

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN $\alpha$ -GLUKOSIDASE OLEH EKSTRAK ETANOL BAKTERI ASAM LAKTAT INDIGENUS

[Antioxidant and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities of Ethanol Extract from Indigenous Lactic Acid Bacteria Culture]

Eko Farida<sup>1,4)</sup>, Betty Sri Laksmi Jenie<sup>2)\*</sup>, Lilis Nuraida<sup>2,3)</sup>, dan Puspo Edi Giriwono<sup>2,3)</sup>

<sup>1)</sup> Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>2)</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>3)</sup> South East Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFST) Center, Institut Pertanian Bogor, Bogor

<sup>4)</sup> Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Ilmu Keolahragaan, Universitas Negeri Semarang, Semarang

Diterima 20 Agustus 2018 / Disetujui 23 Januari 2019

### ABSTRACT

*Lactic acid bacteria (LAB) are one of Indonesia's biodiversity which can be beneficial for food and health purposes. Some of LAB are potential probiotics with specific functional properties, such as antidiabetes. This study evaluated the effect of ethanol extracts of twelve indigenous LAB in inhibiting  $\alpha$ -glucosidase enzyme and their antioxidant activities. Assay for the  $\alpha$ -glucosidase inhibition was performed on LAB ethanol extract using spectrophotometric method at  $\lambda=410$  nm, while the antioxidant activity was measured using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method at  $\lambda=517$  nm. The results showed that  $\alpha$ -glucosidase inhibition was significantly different between the isolates ( $P<0.01$ ). *Lactobacillus fermentum* S21209 had the highest  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity, which was significantly different from *Lactobacillus plantarum* MB427, *Lactobacillus plantarum* Pi28a, *Lactobacillus delbrueckii* W24802 and *Lactobacillus plantarum* 2 W22409. Evaluation of the antioxidant activity also showed significant difference between the isolates ( $P<0.01$ ). *Lactobacillus plantarum* BSL had the highest antioxidant activity ( $92.81\pm 1.36\%$ ), which was not significantly different from vitamin C as a control. This preliminary study reported that twelve indigenous LAB could be used as potential antidiabetic probiotics, although the responsible compounds are not known.*

**Keywords:**  $\alpha$ -glucosidase inhibition, antidiabetes, antioxidant, lactic acid bacteria

### ABSTRAK

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu keanekaragaman hayati Indonesia dan merupakan bakteri yang menguntungkan dalam bidang pangan dan kesehatan. Beberapa BAL telah diketahui berpotensi sebagai probiotik yang memiliki khasiat fungsional bagi tubuh, seperti antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan seleksi terhadap 12 isolat BAL indigenus dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan analisis aktivitas antioksidan ekstrak etanol BAL indigenus. Pengujian penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dilakukan terhadap ekstrak etanol menggunakan metode spektrofotometri pada  $\lambda=410$  nm, sedangkan analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) pada  $\lambda=517$  nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase berbeda nyata antar isolat yang diujikan ( $P<0,01$ ). *Lactobacillus fermentum* S21209 memiliki aktivitas penghambatan tertinggi ( $75,22\pm 1,07\%$ ) yang berbeda nyata dengan *Lactobacillus plantarum* MB427, *Lactobacillus plantarum* Pi28a, *Lactobacillus delbrueckii* W24802 dan *Lactobacillus plantarum* 2 W22409. Evaluasi terhadap aktivitas antioksidan juga menunjukkan perbedaan yang nyata antar isolat yang diujikan ( $P<0,01$ ). *Lactobacillus plantarum* BSL memiliki aktivitas antioksidan tertinggi ( $92,81\pm 1,36\%$ ) yang tidak berbeda nyata dengan vitamin C sebagai kontrol. Hasil penelitian awal ini menunjukkan bahwa dua belas isolat BAL indigenus berpotensi sebagai kandidat BAL antidiabetes, walaupun senyawa yang berperan terhadap keduanya belum diketahui.

**Kata kunci:** antidiabetes, antioksidan, bakteri asam laktat (BAL), enzim  $\alpha$ -glukosidase

## PENDAHULUAN

Indonesia dikenal kaya akan keanekaragaman hayati, termasuk diantaranya adalah berbagai jenis bakteri yang menguntungkan dalam bidang pangan dan kesehatan seperti bakteri asam laktat (BAL). Beberapa BAL telah diketahui berpotensi sebagai probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dapat memberikan manfaat kesehatan bagi inangnya (FAO/WHO, 2001). Manfaat kesehatan dari probiotik yang sudah dikonfirmasi dan dibuktikan secara klinis adalah untuk mencegah diare dan mengatasi intoleransi laktosa (Vasiljevic dan Shah, 2008). Beberapa tahun terakhir, banyak penelitian mengenai manfaat probiotik yang tidak hanya pada pencegahan penyakit saluran pencernaan. Potensi manfaat kesehatan lain dari probiotik tersebut antara lain meningkatkan respon imun, menurunkan kolesterol, mencegah kanker, mencegah penyakit kardiovaskular, mengendalikan obesitas dan diabetes mellitus (DM) tipe 2 serta memiliki aktivitas antioksidan (Daliri dan Lee, 2015).

