

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@homail.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 American 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 terhenti. 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 Subahar (2004) di Meksiko, seluruh bagian tanaman pare dimanfaatkan sebagai obat

diabetes. Buah pare memiliki rasa yang pahit sehingga tidak banyak orang yang suka memakan buah pare. Melihat potensi dari tanaman pare sebagai obat diabetes bakteri endofit dari tanaman pare dapat dimanfaatkan sebagai penghasil senyawa antidiabetes tanpa harus memakan buah pare.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri endofit penghasil inhibitor alfa glukosidase dan mengetahui indeks penghambat serta karakter bakteri endofit dari tanaman pare.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu pengambilan sampel, isolasi bakteri, karakterisasi, dan uji penghambatan enzim α -glukosidase, adapun metode yang dilakukan adalah sebagai berikut

2.1 Sampel *Momordica charantia*

Pengambilan sampel dilakukan di daerah Manyaran kecamatan Semarang Barat. Pengambilan sampel dilakukan dengan membawa tanaman pare (*Momordica charantia*) ke Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro.

2.2 Isolasi dan Pemurnian Bakteri

Isolasi dan pemurnian bakteri diawali dengan dengan sterilisasi permukaan dengan cara mencuci permukaan daun, batang, akar menggunakan air mengalir hingga tanah dan kotoran hilang. Sampel lalu direndam di dalam alkohol 70% selama 1 menit, kemudian direndam dalam larutan natrium hipoklorit 1% selama 5 menit, lalu direndam dalam alkohol 70% selama 1 menit. Tahap terakhir sampel dibilas dengan akuades steril. Sampel yang telah dibilas, permukaannya disayat-sayat secara aseptik, lalu diletakkan pada medium NA. Peletakan sampel dilakukan dengan meletakkan 4 sampel organ pada 1 medium yang telah dibagi 4, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 4x24 jam. Akuades steril yang digunakan untuk membilas sampel digunakan sebagai kontrol yang dicawakan pada medium NA. Koloni yang tumbuh diamati warna, bentuk, dan ukurannya. Tiap koloni yang berbeda dimurnikan dan isolat yang telah murni disimpan pada medium agar miring.

2.3 Karakterisasi Isolat

Karakterisasi Isolat makroskopis. Koloni isolat bakteri yang tumbuh diamati warna, ukuran, bentuk, dan tepian. Tiap koloni yang berbeda dimurnikan dan isolat yang murni disimpan pada medium agar miring.

Karakterisasi Isolat Mikroskopis. Morfologi mikroskopis Isolat murni diamati dengan pewarnaan gram. Pewarnaan dilakukan dengan membersihkan gelas benda menggunakan alkohol hingga bebas lemak, kemudian di usap dengan tisu lalu dipanggang di atas nyala bunsen. Gelas benda di tetesi dengan akuades steril lalu diberi goresan bakteri sebanyak 1 ose lalu diratakan diatas permukaan gelas benda kira-kira seluas 1 cm² lalu difiksasi di atas api bunsen. Apabila sudah tidak panas, sampel ditetesi dengan gram A (Kristal Violet) secara merata sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 1 menit. Sampel dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringanginkan. Sampel di tetesi dengan gram B (Larutan Mordan) sebanyak 2-3 tetes lalu didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Langkah selanjutnya dicuci dengan gram C (alkohol aseton) selama \pm 30 detik, dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Tahap selanjutnya diberi larutan cat penutup atau safranin (gram D) dibiarkan selama 2 menit, dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Gelas benda diamati dengan mikroskop perbesaran kuat (1000x) menggunakan minyak emersi. Bakteri dengan gram positif akan terlihat warna ungu (violet) sedang bakteri gram negatif berwarna merah.

2.4 Uji penghambatan Enzim α -Glukosidase

Pengujian dilakukan dengan metode (Pujiyanto 2010) yang dimodifikasi. Kultur murni dibiakkan pada medium cair yang berisi pati 0,1%, pepton 0,5% dan yeast ekstrak 0,15% pada pH 7 dan diagitasi 120 rpm selama 2x24 jam. Kultur murni yang telah dibiakkan selanjutnya disentrifus pada kecepatan 3500 rpm selama 15 menit untuk diambil supernatannya. Supernatan yang diperoleh selanjutnya diuji penghambatannya terhadap enzim α -glukosidase.

