

## ISOLASI, UJI AKTIVITAS, DAN OPTIMASI INHIBITOR $\alpha$ -AMILASE ISOLAT KAPANG ENDOFIT TANAMAN BINAHONG (*Anredera cordifolia*) (Ten.) Steenis

Diani Ajeng Prahesti, Sri Pujiyanti, dan MG Isworo Rukmi  
Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Tembalang  
50275, Semarang. [dianny.ajeng@gmail.com](mailto:dianny.ajeng@gmail.com), [spujiyanto@hotmail.com](mailto:spujiyanto@hotmail.com),  
[isworo.rukmi@gmail.com](mailto:isworo.rukmi@gmail.com). Telp. 081379077114, 081325495389, 0811288428

### ABSTRAK

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit hiperglikemia yang disebabkan insensitifitas sel terhadap insulin yang berdampak pada adanya glukosa dalam darah dan urin. Inhibitor  $\alpha$ -amilase adalah senyawa yang menghambat pemecahan karbohidrat menjadi glukosa oleh enzim amilase. Binahong (*Anredera cordifolia*) telah dimanfaatkan masyarakat Indonesia sejak dahulu untuk mengobati berbagai penyakit diantaranya untuk anti diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat kapang endofit tanaman binahong serta mengetahui kemampuan aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase dari isolat terpilih dengan perlakuan sumber karbon dan pH medium produksi. Isolasi kapang endofit dilakukan dari akar, batang, daun binahong pada medium PDA. Uji inhibitor  $\alpha$ -amilase dilakukan dengan menggunakan substrat amilum dan pengukuran penghambatan dilakukan dengan metode spektrofotometri. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rancangan acak lengkap satu faktor yaitu sumber karbon yang meliputi sukrosa, laktosa, dan maltosa. Sumber karbon terbaik selanjutnya dilanjutkan uji dengan variasi pH yaitu pH 5, 6, dan 7. Data yang diperoleh dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA). Hasil isolasi diperoleh 5 isolat kapang endofit dengan satu isolat potensial yaitu isolat DT dengan kemampuan inhibisi 91,43%. Sukrosa adalah sumber karbon terbaik untuk inhibitor  $\alpha$ -amilase dengan persentase 58,91%, sedangkan pH 5 adalah pH medium produksi terbaik dengan sumber karbon sukrosa dengan persentase 37,83%. Hasil uji statistik menunjukkan sukrosa sebagai sumber karbon terbaik dibandingkan maltosa dan laktosa, dan pH 5 sebagai pH medium terbaik untuk produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase.

Kata kunci : *inhibitor  $\alpha$ -amilase, kapang endofit, Anredera cordifolia, diabetes mellitus*

### ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a hyperglycemia disease caused by insensitivity of cells to insulin that causes the presence of glucose in blood and urine. The  $\alpha$ -amylase inhibitors is a compound that inhibit carbohydrates breakdown into glucose by amylase enzyme. Binahong (*Anredera cordifolia*) has been used by Indonesian people since long time ago to treat various diseases such as for anti-diabetic. The aims of study were to obtained the endophytic fungal isolated from Binahong plant, and find out of their ability of  $\alpha$ -amylase inhibitor activity by treatment of carbon source and pH of production medium. The isolating endophytic fungal from binahong roots, stems, and leaves in medium PDA. The  $\alpha$ -amylase inhibitory test was using starch substrate and the  $\alpha$ -amylase inhibitory measure using spectrophotometric method. The study was used one factor CRD i.e. carbon source including sucrose, lactose, and maltose. The best carbon source then continued to test with variation pH 5,6, and 7. The data obtained were then analyzed by Analysis of Variance (ANOVA). Five endophytic fungal isolated from binahong were only one isolated i.e DT should high potential in inhibiting  $\alpha$ -amylase 91,43%. The best carbon source for inhibitory  $\alpha$ -amylase i.e sucrose with the percentage of 58,91%, while pH 5 is the best pH medium production continuous treatment carbon source sucrose with the percentage 37,83%. The result of statistical test showed that sucrose as the best carbon source just than lactose and maltose, and pH 5 as the best medium pH for the production  $\alpha$ -amylase inhibitor.