Beberapa strain BAL dilaporkan mampu menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan memiliki aktivitas antioksidan (Chen *et al.*, 2014a). Enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah salah satu enzim di dalam membran brush border yang mengkatalisis pencernaan karbohidrat. Enzim  $\alpha$ -glukosidase (EC 3.2.1.20) akan menghidrolisis oligosakarida dan disakarida pada dinding usus halus. Enzim ini menghidrolisis ikatan  $\alpha$ -1,4-D-glukosa dengan membebaskan molekul glukosa (Sales *et al.*, 2012). Penghambatan terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase akan menurunkan absorpsi glukosa sehingga menurunkan kadar glukosa darah. BAL yang mampu menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase merupakan salah satu kandidat BAL antidiabetes (Chen *et al.*, 2014a; Muganga *et al.*, 2015). *Lactobacillus casei* 2W dan *Lactobacillus rhamnosus* Z7 memiliki aktivitas penghambatan terhadap  $\alpha$ -glukosidase secara *in vitro* (Chen *et al.*, 2014a). Beberapa strains *Lactobacillus* yang diisolasi dari feses bayi secara efektif juga mampu menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase (Panwar *et al.*, 2014).

Mekanisme aktivitas antioksidan BAL terkait dengan kemampuannya untuk mencegah terjadinya stres oksidatif. Keseimbangan radikal bebas dan antioksidan akan terganggu apabila keseimbangan mikroflora usus terganggu. Salah satu cara untuk menjaga keseimbangan mikroflora usus untuk mencegah terjadinya stres oksidatif adalah dengan konsumsi probiotik (Sadishkumar dan Jeevaratnam, 2016; Wang *et al.*, 2017). Beberapa strain probiotik juga mampu mengurangi stress oksidatif pada pankreas yang menyebabkan peradangan kronis dan apoptosis sel beta pankreas (Zhang dan Zhang, 2013).

Berbagai strain BAL hasil isolasi dari sumber daya lokal (asinan kubis, mandai, tempe, tempoyak, acar ketimun, ikan peda, kecap ikan dan ASI) telah diuji memiliki potensi sebagai probiotik. Seleksi isolat BAL indigenus kandidat probiotik telah dilakukan sebelumnya berdasarkan sifat-sifat dasar probiotik seperti (1) ketahanan pada pH asam lambung (pH 2 selama 3 jam atau 2,5 selama 90 menit), (2) ketahanan terhadap garam empedu (0,5; 1; 5%), (3) aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) dan (4) sifat penempelan BAL meliputi uji hidrofobitas, uji autoagregasi dan uji koagregasi (Emmawati *et al.*, 2015; Nuraida *et al.*, 2015).

Kajian sifat fungsional berbagai strain BAL indigenus juga telah dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. *L. plantarum* BSL asal asinan kubis mampu menurunkan kolesterol secara *in vitro* dan *in vivo* (Kusumawati, 2002). *L. plantarum* MB427 asal mandai (fermentasi jerami buah cempedak) memiliki sifat antidiare yaitu mampu menurunkan jumlah kejadian, tingkat keparahan dan durasi diare (Emmawati, 2014). *L. plantarum* KIK asal kecap ikan dan *L. plantarum* Pi28a asal acar ketimun mampu mengasimilasi kolesterol masing-masing sebesar 17,0 dan 14,1  $\mu\text{g/mL}$  (Kusumawati, 2002). *L. rhamnosus* R23 asal ASI berpotensi untuk mencegah diare dan menyeimbangkan mikroflora usus tikus yang diinduksi diare dengan *E. coli* K1.1 (Nuraida *et al.*, 2012) serta mampu menurunkan kolesterol secara *in vitro* melalui mekanisme pengikatan kolesterol pada permukaan sel (Maryati *et al.*, 2016).

Pemilihan metode dan pelarut yang tepat akan menentukan keberhasilan proses ekstraksi. Etanol diketahui mampu mengekstrak komponen metabolit sekunder dari bakteri (Meyer *et al.*, 2013). Ekstrak etanol *Lactobacillus sakei* 111 memiliki aktivitas penghambatan terhadap  $\alpha$ -glukosidase yang bergantung pada konsentrasi (Bajpai *et al.*, 2016). Berdasarkan hal tersebut, ekstrak etanol BAL indigenus diduga juga memiliki aktivitas penghambatan terhadap  $\alpha$ -glukosidase. Potensi BAL indigenus kandidat probiotik untuk menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan sebagai antioksidan belum dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan seleksi terhadap 12 isolat BAL indigenus dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan analisis aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol BAL indigenus.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah 12 isolat BAL indigenus koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan Departemen ITP dan Laboratorium Mutu dan Keamanan Pangan, SEAFast Center IPB (Tabel 1).

