

## **Aktivitas Inhibitor $\alpha$ -amilase yang Diproduksi oleh Bakteri Endofit dari Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)**

**Merysa Resdiani<sup>1</sup>, Sri Pujiyanto<sup>2</sup>, Budi Raharjo<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

<sup>2,3</sup>Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang

\*Email : [merysaresdiani20@gmail.com](mailto:merysaresdiani20@gmail.com)

### **Abstrak**

Diabetes mellitus tipe 2 disebabkan oleh terhambatnya penyerapan glukosa ke dalam sel yang mengakibatkan tingginya konsentrasi glukosa di dalam darah. Penyebab tingginya kadar glukosa darah dapat disebabkan oleh obesitas, resistensi insulin, kurangnya aktivitas fisik, dan faktor herediter. Salah satu pendekatan terbaik untuk menurunkan glukosa darah pascamakan ialah dengan memperlambat absorpsi glukosa melalui penghambatan kerja enzim penghidrolisis karbohidrat seperti  $\alpha$ -amilase. Enzim  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -1,4-glukan-4 glukanohidrolase, EC 3.2.1.1) adalah enzim yang mengkatalisis penguraian pati, glikogen, dan macam-macam oligosakarida. Sebagian besar masyarakat menggunakan tanaman obat untuk menjaga kadar glukosa darah agar tetap normal, contohnya tanaman sirsak (*Annona muricata* L.). Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan isolat bakteri endofit dari tanaman sirsak, mengetahui aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase dari isolat terpilih yang diperoleh, serta mengetahui jenis sumber karbon dan pH optimal dalam memproduksi inhibitor  $\alpha$ -amilase. Bakteri endofit diisolasi dari akar, batang, dan daun tanaman sirsak yang telah disterilisasi permukaan dan ditumbuhkan pada medium NA. Pada tahap isolasi didapatkan 11 isolat yang berpotensi menghasilkan senyawa inhibitor  $\alpha$ -amilase, yaitu isolat AG11, AG21, AG22, AS11, BG22, BG23, BG24, BG25, BS21, DG11, dan DS21. Isolat yang didapatkan diuji aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase dan isolat dengan aktivitas tertinggi digunakan untuk uji lanjut. Isolat DS21 menunjukkan aktivitas inhibisi terbaik dengan persentase 72,22%. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL). Isolat terbaik diberi

perlakuan berbagai macam sumber karbon dan sumber karbon terbaik diberi perlakuan berbagai macam pH. Hasil uji *Analysis of Variance* (ANOVA) terhadap perlakuan sumber karbon dan pH menunjukkan pengaruh yang nyata ( $P < 0,05$ ) sehingga dilakukan uji Tukey (BNJ) sebagai uji lanjut. Hasil uji lanjut ini menunjukkan bahwa perlakuan sumber karbon pati dan pH 5 mampu meningkatkan produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase.

Kata kunci : *Diabetes Mellitus, sumber karbon, pH*

## PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) dikategorikan sebagai penyakit global oleh World Health Organization (WHO) dengan jumlah penderita di dunia mencapai 199 juta jiwa pada tahun 2009 (WHO, 2010). Penyakit ini merupakan penyakit degeneratif non infeksius yang mematikan dengan tanda meningkatnya kadar glukosa dalam darah akibat terganggunya produksi insulin maupun akibat dari obesitas dan gaya hidup yang kurang tepat. Penyakit ini tergolong menjadi dua tipe, yaitu DM tipe 1 dan 2. Penyakit DM tipe 1 terjadi akibat kurangnya insulin yang diproduksi oleh sel beta pankreas sehingga jumlah hormon insulin yang dihasilkan tidak dapat mencukupi untuk mengubah glukosa darah menjadi glukosa intraseluler dan

