

Inhibisi Enzim α -Glukosidase oleh *Bacillus Megaterium* ITU 9 Isolat Sumber Air Panas Sumatera Utara

Finna Piska^{1*}, Chrismis Novalinda Ginting², Harmileni³, Edy Fachrial²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi, dan Ilmu Kesehatan, Universitas Prima Indonesia, Medan, Sumatra Utara, Indonesia

²Fakultas Kedokteran, Universitas Prima Indonesia, Medan, Sumatra Utara, Indonesia

³Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Politeknik Teknologi Kimia Industri, Medan, Sumatra Utara, Indonesia

Email: finnapiska@unprimdn.ac.id

ABSTRAK

Diabetes adalah penyakit multifaktor yang insidensinya meningkat dengan pesat di negara berkembang. Diabetes mellitus (DM) tipe 2 adalah jenis diabetes yang paling umum ditemui, dimana penyakit ini erat kaitannya dengan kemajuan industri dan teknologi sehingga mempengaruhi gaya hidup seseorang. Penanggulangan penyakit ini dapat dilakukan dengan menghambat aktivitas α -glukosidase. Beberapa mikroorganisme terutama dari sumber air panas dapat dimanfaatkan sebagai penghasil senyawa inhibitor α -glukosidase. Pada penelitian sebelumnya isolat *Bacillus megaterium* ITU 9 merupakan isolat yang diisolasi dari sumber air panas. Pada penelitian ini diuji kemampuan isolat *Bacillus megaterium* ITU 9 sebagai penghasil inhibitor α -glukosidase dengan metode sumur. Daya persen inhibisi supernatan *B. megaterium* ITU 9 terhadap kerja enzim α -glukosidase adalah sebesar 46,67%, sedangkan daya persen inhibisi acarbose yaitu 70%. Dalam hal ini *B. megaterium* ITU 9 termofilik memiliki daya inhibisi terhadap enzim α -glukosidase.

Kata Kunci: Bakteri Termofilik, Inhibitor, Akarbose, Metode Sumur, Persen Inhibisi

ABSTRACT

*Diabetes is a multifactorial disease whose incidence is increasing rapidly in developing countries. Diabetes mellitus (DM) type 2 is the most common type of diabetes, where this disease is closely related to industrial and technological advances, thus affecting a person's lifestyle. This disease can be controlled by inhibiting α -glucosidase activity. Several microorganisms, especially from hot springs, can be used to produce α -glucosidase inhibitor compounds. In previous research, the *Bacillus megaterium* ITU 9 isolate was an isolate isolated from hot springs. In this study, the ability of the *Bacillus megaterium* ITU 9*

*isolate to produce α -glucosidase inhibitors was tested using the well method. The percent inhibition power of *B. megaterium* ITU 9 supernatant on the action of the α -glucosidase enzyme was 46.67%, while the percent inhibition power of acarbose was 70%. In this case, the thermophilic *B. megaterium* ITU 9 has inhibitory power against the α -glucosidase enzyme.*

Keywords: *Inhibitor, Thermophilic Bacteria, Acarbose, The Well Method, The Percent Inhibition*

I. PENDAHULUAN

Bakteri termofilik merupakan bakteri yang hidup di lingkungan dengan suhu 45-55°C, sudah memiliki kemampuan resisten dan adaptasi terhadap lingkungan bersuhu tinggi. Menurut Octarya *et al.* (2022), mikroba yang memiliki kemampuan termofilik merupakan mikroba yang hidup di lingkungan dengan suhu 45 hingga 80°C seperti wilayah sumber air panas, pedalaman laut, tanah, dan pupuk kompos. Bakteri merupakan mikroba dengan populasi terbanyak yang hidup di lingkungan ekstrim seperti sumber air panas. Roy *et al.* (2020) berhasil mengisolasi bakteri dari sumber air panas Trans-Himalayas sebanyak 64 isolat dengan family *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Spirochates*, *Cyanobacteria*, *Tenericutes*, dan *Firmicutes*.

