inhibitor -amilase dengan memperhatikan kemampuan inhibisi terbaik dalam menghambat kerja enzim -amilase. Isolat khamir yang memiliki potensi inhibisi terbaik yang akan digunakan untuk uji lebih lanjut.

### **Penentuan waktu optimum produksi inhibitor -amilase dan pertumbuhan khamir endofit**

Untuk mengetahui waktu optimal produksi inhibitor -amilase dilakukan dengan menumbuhkan isolat terpilih dalam media *Pepton Starch* (YS) cair menurut Pujiyanto

& Ferniah (2010) dengan komposisi : 0,1% *soluble starch*, 0,5% pepton dan 0,15 % *yeast* ekstrak dengan pH 7. Isolat khamir endofit diinokulasikan ke dalam media produksi dan diinkubasi pada suhu ruang dengan kecepatan agitasi 120 rpm. Setiap 24 jam dilakukan pengambilan sampel sebanyak 5 ml yaitu 4 ml untuk pengukuran pertumbuhan dan 1 ml untuk uji inhibitor -amilase. Pengukuran inhibisi dilakukan dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm. Menurut Lasmini dan Soetarto (2014), pengukuran pertumbuhan khamir berdasarkan nilai OD. Pengukuran OD dilakukan dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 600 nm.

#### **Pengaruh sumber karbon dan pH terhadap produksi inhibitor -amilase**

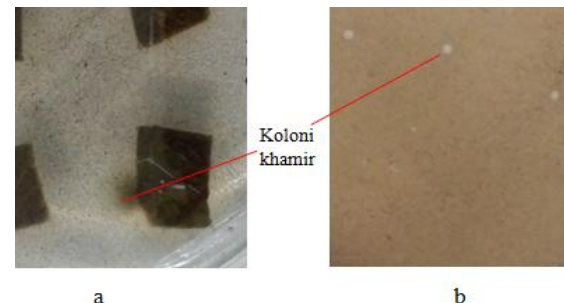
Isolat ditumbuhkan dalam 20 ml medium *Pepton Starch* yang berisi 0,1% *soluble starch*, 0,5% pepton dan 0,15% *yeast* ekstrak dalam erlenmeyer 100 ml. Sebagai perlakuan, komponen amilum diganti dengan sumber karbon lain berupa maltosa, laktosa, dan sukrosa. Sumber karbon yang menunjukkan aktivitas penghambatan enzim -amilase terbaik kemudian digunakan dalam pengujian pengaruh pH medium. Pengujian pengaruh pH yaitu dengan cara melakukan variasi pH medium pada range 5, 6, 7 dan 8. Sebanyak 1% starter diinokulasikan ke dalam medium produksi dan diinkubasi pada suhu ruang dengan kecepatan agitasi 120 rpm selama 3 hari. Sebanyak 1 ml kultur disentrifus dan supernatan yang diperoleh diuji aktivitas anti -amilasena.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **Isolasi khamir endofit**

Isolasi khamir endofit dengan cara gerusan lebih efektif daripada sayatan. Hal ini disebabkan karena dinding sel tanaman rusak akibat penggerusan sehingga sel khamir yang hidup dalam sel tanaman dapat terbebaskan diri ke permukaan dan

mampu tumbuh pada medium agar. Koloni khamir yang tumbuh pada permukaan agar dapat diamati pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni khamir endofit pada sayatan (a) dan gerusan (b)

Hasil isolasi pada penelitian ini diperoleh tujuh isolat yang khamir endofit yaitu isolat DG11, DG12, BG23, BG14, DG25, DG26 dan DG27. Jumlah isolat khamir endofit terbanyak diperoleh dari daun (5 isolat) yang diikuti batang (2 isolat), sedangkan pada akar tidak ada (Tabel 1).