DM tipe 1 ini hanya bisa diobati dengan terapi suntik insulin, sedangkan DM tipe 2 terjadi sebagai akibat dari obesitas dan pola hidup yang kurang tepat. Pengobatan konvensional DM tipe 2 dapat dilakukan dengan pengendalian konsumsi makanan, seperti memperlambat absorpsi glukosa melalui penghambatan kerja enzim penghidrolisis karbohidrat seperti  $\alpha$ -amilase. *Acarbose* merupakan inhibitor yang tersedia di pasaran yang diketahui dapat menghambat secara luas glikosidase seperti  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase. Akan tetapi, obat-obatan yang tersedia di pasaran tersebut diketahui memiliki efek samping seperti gangguan pencernaan, kembung, diare, dan flatulen sehingga pemanfaatan bahan alam sebagai obat diabetes alami cenderung menjadi pilihan masyarakat. Tanaman sirsak

(*Annona muricata* L.) dikenal sebagai tanaman obat yang mampu menyembuhkan berbagai macam penyakit, diantaranya mengobati abses, hipertensi, penyakit hati, sakit kepala, dan diabetes (Sousa *et al.*, 2010). Pemanfaatan bakteri endofit diharapkan lebih menguntungkan karena siklus hidupnya yang lebih singkat daripada tumbuhan inangnya dan dapat diproduksi dalam skala besar dengan menggunakan proses fermentasi (Setyowati & Wardah, 2007). Sumber karbon diketahui mempengaruhi berbagai parameter kultur seperti pertumbuhan, metabolisme primer, dan hasil produk sekunder. Salah satu produk sekunder bakteri endofit yaitu inhibitor  $\alpha$ -amilase. Peningkatan produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase yang berasal dari bakteri endofit dapat dilakukan dengan cara mengatur faktor lingkungan pada saat proses fermentasi. Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor lingkungan yang mempengaruhi aktivitas enzim. Berdasarkan latar belakang di atas, pada penelitian ini dilakukan isolasi

bakteri endofit dari tanaman sirsak untuk mengetahui kemampuan bakteri endofit tersebut dalam menghasilkan inhibitor  $\alpha$ -amilase yang diberi perlakuan berbagai macam sumber karbon dan pH yang diharapkan mampu dijadikan alternatif sumber penghasil obat DM tipe 2.

## **BAHAN DAN METODE**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 kali ulangan. Variabel penelitian yang digunakan yaitu persentase inhibisi enzim  $\alpha$ -amilase. Isolat bakteri endofit yang digunakan hanya isolat terpilih dengan persentase inhibisi tertinggi.

### **Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit**

Teknik isolasi ini menggunakan metode Pujiyanto *et al.*, 2015 dengan sedikit modifikasi. Isolasi bakteri endofit diawali dengan sterilisasi permukaan dengan cara mencuci permukaan akar, batang dan daun sirsak menggunakan air mengalir hingga tanah dan kotoran hilang. Sampel lalu direndam di dalam larutan natrium hipoklorit 1% selama 2 menit, kemudian larutan tersebut dibuang dan direndam dengan larutan natrium

hipoklorit 1% lagi selama 6 menit. Setelah perendaman larutan natrium hipoklorit 1% yang kedua, sampel direndam dengan alkohol 70% selama 1 menit. Tahap terakhir sampel direndam dengan aquades steril selama 2 menit dan diulangi sebanyak dua kali. Sampel yang telah direndam dengan aquades, permukaannya disayat-sayat dan digerus secara aseptik, lalu diletakkan pada medium NA. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Aquades steril yang digunakan untuk membilas sampel digunakan sebagai kontrol yang dicawakan pada medium NA. Koloni yang tumbuh diamati bentuk, warna, permukaan, gram, dan bentuk selnya di bawah mikroskop. Tiap koloni yang berbeda dimurnikan dan isolat yang telah murni disimpan pada medium agar miring.