Alrumman *et al.* (2018) menyatakan bahwa bakteri termofilik mengeluarkan senyawa metabolit antimikroba seperti *cyclohexyl acrylate*, *imiloxan*, *tabtoxinine- β -lactam*, *nicotinyl alcohol*, *mephenesin*, *etomidate*, *L-menthyl lactate*, (3-

aminopropyl) dibutylborane, *filbertone*, dan *1-dotriacontanol*. Igarashi *et al.* (2019) juga menyatakan tentang senyawa metabolit dari *Thermosporothrix hazakensis* yaitu *ktedonoketone* dan sebuah senyawa *α -diketone: 2'-oxosattabacin*. Berdasarkan hal ini bakteri termofilik dapat dimanfaatkan sebagai penghasil senyawa metabolit dengan aktivitas seperti antihipertensi, antidiabetes berupa inhibitor α -glukosidase, dan antibakteri.

Inhibitor α -glukosidase merupakan senyawa yang dapat menghambat hidrolisis karbohidrat yang dikonsumsi dari makanan dan minuman, dan mencegah penyerapan glukosa di usus halus sehingga kadar glukosa di dalam darah dapat terjaga. Inhibitor α -glukosidase merupakan agen jenis baru sebagai antidiabetes (Simamora *et al.*, 2019). Diabetes adalah penyakit multifaktor yang insidensi nya meningkat dengan pesat di negara berkembang. Diabetes mellitus (DM) tipe 2 adalah jenis diabetes yang paling umum ditemui, dimana penyakit ini erat kaitannya dengan kemajuan industri dan teknologi sehingga mempengaruhi gaya hidup seseorang. Gaya

hidup yang tidak sehat seperti konsumsi makanan kaya gula sederhana, tidak berolahraga, dan tingkat stress yang tinggi adalah beberapa faktor pemicu diabetes tipe 2. Diabetes mellitus tipe 2 merupakan penyakit yang mana tubuh tidak sensitif dengan hormon insulin dan glukagon yang dihasilkan oleh sel β -pankreas. Pengobatan diabetes telah banyak digunakan oleh penderita seperti *acarbose* dan metformin yang dijual secara komersil.

Akan tetapi beberapa laporan menyebutkan bahwa konsumsi obat tersebut dapat menimbulkan efek samping seperti diare dan kembung pada perut (Kumar *et al.*, 2018; Nyenwe *et al.*, 2011). Pencarian senyawa inhibitor α -glukosidase dari sumber daya alam telah meningkat dilakukan oleh para peneliti khususnya di dalam bidang farmasi dan bioteknologi. Inhibitor α -glukosidase sebagai senyawa yang paling efektif untuk mengurangi dampak hiperglikemia pasca-prandial (PPHG) dari semua obat antidiabetes (Sarjono *et al.*, 2020). Beberapa mikroorganisme menunjukkan aktivitas alfa glukosidase, terutama kelompok bakteri, seperti *Bacillus* sp. (Simon *et al.*, 2023).

Isolat *Bacillus megaterium* ITU 9 merupakan bakteri yang diisolasi oleh Ginting *et al.* (2023) dari sumber air panas yang berjarak 50 km dari kota Medan, Sumatra Utara dengan titik koordinat

3°13'24.97728 N" dan 98°31'1.38792 E". Pada penelitian ini isolat tersebut akan diuji sebagai penghasil inhibitor α -glukosidase dengan metode sumur. Pemanfaatan bakteri sebagai penghasil inhibitor α -glukosidase, baik itu bakteri yang diisolasi dari makanan, usus, dll. Kim *et al.* (2023) berhasil menguji aktivitas *Bacillus coagulans* sebagai inhibitor alfa glukosidase. Gao *et al.* (2022) juga telah menguji aktivitas *Bacillus amyloliquefaciens* sebagai inhibitor α -glukosidase dan diketahui senyawa aktif tersebut merupakan *1-deoxynojirimycin*.

