

Ekstraksi Nanokaragenan *Eucheuma cottonii* Menggunakan *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)* dan Potensinya Sebagai Anti Diabetes

Sry agustina^{1*}, Olahairullah², Ruslan³, Putri Ayu Mutmainnah⁴

^{1,3,4}Program Studi Pendidikan Kimia, FPMIPA, STKIP Bima

²Program Studi Pendidikan Biologi, FPMIPA, STKIP Bima

E-mail: sryagustina92@gmail.com ^{1*}

Article Info	Abstract
Article History Received: 2024-10-18 Revised: 2024-11-17 Published: 2024-11-30 Keywords: <i>Eucheuma cottonii</i> ; IC50; Nanocarrageenan; Ultrasonic assisted extraction	<i>Eucheuma cottonii</i> seaweed contains various bioactive compounds that have health benefits such as stabilizing blood sugar. <i>Eucheuma cottonii</i> is widely cultivated in Indonesia which has economic value as a producer of hydrocolloid compounds in the form of carrageenan. This study aims to extract nanocarrageenan from <i>Eucheuma cottonii</i> seaweed using Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) and its Potential as an Antidiabetic. The research method begins with the preparation of <i>Eucheuma cottonii</i> seaweed, extraction of nanocarrageenan using UAE with 0.1 M NaOH solvent, phytochemical tests and testing of nanocarrageenan as an antidiabetic in vitro by testing the inhibition of alpha-glucosidase enzyme activity using p-nitrophenyl-alpha-D-glucopyranoside (PNPG) substrate and acarbose as a comparison using a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 400nm. The potential of a compound to inhibit enzyme activity can be determined by calculating IC50. The results showed that the % yield produced during nanocarrageenan extraction using UAE with 0.1 M NaOH solvent was 14.7%. Based on the results of phytochemical tests of nanocarrageenan from <i>Eucheuma cottonii</i> seaweed, it was positive for containing alkaloid, flavonoid, tannin, saponin and triterpenoid compounds. The alpha-glucosidase enzyme inhibition test using acarbose, nanocarrageenan with 0.1 M NaOH solvent was 126.25 ppm, 160.65 ppm, respectively. Acarbose and nanocarrageenan extracted with 0.1 M NaOH solvent had the same antioxidant intensity, namely moderate intensity.
Artikel Info	Abstrak
Sejarah Artikel Diterima: 2024-10-18 Direvisi: 2024-11-17 Dipublikasi: 2024-11-30 Kata kunci: <i>Antidiabetes</i> ; <i>Eucheuma cottonii</i> ; IC50; Nanokaragenan; Ultrasonic assisted extraction	Rumput laut <i>Eucheuma cottonii</i> mengandung berbagai senyawa bioaktif yang memiliki manfaat kesehatan seperti menstabilkan gula darah. <i>Eucheuma cottonii</i> sangat banyak dibudidayakan di Indonesia yang bernilai ekonomis sebagai penghasil senyawa hidrokoloid berupa karagenan. Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi nanokaragenan dari rumput laut <i>Eucheuma cottonii</i> menggunakan Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) dan Potensinya sebagai Antidiabetes. Metode penelitian diawali dengan preparasi rumput laut <i>Eucheuma cottonii</i> , ekstraksi nanokaragenan menggunakan UAE dengan pelarut NaOH 0,1 M, uji fitokimia dan pengujian nanokaragenan sebagai antidiabetes secara in vitro dengan cara menguji penghambatan aktivitas enzim alfa-glukosidase menggunakan substrat p-nitrofenil-alfa-D-glukopiranosida (PNPG) dan akarbosa sebagai pembanding menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400nm. Potensi suatu senyawa dapat menghambat aktivitas enzim dapat diketahui melalui perhitungan IC50. Hasil penelitian menunjukkan bahwa % rendemen yang dihasilkan pada saat ekstraksi nanokaragenan menggunakan UAE dengan pelarut NaOH 0,1 M yaitu 14,7%. Berdasarkan hasil uji fitokimia nanokaragenan dari rumput laut <i>Eucheuma cottonii</i> positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan triterpenoid. Uji penghambatan enzim alfa-glukosidase menggunakan akarbosa, nanokaragenan dengan pelarut NaOH 0,1 M masing-masing 126,25 ppm, 160,65 ppm. Akarbosa dan nanokaragenan yang diekstraksi dengan pelarut NaOH 0,1 M memiliki intensitas antioksidan yang sama yaitu intensitas sedang.

