

**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Alat-alat yang digunakan

		
<p>Neraca analitik</p>	<p>Autoklaf</p>	<p><i>Hotplate</i></p>
		
<p>Inkubator</p>	<p>Oven</p>	<p>LAF</p>
		
<p>Sentrifuge</p>	<p>pH meter</p>	<p>Indikator pH Universal</p>

Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman sukun (*Artocarpus altilis*)



UPT-LABORATORIUM

Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp. 0271-852518, Fax. 0271-853275

Nomor : 135/DET/UPT-LAB/18.01.2021
Hal : Hasil determinasi tumbuhan
Lamp. :-

Nama Pemesan : Zulfia Rihadatul Mawadah
NIM : 23175251A
Alamat : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta
Nama Sampel : Sukun/*Artocarpus altilis*.

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Klasifikasi

Kingdom : Plantae
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida/Dicotyledoneae
Ordo : Rosales
Famili : Moraceae
Genus : *Artocarpus*
Species : *Artocarpus altilis*.

Hasil Determinasi menurut Steenis, C.G.G.J.V, Bloembergen, H, Eyma, P.J. 1992 :

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b
– 26b – 27b – 799b – 800a. familia 117. Moraceae. 1b – 2b – 4b – 6b – 8b – 9a – 10b – 13b –
14b.9. *Artocarpus*. 1a – 2a – 3b – 4b. *Artocarpus communis* J.R. & G. Forest.
Sinonim: *Artocarpus indica* (Thunb.) L.f., *Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg.

Deskripsi:

- Habitus** : Pohon, tinggi lk 6 meter.
- Batang** : Batang tegak, bulat, berkayu lunak, percabangan monopodial, diameter lk 35 cm, berwarna coklat, bercabang banyak, permukaan kasar, bergetah.
- Akar** : Akar tunggang.
- Daun** : Daun tunggal, lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi bertoreh, panjang 33,2 - 53 cm, lebar 19,1 - 33 cm, tebal, permukaan kasar, bertulang daun menyirip, tulang daun besar, warna hijau.
- Bunga** : Bunga tunggal, berumah satu, muncul di ketiak daun, bunga jantan silindris, berwarna kuning, panjang dapat mencapai 10 - 20 cm, bunga betina bulat, berwarna hijau, diameter dapat mencapai 2 - 5 cm.
- Buah** : Buah semu majemuk, bulat, diameter dapat mencapai 20 cm, berduri lunak, berwarna hijau.
- Biji** : Akar bentuk ginjal, panjang dapat mencapai 5 cm, berwarna hitam.

Kepala UPT-LAB
Universitas Setia Budi



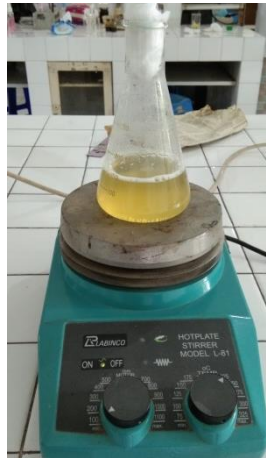
Asik Gunawan, Amdk

Surakarta, 18 Januari 2021
Penanggung jawab
Determinasi Tumbuhan



Dra. Dewi Sulistyawati. M.Sc.

Lampiran 3. Pembuatan media menggunakan *hotplate*



Lampiran 4. Pengukuran pH media NA menggunakan kertas pH universal



Lampiran 5. Sterilisasi permukaan daun sukun menggunakan alkohol 70% dan larutan natrium hipoklorit 5,25%