### Uji Inhibitor $\alpha$ -amilase

Untuk memproduksi inhibitor  $\alpha$ -amilase, isolat bakteri endofit ditumbuhkan pada medium cair, menurut Chen et al. (2004) yang berisi 0,1% soluble starch, 0,5% pepton dan 0,15% yeast ekstrak (pH

7) dalam erlenmeyer 100 ml. Kultur ditumbuhkan pada 20 ml medium cair kemudian diinkubasi selama tiga hari dengan agitasi 120 rpm pada suhu ruang. Sel bakteri selanjutnya dipisahkan dengan cara sentrifugasi pada 3500 rpm selama 15 menit dan supernatan yang diperoleh diuji daya hambatnya terhadap aktivitas  $\alpha$ -amilase (Pujiyanto & Ferniah, 2010). Aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase masing-masing sampel dianalisis dengan metode Bernfeld yang modifikasi seperti dijelaskan di bawah ini. Larutan pati 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,25 gram amilum ke dalam 50 ml aquades. Sebanyak 0,5 unit/ml enzim  $\alpha$ -amilase dilarutkan ke dalam buffer fosfat pH 6,9 (Dastjerdi et al., 2014). Pembuatan larutan buffer fosfat pH 6,9 terlampir pada Lampiran 1.1. Kemudian, 0,5 ml dari sampel uji direaksikan dengan 0,5 ml enzim  $\alpha$ -amilase. Setelah 10 menit inkubasi pada suhu 25°C, sebanyak 1 ml larutan pati 0,5% ditambahkan kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Hal yang sama dilakukan untuk kontrol, di mana 0,5 ml sampel digantikan oleh medium

cair. Setelah inkubasi selama 10 menit, reaksi dihentikan dengan menambahkan 2 ml pereaksi asam dinitrosalisilat (DNS) ke dalam kontrol dan sampel uji. Pembuatan reagen DNS terlampir pada Lampiran 1.2. Kemudian dipanaskan menggunakan penangas selama 5 menit. Absorbansi yang tercatat pada spektrofotometer 540 nm dihitung persentase inhibitor enzim  $\alpha$ -amilasenyanya (Paul Das et al., 2016). Menurut Pujiyanto et al. (2015), persentase inhibisi diukur dengan rumus:

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

Dimana K adalah absorbansi terkontrol dari enzim + substrat + medium cair, sedangkan S adalah absorbansi terkontrol dari enzim + substrat + inhibitor. Setelah dihitung persentase inhibitor  $\alpha$ -amilase, seleksi bakteri endofit dilaksanakan dengan memperhatikan hasil uji inhibitor  $\alpha$ -amilase yaitu isolat dengan persentase tertinggi saja yang digunakan untuk uji optimasi inhibitor  $\alpha$ -amilase.

### **Penentuan Waktu Produksi Optimum**

Penentuan waktu produksi optimum ini sesuai dengan metode Pujiyanto et al. (2014) dengan sedikit modifikasi. Kurva produksi digunakan untuk mengetahui waktu optimum produksi enzim yang digunakan untuk memproduksi inhibitor  $\alpha$ -amilase dalam jumlah besar. Isolat terpilih ditumbuhkan dalam 100 ml medium produksi menurut Chen et al. (2004) berisi 0,1% soluble starch, 0,5% pepton dan 0,15% yeast ekstrak (pH 7) yang disterilisasi. Sebanyak 1 ose penuh isolat diinokulasikan ke dalam media produksi dan diinkubasi pada suhu ruang dengan kecepatan agitasi 120 rpm dengan rotary shaker. Setiap 4 jam selama 36 jam dilakukan pengambilan kultur sebanyak 5 ml, 2 ml untuk menghitung aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase dan 3 ml lagi digunakan untuk mengukur pertumbuhan bakteri endofit (Setiawati et al., 2014).

### **Pembuatan Starter**

Starter dibuat dengan cara menumbuhkan 1 ose isolat bakteri yang telah diremajakan dalam medium cair menurut Chen et al.

(2004) berisi 0,1% soluble starch, 0,5% pepton dan 0,15% yeast ekstrak (pH 7) sebanyak 20 ml. Kultur diinkubasi pada suhu ruang dengan agitasi 120 rpm hingga OD mencapai 0,5 pada  $\lambda$  600 nm. Kultur ini digunakan sebagai starter (Lijulfitri, 2014).