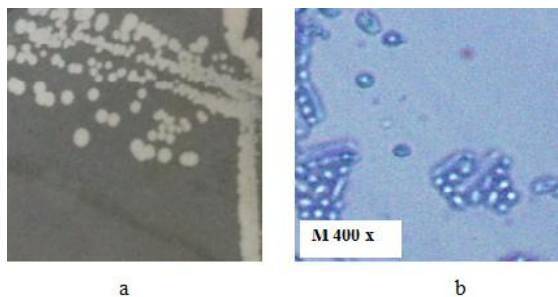
Tabel 1. Hasil isolasi khamir endofit dari tumbuhan brotowali

| Sampel | Kode Isolat                  | Jumlah |
|--------|------------------------------|--------|
| Akar   | -                            | 0      |
| Batang | BG23, BG14                   | 2      |
| Daun   | DG11, DG12, DG25, DG26, DG27 | 5      |

Hal ini menunjukkan bahwa isolat khamir mampu tumbuh pada medium *Humic Acid Vitamin Agar*. Hayakawa dan Nonomura (1987) menyatakan bahwa media HV agar mengandung *humic acid* sebagai sumber karbon dan nitrogen. Menurut MacDonald (2001), khamir dapat tumbuh pada medium yang minimal mengandung karbon dan nitrogen. Doty (2013) berpendapat bahwa khamir endofit dapat tumbuh pada berbagai sumber karbon, baik heksosa maupun pentosa. Kandungan karbon dan nitrogen dari *humic acid* mampu mendukung pertumbuhan khamir. Isolat khamir yang diperoleh kemudian dimurnikan secara

bertahap dengan metode streak kuadran pada media *Yeast Malt Agar* (YMA)

Identifikasi isolat dilakukan dengan pengamatan morfologi secara makroskopis dan mikroskopis. Ketujuh isolat khamir yang diperoleh mempunyai ciri-ciri koloni yang sama yaitu berwarna putih kusam, permukaan cembung dan basah serta beraroma alkohol. Menurut Balia (2014), khamir mempunyai ukuran sel lebih besar dan morfologi yang berbeda dengan bakteri. Koloni khamir yang tumbuh di permukaan agar biasanya berwarna kusam memiliki permukaan halus membentuk kerucut (Vulin *et al.*, 2014). Pengamatan secara mikroskopik bertujuan untuk mengamati morfologi sel. Preparat khamir dibuat menggunakan pewarna metilen biru. Menurut Fugelsang & Edwards (2007), sel khamir yang hidup mampu mereduksi metilen biru menjadi tidak berwarna sehingga sel tampak transparan dengan latar belakang biru. Sel khamir yang mereduksi pewarna menjadi tak berwarna dianggap hidup, sedangkan sel khamir yang mati tidak mereduksi pewarna dan tampak biru. Berdasarkan hasil pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali, bentuk sel ketujuh isolat khamir didominasi oleh bentuk sel bulat hingga semi bulat (Gambar 2).



Gambar 2. (a) morfologi koloni isolat DG26,  
(b) bentuk sel isolat DG26 pada  
M 400x

hingga diperoleh kultur murni.

### Seleksi khamir endofit penghasil inhibitor -amilase

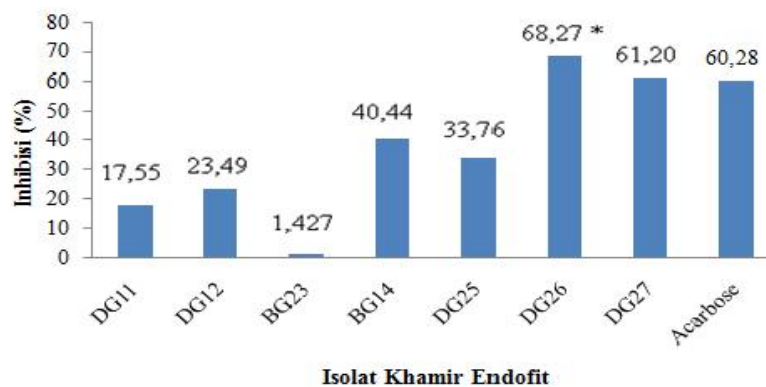
Seleksi isolat khamir dilakukan bertujuan untuk menentukan isolat yang mempunyai kemampuan inhibisi terbaik terhadap enzim -amilase. Tahapan awal sebelum seleksi isolat adalah kultur isolat pada medium *Pepton Starch* cair sebagai medium fermentasi untuk menghasilkan inhibitor -amilase. Tujuh isolat khamir endofit ditumbuhkan pada medium *Pepton Starch* cair selama tiga hari dengan agitasi 120 rpm. Supernatan yang diperoleh dari hasil kultur digunakan untuk uji inhibisi -amilase. Produk fermentasi yang berupa inhibitor -amilase ditentukan aktivitas penghambatannya dengan mengukur gula reduksi. Aktivitas inhibisi -amilase menggunakan uji DNS menghasilkan warna kuning, sedangkan apabila tidak ada aktivitas inhibisi -amilase menghasilkan warna jingga. Menurut Irawan (2009), warna kuning yang dihasilkan merupakan indikator kemampuan inhibisi. Kemampuan inhibitor yang semakin besar menghasilkan produk yang semakin sedikit atau warna larutan menjadi lebih cerah.