II. METODE

A. Bahan dan Alat penelitian

Pada penelitian ini menggunakan isolat *Bacillus megaterium* ITU 9 yang diisolasi oleh Ginting *et al.* (2023) dimana isolat ini merupakan isolat termofilik suhu 45°C. Media *Nutrient Agar* (NA) (*Merck*® *KGaA*) dan *Nutrient Broth* (NB) (*Merck*® *KGaA*). Pada uji inhibisi α -glukosidase digunakan sukrosa sebagai substrat, enzim komersial berupa enzim α -glukosidase kasar (*crude*®), larutan dapar pospat (*Merck*® *KGaA*) pH 7, aquadest. Alat yang digunakan adalah cawan petri, tabung reaksi, Beaker gelas (*Pyrex*®), Erlenmeyer (*Pyrex*®), timbangan analitik (*Shimadzu*®), hotplate & stirrer (*IKA*®), autoklaf (*Himaraya*®), *BIOBASE Biochemistry*

Science Cabinet II (BSC), instrumen *Smartreader*TM 96, mikroplate 96 sumur.

B. Prosedur

Isolat *Bacillus megaterium* ITU 9 ditumbuhkan dan diremajakan di media NA selama 24 jam dan kemudian diinokulasi ke media NB dengan volume 25 ml. Setelah diinokulasi selama 24 jam di media NB, media disonifikasi selama 5 menit. Setelah itu media disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan agitasi 4500 rpm. Supernatan diambil dengan cara dituang dan disaring menggunakan mikro filter steril. Supernatan ini yang akan diuji

sebagai inhibitor α -glukosidase dengan metode sumur menggunakan instrumen *Smartreader*TM 96 pada panjang gelombang 405 nm menggunakan mikro plate (96 sumur). Enzim α -glukosidase (*crude*) dibuat menjadi larutan dengan konsentrasi 10 U/ml dalam dapar pospat pH 7. Substrat yang digunakan adalah sukrosa Ouassou *et al.* (2018) dibuat dengan konsentrasi 50 mM. Berikut Tabel I berupa campuran komposisi dan rancangan reaksi dari uji inhibitor α -glukosidase (Susilowati *et al.*, 2019). Perlakuan yang dilakukan terhadap kontrol positif yaitu *acarbose*.

Tabel I. Campuran komposisi dan rancangan reaksi pada uji inhibitor α -glukosidase

	Campuran komposisi			
	A ₀ (μL)	A ₁ (μL)	AI ₀ (μL)	AI ₁ (μL)
Supernatan	-	-	2	2
Media NA	2	2	-	-
Dapar pospat pH 7	48	48	48	48
Enzim	-	25	-	25
Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit				
Dapar pospat pH 7	25	-	25	-
Substrat	25	25	25	25
Inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit				
Na ₂ CO ₃	100	100	100	100

Rumus menghitung persentase inhibisi menggunakan rumus Shai *et al.* (2010) with codes A₁, A₀, AI₀, AI₁ :

Abs. sampel uji total = Abs. sampel uji – Abs. AI.

% uji aktivitas = Abs. sampel uji total / Abs. kontrol positif x 100%.

Absorbansi sampel uji total = Absorbansi sampel uji + sukrosa + *crude* enzim.

Absorbansi AI = Absorbansi sampel uji + sukrosa.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji inhibitor α -glukosidase diperoleh dari supernatan isolat *B. megaterium* ITU 9. Supernatan tersebut diuji aktivitasnya untuk menghambat

aktivitas enzim α -glukosidase untuk menghidrolisis sukrosa. Daya persen inhibisi supernatan *B. megaterium* ITU 9 terhadap kerja enzim α -glukosidase adalah sebesar 46,67%. Nilai tersebut berbeda dari

daya persen inhibisi acarbose yang diperoleh dari penelitian ini yaitu 70%.