Larutan enzim dibuat dengan melarutkan 1 mg α -glukosidase dalam 100 ml buffer phosphate (pH 7) yang mengandung 200 mg Bovin Serum Albumin. Campuran reaksi terdiri dari 125 μ l enzim α -glukosidase (0,25 unit/ml), 240 μ l buffer phosphate (100 mM, pH 7) dan 10 μ l larutan sampel dalam medium cair. Setelah campuran reaksi diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 5 menit, sebanyak 125 μ l D-nitrofenil- α -glukopiranosida (20mM) ditambahkan dan selanjutnya diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37⁰ C. Reaksi enzim dihentikan dengan penambahan 500 μ l natrium karbonat (200mM) dan reaksi yang dihasilkan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 410 nm. Larutan standar (acarbose) dibuat dengan konsentrasi 1% dalam akuades. Sistem reaksi enzim selengkapnya untuk satu sampel dengan volume total 1 ml dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Reaksi kimia untuk pengujian aktifitas inhibitor α -glukosidase

	Blanko (μ l)	Kontrol (μ l)	S0 (μ l)	S1 (μ l)
Sampel	-	-	10	10
Medium	10	10	-	-
Buffer	240	240	240	240
Enzim	-	125	-	125
Di Inkubasi di 37 ⁰ C selama 5 menit				
Buffer	125	-	125	-
Substrat	125	125	125	125
Di inkubasi di 37 ⁰ C selama 15 menit				
Na ₂ CO ₃	500	500	500	500

Masing-masing pengujian daya hambat sampel terhadap aktivitas α -glukosidase dihitung dalam persen inhibisi dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{K - (S1 - S0)}{K} \times 100\%$$

Keterangan :

K = Absorbansi terkoreksi dari control positif

S1 = Absorbansi terkontrol dari enzim + substrat + inhibitor

S0 = Absorbansi terkontrol dari substrat + inhibitor

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

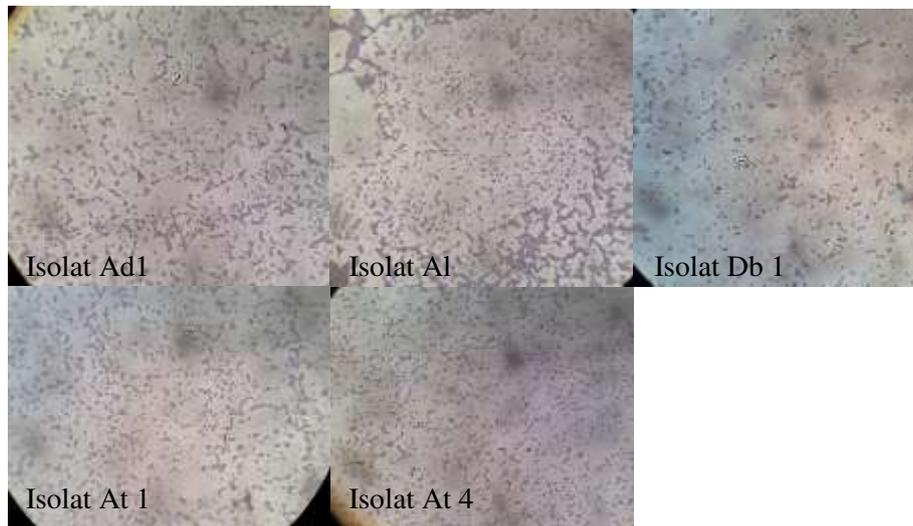
Hasil isolasi bakteri endofit dari akar, batang, dan daun tanaman pare (*Momordica charantia*) diperoleh koloni-koloni bakteri yang tumbuh pada medium Natrium Agar pada suhu ruang. Lima isolat bakteri didapatkan dengan kode At2 dari sampel akar kedua, Db1 dari sampel daun pertama, At 4 dari sampel akar ke empat, At1 dari sampel akar pertama, dan Ab1 dari sampel akar pertama.