Uji inhibisi -amilase menggunakan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 540 nm menunjukkan bahwa supernatan isolat khamir endofit DG26 mempunyai kemampuan inhibisi terbaik yakni sebesar 68,27 % (Gambar 3).

Acarbose 0,1 % merupakan kontrol positif yang digunakan sebagai pembandingan dalam uji inhibisi -amilase. Acarbose merupakan obat antidiabetik yang sudah dipasarkan secara komersial dengan nama *Glucobay*. Berdasarkan data penelitian, persentase inhibisi acarbose lebih rendah dibandingkan inhibisi isolat khamir DG26 yakni sebesar 60,28 %. Hal

ini menunjukkan bahwa isolat khamir endofit DG26 memiliki potensi sebagai

penghasil inhibitor -amilase.

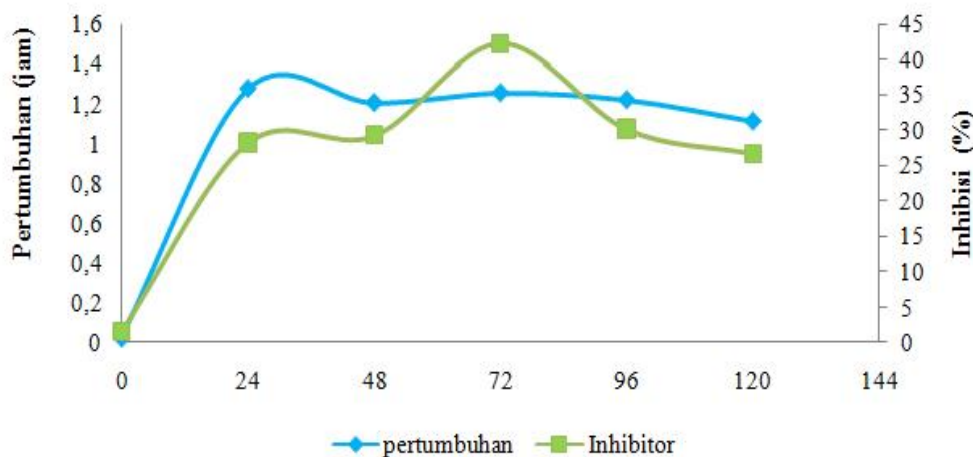


Gambar 3. Aktivitas inhibisi -amilase khamir endofit dari brotowali  
Keterangan: \* isolat terpilih

### Penentuan waktu optimum produksi inhibitor -amilase dan pertumbuhan isolat DG26

Kurva produksi senyawa inhibitor -amilase digunakan untuk mengetahui waktu inkubasi optimum produksi inhibitor -amilase dalam jumlah besar. Aktivitas inhibisi enzim -amilase pada

jam ke 0 sangat rendah yaitu 1,506 % dan terus mengalami kenaikan hingga aktivitas inhibisi optimal ditunjukkan pada waktu inkubasi 72 jam yakni sebesar 42,323 %, sedangkan pada pengujian berikutnya aktivitas penghambatan terus mengalami penurunan sehingga fermentasi dihentikan pada waktu inkubasi 120 jam (Gambar 4).