Pada penelitian ini dilakukan uji inhibitor α -glukosidase dari isolat *B. megaterium* ITU 9, dimana isolat tersebut merupakan hasil isolasi dari sedimen sumber air panas yang ada di Sumatra Utara, Indonesia (Ginting *et al.*, 2023). *Bacillus megaterium* ITU 9 memiliki bentuk sel basil, gram positif, dan berwarna *opaque* (Ginting *et al.*, 2023). Bersamaan dari hasil Wu *et al.* tersebut *B. megaterium* ITU 9 diperoleh dari sedimen sumber air panas.

Bacillus megaterium ITU 9 ini tumbuh di suhu 45°C di media *Nutrient Agar* (NA). *B. megaterium* ITU 9 telah diuji dari uji pewarnaan gram, hingga kemampuannya dalam menghambat patogen *E.coli* dan *S. aureus*. Bakteri yang hidup di lingkungan bersuhu tinggi memiliki penyusun sel dari pembentuk DNA hingga protein berbeda dengan bakteri pada umumnya yang hidup di suhu 37°C.

Inhibitor α -glukosidase (*alpha glucosidase inhibitor, AGI*) adalah salah satu senyawa antidiabetes yang beraktivitas dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase. Struktur dari AGI hampir serupa dengan substrat enzim glukosidase berupa disakarida atau oligosakarida, dapat terikat pada sisi aktif dari enzim glukosidase (Hossain *et al.*, 2020).

Makanan yang diserap usus dilakukan pengurangan penyerapan karbohidrat, dimana hal ini merupakan sebuah pendekatan terapeutik bagi hiperglikemia postpandrial. Polisakarida kompleks dari makanan akan dihidrolisis enzim amylase menjadi dekstrin. Kemudian selanjutnya dekstrin dihidrolisis oleh enzim α -glukosidase menjadi glukosa, sebelum memasuki sirkulasi darah melewati penyerapan epitelium. Enzim α -glukosidase mengkatalisis pemotongan ikatan glikosidik pada oligosakarida. Jumlah enzim α -glukosidase yang beraktivitas bergantung pada jumlah, konfigurasi, dan posisi gugus hidroksil di dalam molekul glukosa. Aktivitas enzim glukosidase adalah aktivitas yang penting bagi beberapa reaksi biokimia. Oleh karena itu hiperglikemia yang mana konsentrasi glukosa pada darah tinggi melebihi keadaan normal seperti yang terjadi pada penderita diabetes, menurunkan aktivitas enzim α -glukosidase dapat mengatasi kondisi hiperglikemia karena jumlah monosakarida yang dapat diserap usus menjadi berkurang (Febrinda *et al.*, 2013).

Pada uji inhibitor α -glukosidase, suhu inkubasi yang digunakan adalah 37°C, agar sesuai dengan kondisi aktivitas biologis sel tubuh manusia. Penyesuaian ini dilakukan untuk menguji keaktifan supernatan pada keadaan tersebut menghambat kerja enzim α -glukosidase.

Enzim dari manusia aktif pada suhu tubuh 37°C, dan masih dapat mempertahankan strukturnya pada suhu 45°-55°C (Wahyuni, 2017). Dengan demikian senyawa inhibitor α -glukosidase memang optimal diperoleh dari bakteri termofilik. Pada suhu tinggi senyawa inhibitor α -glukosidase masih bertahan dan mampu bersaing dengan enzim α -glukosidase.

Glukosa pada tubuh terdapat di dalam darah, dimana darah memiliki pH 6,8-7. Penggunaan pH pada uji inhibitor α -glukosidase ini juga menggunakan pH 7. Hal ini untuk menyesuaikan keadaan pH di dalam mikroplate uji dengan keadaan pH di darah. Perubahan dari pH dari nilai optimum dapat menurunkan aktivitas karena adanya perubahan ionisasi gugus fungsi dari sisi aktif enzim (Wahyuni, 2017). pH optimum pada sel makhluk hidup biasanya adalah 6,8, namun setiap lingkungan enzim beraktivitas memiliki perbedaan, seperti pH lambung adalah sekitar 2,0.

