



**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KAPANG ENDOFIT DAUN SALAM  
(*Eugenia polyantha* Wight) PENGHASIL METABOLIT SEKUNDER  
DENGAN AKTIVITAS INHIBISI  $\alpha$ -AMILASE**

**Skripsi**

**Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar  
Sarjana Farmasi**

**Disusun Oleh:**

**Ade Nurul Padillah**

**1304015008**

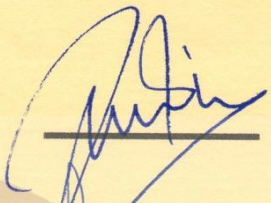

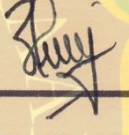





**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA  
JAKARTA  
2018**

Skripsi dengan Judul

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KAPANG ENDOFIT DAUN SALAM  
(*Eugenia polyantha* Wight) PENGHASIL METABOLIT SEKUNDER  
DENGAN AKTIVITAS INHIBISI  $\alpha$ -AMILASE**

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh :  
**Ade Nurul Padillah, NIM 1304015008**

	Tanda Tangan	Tanggal
<u>Ketua</u> Wakil Dekan I <b>Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt.</b>		15/11/18
<u>Penguji I</u> <b>Dr. H. Priyo Wahyudi, M.Si.</b>		26/09/18
<u>Penguji II</u> <b>Elly Wardani, M.Farm., Apt.</b>		02/10/18
<u>Pembimbing I</u> <b>Wahyu Hidayati, S. Si., M. Biomed.</b>		04/10/18
<u>Pembimbing II</u> <b>Maharadingga, M. Si.</b>		04/10/18
Mengetahui :		
Ketua Program Studi Farmasi, <b>Kori Yati, M.Farm., Apt.</b>		05/10/18

Dinyatakan Lulus pada tanggal : 29 Agustus 2018

## ABSTRAK

### ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KAPANG ENDOFIT DAUN SALAM (*Eugenia polyantha* Wight) PENGHASIL METABOLIT SEKUNDER DENGAN AKTIVITAS INHIBISI $\alpha$ -AMILASE

Ade Nurul Padillah  
1304015008

Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) secara tradisional telah digunakan sebagai obat antidiabetes dengan menghambat enzim  $\alpha$ -amilase. Dalam setiap tanaman memiliki satu atau lebih mikroba endofit baik bakteri ataupun kapang. Kapang endofit dapat menghasilkan metabolit yang sama dengan inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi kapang endofit pada daun salam (*Eugenia polyantha* Wight) sebagai penghasil metabolit sekunder dengan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase. Aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase dilakukan dengan mengukur hasil reaksi enzimatik menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm. Isolasi kapang endofit menggunakan *Wizard Genomic DNA Purification Kit* Promega, kemudian diamplifikasi menggunakan primer ITS 4 dan ITS 5 dengan teknik PCR. Hasil amplifikasi sampel KSP-5 positif ditunjukkan dengan adanya fragmen DNA pada gel elektroforesis pada ukuran daerah antara 500 bp – 750 bp. Hasil sekuensing dan penyejajaran dengan data pada program *BLAST* sampel memiliki 96% kemiripan dengan *Aspergillus versicolor* strain B76.

**Kata Kunci:** Daun salam, kapang endofit, inhibisi  $\alpha$ -amilase, ITS.

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirrahim*

*Alhamdulillah*, penulis memanjatkan puji dan syukur kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan judul **“ISOLASI DAN IDENTIFIKASI KAPANG ENDOFIT DAUN SALAM (*Eugenia polyantha* Wight) PENGHASIL METABOLIT SEKUNDER DENGAN AKTIVITAS INHIBISI  $\alpha$ -AMILASE”**.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Farmasi dan Sains Program Studi Farmasi Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.