PENDAHULUAN

Rumput laut mengandung berbagai senyawa bioaktif yang memiliki manfaat Kesehatan seperti meningkatkan Kesehatan jantung, menstabilkan gula darah, membantu menurunkan berat badan

(Sharifuddin et al, 2015). *Eucheuma cottonii* merupakan jenis rumput laut alga merah (*Rhodophyceae*) yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia dan mempunyai kandungan serat tinggi, kadar serat makanan dari *Eucheuma cottonii*

mencapai 65,5% dengan presentase 39,47% untuk serat makanan yang tak larut air dan sebanyak 26,03% serat makanan yang larut air (Sihite 2023, Panjaitan, 2020). *Eucheuma cottonii* merupakan jenis rumput laut yang memiliki nilai ekonomis sebagai penghasil hidrokoloid berupa karagenan. Karagenan terbagi atas dua fraksi berdasarkan sulfatnya yakni kappa karagenan yang mengandung sulfat kurang dari 28% dan iota karagenan yang mengandung sulfat lebih dari 30% (Takanjanji, 2018).

Karagenan banyak digunakan dalam industri farmasi, tekstil dan kosmetik sebagai bahan pengisi, pengemulsi, pengental, dan bahan pembentuk gel. Serat karagenan dikenal mampu memperlambat penyerapan lemak dan glukosa dari larutan saluran cerna ke dalam aliran darah, yang baik dalam menurunkan kadar glukosa darah (Damayanti, 2022). Sejumlah penelitian tentang aplikasi karagenan telah dilakukan untuk agen terapi antitumor, antivirus, antikoagulan, antiinflamasi dan imunomodulator baik secara in vitro maupun in vivo (Noor, 2018, Reys, 2022). Namun demikian pemanfaatan nanoteknologi dalam ekstraksi karagenan masih jarang dilakukan. Dalam beberapa tahun terakhir, nanoteknologi telah mendapatkan perhatian besar dalam ilmu kedokteran baik dalam diagnosis maupun terapi. Telah terbukti bahwa material berskala nano memperoleh beberapa sifat fisik, kimia dan biologi khusus, yang membuatnya menarik untuk aplikasi biomedis (Dewanandee, 2020). Formulasi obat berukuran nano menawarkan peningkatan fungsi sebagai

agen terapeutik, farmakokinetik dan target spesifik. Sintesis ramah lingkungan dari nanopartikel polimer bahan alam telah terbukti menghasilkan terapi yang lebih baik dalam pengobatan diabetes dibandingkan bahan baku asal (Al Rashid, 2017, Khan, 2018)

Ekstraksi karagenan selama ini masih dilakukan secara konvensional seperti perendaman basa (Panggabean, 2018) pemanasan (Nosa, 2020), dan *microwave* (Milena Álvarez-Viñas, 2023, Gupta, 2022). Namun metode tersebut hanya menghasilkan molekul karagenan dalam molekul besar sehingga bioaktivitasnya kurang optima. Metode ekstraksi yang menerapkan prinsip nanoteknologi menunjukkan sifat yang stabil dan biokompatibel pada material. Nanoteknologi telah dimanfaatkan secara luas untuk diagnostik dan tujuan terapeutik (Gupta, 2022). Metode ultrasonikasi merupakan Teknik yang digunakan untuk mempersiapkan material berukuran nanometer. Penggunaan metode ekstraksi melalui ultrasonikasi menerapkan radiasi frekuensi suara $> 20 \text{ kHz} - < 10 \text{ MHz}$ yang merambat pada sampel sebagai gelombang kompresi sehingga terjadi pemutusan ikatan kimia membentuk nanomaterial (M. Rajinipriya, 2018). Gelombang ultrasonic melewati pelarut yang menyebabkan kavitasi akustik dan berkembangnya gelombang kavitasi, sehingga meningkatkan permukaan kontak antara fase cair dan padat. Hal ini memberikan penetrasi yang lebih baik dan difusi zat terlarut yang lebih cepat ke dalam matriks. Suspensi padat cair menghasilkan