Kelima isolat murni selanjutnya diamati karakteristik morfologi koloni dan selnya yang meliputi bentuk koloni, tepi koloni, warna koloni, bentuk sel, dan sifat dinding sel (tipe gram). Menurut cappuccino dan Sherman (2001) karakterisasi morfologi bertujuan untuk mengamati baik morfologi koloni maupun morfologi sel bakteri pada isolat bakteri yang telah diseleksi. Hasil pengamatan morfologi koloni dan sel isolat bakteri endofit dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Morfologi koloni dan sel isolat bakteri endofit tanaman pare (*M. charantia*)

Kode	Morfologi koloni			Moforlogi bakteri	
	Warna	Bentuk	Tepi	Bentuk	Gram
Al 2	Putih kekuningan	Bulat	Erose	Coccus	Positif
Db 1	Putih	Bulat	Erose	Coccus	Negatif
At 4	Putih	Irregular	Filamentous	Coccus	Negatif
At 1	Putih	Irregular	Undulate	Coccus	Negatif
Ad 1	Putih	Irregular	Lobate	Coccus	Positif

Tabel 2. diatas menunjukkan keragaman morfologi isolat bakteri endofit dari tanaman pare (*Momordica charantia*) baik koloni maupun selulernya. Koloni bakteri yang diperoleh umumnya berwarna putih namun isolat Al 2 berwarna putih kekuningan. Bentuk koloni dari masing-masing isolat adalah isolat Al 2 dan Db 1 berbentuk bulat atau circular sedangkan isolat At 4, At1, dan Ad 1 berbentuk tidak beraturan atau irregular. Tepi dari masing-masing isolat adalah isolat Al 2 dan Db 1 memiliki tepi membulat dan rata atau erose, sedangkan At 4 memiliki tepi filamentous, At 1 memiliki tepi undulate, dan isolate Ad 1 memiliki tepi Lobate. Bentuk sel dari seluruh isolat adalah coccus atau bulat (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil pengamatan mikroskopis isolat endofit tanaman pare (*Momordica charantia*) dengan perbesaran 1000x.

Hasil pewarnaan gram pada isolat endofit tanaman pare (*Momordica charantia*) yang di dapat adalah isolat Al 2 memiliki tipe gram positif, isolat Db 1 memiliki tipe gram negatif, isolat At 4 memiliki tipe gram negatif, isolat At 1 memiliki tipe gram negatif, dan isolat Ad 1 memiliki tipe gram positif .

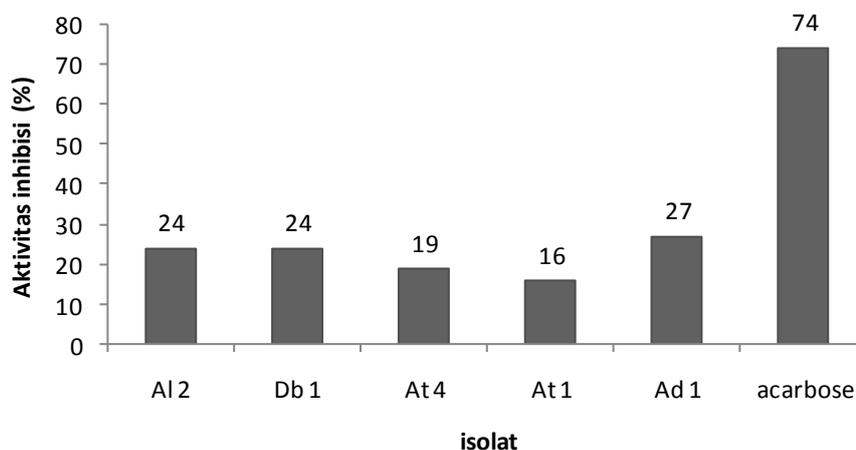
Menurut Madigan dkk., (2006) bakteri Gram positif hanya mempunyai membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel tebal berupa peptidoglikan. Sekitar 90% dari dinding sel tersebut tersusun atas peptidoglikan, sedangkan sisanya berupa molekul asam teikhoat. Menurut Cooper dan Hausmann (2007) bakteri Gram negatif memiliki sistem membran ganda di mana membran plasmanya diselimuti oleh membran luar permeabel. Bakteri ini mempunyai dinding sel tebal berupa peptidoglikan, yang terletak di antara membran dalam dan membran luarnya.