Pada kesempatan yang baik ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
2. Bapak Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt. selaku Wakil Dekan I Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
3. Ibu Dra. Sri Nevi Gantini, M.Si., selaku Wakil Dekan II Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
4. Ibu Ari Widayati, M.Farm., Apt. selaku Wakil Dekan III Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
5. Bapak Anang Rohwiyono, M.Ag. selaku Wakil Dekan IV Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
6. Ibu Kori Yati, M.Farm., Apt. selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
7. Ibu Dra. Hj. Naniek Setiadi Radjab, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik Kelas A Angkatan 2013 Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA.
8. Ibu Wahyu Hidayati, S.Si., M.Biomed. selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.
9. Ibu Maharadingga, M.Si. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.
10. Kedua orang tua saya (Bapak Suprihati, Ibu Ropiah) serta kakak dan adik saya yang tiada hentinya memberikan doa dan dukungan baik moril maupun materil.
11. Pimpinan dan seluruh staf kesekretariatan yang telah membantu segala administrasi yang berkaitan dengan skripsi ini dan telah banyak membantu dalam penelitian.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih memiliki banyak kekurangan karena keterbatasan ilmu dan kemampuan penulis. Untuk itu saran dan kritik dari pembaca sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang memerlukan.

Jakarta, Agustus 2018

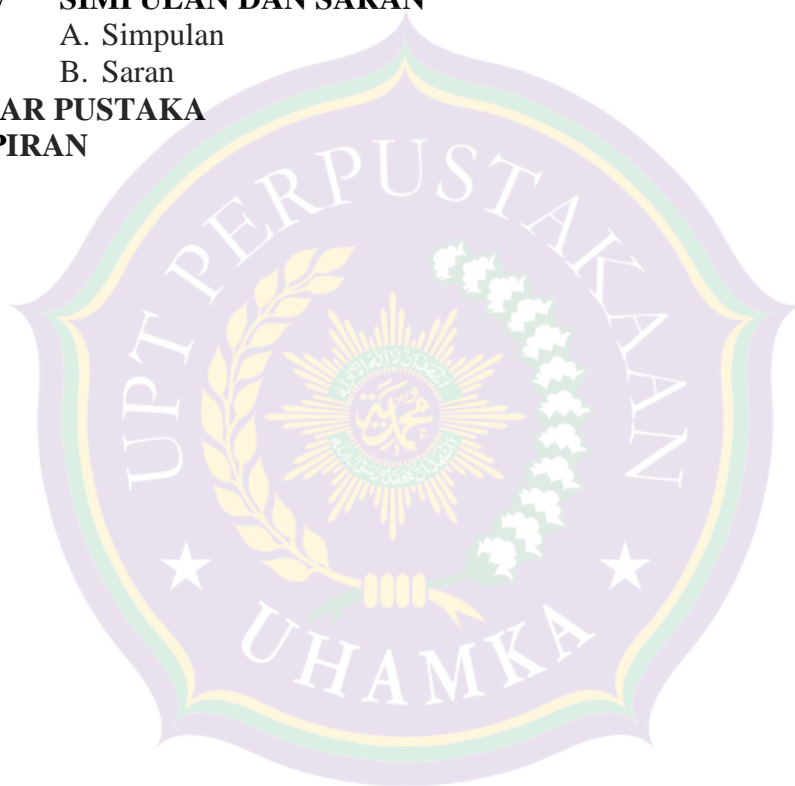
Penulis



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	<b>ii</b>
<b>ABSTRAK</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b>	<b>ix</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	<b>4</b>
A. Deskripsi Tanaman Salam	4
B. Diabetes Melitus (DM)	5
C. Enzim $\alpha$ -Amilase dan Inhibitor Enzim $\alpha$ -Amilase	6
D. Kapang Endofit	7
E. Identifikasi Kapang Endofit	8
F. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR)	9
G. Sekuensing DNA	10
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	<b>12</b>
A. Tempat dan Waktu Penelitian	12
1. Tempat Penelitian	12
2. Waktu Penelitian	12
B. Alat dan Bahan Penelitian	12
1. Alat Penelitian	12
2. Bahan Penelitian	12
C. Prosedur Penelitian	13
1. Determinasi Tanaman	13
2. Isolasi Kapang Endofit dari Daun Salam	13
3. Pemurnian Kapang Endofit	13
4. Identifikasi Makroskopis dan Mikroskopis Kapang Endofit	14
5. Fermentasi	14
6. Ekstraksi	14
7. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim $\alpha$ -Amilase	15
8. Isolasi DNA Kapang Endofit	16
9. Elektroforesis Genom Hasil Isolasi DNA	17
10. Amplifikasi PCR	18
11. Elektroforesis	18
12. Sekuensing DNA	18
13. Pengurutan Hasil Sekuensing	19