Proses inhibisi kerja enzim dapat berupa irreversibel dan reversibel. Irreversibel merupakan aktivitas inhibitor mengikat dan merusak gugus fungsi pada sisi aktif enzim. Reversibel merupakan mengikatnya inhibitor ke enzim dimana struktur inhibitor memiliki kesamaan dengan substrat. Ikatan antara inhibitor dengan enzim merupakan nonkovalen, kedua senyawa tersebut dapat putus dan

kembali ke bentuk semula (Ischak *et al.*, 2017).

Tomasik *et al.* (2012) menyatakan bahwa genus *Bacillus* sp. mampu menghasilkan enzim α -amilase beserta turunannya. Seiring dengan penelitian ini, isolat C3 yang merupakan isolat dari kulit kayu manis, memberikan daya inhibisi α -glukosidase sebesar 45,63% (Sarjono *et al.*, 2020). Sarjono *et al.* (2020) menyatakan bahwa konsentrasi inhibitor yang digunakan pada uji inhibisi enzim sangat berpengaruh, agar dapat bersaing dengan jumlah unit enzim yang ada. Jumlah molekul inhibitor yang kurang dari jumlah unit enzim tidak akan mampu membentuk kompleks dengan enzim yang akan diinhibisi. Dengan demikian proses inhibisi kompetitif dari supernatan *B. megaterium* ITU 9 pada penelitian ini menjadi rendah dan diperoleh daya inhibisi kurang dari 50%. Sarjono *et al.* (2020) menyatakan proses inhibisi kompetitif akan menghasilkan nilai optimum apabila konsentrasi inhibitor tinggi, dengan demikian dapat menutup sisi aktif dari pada enzim. Di sisi lain kemungkinan *B. megaterium* IUT 9 menghasilkan enzim α -amilase juga ada, sehingga menjadi faktor menurunkan daya inhibisi yang dihasilkan.

Pada proses fermentasi, mikroba diberikan sumber nutrisi yang dapat menginduksi mikroba tersebut mengeluarkan senyawa metabolit.

Metabolit tersebut dihasilkan dari rangsangan membran terhadap lingkungan sehingga reseptor dapat merespon dan gen penghasil metabolit tersebut dapat berekspresi. Ekspresi gen ini tentunya diawali dari induser pada sumber nutrisi mikroba, jika tidak ada kesesuaian dengan metabolit yang diinginkan maka metabolit tersebut tidak akan diekspresikan. Jumlah molekul inhibitor α -glukosidase sedikit dapat dipengaruhi karena tidak adanya induser pada media nutrisi mikroba (Nofiani *et al.*, 2009).

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa isolat *B. megaterium* ITU 9 termofilik memiliki kemampuan menghasilkan senyawa metabolit sebagai inhibitor enzim α -glukosidase dengan persentase inhibisi 46,67%.

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis pada artikel ini menyatakan bahwa tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Universitas Prima Indonesia yang telah menyediakan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian ini dan pihak-pihak terkait dalam penyelesaian penelitian artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alrumman, S. Yasser, S. M. M., Shekha, A. Q., & Tarek, H. T. T. (2018). Hydrolytic enzyme production by thermophilic bacteria isolated from Saudi hot springs. 5(13): 470-480. doi: 10.1515/biol-2018-0056
- Febrinda, A. E., Made, A., Tutik, W., & Nancy, D. Y. (2013). Kapasitas antioksidan dan inhibitor alfa glukosidase ekstrak umbi bawang dayak. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*. 24(2): 161-167.
- Gao, Y. *et al.* (2022). Glucosidase Inhibitory Activity of Fermented Okara Broth Started with the Strain *Bacillus amyloliquefaciens* SY07. *Molecules*. 27:1-11. <https://doi.org/10.3390/molecules27031127>
- Ginting, C. N., Finna, P., Harmileni, & Edy, F. (2023). Molecular identification of thermophilic bacteria with antimicrobial activity isolated from hot springs in North Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas*. 24(2): 752-758. DOI: 10.13057/biodiv/d240210
- Hossain, U., Abhishek, K.D., Sumit, G., Parames, C. Sill. (2020). An overview on the role bioactive alpha glucosidase inhibitors in ameliorationg diabetic complications. *Food and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111738>
- Igarashi, Y. *et al.* (2019). Ktedonoketone and 2'-oxosattabacin, benzenoid metabolites from a thermophilic bacterium *Thermosporothrix hazakensis* in the phylum *Chloroflexi*. *JARA*. <https://doi.org/10.1038/s41429-019-0195-7>
- Ischak, N. I., Yuszda K. S., & Deasy, N. B. (2017). *Buku Ajar Biokimia Dasar*. UNG Press
- Kim, H. W., Choi, S. Y., Lee, D. C., & Rhee, H.I. (2023). Intestinal Production of Alpha-Glucosidase