Key words :  *$\alpha$ -amylase inhibitor, endophyte fungi, Anredera cordifolia, diabetes mellitus*

### PENDAHULUAN

Diabetes mellitus adalah penyakit hiperglikemia akibat ketiadaan insulin atau insensitifitas sel terhadap insulin. Penyakit ini disebabkan oleh pola hidup yang tidak sehat, genetik, peningkatan obesitas serta gangguan hormonal dan lainnya, sehingga mengakibatkan tubuh kehilangan keseimbangan cairan yang berdampak pada gejala, klinis seperti adanya substansi glukosa dalam urin. Menurut data Internasional Diabetes Federation (IDF) tahun 2015 jumlah penderita diabetes mencapai 425 juta jiwa dan diperkirakan akan terus meningkat dan mencapai sekitar 642 juta jiwa (55%) pada tahun 2040. Pengobatan diabetes mellitus dilakukan secara medis dan tradisional, pengobatan medis dengan menggunakan obat-obat farmasi jenis acarbose atau pemberian insulin buatan dan pengobatan tradisional menggunakan tanaman tradisional seperti daun sirsak dan binahong (Mardiana, 2012), dan kulit manggis (Hariana, 2013).

Di Indonesia, tanaman binahong telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena memiliki keunggulan antara lain tanaman mudah didapatkan, mudah dikembangbiakan, ramah lingkungan, telah digunakan secara turun temurun dan tidak tergantung pada teknologi, meskipun juga memiliki kelemahan seperti keterbatasan penyediaan bahan di lingkungan yang tidak sebanding dengan laju pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Penelitian sebelumnya tentang tanaman binahong menyatakan bahwa ekstrak binahong dapat menurunkan glukosa darah dan memperbaiki sel-sel  $\beta$ -pankreas yang rusak (Sukandar *et al.*, 2011),

## METODE PENELITIAN

**Bahan.** Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : sampel tanaman binahong (*A. cordifolia*) yang terdiri dari isolat akar, batang, daun, media PDA, media PDB, larutan acarbose 1%, akuades steril, kloramfenikol, alkohol 70%, soluble starch, enzim  $\alpha$ -amilase, buffer fosfat ( $K_2HPO_4$ ), reagen DNS (*dinitrosalicylic acid*), maltosa, sukrosa, laktosa NaOH, NaOCl, HCl, dan pewarna LCB (*lactofenol cotton blue*).

**Sampling dan Isolasi kapang endofit.** Sampling dilakukan secara acak berstrata pada ketiga bagian tanaman binahong yang digunakan. Sampel daun diambil daun muda, daun setengah

dapat mengembalikan sensitifitas reseptor insulin (Andriyani *et al.*, 2015), dapat membantu proses penyembuhan penyakit degeneratif seperti stroke, diabetes, dan pembengkakan jantung (Manoi, 2009). Manfaat tanaman binahong ini diperoleh dari keberadaan senyawa aktif yang dihasilkan oleh tanaman yang bisa merupakan kontribusi dari mikroba endofit yang berada dalam tanaman yang dapat berupa bakteri, aktinomiset, atau kapang.

Kapang endofit adalah organisme yang hidup di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan gejala penyakit terhadap tanaman inangnya dan memiliki potensi besar untuk menghasilkan metabolit sekunder yang bermanfaat sebagai senyawa obat, dan senyawa bioaktif tersebut antara lain alkaloid, terpenoid, steroid, quinon, dan fenol (Zhao *et al.*, 2010).

Penggunaan kapang endofit penghasil inhibitor  $\alpha$ -amilase dapat digunakan sebagai alternatif untuk solusi dalam mendapatkan obat antidiabetes. Inhibitor  $\alpha$ -amilase adalah senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase yang berperan dalam memecah pati menjadi maltosa atau glukosa konfigurasi alfa. Kapang endofit dari tanaman binahong digunakan karena kemungkinan besar ada senyawa hasil metabolit sekunder dari kapang endofit yang sama dengan senyawa metabolit sekunder tanaman binahong yang mampu menghasilkan kemampuan inhibitor terhadap enzim  $\alpha$ -amilase. Latar belakang di atas menjadikan perlunya dilakukan penelitian terkait kapang endofit tanaman binahong dan kemampuannya dalam penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase serta mengetahui aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase dengan perlakuan sumber karbon dan pH.