<b>BAB IV</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>20</b>
	A. Determinasi Tanaman Salam	20
	B. Isolasi Kapang Endofit dari Daun Salam ( <i>Eugenia poliantha</i> Wight)	20
	C. Karakterisasi Morfologi Isolat Kapang Endofit Daun Salam	21
	D. Fermentasi dan Ekstraksi Kapang Endofit Inhibitor $\alpha$ -Amilase	22
	E. Pengujian Aktivitas Inhibisi $\alpha$ -Amilase	24
	F. Isolasi DNA Genom	25
	G. Elektroforesis Genom Hasil Isolasi DNA	26
	H. Amplifikasi DNA dengan PCR	27
	I. Analisis Hasil Sekuensing DNA	29
<b>BAB V</b>	<b>SIMPULAN DAN SARAN</b>	<b>32</b>
	A. Simpulan	32
	B. Saran	32
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>		<b>33</b>
<b>LAMPIRAN</b>		<b>38</b>



## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 1. Penambahan Reagen Uji Inhibisi $\alpha$ -amilase	16
Tabel 2. Hasil Pengamatan Karakterisasi Morfologi Isolat Kapang Endofit Daun Salam	22
Tabel 3. Hasil Fermentasi dan Ekstraksi Kapang Endofit Inhibitor $\alpha$ -Amilase	23





## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Salam	38
Lampiran 2. Serifikat Analisis Enzim $\alpha$ -Amilase	39
Lampiran 3. Tumbuhan Salam	40
Lampiran 4. Skema Kerja Isolasi Kapang Endofit dari Daun Salam	41
Lampiran 5. Skema Kerja Pemurnian Kapang Endofit Daun Salam	42
Lampiran 6. Skema Kerja Produksi Metabolit Kapang Endofit Daun Salam	43
Lampiran 7. Skema Kerja Uji Aktivitas Inhibisi Enzim $\alpha$ -Amilase	44
Lampiran 8. Skema Kerja Identifikasi Molekuler Kapang Endofit KSP-5	47
Lampiran 9. Skema Kerja Isolasi DNA Kapang Endofit	48
Lampiran 10. Skema Kerja Analisis Hasil Isolasi DNA dengan Elektroforesis	50
Lampiran 11. Skema Kerja Proses Amplifikasi DNA	51
Lampiran 12. Perhitungan Bahan-Bahan Isolasi dan Fermentasi	52
Lampiran 13. Isolat Murni Kapang Endofit dari Daun Salam ( <i>Eugenia poliantha</i> Wight) : (a) KSP-1, (b) KSP-2, (c) KSP-3, (d) KSP-4, (e) KSP-5	53
Lampiran 14. <i>Stock Working</i> Isolat Murni Kapang Endofit : (a) KSP-1, (b) KSP-2, (c) KSP-3, (d) KSP-4 dan (e) KSP -5	54
Lampiran 15. Karakteristik Makroskopik Kapang Endofit Daun Salam ( <i>Eugenia poliantha</i> Wight) : (a) KSP-1, (b) KSP-2, (c) KSP-3, (d) KSP-4, (e) KSP-5	55
Lampiran 16. Karakteristik Mikroskopik Kapang Endofit Daun Salam	57
Lampiran 17. Data dan Hasil Fermentasi dan Ekstraksi Kapang Endofit Daun Salam	58
Lampiran 18. Perhitungan Bahan-Bahan Uji Aktivitas Inhibisi $\alpha$ -Amilase	59
Lampiran 19. Hasil Uji Aktivitas Inhibisi $\alpha$ -amilase Daun Salam	62
Lampiran 20. Perhitungan Bahan-Bahan untuk Identifikasi Molekuler Kapang Endofit KSP-5	66
Lampiran 21. Alat-alat yang digunakan saat penelitian	68
Lampiran 22. Bahan-bahan yang digunakan saat penelitian	70

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh adanya gangguan menahun terutama pada sistem metabolisme karbohidrat, lemak, dan juga protein dalam tubuh. Gangguan metabolisme tersebut disebabkan kurangnya produksi hormon insulin, yang diperlukan dalam proses perubahan gula menjadi tenaga serta sintesis lemak. Kondisi demikian itu, mengakibatkan terjadinya hiperglikemia (Lanywati 2001). Menurut *International Diabetes Federation (IDF)*, jumlah penderita diabetes di seluruh dunia pada tahun 2017 mencapai 425 juta dan diperkirakan pada tahun 2045 mengalami peningkatan sebesar 48% dengan jumlah penderita mencapai 629 juta. Pada wilayah Asia Tenggara jumlah penderita pada tahun 2017 mencapai 82 juta dan diperkirakan pada tahun 2045 mengalami peningkatan sebesar 84% dengan jumlah penderita mencapai 151 juta. Pada tahun 2017, Indonesia menempati peringkat ke enam didunia dengan jumlah penderita 10,3 juta penderita. Terhitung sekitar 90% dari semua kasus diabetes merupakan Diabetes Tipe 2 (IDF 2017).