Tabel 1. Jenis, sumber, sifat fungsional dan pustaka BAL indigenus yang digunakan

Strain BAL	Sumber	Sifat Fungsional	Pustaka
<i>L. plantarum</i> BSL	Asinan kubis	a. Menurunkan kolesterol darah tikus b. Meningkatkan jumlah laktobasili dan menekan jumlah bakteri koliform dan <i>Stapylococcus</i> dalam feses tikus	Kusumawati, 2002
<i>L. plantarum</i> MB427	Mandai	a. Menurunkan durasi diare karena infeksi <i>E. coli</i> enteropatogenik (EPEC) b. Menginduksi sekresi IgA dan IgG	Emmawati <i>et al.</i> , 2015 Emmawati, 2014
<i>L. plantarum</i> KIK	Kecap ikan	Mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 17,0 µg/ml	Kusumawati, 2002
<i>Lactobacillus</i> sp <i>L. plantarum</i> Pi28a	Tempoyak Acar ketimun	- Mampu mengasimilasi kolesterol sebesar 14,1 µg/ml	Wirawati, 2002 Kusumawati, 2002
<i>Lactobacillus</i> sp <i>L. rhamnosus</i> R23	Ikan peda ASI	- a. Mencegah dan mengurangi durasi diare serta menyeimbangkan mikroflora usus tikus yang diinduksi diare dengan EPEC b. Menurunkan kolesterol secara <i>in vitro</i>	Kusumawati, 2002 Nuraida <i>et al.</i> , 2012 Maryati <i>et al.</i> , 2016
<i>L. delbrueckii</i> W24802	Tempe	-	Nuraida <i>et al.</i> , 2015
<i>P. pentosaceus</i> 1 W2SR04	Tempe	-	Nuraida <i>et al.</i> , 2015
<i>P. pentosaceus</i> 2 W2SR05	Tempe	-	Nuraida <i>et al.</i> , 2015
<i>L. plantarum</i> 2 W22409	Tempe	-	Nuraida <i>et al.</i> , 2015
<i>L. fermentum</i> S21209	Tempe	-	Nuraida <i>et al.</i> , 2015

### Persiapan ekstrak etanol BAL indigenus

Persiapan ekstrak etanol BAL indigenus dilakukan menurut metode Bajpai *et al.* (2016) dengan modifikasi. Ekstrak etanol BAL akan digunakan untuk pengujian penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dan aktivitas antioksidan. Isolat BAL ditumbuhkan dalam media MRSB (Oxoid, United Kingdom) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diinokulasikan sebanyak 0,5 mL ke dalam 50 mL media MRSB dengan penambahan 10% glukosa dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 36 jam. Untuk pengujian aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase, media yang telah ditumbuhi BAL berumur 36 jam tersebut, diekstrak dengan menggunakan 100 mL etanol 96% (Merck, USA). Proses ekstraksi dilakukan dalam inkubator bergoyang (Excella E25) selama 4 jam. Selanjutnya, suspensi BAL disentrifuse pada 5000 rpm, suhu 4°C, selama 30 menit (sentrifus Hermle Z 383 K, Germany) sehingga diperoleh supernatan dan pelet. Supernatan dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor R-210, BÜCHLI Labortechnik, Switzerland) pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak etanol BAL indigenus.

### Pengujian aktivitas penghambatan terhadap $\alpha$ -glukosidase

Pengujian aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dilakukan menurut metode Sancheti *et al.* (2009). Campuran reaksi untuk sampel (S) terdiri dari 10 µL ekstrak etanol BAL, 50 µL bufer fosfat 0,1 M; pH 7,0 (Sigma Aldrich P0662 dan P3786), 25 µL substrat PNPG 0,5 mM (Sigma Aldrich N1377), dan 25 µL larutan enzim  $\alpha$ -glukosidase 0,04 U/mL ((Sigma Aldrich G3651) dimasukkan

kan dalam mikroplate. Pada kontrol sampel (S<sub>0</sub>) tidak menggunakan enzim  $\alpha$ -glukosidase. Campuran reaksi untuk blanko (B) terdiri dari 50 µL buffer fosfat 0,1 M (pH 7,0), 25 µL substrat PNPG 0,5 mM, dan 25 µL larutan enzim  $\alpha$ -glukosidase. Pada kontrol blanko (B<sub>0</sub>) tidak menggunakan enzim  $\alpha$ -glukosidase. Campuran reaksi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 µL natrium karbonat 0,2 M (Sigma Aldrich 223530) dan selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 410 nm (Epoch Microplate Spectrophotometer BioTek<sup>®</sup> Instrument Inc., USA).

Kontrol positif yang digunakan adalah akarbose (Glucobay<sup>®</sup>, PT. Bayer Indonesia). Konsentrasi larutan acarbose (10 µg/mL) dibuat dari 10 mg tablet glucobay yang dilarutkan dalam akuades dan HCl 2N (1:1), kemudian ditepatkan volumenya sampai 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi standar acarbose 100 ppm. Larutan acarbose diencerkan sehingga diperoleh konsentrasi 10 ppm (10 mg/L atau setara dengan 10 µg/mL). Larutan kemudian disentrifugasi dan supernatan diambil sebanyak 10 µL dimasukkan ke dalam campuran reaksi seperti pada sampel. Reaksi enzim secara ringkas dapat dilihat pada Tabel 2.

Persen penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Penghambatan } \alpha\text{-glukosidase (\%)} = \left( \frac{K - (A1 - A0)}{K} \right) \times 100\%$$

dimana, K= absorbansi blanko (B<sub>1</sub>) dikurangi kontrol blanko (B<sub>0</sub>); A0= absorbansi kontrol sampel; A1= absorbansi sampel.