tua, dan daun tua. Sampel batang diambil batang ujung, batang tengah, dan batang pangkal dekat permukaan tanah. Sampel akar diambil akar ujung, akar tengah, dan pangkal akar (Tirtana *et al.*, 2013). Sampel akar, batang, dan daun selanjutnya dicuci menggunakan air mengalir hingga tanah dan kotoran hilang. Sampel direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian direndam dalam larutan NaOCl 0,5% selama 5 menit, selanjutnya direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit, selanjutnya direndam kembali dalam larutan akuades selama 3 menit, kemudian sampel ditiriskan di atas tissue steril (Coombs and Franco (2003) dalam Pujiyanto (2010). Sampel daun

selanjutnya dipotong dengan ukuran 1 cm x 1 cm dan disayat, sedangkan untuk sampel batang dan akar dipotong dengan ukuran 1 cm kemudian dibelah memanjang menjadi dua, selanjutnya sampel ditanam dalam media PDA. Sampel diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang hingga koloni kapang tumbuh dalam media PDA. Air bilasan akhir digoreskan ke media PDA yang digunakan sebagai kontrol, kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang (Phoanda, 2014).

#### **Pemurnian dan Pembuatan stok kultur.**

Koloni kapang endofit yang tumbuh berbeda secara makroskopis dalam media cawan petri, selanjutnya dipindahkan satu koloni ke PDA steril menggunakan ose tajam (Ariyono, 2014). Pembuatan kultur stok dilakukan dengan cara koloni isolat murni ditanam ke tabung reaksi yang berisi medium PDA miring, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 5 sampai 7 hari, hingga terjadi sporulasi untuk kemudian disimpan pada suhu 2-4 °C dalam lemari pendingin (Listiandiani, 2011).

**Kultur kapang endofit untuk memproduksi inhibitor -amilase.** koloni isolat kapang endofit pada PDA miring yang berumur 5 hari ditambahkan dengan 5 mL akuades steril, spora dilepaskan dengan ose tajam dan dihomogenkan (Dewi *et al.*, 2005). Suspensi spora diukur OD dengan spektrofotometer 600 sampai OD mencapai 0,5 (Widhyastuti, 2007). Inokulum sebanyak 1 mL ditambahkan dalam labu erlenmeyer 100 mL yang berisi 30 mL medium produksi, selanjutnya diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang dan *dishaker* pada kecepatan 120 rpm (Suciatmih, 2011). Biakan kapang endofit selanjutnya disentrifuge pada 4000 rpm selama 20 menit, supernatan yang diperoleh digunakan untuk uji inhibitor -amilase (Pujiyanto, 2010).

**Uji inhibitor -amilase dan seleksi kapang endofit penghasil inhibitor -amilase.** Supernatan hasil kultur digunakan untuk pengujian inhibitor -amilase yang dilakukan dengan cara 500 µL supernatan sampel ditambahkan dengan 500 µL enzim -amilase yang telah dilarutkan dengan buffer fosfat pH 6,9. Larutan campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C, kemudian reaksi ditambahkan 1000 µL substrat amilum, selanjutnya larutan kembali diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C. Larutan campuran ditambahkan 2000 µL reagen *dinitrosalicylic acid* (DNS) dan dipanaskan dalam air mendidih yang bertujuan untuk menghentikan reaksi. Larutan campuran yang telah dingin selanjutnya diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer <sub>540</sub> untuk mengetahui nilai absorbansi inhibitor -amilase. Larutan acarbose

1% digunakan sebagai larutan pembanding (Karthic, 2008).

Persen (%) inhibitor di kalkulasi dengan rumus :

$$\text{Inhibitor (\%)} = \frac{\text{Abs 540 (kontrol)} - \text{Abs 540 (ekstrak)}}{\text{Abs 540 (kontrol)}} \times 100\%$$

Isolat kapang yang memiliki aktivitas inhibitor -amilase tertinggi kemudian dipilih untuk digunakan dalam uji lebih lanjut.

**Optimasi waktu optimum inhibitor -amilase.** Optimasi produksi inhibitor -amilase dilakukan dengan menumbuhkan biakan kapang endofit hasil seleksi penghasil inhibitor -amilase tertinggi dalam medium produksi PDB. Koloni isolat kapang endofit terpilih pada PDA miring yang berumur 5 hari ditambahkan dengan 5 mL akuades steril, spora dilepaskan dengan ose tajam dan dihomogenkan (Dewi *et al.*, 2005). Suspensi spora diukur kerapatan optiknya (OD) dengan spektrofotometer pada 600 sampai OD mencapai 0,5 (Widhyastuti, 2007). Inokulum sebanyak 1 mL ditambahkan dalam 150 mL medium produksi. Biakan kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan *dishaker* dengan kecepatan 120 rpm. Untuk mengetahui waktu optimum produksi, setiap 24 jam selama 11 hari dilakukan pengambilan kultur sebanyak 1 mL kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh digunakan untuk menguji aktivitas inhibitor (Pujiyanto, 2014).