gelembung asimetris, yang menangkap uap dari pelarut, menyebabkan ledakan dan menciptakan energi mekanik melalui mikroturbulensi yang merusak dinding sel alga dan mengoptimalkan efisiensi ekstraksi (J.S. Taurozzi, 2011, Garcia-Vaquero, 2019). Jika dibandingkan dengan prosedur konvensional hasil dan kemurnian karagenan lebih tinggi dengan ultrasonikasi (Youssof L, 2017, Anxo Carreira-Casais, 2021).

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian tentang ekstraksi nanokaragenan dari *Eucheuma cottonii* menggunakan Ultrasonik Assisted Extraction (UAE) dan Potensinya sebagai Antiadiabetes.

METODE

Bahan dan Alat

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Rumput laut *Eucheuma cottonii*, NaOH, CaCO₃, HCl, akarbosa, enzim alfa glucosidase, substrat PNPG, buffer fosfat pH 7, reagen uji fitokimia(asetat anhidrat, kloroform, asam sulfat, pereaksi dragendroff, pereaksi meyer, FeCl₃, etanol, aquades. Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: peralatan gelas, thermometer, buret dan klem, timbangan analitik, oven, blender, ayakan 90 mesh, alat ultrasonikasi, pH meter, micropipet, spektrofotometer UV-Vis, sentrifugasi.

Tahap penelitian

1. Preparasi rumput laut *Eucheuma cottonii*

Rumput laut *Eucheuma cottonii* disortasi terlebih dahulu kemudian dicuci dengan air bersih yang mengalir sehingga tidak ada lagi sisa-sisa kotoran yang berupa

pasir, garam, dan jenis-jenis lainnya, kemudian dijemur. Selanjutnya dipotong-potong agar ukurannya lebih kecil dan direndam dalam air tawar selama 20 menit, kemudian dibilas dan ditiriskan. Selanjutnya *Eucheuma cottonii* direndam kembali dalam air kapur selama 10 menit kemudian dicuci dan dibilas menggunakan air yang mengalir sampai bersih. *Eucheuma cottonii* dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 4 jam selanjutnya diblender menjadi serbuk dan diayak ukuran 90 mesh

2. Ekstraksi nanokaragenan

Sebanyak 50 gram serbuk *Eucheuma cottonii* dimasukkan dalam wadah ekstraksi dan ditambahkan pelarut (NaOH dan aquades) dengan perbandingan pelarut : *Eucheuma cottonii* (20 ml:1 gr), selanjutnya diekstraksi pada suhu 70°C selama 10 menit. Konsentrasi NaOH yang digunakan 0,1 M. Hasilnya disaring dan filtratnya ditambahkan HCl hingga pH netral (pH 7). Proses pemutihan jika diperlukan. Filtrat yang pH nya sudah netral ditambahkan pengendap dengan perbandingan 1:10 kemudian diaduk dan dibiarkan selama 15 menit. Endapan disaring kemudian dikeringkan dan digiling membentuk serbuk.

Perhitungan rendemen Rendemen

Rendemen nanokaragenan ditentukan berdasarkan presentasi berat nanokaragenan yang dihasilkan terhadap berat bahan baku awal pada saat proses ekstraksi. Persen rendemen dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat nanokaragenan yang dihasilkan}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

3. Uji fitokimia nanokaragenan

Serbuk nanokaragenan dilarutkan dalam etanol selanjutnya dianalisis kandungan fitokimianya secara kualitatif untuk mendeteksi keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid saponin dan tannin.