Tabel 2. Reaksi penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase

Campuran Reaksi	S ( $\mu$ L)	S <sub>0</sub> ( $\mu$ L)	B ( $\mu$ L)	B <sub>0</sub> ( $\mu$ L)
Ekstrak etanol BAL	10	10	-	-
Buffer fosfat	50	50	50	50
Substrat PNPG	25	25	25	25
Enzim $\alpha$ -glukosidase	25	-	25	-
Inkubasi 37°C selama 30 menit				
Natrium karbonat	100	100	100	100

Keterangan: S adalah sampel; S<sub>0</sub> adalah kontrol sampel; B adalah blanko dan B<sub>0</sub> adalah kontrol blanko

### Evaluasi aktivitas antioksidan isolat BAL indigenus

Evaluasi aktivitas antioksidan isolat BAL indigenus dilakukan menurut metode Salazar-Aranda *et al.* (2011). Persiapan ekstrak etanol untuk pengujian aktivitas antioksidan dilakukan seperti pada persiapan untuk pengujian aktivitas penghambatan terhadap  $\alpha$ -glukosidase. Analisis aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan DPPH dengan melihat kemampuan sampel dalam mereduksi radikal bebas (DPPH). Sebanyak 100  $\mu$ L ekstrak etanol BAL (sampel) dimasukkan ke dalam mikroplate. Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C. Untuk sampel dan vitamin C ditambahkan 100  $\mu$ L DPPH 125  $\mu$ M (Sigma Aldrich D9132), sedangkan untuk kontrol negatif hanya berisi 200  $\mu$ L etanol (Merck, USA). Untuk blanko hanya berisi 100  $\mu$ L etanol dan 100  $\mu$ L DPPH. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi pada 37°C selama 30 menit dalam ruang gelap. Serapan yang dihasilkan diukur pada panjang gelombang 517 nm (Epoch Microplate Spectrophotometer Bio-Tek<sup>®</sup> Instrument Inc., USA). Persentase aktivitas pe-

ngkapan radikal DPPH dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \left[ \frac{(A - B)}{A} \right] \times 100\%$$

dimana, A = Absorbansi blanko terkoreksi; B = Absorbansi sampel terkoreksi.

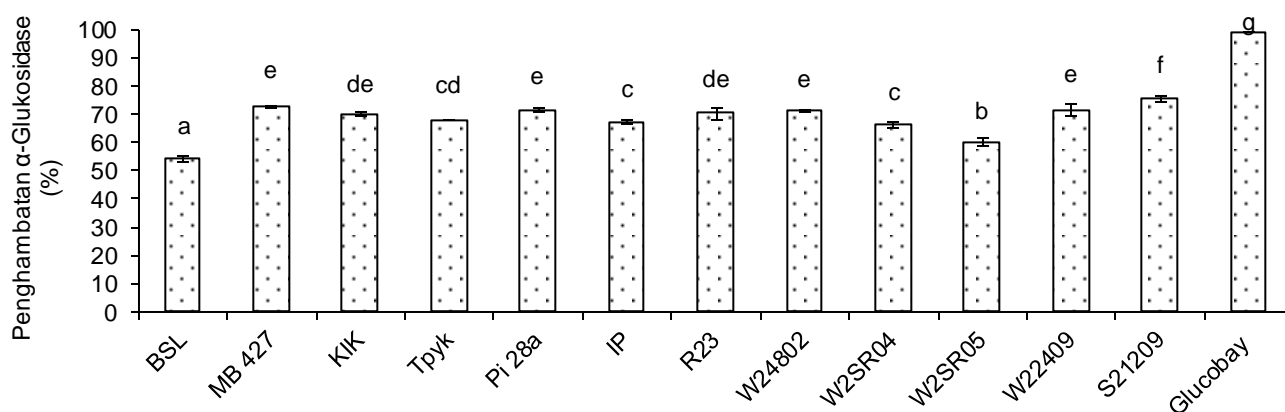
### Analisis data

Data yang diperoleh dari tiga kali ulangan dihitung rata-rata dan standar deviasinya. Data diolah secara statistik dengan *One Way ANOVA* pada selang kepercayaan 99% menggunakan software SPSS versi 22. Perbedaan antar strain BAL dinyatakan signifikan apabila nilai  $P < 0,01$ . Jika terdapat perbedaan yang signifikan, dilanjutkan dengan uji Duncan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas BAL indigenus dalam menghambat enzim $\alpha$ -glukosidase

Hasil evaluasi menunjukkan kedua belas isolat BAL indigenus mampu menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan kemampuan yang bervariasi antara 54,01 $\pm$ 1,25 sampai 75,22 $\pm$ 1,07%. Glucobay sebagai kontrol positif memiliki aktivitas penghambatan sebesar 98,92 $\pm$ 0,07% (Gambar 1). Aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase menunjukkan perbedaan yang nyata antar isolat yang diujikan ( $P < 0,01$ ). *L. fermentum* S21209 memiliki aktivitas penghambatan tertinggi yang berbeda nyata dengan *L. plantarum* MB427, *L. plantarum* Pi28a, *L. delbrueckii* W24802 dan *L. plantarum* 2 W22409.