**Pengaruh sumber karbon terhadap aktivitas produksi inhibitor -amilase.** Koloni isolat kapang endofit terpilih pada PDA miring yang berumur 5 hari ditambahkan dengan 5 mL akuades steril, spora dilepaskan dengan ose tajam dan dihomogenkan (Dewi *et al.*, 2005). Suspensi spora diukur kerapatan optiknya (OD) dengan spektrofotometer pada 600 sampai OD mencapai 0,5 (Widhyastuti, 2007). Inokulum sebanyak 1 mL ditambahkan dalam 30 mL medium produksi dan *dishaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 6 hari, selanjutnya sebanyak 1 mL starter ditambahkan dalam 30 mL medium produksi. Sebagai bentuk perlakuan sumber karbon media produksi diganti dengan sumber karbon lain, yaitu sukrosa, laktosa, dan maltosa. Kultur diinkubasi selama 8 hari pada suhu ruang dan *dishaker* dengan kecepatan 120 rpm. Kultur kemudian disentrifuge pada 4000 rpm selama 15 menit, supernatan yang diperoleh diuji aktivitas inhibitor -amilase.

**Pengaruh pH terhadap aktivitas produksi inhibitor -amilase.** Inokulum sebanyak 1 mL ditambahkan dalam 30 mL medium produksi dan *dishaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 6 hari, selanjutnya sebanyak 1 mL starter ditambahkan dalam 30 mL medium produksi

dengan sumber karbon terbaik dari hasil perlakuan sebelumnya. Sebagai bentuk perlakuan pH media produksi dibuat dengan beberapa tingkatan pH, yaitu pH 5, 6, dan 7. Kultur diinkubasi selama 8

hari pada suhu ruang dan *dishaker* dengan kecepatan 120 rpm. Kultur kemudian disentrifuge pada 4000 rpm selama 15 menit, supernatan yang diperoleh diuji aktivitas inhibitor -amilase.

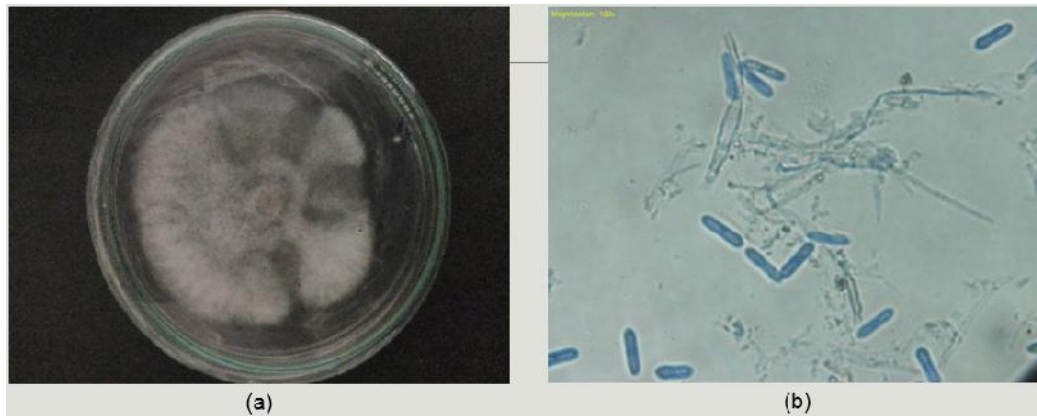
## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Isolasi kapang endofit.** Isolasi merupakan proses pemisahan suatu jenis mikroba dari mikroba mikroba jenis lain dari habitat aslinya. Hasil isolasi diperoleh lima isolat kapang endofit dari semua bagian tanaman yang digunakan, yaitu isolat DT, DST<sub>1</sub>, DST<sub>2</sub>, BP, dan AU. Koloni kapang endofit yang tumbuh dari hasil isolasi setiap bagian tanaman binahong menunjukkan bahwa kapang endofit mampu tumbuh dengan baik dalam media PDA, karena media tersebut merupakan salah satu

media yang umum dan mengandung komponen dasar yang dibutuhkan untuk pertumbuhan kapang. Selain jenis media yang digunakan, kondisi lingkungan seperti kelembaban, pH dan suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan kapang. Menurut Agusta (2009) menyatakan bahwa medium PDA merupakan salah satu medium yang kaya nutrisi dan dapat mempercepat pertumbuhan jamur endofit pada hari ketiga atau keempat.