- Inhibitor by *Bacillus coagulans* Spores. *Microorganisms*. 11(6).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11061462>
- Nofiani, R., Nurbetty, S., & Sapar, A. (2009). Antimicrobial activities of methanol extract from unidentified sponge associated bacteria in Lemukutan Island, Kalimantan Barat. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 1(2), 33-41.
- Octarya, Z., Titania, T. N., Yuana, N., & Saryono. (2022). Molecular Identification, GC-MS Analysis of Bioactive Compounds and Antimicrobial Activity of Thermophilic Bacteria Derived from West Sumatra Hot-Spring Indonesia. *HAYATI Journal of Biosciences*. 29(4): 549-561. DOI:10.4308/hjb.29.4.549-561
- Ouassou, H., *et al.* (2018). Inhibition of α -glucosidase, intestinal glucose absorption, and antidiabetic properties by *Caralluma europaea*. *Hindawi*.
<https://doi.org/10.1155/2018/9589472>
- Roy, C. *et al.* (2020). Microbiome and ecology of a hot spring-microbialite system on the Trans-Himalayan Plateau. *Scientific Reports*.
- Sarjono, P. R., Hendra, D. R. M., Nies S. M. N., Nor, B. A. P., & Ismiyanto. (2020). Aktivitas antidiabetes metabolit sekunder bakteri endofit asal kulit kayu manis. *Saintek*. 25(2): 143-156.
- Shai, L. J., *et al.* (2010). Yeast alpha glucosidase inhibitory and antioxidant activities of six medicinal plants collected in Phalaborwa, South Africa. *South African Journal of Botany*. 76(3): 465-470.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2010.03.002>
- Simon, A., Joan, C., Shahneela, M., Ekaterina, K., John, D., & Kieran, R. (2023). *Bacillus megaterium* Renuspore® as a potential probiotic for gut health and detoxification of unwanted dietary contaminants. *Frontiers in Microbiology*. DOI 10.3389/fmicb.2023.1125616
- Susilowati, A., Citra, P. Y. D., & Siti, L. A. S. (2019). Isolation and identification of endophytic bacteria from Salak Pondoh (*Salacca edulis*) fruit as a-glycosidase inhibitor producer. *Biosaintifika*. 11(3): 352-359. DOI: <http://dx.doi.org/10.15294/biosaintifika.v11i3.21031>
- Wahyuni, S. (2017). *Biokimia Enzim dan Karbohidrat*. UNIMAL Press. Lhoukseumawe
- Wu, J., *et al.* (2019). Endophytic *Bacillus megaterium* BM18-2 mutated for cadmium accumulation and improving plant growth in Hybrid *Pennisetum*. *Biotechnology Reports*.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00374>
- Yao, J., Lili, W., Wenju, Z., Mengjian, L., & Junli, N. (2020). Effects of *Bacillus megaterium* on growth performance, serum biochemical parameters, antioxidant capacity, and immune function in suckling calves. *Open Life Sci*. 15(1): 1033-1041. doi: 10.1515/biol-2020-0106
- Younes, N. A., *et al.* (2023). Effects of microbial biostimulants (*Trichoderma album* and *Bacillus megaterium*) on growth, quality attributes, and yield of onion under field conditions. *Heliyon*.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14203>