Keterangan: BSL= *L. plantarum* BSL; MB 427= *L. plantarum* MB 427; KIK= *L. plantarum* KIK; Tpyk= *Lactobacillus* sp (tpyk); Pi28a= *L. plantarum* Pi28a; IP= *Lactobacillus* sp (IP); R23= *L. rhamnosus* R23; W24802= *L. delbrueckii* W24802, W2SR04= *P. pentosaceus* 1 W2SR04, W2SR05= *P. Pentosaceus* 2 W2SR05; W22409= *L. plantarum* 2 W22409; S21209= *L. fermentum* S21209

Gambar 1. Aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak etanol BAL. Garis vertikal di atas tiap balok data menunjukkan Standar Deviasi (n=3) dan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji 1%

BAL dalam media MRSB (suspensi BAL) yang diekstrak menggunakan pelarut organik memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diekstrak. Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian Bajpai *et al.* (2016) dimana suspensi *L. sakei* 111 yang diekstrak dengan etanol memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase sebesar 60,69%. Studi yang dilakukan oleh Chen *et al.* (2014a) terhadap beberapa strain BAL menunjukkan aktivitas yang lebih rendah (antara  $3,42 \pm 0,14$  sampai  $29,57 \pm 1,38\%$ ) karena tidak diekstrak menggunakan pelarut organik, tetapi dilakukan pada supernatan bebas sel (SBS). Aktivitas penghambatan pada SBS lebih tinggi dibandingkan dengan komponen intraselulernya (Muganga *et al.*, 2015; Zeng *et al.*, 2016). Delapan strain *Lactobacillus* memiliki aktivitas penghambatan berkisar  $18,7 \pm 0,2$  sampai  $28,3 \pm 2,8\%$  pada SBS, sedangkan komponen intraselulernya berkisar 0 sampai  $13,7 \pm 0,8\%$  (Zeng *et al.*, 2016).

Senyawa yang diduga berperan menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase adalah eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan oleh BAL (Ramchandran dan Shah, 2009; Chen *et al.*, 2014a). EPS merupakan polimer polisakarida yang disekresikan oleh mikroba keluar sel. Eksopolisakarida BAL dibagi menjadi 2 berdasarkan komposisi monosakarida, yaitu (1) homopolisakarida adalah polimer yang terdiri dari satu macam monosakarida dan (2) heteropolisakarida adalah polimer yang terdiri dari beberapa macam monosakarida (Patel *et al.*, 2012). BAL melepaskan EPS ke lingkungan sekitarnya untuk melindungi diri dari kondisi yang tidak menguntungkan seperti pH dan suhu yang ekstrem. Eksopolisakarida BAL dapat menempel pada mukosa usus halus sehingga meningkatkan kemampuannya untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen (Patten dan Laws, 2015). EPS memiliki sifat fungsional diantaranya meningkatkan sistem imun dan mencegah kanker kolon (Patel *et al.*, 2012). EPS *L. rhamnosus* GG memiliki kemampuan memperbaiki metabolisme lemak pada kondisi obesitas pada alur sel 3T3-L1 (Zhang *et al.*, 2016).

Senyawa lain yang diduga berperan sebagai penghambat  $\alpha$ -glukosidase adalah protein (Lacroix dan Li-Chan, 2013; Zeng *et al.*, 2016). Aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase dari SBS beberapa *Lactobacillus* sp yang ditumbuhkan dalam media susu skim menunjukkan hasil yang bervariasi ( $5,3 \pm 0,7$  sampai  $32,9 \pm 1,0\%$ ) karena sifat proteolitik masing-masing isolat yang berbeda (Muganga *et al.*, 2015). Analisis EPS dan protein tidak dilakukan pada ekstrak etanol BAL indigenus, sehingga belum diketahui senyawa aktif yang berperan dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase. Panwar *et al.* (2014) dan

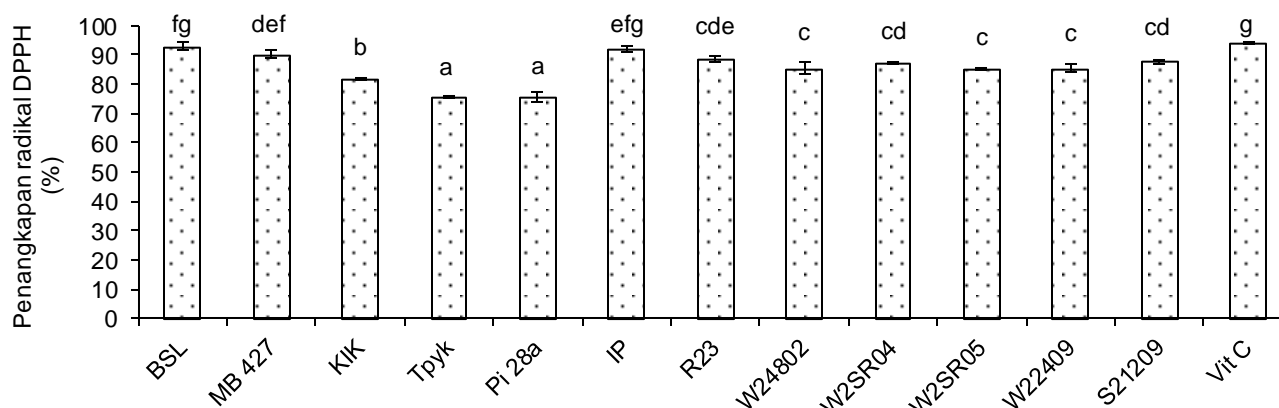
Bajpai *et al.* (2016) menduga bahwa isi sitoplasma atau produk metabolisme bakteri mungkin bertanggung jawab untuk aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase. Peran BAL indigenus dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase masih belum jelas. Pemurnian lebih lanjut, identifikasi komponen dan uji secara *in vivo* perlu dilakukan untuk membuktikan hal tersebut.