Tabel 4.1. Hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis kapang endofit pada hari ke 7

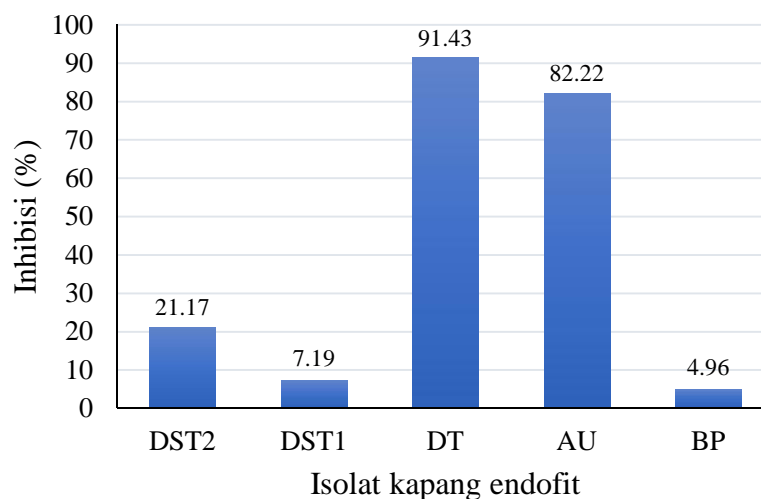
No.	Isolat	Pengamatan makroskopis			Pengamatan mikroskopis			
		Warna permukaan	Warna dasar	Ukuran	Bentuk	Bentuk hifa	Warna hifa	Spora
1	DT	Putih	Putih	Besar dan memenuhi permukaan media	Sirkular	Bersepta	Hialin	Makrokonidia bentuk lonjong
2	DST <sub>1</sub> ( <i>Aspergillus</i> sp.)	Hijau	Hijau tua	Besar dan memenuhi permukaan media	Sirkular	Bersepta	Hialin	Konidia
3	DST <sub>2</sub>	Hijau tua	Hijau tua	Sedang dan memenuhi sebagian permukaan media	Irregular	Bersepta	Coklat	Konidia
4	BP	Coklat	Coklat kehijauan	Kecil dan tumbuh di bagian tengah media	Irregular	Bersepta	Coklat	Konidia
5	AU ( <i>Fusarium</i> sp.)	Putih	Putih kekuning	Besar dan memenuhi permukaan media	Sirkular	Bersepta	Hialin	Makrokonidia bentuk bulan sabit



Gambar 1. (a) Morfologi koloni isolat DT, (b) pengamatan mikroskop isolat DT

**Uji aktivitas inhibitor -amilase dan seleksi kapang.** Uji aktivitas inhibitor -amilase dilakukan untuk mengetahui isolat kapang endofit yang memiliki kemampuan penghambatan terhadap -amilase terbaik dari kelima isolat kapang endofit yang diperoleh. Dari hasil uji aktivitas inhibitor -amilase kelima isolat kapang endofit menggunakan metode spektrofotometri didapatkan bahwa isolat DT mempunyai kemampuan penghambatan terbaik dengan persentase 91,43 %. Hasil uji aktivitas ini menunjukkan bahwa isolat kapang endofit DT memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim -amilase dari senyawa aktif metabolit sekunder yang dihasilkan isolat, karena nilai absorbansi kecil dan menghasilkan warna paling

terang, artinya reaksi antara gula pereduksi dan reagen DNS semakin kecil, karena terhambatnya hidrolisis amilum oleh enzim -amilase untuk menghasilkan produk. Menurut Irawan (2011) berkurangnya produk yang dihasilkan oleh substrat dan enzim ditandai dengan berkurangnya kepekatan warna, semakin kurang intensitas kepekatan warna, maka semakin sedikit pula produk yang terbentuk. Hasil dari seleksi kelima isolat kapang endofit diperoleh isolat DT sebagai isolat dengan aktivitas inhibisi -amilase tertinggi yang selanjutnya digunakan untuk mengetahui waktu optimasi inhibitor -amilase dan perlakuan terhadap sumber karbon serta pH medium produksi.