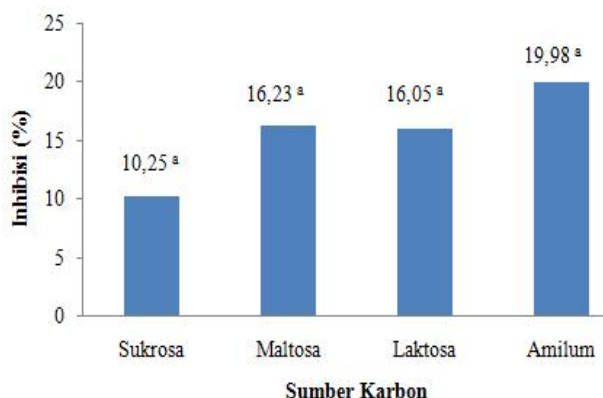
Gambar 4. Kurva produksi inhibitor -amilase dan pertumbuhan isolat DG26

Gambar 4. menunjukkan bahwa pola pertumbuhan isolat DG26 pada waktu inkubasi 0 hingga 24 jam sel khamir mengalami kenaikan, sedangkan pada jam berikutnya hingga jam ke 120 terus mengalami penurunan.

### Perlakuan sumber karbon terhadap aktivitas inhibitor -amilase

Penelitian ini menggunakan sumber karbon yang berbeda dalam media produksi yang bertujuan untuk mengetahui sumber karbon apakah yang terbaik untuk produksi senyawa inhibitor -amilase.

Adapun sumber karbon yang digunakan untuk perlakuan yaitu sukrosa, maltosa, laktosa dan amilum. Hasil uji inhibitor -amilase oleh supernatan isolat DG26 menunjukkan bahwa sumber karbon amilum mempunyai aktivitas penghambatan terhadap enzim -amilase terbaik dengan rerata persentase inhibisi sebesar 19,98 %, diikuti maltosa dengan 16,23 %, laktosa dengan 16,05 % dan sukrosa dengan 10,25 % (Gambar 5).



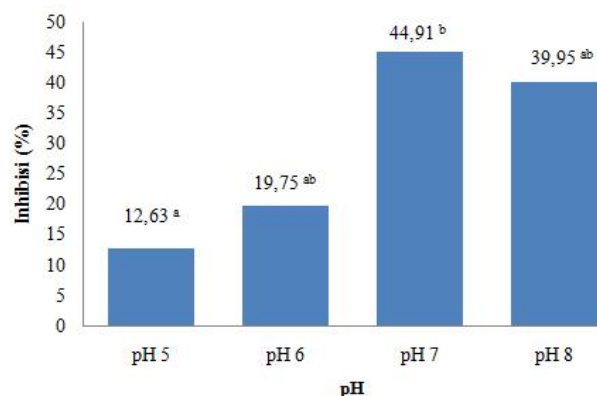
Gambar 5. Aktivitas inhibitor -amilase isolat DG26 pada berbagai sumber karbon

Amilum mempunyai aktivitas penghambatan terbaik dimungkinkan karena amilum berperan sebagai senyawa antara dalam sintesis senyawa inhibitor -amilase oleh isolat DG26. Senyawa homolog acarbose yang berbeda terbentuk bergantung pada sumber karbon dalam kultur cair. Jika glukosa atau maltosa digunakan sebagai inhibitor sumber karbon tunggal maka sedikit unit glukosa yang dihasilkan, sementara penambahan amilum menghasilkan senyawa dengan jumlah unit glukosa yang lebih tinggi. Acarbose dan homolog dengan berat molekul rendah memiliki penghambatan disakarida yang kuat sedangkan yang memiliki berat molekul tinggi memiliki penghambatan amilase yang kuat (Zhang, 2002). Amilum mempunyai berat molekul paling besar dibandingkan sumber karbon lain yang digunakan dalam penelitian, sehingga

mempunyai aktivitas penghambatan -amilase paling kuat.