Lampiran 6. Ekstraksi daun sukun dan penimbangan daun sebanyak 1 gram



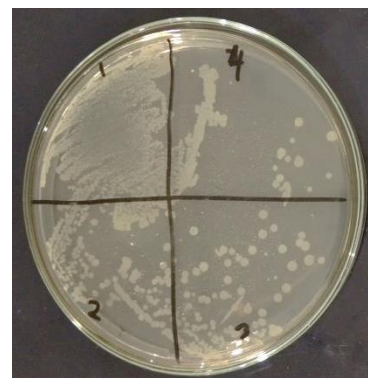
Lampiran 7. Pengenceran daun sukun dalam akuades steril (pengenceran 10^0 - 10^{-4})



Lampiran 8. Hasil identifikasi morfologi koloni isolat bakteri endofit



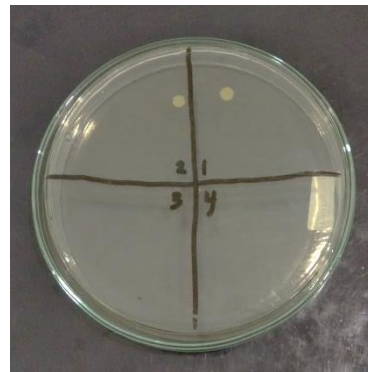
Isolat AA1



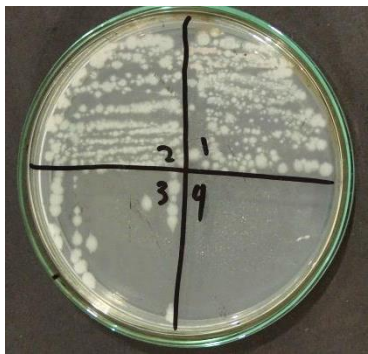
Isolat AA2



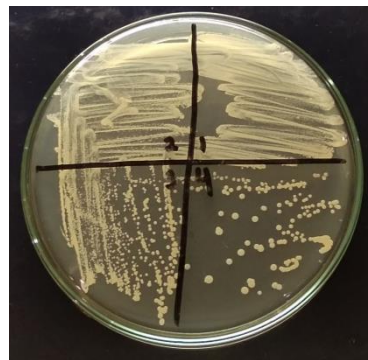
Isolat AA3



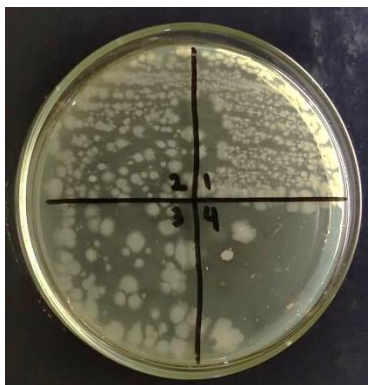
Isolat AA4



Isolat AA5










Isolat AA6



Isolat AA7

Lampiran 9. Hasil peremajaan isolat bakteri endofit

			
Isolat AA1	Isolat AA2	Isolat AA3	Isolat AA4
			
Isolat AA5	Isolat AA6	Isolat AA7	

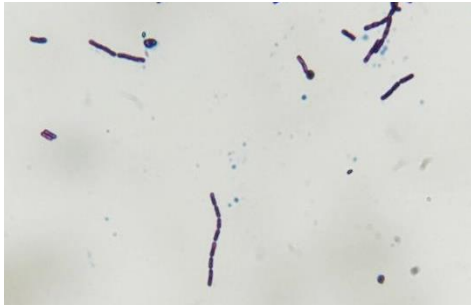
Lampiran 10. Hasil identifikasi morfologi sel dengan pewarnaan Gram pada isolat bakteri endofit