BAL yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase juga telah terbukti mampu menurunkan glukosa darah pada tikus sehingga memiliki sifat fungsional sebagai antidiabetes (Chen *et al.*, 2014b; Li *et al.*, 2016). Dua belas isolat BAL indigenus yang diuji dalam penelitian ini memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase, sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai BAL dengan sifat fungsional sebagai antidiabetes.

#### Aktivitas antioksidan BAL indigenus

BAL indigenus memiliki persentase penangkapan radikal DPPH bervariasi antara  $75,42 \pm 0,36$  sampai  $92,81 \pm 1,36\%$ . Kontrol yang digunakan adalah vitamin C dengan persentase penangkapan radikal DPPH sebesar  $93,92 \pm 0,28\%$  (Gambar 2). Hasil evaluasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol menunjukkan perbedaan yang nyata antar isolat yang diujikan ( $P < 0,01$ ). *L. plantarum* BSL memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yang tidak berbeda nyata dengan vitamin C sebagai kontrol.

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol BAL pada penelitian ini sejalan dengan penelitian Nyanzi *et al.* (2015) di mana aktivitas antioksidan ekstrak metanol beberapa strain *L. rhamnosus* berkisar antara  $45,71 \pm 3,97$  sampai  $86,38 \pm 0,54\%$ . Aktivitas antioksidan BAL yang diekstrak menggunakan pelarut organik lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diekstrak menggunakan pelarut. Hal ini terbukti pada ekstrak etanol BAL pada penelitian ini dan ekstrak metanol *L. rhamnosus* yang memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan *L. plantarum* Ln4 (40,97%), *L. plantarum* G72 (21,08%) dan *L. rhamnosus* KCTC 12202BP (32,03%) yang tidak diekstrak menggunakan pelarut organik (Son *et al.*, 2017). SBS memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan komponen intraselulernya. SBS *L. plantarum* MA2 (asal kefir) memiliki aktivitas antioksidan  $85,57 \pm 0,44\%$ , sedangkan komponen intraselulernya memiliki aktivitas antioksidan  $40,42 \pm 2,19\%$  (Tang *et al.*, 2017). Suzuki *et al.* (2013) menemukan bahwa metabolit yang berperan menghambat radikal DPPH dari ekstrak etil asetat *L. plantarum* adalah L-3-(4-hydroxyphenyl) lactic acid (HPLA) dan L-indole-3-lactic acid (ILA).



Keterangan: BSL= *L. plantarum* BSL; MB427= *L. Plantarum* MB 427; KIK= *L. plantarum* KIK, Tpyk= *Lactobacillus* sp (tpyk); Pi28a= *L. plantarum* Pi28a; IP= *Lactobacillus* sp (IP); R23=*L. rhamnosus* R23; W24802= *L. delbrueckii* W24802; W2SR04= *P. pentosaceus* 1 W2SR04; W2SR05= *P. Pentosaceus* 2 W2SR05; W22409= *L. plantarum* 2 W22409; S21209= *L. fermentum* S21209

Gambar 2. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol BAL indigenus. Garis vertikal di atas tiap balok data menunjukkan Standar Deviasi (n=3) dan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf uji 1%

Stres oksidatif dapat terjadi jika keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas terganggu sebagai akibat ketidakseimbangan mikroflora usus. Salah satu cara untuk menjaga keseimbangan mikroflora usus adalah dengan konsumsi probiotik atau produk yang mengandung bakteri probiotik (Wang *et al.*, 2017). Aktivitas antioksidan probiotik ditunjukkan melalui mekanisme: (1) memperkuat pertahanan seluler dengan mensekresikan enzim antioksidan, (2) melepaskan dan memacu produksi glutathion (GSH) yaitu antioksidan nonenzimatik utama dan penangkap radikal bebas, (3) meningkatkan produksi biomolekul antioksidan tertentu, seperti EPS dan (4) pengikatan ion logam (Mishra *et al.*, 2015).