### Perlakuan pH terhadap aktivitas inhibitor -amilase

Pada penelitian sebelumnya oleh Marshall & Lauda (1975) menyebutkan bahwa inhibisi enzim -amilase dipengaruhi oleh waktu inkubasi, pH dan temperatur interaksi antara enzim -amilase dan inhibitor. Penelitian ini menggunakan perlakuan pH yang berbeda pada media produksi untuk menentukan pH optimum aktivitas inhibitor -amilase. Kisaran pH yang digunakan adalah pH 5, 6, 7 dan 8. Hasil uji inhibitor -amilase menunjukkan bahwa aktivitas inhibitor -amilase pada medium produksi pH 7 mempunyai rerata persentase inhibisi sebesar 44,91 %, kemudian diikuti oleh pH 8, pH 6, dan pH 5 (Gambar 6).



Gambar 6. Aktivitas Inhibitor -amilase isolat DG26 pada berbagai pH

pH mempunyai pengaruh yang penting dalam pertumbuhan sel khamir dan pembentukan produk selama fermentasi. pH medium produksi yang optimum untuk produksi senyawa homolog acarbose adalah pH 7. Biosintesis senyawa homolog acarbose diduga memiliki kesamaan dengan biosintesis acarbose. Menurut Li *et al.* (2012), medium produksi dengan pH 7,0 – 7,2 merupakan pH optimum untuk produksi acarbose. pH medium setelah fermentasi cenderung mengalami peningkatan. Penelitian yang dilakukan oleh Xue *et al.*

(2012) menemukan bahwa terjadi kenaikan pH dari 7 ke 8 selama fermentasi untuk produksi acarbose. Hal ini disebabkan karena produk dari metabolisme khamir yang menambah keadaan basa pada medium.

## KESIMPULAN

Isolasi khamir endofit dari tumbuhan Brotowali (*Tinospora crispa* L.) diperoleh tujuh isolat yaitu isolat DG11, DG12, BG23, BG14, DG25, DG26 dan DG27, sebagai isolat yang paling berpotensi menghasilkan inhibitor  $\alpha$ -amilase terbaik adalah isolat DG26. Amilum merupakan sumber karbon terbaik untuk produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase oleh isolat DG26. Produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase oleh isolat DG26 terbaik pada medium produksi dengan pH 7.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Dr. Sri Pujiyanto, M.Si yang telah memberikan bimbingan dan kesempatan kepada penulis untuk bergabung dalam proyek penelitian, juga kepada Bapak Drs. Agung Suprihadi, M.Si atas bimbingannya kepada penulis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alegesan, K., P. K. Raghupathi and S. Sankarnarayanan. 2012. Amylase Inhibitors: Potential Source of Anti-Diabetic Drug Discovery from Medicinal Plants. *Inter J. of Pharmacy & Life Sci.* 3(2): 1407-1412.
- Bahagiawati. 2005. Isolasi dan Purifikasi Inhibitor  $\alpha$ -amilase dari Biji Kacang *Phaseolus vulgaris*. *J. Agrobiogen* 1(1): 7-12.
- Balia, R. L. 2004. Potensi dan Prospek *Yeast* (Khamir) Dalam Meningkatkan Diversifikasi Pangan di Indonesia. Dep. Pend. Nas. Univ. Padjajaran, Bandung.
- Dastjerdi, Z.M., F. Namjoyan and M.E. Azemi. 2015. Alpha Amylase Inhibition Activity of Some Plants Extract of *Teucrium* Species. *Europe J. of Bio. Sci.* 7(1): 26-31.
- Depkes RI, 2014. Situasi dan Analisis Diabetes. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Doty, S.L. 2013. Endophytic Yeasts: Biology and Applications. School of Environmental and Forest Sciences, College of the Environment, University of Washington, USA.
- Fugelsang, K.C. and C. G. Edwards. 2007. Wine Microbiology: Practical Applications and Procedures Second Edition. Springer Science+Business Media, New York, USA.
- Golinska, P., M. Wypij, G. Agarkar, D. Rathod, H. Dahm and M. Rai. 2015. Endophytic Actinobacteria of Medicinal Plants: Diversity and Bioactivity. *Antonie Van Leeuwenhoek* 108 (1): 267–289.
- Hayakawa, M. and H. nomomura. 1987. Humic Acid-Vitamin Agar, a New Medium for The Selective Isolation of Soil Actinomycetes. *J. Fermentation Tech.* 65 (5): 501-509.
- Irawan, D. 2009. Isolasi Aktinomiset Endofit Tanaman Obat yang Berpotensi Sebagai Antidiabetes Melalui Aktivitas  $\alpha$ -glukosidase. *Skripsi*. Dep. Bio. FMIPA IPB, Bogor.
- Lanywati, E. 2001. Diabetes Mellitus: Penyakit Kencing Manis. Kanisius, Yogyakarta.
- Lasmini, T. dan E. S. Soetarto. 2014. Khamir Penghasil Indole-3-Acetic Acid dari Rhizosfer Anggrek Tanah *Pecteilis susannae* (L.) Rafin. *Biogenesis* 2(1) : 56-62.
- Lestari, Y.,Y. Velina, and M. Rahminiwati. 2015. Metabolites Activity of Endophytic *Streptomyces* sp. IPBCC. B.15.1539 from