Salah satu terapi yang bermanfaat untuk DM Tipe 2 adalah pengendalian kadar gula darah pasca makan. Penurunan kadar gula darah pasca makan dapat dilakukan dengan menunda absorpsi glukosa melalui penghambatan kerja enzim penghidrolisis karbohidrat, seperti  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase pada tahap pencernaan. Dengan adanya inhibitor enzim ini, waktu cerna karbohidrat menjadi lebih lama dan absorpsi glukosa dalam tubuh diperlambat sehingga kadar gula darah yang tinggi pasca makan dapat dikendalikan (Geethalaksmi *et al.* 2010).

Menurut Sales *et al.* (2012) tanaman mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder dengan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase adalah flavonoid, tanin dan terpenoid. Berdasarkan hasil penelitian Elya *et al.* (2015) daun salam memiliki aktivitas sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -amilase dengan konsentrasi ekstrak 62,5  $\mu$ g/ml didapatkan % inhibitor sebesar 90,24%. Hasil uji fitokimia komponen yang terkandung pada daun salam adalah golongan alkaloid, flavonoid, tanin, glikosida, saponin dan steroid. Sama halnya penelitian yang dilakukan oleh Fatmawati

(2011) daun salam memiliki aktivitas sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -amilase tertinggi sebesar 57,57% pada fraksi air ke-2. Hasil uji fitokimia komponen yang terkandung pada fraksi tersebut adalah golongan alkaloid, flavonoid, dan saponin.

Setiap metabolit sekunder yang dimiliki tanaman pada umumnya merupakan hasil interaksi antara tanaman dengan mikroba yang terdapat dalam jaringan tanaman. Mikroba tersebut dikenal dengan istilah mikroba endofit. Dalam setiap tanaman memiliki satu atau lebih mikroba endofit baik bakteri ataupun kapang (Strobel dan Daisy 2003). Interaksi antara mikroba endofit dengan tanaman diperkirakan saling menguntungkan karena tanaman memberikan nutrisi untuk mikroba, kemudian mikroba mentransformasikan dan menghasilkan senyawa bioaktif yang mampu melindungi tanaman dari predator (Bacon dan White 2000).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa kapang endofit hasil isolasi dari beberapa tanaman menghasilkan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase. Penelitian yang dilakukan oleh Prabavathy dan Nachiyar (2013) menunjukkan kapang endofit hasil isolasi dari *Adathoda beddomei* memiliki aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase yang sama dengan akarbosa. Selain itu kapang endofit hasil isolasi dari pare dan klabet memiliki aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase yang lebih baik dari akarbosa (Pavithra *et al.* 2014). Serta kapang endofit hasil isolasi dari *Allium filidens* memiliki aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase yang sama dengan akarbosa (Abdulmyanova *et al.* 2016). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa kapang endofit terbukti memiliki aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase.

Berdasarkan informasi tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase serta identitas kapang endofit daun salam. Isolasi kapang endofit dilakukan dengan cara menanam bagian daun yang telah disterilisasi pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Agusta 2009). Identifikasi kapang endofit dapat dilakukan dengan identifikasi morfologi dan identifikasi molekuler (Sun dan Guo 2012). Penggunaan teknik identifikasi molekuler untuk identifikasi fungi sudah dimulai lebih dari 20 tahun yang lalu dengan menggunakan DNA ribosomal (rDNA). DNA ribosoman (rDNA) adalah daerah penyandi genom untuk komponen RNA ribosom, memiliki daerah konservatif yaitu gen penyandi rDNA subunit besar (28S), subunit kecil (18S) dan seluruh

wilayah *Internal Transcribed Spacer* (ITS) (ITS1, 5,8S, ITS2). Untuk identifikasi spesies, daerah ITS adalah daerah yang paling baik karena pada daerah ini merupakan daerah yang paling cepat berevolusi serta mudah diamplifikasi, penggunaannya luas, dan celah *barcode* yang besar (Raja *et al.* 2017). Hasil dari data sekuen tersebut akan di BLAST di *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

## **B. Permasalahan Penelitian**

Apakah kapang endofit pada daun salam memiliki potensi sebagai penghasil metabolit sekunder dengan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase dan apa jenis kapang endofit pada daun salam yang memiliki aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase terbesar?