#### **Perlakuan Berbagai Macam Sumber Karbon terhadap Produksi Inhibitor $\alpha$ -amilase**

Isolat terpilih ditumbuhkan dalam 20 ml medium produksi menurut Chen et al. (2004) yang berisi 0,1% soluble starch, 0,5% pepton dan 0,15% yeast ekstrak (pH 7) dalam erlenmeyer 100 ml. Sebagai perlakuan, komponen amilum diganti dengan sumber karbon lain berupa sukrosa, maltosa, dan laktosa (Pujiyanto & Ferniah, 2010). Sebanyak 1% starter dengan OD mencapai 0,5 diinokulasikan ke dalam medium produksi dan diinkubasi pada suhu ruang dengan kecepatan agitasi 120 rpm selama 32 jam. Pada akhir fermentasi, kultur disentrifus dan supernatan yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase (Paul

Das, et al., 2016). Absorbansi diukur dengan panjang gelombang 540 nm menggunakan double-beam UV-VIS spektrofotometer (Perkin-Elmer Lambda) (Atolagbe et al., 2015)

#### **Perlakuan Berbagai Macam pH terhadap Produksi Inhibitor $\alpha$ -amilase.**

Perlakuan berbagai macam pH medium terhadap produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase dilakukan untuk mengetahui pH medium yang paling baik untuk memproduksi senyawa inhibitor  $\alpha$ -amilase. Adapun metode yang digunakan adalah sebagai berikut. Isolat terpilih ditumbuhkan dalam 20 ml medium produksi menurut Chen et al. (2004) yang berisi 0,1% soluble starch, 0,5% pepton dan 0,15% yeast ekstrak (pH 7) dalam erlenmeyer 100 ml. Sebagai perlakuan, pH medium diganti dengan rentang yang lebih lebar yaitu 5-8. Sebanyak 1% starter dengan OD mencapai 0,5 diinokulasikan ke dalam medium produksi dan diinkubasi pada suhu ruang dengan kecepatan agitasi 120 rpm selama 32 jam. Pada akhir fermentasi, kultur disentrifus dan

supernatan yang diperoleh digunakan untuk uji aktivitas inhibisi  $\alpha$ -amilase (Paul Das, et al., 2016). Absorbansi diukur dengan panjang gelombang 540 nm menggunakan double-beam UV-VIS spektrofotometer (Perkin-Elmer Lambda) (Atolagbe et al., 2015).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sebanyak 11 isolat bakteri endofit berhasil diisolasi dari tanaman sirsak, 4 isolat dari akar, 5 isolat dari batang, dan 2 isolat dari daun. Isolat bakteri endofit yang berasal dari bagian akar diberi kode AS (akar sayat) atau AG (akar gerus), bagian batang diberi kode BS (batang sayat) atau BG (batang gerus), dan bagian daun diberi kode DS (daun sayat) atau DG (daun gerus). Secara umum bagian

perakaran merupakan bagian yang paling banyak dikolonisasi oleh bakteri endofit dibandingkan bagian tanaman yang lain (Rosenblueth & Martinez-Romero, 2004). Akan tetapi, bagian batang tanaman juga merupakan bagian yang banyak dikolonisasi oleh bakteri endofit terutama pada pembuluh bagian xilem. Hal ini disebabkan karena bakteri endofit mengkolonisasi jaringan tanaman melalui celah atau luka yang terbentuk saat munculnya akar lateral atau zona pemanjangan akar dan selanjutnya menyebar ke bagian tanaman yang lain, yaitu batang dan daun melalui jaringan pengangkut (Parida, 2016). Hasil isolasi dan karakteristik isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman sirsak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tanaman	Isolat	Bentuk	Warna	Permukaan	Bentuk	Gram
Akar	AG11	Irregular	Putih	Mengkilap	Monobasil	+
	AG21	Sirkular	Putih kekuningan	Mengkilap	Monokokus	-
Batang	AG22	Sirkular	Putih	Mengkilap	Monobasil	-
	AS11	Irregular	Putih	Mengkilap	Monobasil	-
	BG22	Sirkular	Putih kekuningan	Mengkilap	Monobasil	-
	BG23	Irregular	Putih	Mengkilap	Streptokokus	-
	BG24	Irregular	Kuning	Mengkilap	Monobasil	-
Daun	BG25	Sirkular	Putih	Mengkilap	Monobasil	-
	BS21	Irregular	Putih	Mengkilap	Monobasil	-
	DG11	Sirkular	Putih kekuningan	Mengkilap	Monokokus	-
	DS21	Irregular	Putih	Mengkilap	Monobasil	-

Uji inhibitor  $\alpha$ -amilase ini digunakan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui isolat dengan aktivitas inhibisi terbaik. Uji ini dilakukan terhadap 11 isolat yang didapatkan dari tahap sebelumnya ditampilkan pada Tabel 2.