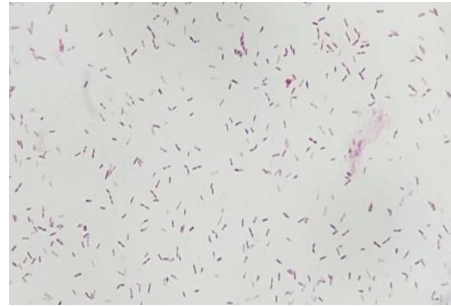
Isolat AA1



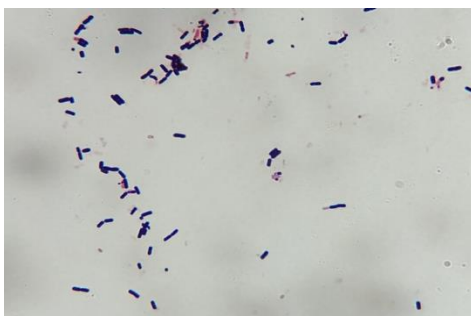
Isolat AA2



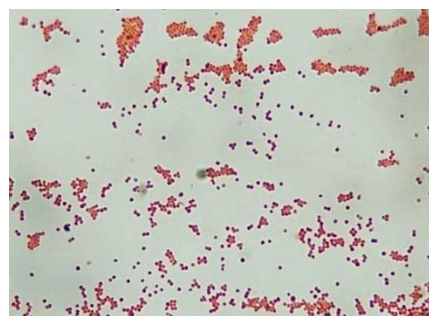
Isolat AA3



Isolat AA4



Isolat AA5




















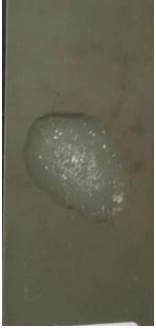


Isolat AA6















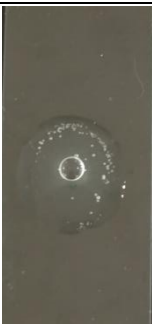

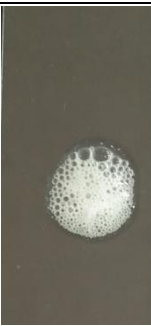
Isolat AA7

Lampiran 11. Hasil uji biokimia isolat bakteri endofit daun sukun

	AA1	AA2	AA3	AA4
Uji SIM				
Uji KIA				
Uji LIA				
Uji Sitrat				

Uji Katalase				
--------------	---	---	--	---

	AA5	AA6	AA7
Uji SIM			
Uji KIA			
Uji LIA			

Uji Sitrat			
Uji Katalase			

Lampiran 12. Perhitungan pengenceran larutan natrium hipoklorit 5,25%

- $$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$V1 \times 12\% = 10 \text{ mL} \times 5,25\%$$

$$V1 = \frac{10 \times 5,25}{12}$$

$$= 4,375 \text{ mL}$$
- Mengambil 4,375 mL larutan natrium hipoklorit 12% lalu ditambahkan akuades steril sampai 10 mL

Lampiran 13. Perhitungan penimbangan bahan media cair YPS sebanyak 150 mL

- $$0,1\% \text{ soluble starch} = \frac{0,1}{100} \times 150 \text{ mL}$$

$$= 0,15 \text{ gram}$$
- $$0,15\% \text{ yeast extract} = \frac{0,15}{100} \times 150 \text{ mL}$$

$$= 0,225 \text{ gram}$$
- $$0,5\% \text{ pepton} = \frac{0,5}{100} \times 150 \text{ mL}$$


$$= 0,75 \text{ gram}$$
- Menimbang ketiga bahan lalu dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* yang berisi 150 mL akuades

Lampiran 14. Perhitungan Rf bercak noda KLT

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh bercak}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

- Bercak a1 = $\frac{3 \text{ cm}}{4,5 \text{ cm}} = 0,67$
- Bercak a2 = $\frac{3,62 \text{ cm}}{4,5 \text{ cm}} = 0,80$
- Bercak a3 = $\frac{4,1 \text{ cm}}{4,5 \text{ cm}} = 0,91$
- Bercak b1 = $\frac{2,3 \text{ cm}}{4,5 \text{ cm}} = 0,51$
- Bercak c1 = $\frac{3 \text{ cm}}{4,5 \text{ cm}} = 0,67$
- Bercak c2 = $\frac{3,5 \text{ cm}}{4,5 \text{ cm}} = 0,78$
- Bercak c3 = $\frac{4,1 \text{ cm}}{4,5 \text{ cm}} = 0,91$