Probiotik dapat menunjukkan aktivitas antioksidan dengan memproduksi senyawa antioksidan tertentu untuk mengurangi stres oksidatif yaitu EPS (Seo *et al.*, 2015). *Bacillus coagulans* RK-02 mensintesis EPS ekstraselular dan EPS ini menunjukkan aktivitas antioksidan dan menunjukkan penangkapan radikal bebas secara signifikan bila dibandingkan dengan standar antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E secara *in vitro* (Kodali dan Sen, 2008)

## KESIMPULAN

Semua isolat BAL indigenus yang diuji mampu menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan kemampuan yang bervariasi antara  $54,01 \pm 1,25$  sampai  $75,22 \pm 1,07\%$  lebih rendah dibandingkan glucobay sebagai kontrol positif yaitu  $98,92 \pm 0,07\%$ . Aktivitas antioksidan BAL juga bervariasi antara  $75,42 \pm 0,36$  sampai  $92,81 \pm 1,36\%$ . Berdasarkan kedua uji tersebut, terdapat 4 strain yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut. Isolat *L. fermentum* S21209, *L.*

*plantarum* MB427 dan *L. rhamnosus* R23 memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase (masing-masing  $75,22 \pm 1,07$ ;  $72,52 \pm 0,56$ ;  $70,08 \pm 1,80\%$ ) dan aktivitas antioksidan (masing-masing  $87,76 \pm 0,78$ ;  $90,28 \pm 1,65$ ;  $88,72 \pm 0,84\%$ ) lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Isolat *L. plantarum* BSL memiliki aktivitas antioksidan tertinggi ( $92,81 \pm 1,36\%$ ), walaupun daya hambat terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase rendah ( $54,01 \pm 1,25\%$ ).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah membantu biaya penelitian ini sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Program Penelitian Nomor: 079/SP2H/LT/DRPM/II/2016 tanggal 17 Februari 2016 melalui skema Penelitian Berbasis Kompetensi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bajpai VK, Han JH, Nam GJ, Majumder R, Park C, Lim J, Paek WK, Rather IA, Park YH. 2016. Characterization and pharmacological potential of *Lactobacillus sakei* 111 isolated from fresh water fish *Zacco koreanus*. J Pharm Sci 24: 1-12. DOI: 10.1186/s40199-016-0147-8.
- Chen P, Zhang Q, Dang H, Liu X, Tian F, Zhao J, Chen Y, Zhang H, Chen W. 2014a. Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity.

- Food Control 35: 65-72. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.06.027.
- Chen P, Zhang Q, Dang H, Liu X, Tian F, Zhao J, Chen Y, Zhang H, Chen W. 2014b. Oral administration of *Lactobacillus rhamnosus* CCFM05 28 improves glucose tolerance and cytokine secretion in high-fat-fed, streptozotocin-induced type 2 diabetic mice. J Funct Food 10: 318-326. DOI: 10.1016/j.jff.2014.06.014.
- Daliri EBM, Lee BH. 2015. New perspectives on probiotics in health and disease. Food Sci Hum Wellness 4: 56-65. DOI: 10.1016/j.fshw.2015.06.002.
- Emmawati A, Jenie BSL, Nuraida L, Syah D. 2015. Karakterisasi isolat bakteri asam laktat dari mandai yang berpotensi sebagai probiotik. Agritech 35: 146-155. DOI: 10.22146/agritech.9400.
- Emmawati A. 2014. Kajian Antiinfeksi Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Mandai [Disertasi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- FAO/WHO. 2001. Report of a joint FAO WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with lactic acid bacteria, American Cordoba Park Hotel, Cordoba, Argentina.
- Kodali VP, Sen R. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activities of an exopolysaccharide from a probiotic bacterium. J Biotechnol 3: 245-251. DOI: 10.1002/biot.200700208.
- Kusumawati N. 2002. Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenus Sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Mempertahankan Keseimbangan Mikroflora Feses dan Mereduksi Kolesterol Serum Darah Tikus [Tesis]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Lacroix IM, Li-Chan EC. 2013. Inhibition of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV and  $\alpha$ -glucosidase activities by pepsin-treated whey proteins. J Agric Food Chem 61: 7500-7506. DOI: 10.1021/jf401000s.
- Li X, Wang N, Yin B, Fang D, Zhao J, Zhang H, Wang G, Chen W. 2016. *Lactobacillus plantarum* X1 with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity ameliorates type 2 diabetes in mice. RSC Adv 6: 63536-63547. DOI: 10.1039/C6RA10858J.
- Maryati Y, Nuraida L, Dewanti-Hariyadi R. 2016. Kajian bakteri asam laktat dalam menurunkan kolesterol secara *in vitro* dengan keberadaan oligosakarida. Agritech 36: 196-205. DOI: 10.22146/agritech.12865
- Meyer H, Weidmann H, Lalk M. 2013. Methodological approaches to help unravel the intracellular metabolome of *Bacillus subtilis*. Microb Cell Fact 12: 69. DOI: 10.1186/1475-2859-12-69.
- Mishra V, Shah C, Mokashe N, Chavan R, Yadav H, Prajapati J. 2015. Probiotics as potential antioxidants: A systematic review. J Agric Food Chem 63: 3615-3626. DOI: 10.1021/jf506326t.
- Muganga L, Liu X, Tian F, Zhao J, Zhang H, Chen W. 2015. Screening for lactic acid bacteria based on antihyperglycaemic and probiotic potential and application in synbiotic set yoghurt. J Funct Food 16: 125-136. DOI: 10.1016/j.jff.2015.04.030.
- Nuraida L, Kartika S, Touw KS, Nurdini AL, Suliantari. 2015. Lactic acid bacteria in tempe fermentation and their potency as probiotic. Paper dipresentasikan pada Seminar Nasional PATPI, Semarang 20-21 Oktober 2015.
- Nuraida L, Hana, AW Hartanti, E Prangdimurti. 2012. Evaluasi potensi *Lactobacillus* yang diisolasi dari air susu ibu untuk mencegah diare. J Teknol Industri Pangan 13: 158-165. DOI: 10.6066/jtip.2012.23.2.158.
- Nyanzi R, Shuping DSS, Jooste PJ, Eloff JN. 2015. Antibacterial and antioxidant activity of extracts from selected probiotic bacteria. J Food Res 4: 122-132. DOI: 10.5539/jfr.v4n5p122.
- Panwar H, Calderwood D, Grant IR, Grover S, Green BD. 2014. *Lactobacillus* strains isolated from infant faeces possess potent inhibitory activity against intestinal  $\alpha$ - and  $\beta$ -glucosidases suggesting anti-diabetic potential. Eur J Nutr 53: 1465-1474. DOI: 10.1007/s00394-013-0649-9
- Patel S, Majumder A, Goyal A. 2012. Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. Indian J Microbiol 52: 3-12. DOI: 10.1007/s12088-011-0148-8.
- Patten DA, Laws AP. 2015. *Lactobacillus* produced exopolysaccharides and their potential health benefits - a review. Benef Microb 6: 457-471. DOI: 10.3920/BM2014.0117.
- Ramchandran L, Shah NP. 2009. Effect of exopolysaccharides and inulin on the proteolytic, angiotensin-I-converting enzyme and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities as well as on textural and rheological properties of low-fat yogurt during refrigerated storage. Dairy Sci Tech 89: 583-600. DOI: 10.1051/dst/2009039.
- Sadishkumar V, Jeevaratnam K. 2016. *In vitro* probiotic evaluation of potential antioxidant lactic acid bacteria isolated from idli batter fermented with *Piper betle* leaves. Int J Food Sci Tech 52: 329-340. DOI: 10.1111/ijfs.13284.
- Salazar-Aranda R, Perez-Lopez LA, Lopez-Arroyo J, Alaniz-Garza BA, de Torres NW. 2011. Antimicrobial and antioxidant activities of plants from Northeast of Mexico. J Evid-Bas Complem