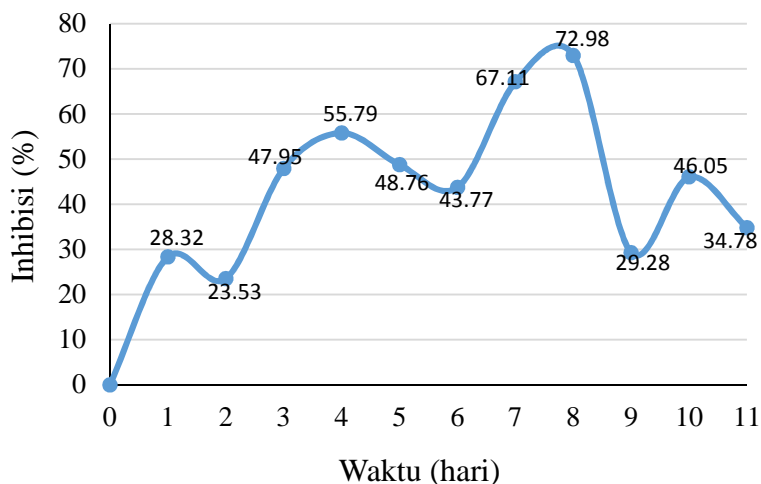
Gambar 2. Hasil uji aktivitas inhibitor -amilase isolat kapang endofit binahong

**Optimasi produksi inhibitor -amilase.** Optimasi inhibitor -amilase dilakukan pada isolat DT dengan tujuan untuk mengetahui waktu optimum inhibitor -amilase yang dilihat dari kurva waktu optimum aktivitas produksi inhibitor

-amilase. Dari hasil penelitian diperoleh hari kedelapan, adalah waktu optimum aktivitas produksi inhibitor -amilase oleh isolat DT dengan persentase 71,98 % dan pada hari selanjutnya aktivitas inhibitor menunjukkan penurunan,

sehingga fermentasi dihentikan. Berdasarkan hasil penelitian, dapat dikatakan bahwa pada hari kedelapan isolat DT telah masuk dalam fase stasioner. Fase stasioner ini merupakan fase dimana jumlah sel hidup dan mati relatif sama, jumlah nutrisi mulai berkurang, sehingga

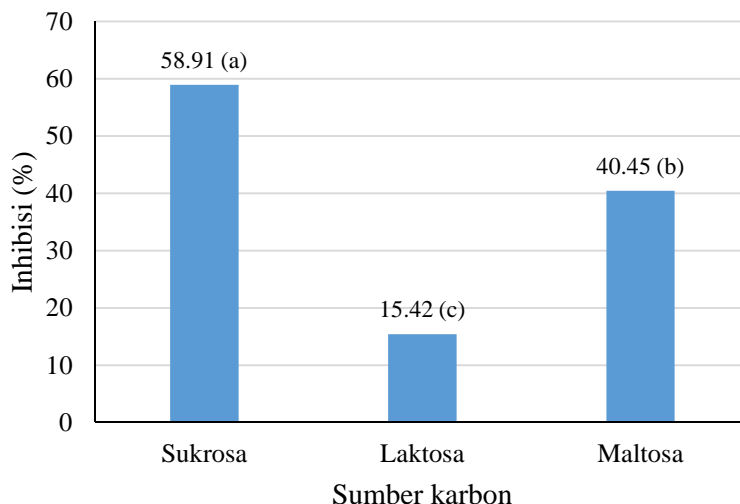
menstimulasi kapang endofit untuk menghasilkan metabolit sekunder sebagai mekanisme bertahan hidup. Metabolit sekunder biasanya hanya diproduksi pada fase stasioner pertumbuhan (Robinson, *et al.*, 2001).



Gambar 3. Grafik inhibisi  $\alpha$ -amilase isolat DT selama 11 hari inkubasi pada suhu ruang

**Pengaruh sumber karbon terhadap aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase.** Karbon merupakan makronutrien yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroorganisme, dalam hal ini kapang endofit. Penelitian ini menggunakan sumber karbon yang berbeda jenisnya untuk melihat kemampuan sumber karbon dalam menghasilkan inhibitor  $\alpha$ -amilase dengan persentase tertinggi. Berdasarkan hasil uji inhibitor menunjukkan bahwa sukrosa merupakan sumber karbon yang memiliki aktivitas penghambatan terbaik terhadap enzim  $\alpha$ -amilase dengan rerata persentase sebesar 58,91%, diikuti maltosa 40,45%, dan laktosa dengan persentase 15,42%. Dari hasil uji inhibitor menandakan bahwa sukrosa merupakan disakarida yang memiliki ikatan glikosida yang mungkin berperan dalam proses