Lampiran 15. Jurnal studi pustaka bakteri endofit daun mimba

Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi 18 (2) (2015) : 73 – 78	
ISSN: 1410-8917  Jurnal Kimia Sains & Aplikasi	Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi 18 (2) (2015) : 73 – 78 Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi Journal of Scientific and Applied Chemistry Journal homepage: http://ejournal.undip.ac.id/index.php/ksa
	
Skrining Metabolit Sekunder Bakteri Endofit yang Berfungsi sebagai Antidiabetes dari Daun Mimba (<i>Azadirachta Indica</i>)	
Yuga Pratama ^a , Purbowatiningrum Ria Sarjono ^{a*} , Nies Suci Mulyani ^a	
a Biochemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang	
* Corresponding author: purbowatining@live.undip.ac.id	
Article Info	Abstract
Keywords: neem leaves, endophytic bacteria, secondary metabolites, α -glucosidase enzyme	Research on secondary metabolite screening of endophytic bacteria that acts as an antidiabetic of neem leaves (<i>Azadirachta indica</i>) has been performed. The objective of this study was to obtain morphological data, obtained data of growth curve of endophytic bacterial isolate from mimba leaf, obtained inhibition result of secondary metabolite of endophytic bacteria from mimba leaf to α -glucosidase, and got information about chemical content of secondary metabolite of endophytic bacteria isolate obtained. Antidiabetic activity was tested using α -glucosidase enzyme inhibiting method. The results obtained were endophytic bacteria A5 and A6 of neem leaves were bacteria with a type of gram-negative bacteria, with different forms of microscopic sightings. Based on data of growth curve of endophytic bacteria it could be concluded that to obtain secondary metabolite is at hour 33 until 48 hours for isolate A5 and hour 36 until hours 48 for isolate A6. The power of inhibition of optimal α -glucosidase activity from secondary metabolites A5 and A6 at concentrations of 62.5 ppm respectively were 18.462% and 20.173%. Phytochemical screening in this study each of the secondary metabolites of endophytic bacteria A5 and A6 from neem leaves contain flavonoids, saponins, and terpenoids/steroids.
Kata Kunci: Daun mimba, bakteri endofit, metabolit sekunder, enzim α -glukosidase	Abstrak Telah dilakukan penelitian tentang skrining metabolit sekunder bakteri endofit yang berfungsi sebagai antidiabetes dari daun mimba (<i>Azadirachta indica</i>). Penelitian ini bertujuan memperoleh data morfologi, memperoleh data kurva pertumbuhan isolat bakteri endofit dari daun mimba, memperoleh hasil inhibisi metabolit sekunder bakteri endofit dari daun mimba terhadap α -glukosidase, serta mendapatkan informasi mengenai kandungan kimia dari metabolit sekunder isolat bakteri endofit yang didapat. Aktivitas antidiabetes diuji menggunakan metode penghambatan enzim α -glukosidase. Hasil yang diperoleh adalah bakteri endofit A5 dan A6 dari daun mimba merupakan bakteri dengan jenis bakteri gram negatif, dengan bentuk penampakan mikroskopis yang berbeda. Berdasarkan data kurva pertumbuhan bakteri endofit dapat disimpulkan bahwa untuk memperoleh metabolit sekunder adalah pada jam ke-33 hingga jam ke-48 untuk isolat A5 dan jam ke-36 hingga jam ke-48 untuk isolat A6. Adapun daya inhibisi aktivitas α -glukosidase optimal dari metabolit sekunder A5 dan A6 masing-masing pada konsentrasi 62,5 ppm berturut-turut sebesar 18,462% dan 20,173%. Penapisan fitokimia pada penelitian ini masing-masing metabolit sekunder bakteri endofit A5 dan A6 dari daun mimba mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan terpenoid/steroid.