- Altern Med 41: 233-236. DOI: 10.1093/ecam/nep127.
- Sales PM, Souza PM, Simeoni LA, Magalhaes PO, Silveira D. 2012.  $\alpha$ -Amylase inhibitors - a review of raw material and isolated compounds from plant source. J Pharm Pharm Sci 15: 141-183. DOI: 10.18433/J35S3K.
- Sancheti S, Sancheti S, Seo SY. 2009. *Chaenomeles Sinensis*: A potent  $\alpha$ - and  $\beta$ -glucosidase inhibitor. Am J Pharmacol Tox 4: 8-11. DOI: 10.3844/ajptsp.2009.8.11.
- Seo BJ, Bajpai VK, Rather IA, Park YH. 2015. Partially purified exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* YML009 with total phenolic content, antioxidant and free radical scavenging efficacy. Indian J Pharm Educ 49: 282-292. DOI: 10.5530/ijper.49.4.6.
- Son SH, Jeon HL, Jeon EB, Lee NK, Park YS, Kang DK, Paik HD. 2017. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln4 from kimchi: evaluation of  $\beta$ -galactosidase and antioxidant activities. LWT-Food Sci Technol 85: 181-186. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.07.018.
- Suzuki Y, Kosaka M, Shindo K, Kawasumi T, Kimoto-Nira H, Suzuki C. 2013. Identification of antioxidants produced by *Lactobacillus plantarum*. Biosci Biotechnol Biochem 77: 1299-1302. DOI: 10.1271/bbb.121006.
- Tang W, Xing Z, Li C, Wang J, Wang Y. 2017. Molecular mechanism and *in vitro* antioxidant effects of *Lactobacillus plantarum* MA2. Food Chem 221: 1642-1649. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.124.
- Vasiljevic T, Shah NP. 2008. Review: Probiotics- From Metchnikoff to bioactives. Int Dairy J 18: 714-728. DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.03.004.
- Wang Y, Wu Y, Wang Y, Xu H, Mei X, Yu D, Wang Y, Li W. 2017. Antioxidant properties of probiotic bacteria. Nutrients 9: 521. DOI: 10.3390/nu9050521.
- Wirawati CU. 2002. Potensi Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Tempoyak Sebagai Probiotik. [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Zeng Z, Luo J, Zuo F, Zhang Y, Ma H, Chen S. 2016. Screening for potential novel probiotic *Lactobacillus* strains based on high dipeptidyl peptidase IV and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. J Funct Food 20: 486-495. DOI: 10.1016/j.jff.2015.11.030.
- Zhang Z, Zhou Z, Li Y, Zhou L, Ding Q, Xu L. 2016. Isolated exopolysaccharides from *Lactobacillus rhamnosus* GG alleviated adipogenesis mediated by TLR2 in mice. Sci Rep 6: 1-14. DOI: 10.1038/srep36083.
- Zhang Y, Zhang H. 2013. Microbiota associated with type 2 diabetes and its related complications. Food Sci Hum Wellness 2: 167-172. DOI: 10.1016/j.fshw.2013.09.002.