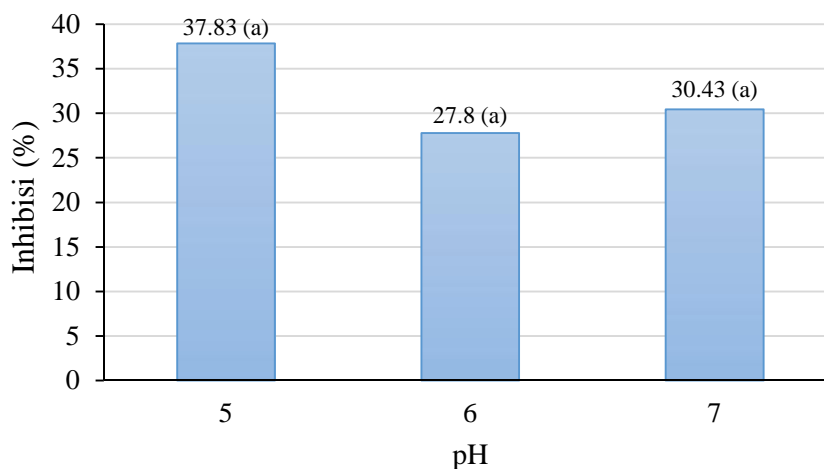
biosintesis inhibitor  $\alpha$ -amilase, dan dapat mempercepat proses biosintesis inhibitor  $\alpha$ -amilase yang prosesnya kemungkinan sama dengan biosintesis acarbose dapat menghambat kerja enzim  $\alpha$ -amilase. Menurut Zhang (2002) menyatakan sukrosa merupakan jenis disakarida yang diperlukan oleh acarbose dalam proses sintesisnya dan mampu diberi pengaruh penghambatan oleh acarbose. Hasil analisis secara statistika dengan menggunakan ANOVA (*analysis of variance*) diperoleh hasil bahwa sumber karbon memberi pengaruh nyata terhadap aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase karena nilai  $F_{hitung} > F_{tabel}$  dengan taraf signifikansi 5%, sehingga dilakukan uji lanjut Tukey (BNJ) untuk mengetahui apakah terdapat pasangan perlakuan yang berbeda nyata.



Gambar 4. Pengaruh sumber karbon terhadap aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase isolat DT

**Pengaruh pH terhadap aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase.** pH atau derajat keasaman merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi kerja enzim maupun inhibitor enzim, dalam penelitian ini kaitannya dengan inhibitor  $\alpha$ -amilase. Menurut Obiro *et. al* (2008) menyatakan aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase dipengaruhi oleh pH, temperatur, waktu inkubasi serta adanya ion tertentu. Berdasarkan hasil uji inhibitor  $\alpha$ -amilase diperoleh bahwa pH 5 adalah pH medium produksi dengan persentase aktivitas tertinggi sebesar 37,83%, pH 7 sebesar 30,43%, dan pH 6 sebesar 27,8%. Dari hasil penelitian diketahui bahwa isolat DT mampu menghambat kerja enzim  $\alpha$ -amilase dengan cara menghasilkan metabolit sekunder terbaik pada pH medium 5. Menurut Obiro (2008) menyatakan bahwa pH optimum untuk aktivitas

inhibitor terdapat pada pH 4,5 – 5,0 dan pada pH 6,9 merupakan pH optimum untuk amylase mamalia (PPA). Kaitan pH medium sukrosa dan persentase aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase adalah sukrosa lebih mudah mengalami hidrolisis pada kondisi pH asam, sehingga lebih cepat memicu sintesis senyawa metabolit sekunder sejenis acarbose yang dihasilkan oleh isolat DT dalam menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase. Hasil analisis secara statistika dengan menggunakan ANOVA (*analysis of variance*) diperoleh hasil bahwa pH memberi pengaruh berbeda tidak nyata terhadap aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase karena nilai  $F_{hitung} < F_{tabel}$  dengan taraf signifikan 5%, sehingga uji lanjut tidak diperlukan untuk membedakan perlakuan pH.



Gambar 5. Pengaruh pH medium terhadap aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase isolat DT



## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa hasil isolasi dari tanaman binahong (*Anredera cordifolia*) didapatkan 5 isolat kapang endofit yaitu isolat DT, DST1, DST2, AU dan BP. Isolat kapang endofit DT memiliki kemampuan aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase dengan rerata penghambatan sebesar 91,43%. Hasil uji statistik pengaruh sumber karbon menunjukkan