Lampiran 16. Jurnal studi pustaka bakteri endofit tanaman pare

A.13

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI ENDOFIT PENGHASIL INHIBITOR
 α -GLUKOSIDASE DARI TANAMAN PARE (*Momordica Charantia* L.)**

Sri Pujiyanto*, Sunarno dan Annisa Widyasari

Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto SH, Semarang 50275

* Email: spujiyanto@hotmail.com

Abstrak

*Diabetes merupakan penyakit metabolik yang serius di Indonesia. Jumlah penderita diabetes mengalami peningkatan setiap tahunnya. Inhibitor α -glukosidase merupakan senyawa yang dapat menghambat enzim α -glukosidase sehingga bermanfaat sebagai obat antidiabetes. Tanaman Pare (*Momordica charantia*) diketahui memiliki kasiat sebagai anti diabetes. Senyawa aktif yang dihasilkan tanaman tersebut dapat berasal dari endofit yang hidup di dalam jaringan tanaman. Eksplorasi bakteri endofit dari tanaman pare merupakan salah satu cara untuk mendapatkan isolat bakteri penghasil inhibitor enzim α -glukosidase. Isolasi bakteri dilakukan dengan menginokulasikan sampel tanaman yang telah disterilisasi permukaan pada media agar. Isolat bakteri yang didapat selanjutnya dimurnikan dan di karakterisasi lebih lanjut baik morfologi maupun aktivitas inhibitor α -glukosidasenya. Pengujian aktivitas inhibitor α -glukosidase menggunakan metode spektrofotometer dengan nitrofenil- α -D-glukopiranosida sebagai substrat. Hasil penelitian diperoleh 5 isolat bakteri endofit penghasil inhibitor α -glukosidase. Penghambatan terbesar ditunjukkan oleh isolat bakteri Ad 1 yaitu sebesar 27,4%.*

Kata kunci: antidiabetes, *Momordica charantia*, bakteri endofit, inhibitor α -glukosidase

1. PENDAHULUAN


Diabetes melitus merupakan penyakit yang cukup serius di Indonesia. Menurut Direktur Gizi Masyarakat tahun 2003, jumlah penderita diabetes terus meningkat. Tercatat oleh WHO (2005) Indonesia menempati urutan ke empat untuk penderita terbanyak setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Departemen Kesehatan (2005) memperkirakan pada tahun 2025 jumlah penderita Diabetes Melitus di Indonesia mencapai 12,4 juta jiwa. Hal ini menjadi masalah yang cukup serius di dunia kesehatan.

Diabetes Melitus merupakan penyakit metabolik dengan karakteristik tidak seimbangnyanya kadar glukosa dalam darah. Menurut America Diabetes Association (ADA) (2003) diabetes melitus di bagi menjadi dua, yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2. Menurut UKK Endokrinologi Anak dan remaja (2003) DM tipe 1 (bergantung pada insulin) merupakan kelainan sistemik akibat terjadinya gangguan metabolisme glukosa yang ditandai oleh hiperglikemia kronik. Keadaan ini diakibatkan oleh kerusakan sel- β pankreas baik oleh proses autoimun maupun idiopatik sehingga produksi insulin berkurang bahkan berhenti. Diabetes tipe 2 menurut Arifin (2011) dapat di sebabkan oleh 2 hal yaitu resistensi insulin dan disfungsi sel β pankreas. Resistensi insulin adalah keadaan dimana insulin tidak bekerja secara optimal, keadaan resistensi insulin ini dapat menyebabkan sel β pancreas mensekresi insulin dalam kuantitas yang lebih besar untuk mempertahankan homeostatis kadar gula darah, sehingga dapat terjadi hiperinsulin. Walaupun mengalami peningkatan gula darah karena resistensi insulin, keadaan hiperinsulinia mengakibatkan sel β pankreas mengalami disfungsi sehingga terjadi gangguan metabolit glukosa. Biasanya resistensi insulin ini diakibatkan dari pola makan yang tidak sehat dan menyerang orang paruh baya (usia > 40 tahun).