## **C. Tujuan Penelitian**

Mengisolasi dan mengidentifikasi kapang endofit pada daun salam (*Eugenia polyantha* Wight) sebagai penghasil metabolit sekunder dengan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase.

## **D. Manfaat Penelitian**

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan tentang jenis kapang endofit yang memiliki aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase pada daun salam. Selain itu diharapkan kapang endofit pada daun salam dapat dijadikan alternatif sebagai pengobatan diabetes melitus dengan mekanisme inhibitor  $\alpha$ -amilase.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdulmyanova LI, Fayzieva FK, Ruzieva DM, Rasulova GA, Sattarova RS, Gulyamova TG. 2016. Bioactivity of Fungal Endophytes associating with Allium Plants growing in Uzbekistan. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. **5**(9): 769-778.
- Agusta. 2009. *Biologi & Kimia Jamur Endofit*. ITB, Bandung. Hlm. 1, 2, 4.
- Akmalasari I, Purwati ES, Dewi RS. 2013. Isolasi dan Identifikasi Jamur Endofit Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera*. **30**(2): 82-89.
- Ariandi. 2016. Pengenalan Enzim Amilase (*Alpha-Amilase*) dan Reaksi Enzimatisnya menghidrolisis amilosa pati menjadi glukosa. *Jurnal Dinamika*. **7**(1): 74-82.
- Ariyanto EF, Abadi AL, Djauhari S. 2013. Keanekaragaman Jamur Endofit pada Daun Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) dengan sistem Pengelolaan Hama Terpadu (PHT) dan konvensional di Desa Bayem. *Jurnal HPT*. **1**(2):40-41.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hlm. 105.
- Bacon CW, White JF. 2000. *Microbial Endophytes*. Marcel Dekker, New York. Hlm. 5.
- Bahi M, Anizar. 2013. Senyawa Antibiotika dari Bakteri dan Jamur Endofit: Mini review. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. **1**(1): 429-432.
- Basu S, Bose C, Ojha N, Das N, Das J, Pal M, Khurana S. 2015. Evolution of bacterial and fungal growth media. *Bioinformation Review*. **11**(4). 182-184.
- Bisht S, Kant R, Kumar V. 2013.  $\alpha$ -D-Glucosidase Inhibitory Activity of Polysaccharide Isolated from *Acacia tortolis* Gum Exudate. *International Journal of Biological Macromolecules*. **59**: 214-220.
- Cairns D. 2004. *Intisari Kimia Farmasi*. Edisi 2. Terjemahan: Puspita RM. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm: 10.
- Cengiz S, Cavas L, Yurdakoc K. 2010. Alpha-Amylase Inhibition Kinetics by *Caulerpenyne*. *Mediterranean Marine Science*. **11**(1): 93-103.
- Clarridge JE. 2004. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiology Review*. **17**(4): 840-862.