Kode Isolat	Aktivitas inhibisi (%)
AG11	28,86
AG21	58,20
AG22	33,11
AS11	64,47
BG22	49,81
BG23	68,19
BG24	34,08
BG25	67,85
BS21	48,70
DG11	27,21
<b>DS21</b>	<b>72,22</b>

Tabel 2. Aktivitas inhibisi isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman sirsak.

Berdasarkan hasil uji aktivitas inhibisi menunjukkan bahwa kesebelas isolat memiliki potensi yang cukup besar dalam menghasilkan senyawa inhibitor  $\alpha$ -amilase dan didapatkan satu isolat terbaik yaitu isolat DS21. Pemilihan isolat DS21 sebagai isolat yang digunakan untuk uji lanjut didasarkan pada aktivitas inhibisi isolat tersebut paling tinggi

dibandingkan 10 isolat yang lain, yaitu 72,22%. Adapun koloni dan bentuk sel isolat DS21 disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. (A) Bakteri endofit, (B) Sampel daun, (C) Isolat DS21

Penentuan waktu produksi optimum dilakukan dengan cara membuat kurva pertumbuhan bakteri isolat DS21 dan menguji kemampuan inhibisinya di setiap titik sampling. Adapun kurva pertumbuhan dan persentase inhibisi isolat DS21 disajikan pada Gambar 2. Aktivitas inhibisi optimal terjadi pada jam ke 32 dengan aktivitas inhibisi sebesar 60,99%. Penurunan aktivitas inhibisi dan kurva pertumbuhan terjadi pada jam ke 36, sehingga proses inkubasi dihentikan. Berdasarkan hasil penelitian, jam ke 32 merupakan fase stasioner bakteri. Fase stasioner merupakan fase dimana jumlah populasi bakteri yang hidup dan mati seimbang karena menurunnya jumlah nutrisi di dalam medium pertumbuhan, sehingga

pada saat itu pula bakteri menghasilkan metabolit sekunder sebagai bentuk pertahanan. Menurut Umezawa (1982), inhibitor enzim dengan berat molekul rendah yang dilepaskan pada filtrat kultur merupakan metabolit sekunder dengan fungsi yang belum jelas dalam pertumbuhan sel mikroba sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut karena pada penelitian ini keterkaitan antara produksi inhibitor enzim dengan pertumbuhan bakteri tidak dijelaskan.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan dan aktivitas inhibisi isolat DS21 dengan masa inkubasi 36 jam.

Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa sumber karbon pati berpengaruh terhadap nilai inhibisi dibandingkan dengan jenis sumber karbon lainnya. Adanya pengaruh pada *Analysis of Variance*

(ANOVA) maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji Tukey (BNJ) untuk mengetahui apakah ada pasangan perlakuan yang berbeda nyata. Perlakuan pati dan laktosa berpengaruh nyata terhadap produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase yang ditunjukkan pada Gambar 3.

Gambar 3. Aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase pada berbagai sumber karbon.



Perlakuan berbagai macam pH pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pH terbaik untuk produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase. Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan pH 5 berpengaruh terhadap nilai inhibisi dibandingkan dengan pH lainnya. Persentase inhibisi terbaik pada pH 5 yaitu sebesar 27,13%, diikuti oleh pH 8 (15,85%), pH 7 (12,26%), dan pH 6 (12%). Adanya perbedaan yang

nyata pada Analysis of Variance (ANOVA) maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji Tukey (BNJ) untuk mengetahui apakah ada pasangan perlakuan yang berbeda nyata. Perlakuan pH 5 dan 6 memiliki perbedaan yang nyata terhadap produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase. Tinggi rendahnya nilai inhibisi ini diyakini berasal dari senyawa inhibitor  $\alpha$ -amilase yang diproduksi oleh isolat DS21 karena telah dilakukan pengontrolan pH awal pada medium yang digunakan pada komposisi reaksi uji untuk kontrol maupun medium pertumbuhan bakteri endofit.