Setelah dikarakterisasi isolat yang di dapat diuji aktifitas penghambatannya terhadap enzim α -glukosidase. Menurut Tan & Zhou (2001) dalam Radji (2004) bakteri endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman membentuk koloni tanpa membahayakan inangnya. Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa bakteri endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik dari tanaman inangnya ke mikroba endofit. Tujuan pengujian adalah untuk memastikan bahwa isolat yang didapat menghasilkan senyawa metabolit penghambat enzim α -glukosidase yang sama dengan tanaman inangnya atau tidak. Pengujian dilakukan dengan mengambil supernatan dari isolat lalu diuji aktifitas penghambatannya terhadap aktivitas enzim α -glukosidase. Hasil pereaksian diukur menggunakan spektrofotometri dan hasil pengamatan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kemampuan penghambatan supernatan isolat endofit tanaman pare (*M. charantia*) terhadap aktifitas enzim α -glukosidase.

Kode isolate	Absorbansi	Daya hambat
Al 2	0,69	24,1 %
Db 1	0,69	24,1 %
At 4	0,72	19,3%
At 1	0,74	16,1%
Ad 1	0,67	27,4%

Tabel 3 di atas menunjukkan aktifitas penghambatan supernatan kelima isolat bakteri endofit tanaman pare (*Momordica charantia*) yang berpotensi sebagai penghasil inhibitor α -glukosidase. Pengukuran aktifitas enzim dilakukan berdasarkan hasil absorbansi p-nitrofenol yang dihasilkan dari reaksi pengujian. Menurut Sugiwati (2009) enzim α -glukosidase akan menghidrolisis substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menjadi p-nitrofenol (berwarna kuning) dan α -D-glukopiranosida. Jadi apabila suatu sampel memiliki kemampuan menghambat enzim α -glukosidase maka p-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang (Dewi dkk., 2007).



Gambar 2. Histogram nilai penghambatan aktifitas enzim α -glukosidase dari isolat endofit tanaman pare (*Momordica charantia*) dan acarbose

Gambar 2 diatas menunjukkan nilai penghambatan aktifitas enzim α -glukosidase dapat dilihat bahwa isolat Al 2 memiliki daya hambat sebesar 24,1% sama dengan isolat Db 1, isolat At 4 memiliki daya hambat sebesar 19,3% , isolat At 1 memiliki daya hambat 16,1%, dan isolat Ad 1 memiliki daya hambat sebesar 27,4%. Semua isolat memiliki daya hambat terhadap enzim α -glukosidase lebih kecil dari kontrol positif acarbose sebesar 74%, namun isolat Ad 1 memiliki daya hambat lebih besar dari isolat yang lain yaitu sebesar 27,4%. Hal ini menunjukkan bahwa isolat Ad 1 berpotensi sebagai penghasil inhibitor yang mungkin lebih besar dari pada acarbose apabila senyawa inhibitorynya dimurnikan.

Kerja enzim dapat dihambat oleh senyawa kimia tertentu. Enzim memiliki sisi aktif yang dapat mengenali secara spesifik substrat yang sesuai, sehingga memungkinkan untuk merancang inhibitor enzim yang dapat menghalangi pengikatan substrat pada enzim. Ada dua jenis utama penghambatan enzim, yaitu yang bekerja secara tidak dapat balik (irreversible) dan dapat balik (reversible) (Lehninger dkk., 2004).