- Dalimartha S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2. Trubus Agriwidya, Jakarta. Hlm. 162-164.
- Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan. 2013. *Mikrobiologi*. Jakarta: Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan RI. Hlm. 15-16.
- Elya B, Handayani R, Sauriasari R, Azizahwati, Hasyati US, Permana IT, Permatasari YI. 2015. Antidiabetic Activity and Phytochemical Screening of Extracts from Indonesian Plants by Inhibition of Alpha Amylase, Alpha Glucosidase and Dipeptidyl Peptidase IV. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. **18**(6): 279-284.
- Fatchiyah, Arumingtyas EL, Widyarti S, Rahayu S. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga, Malang. Hlm. 35, 36, 51.
- Fatmawati E. 2011. Ekstrak etanol daun salam dan fraksinya sebagai inhibitor alfa-amilase. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam IPB, Bogor. Hlm. 1-4.
- Fukuzaki S. 2006. Minireview: Mechanisms of Actions of Sodium Hypochlorite in Cleaning and Disinfection Processes. *Biocontrol Science*. **11**(4): 147-157.
- Gandjar I, Samson RA, Vermeulen KVD, Oetari A, Santoso I. 2000. *Pengenalan Kapang Tropik Umum*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta. Hlm. 4-5.
- Gandjar I, Sjamsuridzal W, Oetari A. 2006. *Mikologi Dasar dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta. Hlm. 68.
- Geethalakshmi R, Sarada DVL, Ramasamy K. 2010. *Trianthema decandra* L: A review on its phytochemical and pharmacological profile. *International Journal of Engineering Science and Technology*. **2**(5): 976-979.
- Hall T. 1999. *Bioedit : A user Friendly Biological Sequence Alignmen Editor And Analysis Progam For Windows*. Oxford University Press, USA. Hlm. 95-98
- Handoyo D, Rudiretna A. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan *Polymerase Chain Reaction (PCR)*. *Unitas*. **9**(1): 17-29.
- International Diabetes Federation. 2017. *Diabetes Atlas Eighth Edition*. International Diabetes Federation. Hlm. 9, 18, 46.
- Istianah N, Wardani AK, Heppy F. 2018. *Teknologi Bioproses*. UB Press, Malang. Hlm. 28-29.

- Judje N, Svensson B. 2006. Review Proteinaceous Inhibitor of Carbohydrate Active Enzymes in Cereals: Implication in Agriculture, Cereal Processing and Nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **86**(11): 1573-1586.
- Judoamidjojo M, Darwis AA, Said EG. 1990. *Teknologi Fermentasi*. IPB Press, Bogor. Hlm. 332.
- Kellogg J, Grace MH, Lila MA. 2014. Phlorotannins from Alaskan Seaweed Inhibit Carbolytic Enzyme Activity. *Marine Drugs*. **12**: 5278-5294.
- Kumala S, Agustina E, Wahyudi P. 2006. Uji Aktivitas Antimikroba Metabolit Sekunder Kapang Endofit Tanaman Trengguli (*Cassia fistula* L). *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. **6**(2): 46-48.
- Lanywati E. 2001. *Diabetes Mellitus*. Kanisius, Yogyakarta. Hlm. 7.
- Miller GA, Baeckwith R, Fellbaum C, Gross D, Miller K. 1990. Introduction to WordNet: An On-line Lexical Database. *International Journal of Lexicography*. **3**: 235-312.
- Mueller GM, Bills GF, Foster MS. 2004. *Biodiversity of Fungi: Metode Inventarisasi dan Monitoring*. Elsevier Academic Press. USA. Hlm. 612.
- Muladno. 2010. *Teknologi Rekayasa Genetika Edisi Kedua*. IPB Press. Bogor. Hlm. 67.
- Mycek MJ, Harvey RA, Champe PC, Fisher BD. 2001. *Farmakologi*, Terjemahan: Agoes A. Widya Medika. Hlm. 259-261.
- Nugraha F, Roslim DI, Ardilla YP, Herman. 2014. Analisis Sebagian Sekuen Gen *Ferritin2* pada Padi (*Oryza sativa*) Indragiri Hulu, Riau. *Biosaintifika*. **6**(2): 70-79.
- Nugroho TT, Rambe E, Dewi A, Sepryani H, Restuhadi F, Haryani Y. 2013. Optimasi Isolasi dan Amplifikasi ITS DNA Ribosomal Fungi Karbolitik Isolat Zona Inti Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. **1**(1): 407-412.
- Nurhikmayani R, Agus R, Dwyana Z. 2015. Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik Pedaging *Anas domesticus* dengan Gen 16S rRNA. <http://repository.unhas.ac.id/bitstream/handle/123456789/16677/Jurnal%20Risky%20Nurhikmayani%20H41112311%20%28fix%29.pdf?sequence=1>. Diakses 17 April 2017.