bahwa sukrosa merupakan sumber karbon yang terbaik untuk memproduksi inhibitor  $\alpha$ -amilase isolat DT dibandingkan sumber karbon maltosa dan laktosa, dan hasil uji statistik pengaruh pH medium produksi menunjukkan bahwa pH medium 5 sampai 7 tidak mempengaruhi inhibitor  $\alpha$ -amilase isolat DT dalam medium dengan sumber karbon sukrosa.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. 2009. *Biologi dan Kimia Jamur Endofit*. Penerbit ITB, Bandung.
- Andriyani, A. Hanapi, A. G. Fasya, dan H. Hasanah. 2015. Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Efek Terapi Ekstrak Etanol 70% Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Aktivitas SOD (*Superoksida dismutase*) Jantung Tikus yang Diinduksi Aloksan. *Alchemy*. 4(1):73-78
- Dewi, C., T. Purwoko, A. Pangastuti. 2005. Produksi Gula Reduksi oleh *Rhizopus oryzae* dari Substrat Bekatul. *J. Bioteknologi*. 2(1):21-26
- Hariana, A. 2013. 262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Irawan, F. 2011. *Aktivitas Antidiabetes dan Fitokimia Ekstrak Air dan Metanol Daun Waru (Graptophyllum pictum (L.) Giff.)*. [Skripsi]. Bogor : IPB.
- Karthic, K., K.S Kirthiram, S. Sadasivan, dan B. Thayumanavan. 2008. Identification of  $\alpha$ -amilase Inhibitors from *Syzygium cumini* Linn seeds. *Indian J. Exp. Biol.* 46:677-680
- Listiandiani, K. 2011. *Identifikasi Kapang Endofit ES1, ES2, ES3, dan ES4 dari Broussonetia papyrifera Vent. dan Pengujian Aktivitas Antimikroba*. [Skripsi]. Jakarta : Universitas Indonesia.
- Manoi, F. 2009. Binahong sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* 15 (1) : 3-5
- Mardiana, L. 2012. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Obiro, W. C., T. Zhang, and B. Jiang. 2008. The Nutraceutical Role of the *Phaseolus vulgaris*  $\alpha$ -amylase inhibitor. *Br. J. Nutr.* 100:1-12
- Phoanda, T.C., Robert B., P.M. Wowor, dan Jimmy P. 2014. Uji Efek Antibakteri Jamur Endofit Akar Tanaman Bakau (*Bruguiera gymnorrhiza*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *J. e-Biomedik.* 2(1):1-5
- Pujiyanto, S. dan R. S. Ferniah. 2010. Aktivitas inhibitor  $\alpha$ -glukosidase bakteri endofit PR-3 yang diisolasi dari tanaman pare (*Mimordica charantia*). *Bioma*. 12(1):1-5
- Robinson, T., D. Singh., P. Nigan. 2001. Solid-State Fermentation : a Promising Microbial Technology for Secondary Metabolites Production. *App. Microbiol. Biotechnol.* 55(3):284-289
- Suciatmih, Yuliar, dan D. Supriyati. 2011. Isolasi, Identifikasi, dan Skrining Jamur Endofit Penghasil Agen Biokontrol dari Tanaman di Lahan Pertanian dan Hutan Penunjang Gunung Salak. *J. Tek. Ling.* 12(2):171-186
- Sukandar, E. Y., A. Qowiyyah, dan L. Larasari. 2011. Effect of Methanol Extract *Hearhleaf madeiravine (Anredera cordifolia (TEN.) Steenis) Leaves* on Blood Sugar in Diabetes Mellitus Model Mice. *J. Med. Planta.* 1(4):1-10
- Tirtana, Z. Y. G., L. Sulistyowati, A. Cholil. 2013. Eksplorasi Jamur Endofit pada Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) serta Potensi Antagonismenya terhadap *Phytophthora infestans* (Mont.) de Barry Penyebab Penyakit Hawar Daun Secara *In Vitro*. *J. HPT.* 1(3):91-101
- Widhyastuti, N. 2007. Produksi Kitinase Ekstraseluler *Aspergillus rugulosus* 501 secara Optimal pada Media Cair. *Berita Biologi.* 8(6):547-553.
- Zhang, C.S., 2002. Genomic Analysis of Secondary Metabolite Producing Actinomycetes : AcbM



is a 2-epi-5-epi-valiolone 7-kinase.  
*Dissertation.* Bergische Universitat,  
Wuppertal.

Zhao, J., L. Zhou, J. Wang, T. Shan, L. Zhong, X. Liu,  
and X. Gao. 2010. "Endophytic Fungi for

Producing Bioactive Compounds Originally  
from their Host Plants". A. Mendez-Vilas (ed).  
*Current Research, Technology and Education  
Topics in Applied Microbiology and Microbial  
Biotechnology.* 567-576