Inhibisi irreversible bekerja dengan merusak gugus fungsional molekul enzim yang penting bagi aktivitas katalitiknya. Inhibitor terikat secara kovalen pada sisi aktif enzim dan membentuk kompleks enzim inhibitor yang bersifat tetap. Inhibisi reversible ditandai oleh adanya reaksi kesetimbangan diantara enzim dan inhibitor. Inhibitor reversible berikatan dengan enzim melalui

ikatan yang lemah sehingga dapat dilepaskan dari enzim dengan cara pengenceran, filtrasi gel, atau dialysis (Lehninger dkk., 2004; Sugiawati, dkk., 2005).

Inhibisi reversible dibagi menjadi dua jenis, yaitu inhibisi reversible kompetitif dan inhibitor reversible nonkompetitif. Inhibisi reversible kompetitif terjadi jika inhibitor berkompetisi dengan substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim. Inhibisi reversible nonkompetitif terjadi jika inhibitor tidak berikatan pada sisi aktif enzim dan mengubah konformasi molekul enzim sehingga menurunkan aktivitas katalitik enzim (Lehninger, dkk., 2004).

Mekanisme kerja inhibisi dari supernatan isolat yang berperan sebagai inhibitor belum diketahui. Menurut (Lehninger dkk., 2004) untuk mengetahui mekanisme inhibisi dari suatu inhibitor, maka perlu dilakukan pemetaan kebalikan ganda data kecepatan enzim. Prinsip penghambatan dari acarbose yaitu dengan mekanisme kerja inhibisi dari flavonoid yang memiliki efek penghambatan terhadap enzim α -glukosidase melalui ikatan hidroksi dan substitusi pada cincin β , sehingga menghasilkan penundaan hidrolisis karbohidrat dan absorpsi glukosa serta menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Ho dan Bray, 1999).

Acarbose merupakan suatu oligosakarida yang diperoleh dari proses fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes utahensis*. Acarbose merupakan obat komersial dan dipasarkan di Indonesia dengan nama Glucobay (info Obat Indonesia). Obat ini digunakan untuk menghambat kerja enzim yang memecah karbohidrat menjadi glukosa (Rahman, 2011). Nilai inhibisi acarbose yang di dapat pada penelitian ini adalah 74% artinya acarbose mampu menghambat kerja enzim α -glukosidase dengan menutup 74% sisi aktif enzim yang akan berikatan dengan substrat (Rahman, 2011).

Peningkatan penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase oleh isolat endofit tanaman pare (*Momordica charantia*) perlu diteliti lebih lanjut sehingga bakteri tersebut dapat dimanfaatkan sebagai agen biologi penghasil obat di sektor industri farmasi. Adapun upaya untuk meningkatkan kualitas produk dari bakteri endofit ini adalah dengan mengoptimalkan kondisi lingkungan hidup, pemurnian senyawa inhibitor, mengetahui prinsip kerja inhibitor hingga rekayasa genetik.

4. KESIMPULAN

Isolasi bakteri endofit dari tanaman pare (*Momordica charantia*) menggunakan medium Natrium Agar pada suhu ruang didapatkan 5 isolat bakteri yang dapat menghambat enzim α -glukosidase. Isolat bakteri yang di dapatkan sebagian besar merupakan bakteri gram negatif berjenis coccus. Aktivitas penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh isolat Ad1.