Berdasarkan hasil analisis statistik tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pH 5 mampu meningkatkan produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase. Hal ini diduga disebabkan oleh respon toleransi asam yang oleh bakteri isolat DS21. Berdasarkan pewarnaan Gram, isolat DS21 termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif. Kebanyakan mikroorganisme tumbuh baik pada pH netral (Wareing et al., 2011), tetapi sifat bakteri Gram negatif kurang tahan terhadap kondisi asam

sehingga medium pertumbuhan dengan pH 5 dianggap sebagai lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri endofit. Keadaan yang kurang menguntungkan ini diduga menjadi pemicu sintesis metabolit sekunder berupa senyawa inhibitor  $\alpha$ -amilase. Menurut Verpoorte & Alfermann (2000), metabolit sekunder diproduksi ketika kondisi lingkungan kurang menguntungkan sebagai bentuk pertahanan diri suatu organisme. Adapun grafik aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase pada beberapa macam pH dapat dilihat pada Gambar 4. disebabkan oleh respon toleransi asam yang oleh bakteri isolat DS21. Berdasarkan pewarnaan Gram, isolat DS21 termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif. Kebanyakan mikroorganisme tumbuh baik pada pH netral (Wareing et al., 2011), tetapi sifat bakteri Gram negatif kurang tahan terhadap kondisi asam sehingga medium pertumbuhan dengan pH 5 dianggap sebagai lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri endofit. Keadaan yang kurang inhibisi terbaik

pada pH 5 yaitu sebesar 27,13%, diikuti oleh pH 8 (15,85%), pH 7 (12,26%), dan pH 6 (12%). Adanya perbedaan yang nyata pada *Analysis of Variance* (ANOVA) maka dilakukan uji lanjut menggunakan uji Tukey (BNJ) untuk mengetahui apakah ada pasangan perlakuan yang berbeda nyata. Perlakuan pH 5 dan 6 memiliki perbedaan yang nyata terhadap produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase. Tinggi rendahnya nilai inhibisi ini diyakini berasal dari senyawa inhibitor  $\alpha$ -amilase yang diproduksi oleh isolat DS21 karena telah dilakukan pengontrolan pH awal pada medium yang digunakan pada komposisi reaksi uji untuk kontrol maupun medium pertumbuhan bakteri endofit.

Berdasarkan hasil analisis statistik tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pH 5 mampu meningkatkan produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase. Hal ini diduga disebabkan oleh respon toleransi asam yang oleh bakteri isolat DS21. Berdasarkan pewarnaan Gram, isolat DS21 termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif. Kebanyakan

mikroorganisme tumbuh baik pada pH netral (Wareing *et al.*, 2011), tetapi sifat bakteri Gram negatif kurang tahan terhadap kondisi asam sehingga medium pertumbuhan dengan pH 5 dianggap sebagai lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri endofit. Keadaan yang kurang menguntungkan ini diduga menjadi pemicu sintesis metabolit sekunder berupa senyawa inhibitor  $\alpha$ -amilase. Menurut Verpoorte & Alfermann (2000), metabolit sekunder diproduksi ketika kondisi lingkungan kurang menguntungkan sebagai bentuk pertahanan diri suatu organisme. Adapun grafik aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase pada beberapa macam pH dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Aktivitas inhibitor  $\alpha$ -amilase pada berbagai macam pH.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolasi

bakteri endofit dari tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) diperoleh 11 isolat yang berpotensi dalam menghasilkan senyawa inhibitor  $\alpha$ -amilase, yaitu isolat AG11, AG21, AG22, AS11, BG22, BG23, BG24, BG25, BS21, DG11, dan DS21. Isolat dengan aktivitas inhibisi tertinggi yaitu isolat DS21 dengan persentase inhibisi 72,22% sehingga digunakan untuk uji lanjut. Perlakuan sumber karbon pati dan pH 5 mampu meningkatkan produksi inhibitor  $\alpha$ -amilase.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Atolagbe, O.M., A.A. Ajayi and O. Edegbo. 2016. Characterization of  $\alpha$ -amylase from Soursop (*Annona muricata* Linn.) Fruits Degraded by *Rhizopus stolonifer*. *Pakistan Journal of Biology Science*. 19(2): 77-81.
- Chen, H., X. Yan, W. Lin, Li Zheng and W. Zhang. 2004. A New Method for Screening  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors and Application to Marine Microorganisms. *Pharmaceutical Biology*. 42(6): 416-421.
- Dastjerdi, Z. M., F. Namjoyan, and M.E. Azemi. 2015. Alpha Amylase Inhibition Activity of Some Plants Extract of *Teucrium* Species. *European Journal of Biological Sciences*. 7 (1): 26-31.
- Lijulfitri, D. 2014. Produksi dan Karakterisasi Senyawa Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase *Streptomyces* sp. BWA 65. Skripsi. Departemen Biologi, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Parida, I. 2016. Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri Endofit sebagai Agens Penginduksi Ketahanan Tanaman Padi Terhadap Penyakit Hawar Daun Bakteri. Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Paul Das, M., P. V. Devi, and Y. Yasmine. 2016. Assessment of In Vitro Anti-Diabetic Activity of *Ficus glomerata*. *Der Pharmacia Lettre*. 8 (3): 267-272.
- Pujiyanto, S. dan R.S. Ferniah. 2010.

- Aktivitas Inhibitor Alpha-Glukosidase Bakteri Endofit PR-3 yang Diisolasi dari Tanaman Pare (*Momordica charantia*), *BIOMA*. 12(1): 1-5.
- Sunarno. 2014. Isolasi Aktinomiset dari Laut dan Uji Kemampuannya dalam Menghasilkan Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase. Makalah Seminar Nasional Mikrobiologi. Fak Biologi, UKSW, Salatiga.
- Sunarno dan A. Widyasari. 2015. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Inhibitor  $\alpha$ -Glukosidase dari Tanaman Pare (*Momordica charantia* L). Prosiding SNST ke-6 Tahun 2015. FT Universitas Wahid Hasyim, Semarang. ISBN 978-602-99334-4-4.
- Rosenblueth, M. and E. Martínez-Romero. 2004. Rhizobium etli Maize Populations and Their Competitiveness for Root Colonization. *Arch Microbiol*. 181: 337–344.
- Setiawati, M.R., P. Suryatmana, D. Herdiyantoro, dan Z. Ilmiyati. 2014. Karakteristik Pertumbuhan dan Waktu Generasi Isolat *Azotobacter* sp. dan Bakteri Endofitik Asal Ekosistem Lahan Sawah. *Jurnal Agroekoteknologi*. 6 (1): 12 – 20.
- Setyowati, F. M. dan Wardah. 2007. Keanekaragaman Tumbuhan Obat Masyarakat Talang Mamak di Sekitar Taman Nasional Bukit Tigapuluh, Riau. *Biodiversitas*. 8:228-232.
- Sousa O.V., G. D. V. Vieira, J. J. R. G. de Pinho, C. H. Yamamoto, and M. S. Alves. 2010. Antinociceptive and AntiInflammatory Activities of the Ethanol Extract of *Annona muricata* L. Leaves in Animal Models. *International Journal of Molecul Science*. 5(11) : 2067-2078.
- Umezawa, H. 1982. Low Molecular Weight Enzyme Inhibitors of Microbial Origin. *Ann. Rev. Microbiology*. 36: 75-99.

- Verpoorte, R. and A. W. Alfermann.  
2000. *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*. Kluwer Academic Publishers : London.
- Wareing, P., F. Stuart, and R. Fernandes. 2011. *The Working Companion for Food Microbiologists*. Micro-Facts : Springer.
- World Health Organization, WHO.  
2010. *Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia*. Report of A WHO/IDF Consultation.