- Nwokocha M, Ogunmola B. 2014. Colour of Starch-Iodine Complex as Index of Retrogradability of Starch Pastes. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*. **8**(5): 89-93.
- Pavithra N, Sathish L, Nagasai, Babu, Venkatarathanamma V, Pushpalatha H, Reddy GB, Ananda K. 2014. Evaluation of  $\alpha$ -Amylase,  $\alpha$ -Glukosidase and Aldose Reductase Inhibitors in Ethyl Acetate Extracts of Endophytic Fungi Isolated from Antidiabetic Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. **5**(12): 5334-5341.
- Prabavathy, Nachiyar V. 2013. Antimicrobial and Antidiabetic Activity of an Endophytic Fungi Isolated From *Adathoda beddomei*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. **5**(3): 780-783.
- Prihatiningtias W, Wahyuningsih MSH. 2007. Prospek Mikroba Endofit sebagai Sumber Senyawa Bioaktif. *Majalah Obat Tradisional*. **18**(1): 1-5.
- Promega. 2017. *Technical Manual Wizard<sup>®</sup> Genomic DNA Purification Kit*. Promega Cooperation, United States of America. Hlm. 12
- Raja HA, Miller AN, Pearce CJ, Oberlies NG. 2017. Fungal Identification Using Molecular Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *Journal of Natural Products Review*. **80**: 756-770.
- Rahmawati I, Hastuti US, Prabaningtyas S. 2015. Isolasi dan Identifikasi Kapang Endofit dalam Rimpang Temu Giring (*Curcuma heyneana* Val. & Van Zijp) serta Analisis secara Kuantitatif terhadap Metabolit Sekunder yang dihasilkan. <http://jurnalonline.um.ac.id/data/artikel/artikelDCFF712102A338A842BDE23B5EB82F6F.pdf>. Diakses 8 Agustus 2018.
- Ristaino JB, Madrietch, Trout, and Parra. 1998. PCR Amplification of Ribosomal DNA for Species Identification in the Plant Pathogen Genus *Phyophthora*. *Applied and Enviromental Microbiology*. **64**(3): 948-954.
- Sahani K, Thakur D, Hemalatha KPJ, Ganguly A. 2015. Antiglycemic Activity of Endophytics Fungi From Selected Medical Plants by Alpha-Amylase Inhibition Method. *International Journal of Science and Research (IJSR)*. **6**(3): 2203-2206.
- Sales PMD, Souza PMD, Simeoni LA, Magalhaes PDO, Silveira D. 2012.  $\alpha$ -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *J Pharm Pharmaceut Sci*. **15**(1): 141-183.
- Sambrook J, Russel DW. 2001. *MoIecular Cloning – A Laboratory Manual 3th edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York
- Sigma-Aldrich. 2011. Centrifugation. *Biofiles*. **6**(5): 1-32.



- Siswandono S. 1995. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Surabaya
- Stansfield WD, Colome JS, Cano RJ. 2006. *Biologi Molekuler dan Sel*, Terjemahan: Cullen KE. Erlangga. Hlm. 84-87.
- Strobel G, Daisy B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. **67**(4): 491-502.
- Suciatmih, Yuliar, Supriyati D. 2011. Isolasi, Identifikasi, dan Skrining Jamur Endofit Penghasil Agen Biokontrol dari Tanaman di Lahan Pertanian dan Hutan Penunjang Gunung Salak. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. **12**(2): 171-186.
- Sun X, Guo LD. 2012. Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular techniques. *Mycology*. **3**(1): 65-76.
- Susilawati IO, Batubara UM, Rianty H. 2015. Analisis Aktivitas Enzim Amilase yang Berasal dari Bakteri Tanah di Kawasan Universitas Jambi. *Prosiding Semirata*. Hlm. 359-367.
- Sutrisna EM. 2016. *Herbal Medicine: Suatu Tinjauan Farmakologis*. Muhammadiyah University Press. Surakarta. Hlm. 16.
- Sutrisno A. 2017. *Teknologi Enzim*. UB Press. Malang. Hlm. 12, 15-16.
- Suyono Y. 2010. Penentuan Spesies Bakteri *Pseudomonas* Dan Analisis *Phylogenetic Tree* Secara Bioinformatika. *Biopropal Industri*. Hlm. 27.
- Weising K, Nybom H, Pfenninger M, Wolff K, Meyer W. 1994. *DNA Fingerprinting in Plants and Fungi*. CRC Press. USA. Hlm. 68.
- Widowati T, Bustanussalam, Sukiman H, Simanjuntak P. 2016. Isolasi dan Identifikasi Kapang Endofit dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) Sebagai Penghasil Antioksidan. *Biopropal Industri*. **7**(1): 9-16.
- Winarno FG. 1995. *Enzim Pangan*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. Hlm. 57-58.
- Yoo YJ, Hong J, Hatch RT. 1987. Comparison of  $\alpha$ -amylase activities from different assay methods. *Biotechnology and Bioengineering*. **30**(1): 141-151.