Salah satu cara pengobatan untuk mengatasi diabetes tipe 2 ini adalah dengan menghambat enzim pemecah polisakarida, salah satu enzim pemecah polisakarida yaitu enzim α -glukosidase. Enzim α -glukosidase merupakan enzim pemecah karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana (Isslebacker dkk., 1998). Kerja enzim α -glukosidase dapat di hambat oleh suatu senyawa yang berfungsi sebagai inhibitor. Penghambatan enzim α -glukosidase diharapkan dapat mengurangi pemecahan karbohidrat kompleks menjadi gula sehingga kadar gula darah menjadi normal dan memperbaiki fungsi dari sel β pankreas.

Pare (*Momordica charantia*) merupakan tanaman tropis yang hidup di dataran rendah. Menurut Subhar (2004) di Meksiko, seluruh bagian tanaman pare dimanfaatkan sebagai obat


Lampiran 17. Jurnal studi pustaka bakteri endofit salak pondoh



Biosaintifika 11 (3) (2019) 352-359

Biosaintifika
Journal of Biology & Biology Education

<http://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/biosaintifika>



Isolation and identification of endophytic bacteria from Salak Pondoh (*Salacca edulis*) fruit as α -glycosidase inhibitor producer

Ari Susilowati[✉], Citra Praba Yunita Dewi, Siti Lusi Arum Sari

DOI: <http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v11i3.21031>

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Sebelas Maret, Indonesia

<p>History Article</p> <p>Submitted 12 September 2019 Revised 30 October 2019 Accepted 9 December 2019</p> <p>Keywords 16S rRNA genes; Endophytic Bacteria; Hyperglycemic; Salak Pondoh; α-glucosidase Inhibitor</p>	<p>Abstract</p> <p>Alpha-glycosidase inhibitors can delay the hydrolysis of oligosaccharide and disaccharide into glucose, which can prevent or treat hyperglycemia in diabetes mellitus. The rind and flesh of Salak Pondoh fruit are known to produce α-glycosidase inhibitor compound. Endophytic bacteria that live in plant tissues potentially produce compounds such as in host plants. Exploration of endophytic bacteria from the rind and flesh of Salak Pondoh is one of the efforts to obtain isolates of bacteria producing α-glycosidase inhibitors. The objective of this study is to isolate and identify endophytic bacteria producing inhibitor α-glycosidase from rind and flesh of Salak Pondoh, and to know the activity of its α-glycosidase inhibitor. Isolation of endophytic bacteria was done by inoculating surface-sterilized fruit samples on Nutrient Agar (NA) medium. The inhibitory activity towards α-glycosidase analysis was performed using the spectrophotometric method ($\lambda = 415 \text{ nm}$), with p-nitro phenyl α-D-glucopyranoside as the substrate. Identification of the bacteria was performed based on the 16S rRNA gene sequence. The sequencing was done at 1st Base Singapore and the obtained sequences were identified using the BLAST Nucleotide device on the NCBI website. In total, 6 endophytic bacterial isolates were obtained. The inhibitory activity ranged from 6.14-62.95% and the highest was generated by Kt-E isolates. The isolated bacteria were Dt- A and Dt-B that represent genus Xanthomonas, Kt-E from genus Paenibacillus, Kt-I from genus Bacillus, Dm-A1 and Dm-A2 from family Enterobacteriaceae. The results confirm the potential of the endophyte bacteria of Salak Pondoh to be an alternative source of hyperglycemia medication.</p> <p>How to Cite</p> <p>Susilowati, A., Dewi, C., & Sari, S. (2019). Isolation and identification of endophytic bacteria from Salak Pondoh (<i>Salacca edulis</i>) fruit as α-glycosidase inhibitor producer. <i>Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education</i>, 11(3), 352-359.</p>
--	--