DAFTAR PUSTAKA

- America Diabetes Association. 2003. *Diabetes Melitus*. <http://www.diabetes.org/>. 21 Januari 2015.
- Ansori, A.N.M. 2012. *Bakteri Gram Positif dan Negatif*. <http://arifworldscience.blogspot.com/2012/06/bakteri-gram-positif-dan-negatif.html>. 21 Januari 2015.
- Arifin, L. Augusta. 2011. *Panduan Terapi Diabetes Mellitus Tipe 2 Terkini*. http://pustaka.unpad.ac.id/wpcontent/uploads/2011/03/panduan_terapi_diabetes_mellitus.pdf. 21 Januari
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. 2002. *Biochemistry 5th Edition*. New York: W.H. Freeman & Co Ltd.
- Dewi RT, Iskandar YM, Hanafi M, Kardono LB, Angelina M, Dewijanti ID, Banjarnahor SDS. 2007. Inhibitory effect of koji *Aspergillus terreus* on α -glukosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Pakistan Journal of Biological Science*. 10 (18): 131-13135.
- Departemen Kesehatan. 2005. *Jumlah Penderita Diabetes Indonesia Ranking ke-4 Di Dunia*. [Terhubung berkala]. <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=view-article&sid=1183&Itemid=2>. 21 Januari 2015.
- Direktur Gizi Masyarakat. 2003. *Peran diet dalam penanggulangan diabetes*. [makalah]. Direktorat Jendral Bina Kesehatan Masyarakat, Departemen Kesehatan RI.
- Dixit VP, Kimna P, Bhargava SK. 1978. Effects of *Momordica charantia* L. Fruit extract on the Testicular Function of Dog. *J. Med. Plant Res*. 34:280
- Cappuccino, J.G. & Sherman. 2001. *Microbiology: A Laboratory Manual*. Addison Wesley Publishing Company, New York.
- Clay, K . 1988 . Fungal endophytes of grasses : A defensive mutualism between plants and fungi. *Ecology* . 69 , (1) , 10-16 .

- Cooper, G.M. & R.E. Hausman. 2007. *The Cell: A Molecular Approach*. 4th ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Ho E, Bray TM. 1999. Antioxidants, NFKB activation, and diabetogenesis. *Proceeding of the society for experimental Biology and Medicine* 222: 205-213.
- Info Obat Indonesia. 2009. *Acarbose*. <http://infodrugindonesia.blogspot.com/2009/07/acarbose.html> (21 januari 2015).
- Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD. 1999. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. Massachusetts : Mc Graw Hill.
- Lehninger AL, David LN, Michael MC. 2004. *Biochemistry*. Indiana: WH Freeman & Co.
- Madigan, M.T, Martinko J.M, Brock TD. 2006. *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson Prentice Hall, New Jersey.
- Moedjiono AW. 2007. Obat *Diabetes, Sekali Dayung Dua Tiga Pulau Terlampaui*. [terhubung berkala]. [http://www.kompas.co.id/kompas-cetak/0706/08/kesehatan/3585916 .htm](http://www.kompas.co.id/kompas-cetak/0706/08/kesehatan/3585916.htm) [Jun 2007]
- Suyono S. 1999. *Patofisiologi Diabetes Melitus didalam Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. Jakarta: Aksara Buana.
- Rahman DA. 2011. *Aktivitas antihiperqlikemik dar biomassa dan polisakarida ekstrakseluler Porphyridium cruentum sebagai inhibitor α -glukosidase*. Departemen teknologi hasil perairan fakultas perikanan dan kelautan IPB.Bogor.
- Pujiyanto S, & Ferniah RS. 2010. Aktifitas Inhibitor alpha-Glukosidase bakteri Endofit PR-3 yang Diisolasi dari Tanaman Pare (*Momordica charantia*). *BIOMA*. Vol. 12 No. 1. Hal 13.
- Radji., 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2: 113-126.
- Seiler, J. P. 2000. *Good Laboratory Practice*. Swiss. Springer-Verlag Berlin Heidelberg Media. Jerman.
- Subahar T. 2004. *Khasiat dan Manfaat Pare: si pahit pembasmi penyakit*. Cetakan Pertama . Jakarta: AgroMedia Pustaka.
- Sugiwati, S., Setiasi, S., & afifah, E. 2009. Antihyperglycemic Actinity of The Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa (scheff) boerl*] leaf Extracts as an Alpha-glucosidase inhibitor. *Makara, Kesehatan*, Vol 13. No. 2 : 74-78.
- Tan, R. X., and W. X Zou.2001 Endophytes : a rich source of functional metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 18: 448-459.
- UKK Endokrinologi. 2003. *Konsensus nasional pengelolaan diabetes melitus tipe-1 diIndonesia*. Jakarta. h. 5-45.
- WHO World Health Organization. 2005. *Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia*. Geneva, Switzerland, IDF; 2005:5.