- Tinospora crisper* L. Miers: -glucosidase Inhibitor and Anti-hyperglycemic in Mice. *Inter J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sci.* 7(6): 235-239.
- Li, K., J. Zhou, S. Wei, and X. Cheng. 2012. An Optimized Industrial Fermentation Processes for Acarbose Production by *Actinoplanes* sp. A56. *Bioresource Tech.* 118: 580-583.
- MacDonald, P. N. 2001. Two-Hybrid Systems : Methods and Protocols. Humana Press, New Jersey.
- Marshall, J. J. and C. M. Lauda. 1975. Purification and Properties of Phaseolamin, an Inhibitor of  $\alpha$ -Amylase, from the Kidney Bean, *Phaseolus vulgaris*. *The J. of Bio. Chem.* 250(20) : 8030-8037.
- Michelle de Sales, P., P. M. de Souza, L.A. Simeoni, P. D. O. Magalhaes and D. Silveira (2012). -amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sci.* 15(1): 141 - 183.
- Pujiyanto, S. dan R.S. Ferniah. 2010. Aktifitas Inhibitor Alpha-glukosidase Bakteri Endofit PR-3 yang Diisolasi dari Tanaman Pare (*Momordica charantia*). *Bioma* 12 (1): 1-5.
- Pujiyanto, S., Y. Lestari, A. Suwanto, S. Budiarti and L.K. Darusman. 2012. Alpha-glucosidase Inhibitor Activity and Characterization of Endophytic Aktinomiset Isolated from Some Indonesian Diabetic Medicinal Plants. *Inter J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sci.* 4(1): 327-333.
- Rosidah, I., H. Bahua, R. Mufidah and O.B. Pongtuluran. 2015. Pengaruh Kondisi Proses Ekstraksi Batang Brotowali (*Tinospora crisper* (L) Hook.F & Thomson) Terhadap Aktivitas Hambatan Enzim Alfa Glukosidase. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan* 25(4): 203 - 210.
- Vulin, C., J. M. D. Meglio, A. B. Lindner, A. Daerr, A. Murray and P. Hersen. 2014. Growing Yeast into Cylindrical Colonies. *Biophysical J.* 106: 2214-2221.
- Xue, Y. P., J. W. Qin, Y. J. Wang, Y. S. Wang, and Y. G. Zheng. 2012. Enhanced Production of Acarbose and Concurrently Reduced Formation of Impurity C by Addition of Validaminein Fermentation of *Actinoplanes utahensis* ZJB-08196. *BioMed Research Inter* 1(1): 1-9.
- Zhang C.S. 2002. Genomic Analysis of Secondary Metabolite Producing Actinomycetes: AcbM is a 2-epi-5-epi-valiolone 7-kitinase. *Disertation*. Bergische Universitat Wuppertal, Germany.