[✉] Correspondence Author:
Jl. Ir. Sutami 36A, Kentingan, Surakarta 57126
E-mail: arisusilowati@staff.uns.ac.id

p-ISSN 2085-191X
e-ISSN 2338-7610

Lampiran 18. Jurnal studi pustaka bakteri endofit kayu manis

**AKTIVITAS ANTIDIABETES METABOLIT SEKUNDER BAKTERI ENDOFIT
ASAL KULIT KAYU MANIS**

**(ANTIDIABETIC ACTIVITY FROM SECONDARY METABOLIM
ENDOPHYTIC BACTERIA BARK)**

**Purbowatiningrum Ria Sarjono, Hendra Dwipa Rifky Mahardika, Nies S. Mulyani,
Ngadiwiyana., Nor Basid Adi Prasetyawibowo, dan Ismiyarto**
Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Sudharto SH., Tembalang, Semarang 50275
Coressponding author: ismiyarto@live.undip.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri endofit yang bersimbiosis dengan kulit kayu manis, mendapatkan data kemampuan inhibisi enzim α -glukosidase dari metabolit sekunder isolat bakteri endofit yang didapatkan, serta mendapatkan informasi mengenai kandungan kimia dari metabolit sekunder isolat bakteri endofit yang didapat. Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas sampel kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) yang didapatkan dari daerah Kopeng, Kabupaten Semarang. Metode yang digunakan dalam sterilisasi adalah metode klorin. Pengamatan morfologi koloni dilakukan dengan pewarnaan gram sedangkan Uji Inhibisi α -glukosidase dari metabolit menggunakan metode dari Sancheti. Aktivitas antidiabetes diuji menggunakan metode penghambatan enzim α -glukosidase. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini adalah lima isolat bakteri memiliki yang bentuk beragam yakni *streptobacillus* (isolat C1, isolat C4, dan isolat C5), *diplobacillus* (isolat C2), dan *diplococcus* (isolat C3). Kemampuan inhibisi α -glukosidase tertinggi dihasilkan oleh metabolit sekunder isolat C5 yakni sebesar 45,634% pada konsentrasi 100 ppm. Penapisan fitokimia pada penelitian ini menunjukkan bahwa metabolit sekunder isolat C5 yang memiliki daya inhibisi tertinggi mengandung senyawa flavonoid, tanin, kuinon dan saponin.

Kata kunci: kulit kayu manis, bakteri endofit, metabolit sekunder, enzim α -glukosidase

Abstract

This study was aimed at isolating endophytic bacteria symbiotic with cinnamon bark, obtaining data on the inhibition ability of α -glucosidase enzymes from secondary metabolites of endophytic bacterial isolates obtained, and obtaining information on the chemical content of secondary metabolites of endophytic bacterial isolates obtained. The materials used in this study consisted of the samples of cinnamon bark (*Cinnamomum burmanii*) obtained from Kopeng, Semarang. The method used in sterilization was the chlorine method. Colony morphological observations were carried out by using gram staining, while the α -glucosidase inhibition test of metabolites used the Sancheti method. The antidiabetic activity was tested using the α -glucosidase enzyme inhibition method. The results show that five bacterial isolates had various forms, namely *streptobacillus* (isolate C1, isolate C4, and isolate C5), *diplobacillus* (isolate C2), and *diplococcus* (isolate C3). The highest α -glucosidase inhibition ability was produced by secondary metabolites of isolate C5, namely 45.634% at a concentration of 100 ppm. Phytochemical screening in this study showed that the secondary metabolites of isolate C5 which had the highest inhibitory power contained flavonoids, tannins, quinones and saponins.

Keywords: cinnamon bark, endophyte bacteria, secondary metabolites, α -glucosidase enzyme