4. Pengujian nanokaragenan sebagai antidiabetes secara in vitro

Pengujian blanko dan kontrol blanko

Dapar fosfat pH 7 sebanyak 216 μL dan substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 mM sebanyak 102 μL dimasukan kedalam well dan diinkubasi pada microplate reader selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, enzim α -glukosidase sebanyak 102 μL ditambahkan dalam well dan diinkubasi pada microplate reader selama 15 menit pada suhu 37°C. setelah masa inkubasi kedua selesai ditambahkan Na_2CO_3 200 mM sebanyak 100 μL ditambahkan kedalam well untuk menghentikan reaksi. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Hal yang sama dilakukan pada larutan kontrol blanko hanya saja tidak ditambahkan enzim.

Pengujian pembanding dan kontrol pembanding (Akarbosa)

Dapar fosfat pH 7 sebanyak 216 μL dimasukan kedalam well yang akan diisi oleh larutan akarbosa dengan lima variasi konsentrasi, kemudian larutan akarbosa dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 180 μL , hal yang sama dilakukan untuk larutan akarbosa dengan konsentrasi 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm, dan substrat

p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 mM sebanyak 102 μL dimasukan kedalam well dan diinkubasi pada microplate reader selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, enzim α -glukosidase sebanyak 102 μL ditambahkan dalam well dan diinkubasi pada microplate reader selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi kedua selesai ditambahkan Na_2CO_3 200 mM sebanyak 100 μL ditambahkan kedalam well untuk menghentikan reaksi. selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Hal yang sama dilakukan pada larutan kontrol pembanding hanya saja tidak ditambahkan enzim.

Pengujian Sampel dan kontrol nanokaragenan

Dapar fosfat pH 7 sebanyak 216 μL dimasukan kedalam well yang akan diisi oleh larutan sampel nanokaragenan dengan lima variasi konsentrasi, kemudian larutan nanokaragenan yang diekstraksi dengan NaOH 0,1 M dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 180 μL , hal yang sama dilakukan untuk larutan nanokaragenan dengan konsentrasi 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Selanjutnya substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 mM sebanyak 102 μL dimasukan kedalam well dan diinkubasi pada microplate reader selama 5 menit pada suhu 37°C. setelah inkubasi, enzim α -glukosidase sebanyak 102 μL ditambahkan dalam well dan diinkubasi pada microplate reader selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi kedua selesai ditambahkan Na_2CO_3 200 mM sebanyak 100 μL ditambahkan

kedalam well untuk menghentikan reaksi . selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Hal yang sama dilakukan pada larutan kontrol nanokaragenan hanya saja tidak ditambahkan enzim.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Preparasi rumput laut *Eucheuma cottonii*

Pada penelitian ini, simplisia yang digunakan adalah rumput laut *Eucheuma cottonii* yang diambil di perairan laut Desa Laju Kecamatan Langgudu Kabupaten Bima. Rumput laut *Eucheuma cottonii* yang diperoleh disortasi dipisahkan dari pengotornya yang menempel dengan cara dicuci dengan air yang mengalir. Selanjutnya rumput laut *Eucheuma cottonii* diangin-anginkan sampai setengah kering kemudian dicuci kembali dengan calcium karbonat selama 20 menit untuk membersihkan sisa-sisa garam yang masih menempel pada rumput laut *Eucheuma cottonii* setelah proses pengeringan sebelumnya. Setelah perendaman selesai dilanjutkan dengan pencucian dengan air yang mengalir dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Rumput laut *Eucheuma cottonii* setengah kering dilakukan pengeringan dengan cara di oven untuk mengurangi kadar air yang ada pada rumput laut *Eucheuma cottonii* agar terhindar dari pembusukan sehingga menurunkan mutu dan menghindari terjadinya hidrolisis terhadap kandungan senyawa simplisia oleh enzim. Rumput laut *Eucheuma cottonii* diblender dan diayak menggunakan ayakan 90 mesh.

2. Ekstraksi nanokaragenan

Proses ekstraksi nanokaragenan rumput laut *Eucheuma cottonii* dengan menggunakan Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) dengan menggunakan pelarut natrium hidroksida dengan konsentrasi pelarut 0,1 M. Pada saat proses ekstraksi serbuk yang ditimbang sebanyak 50 gram dimasukan dalam wadah ekstraksi dan ditambahkan pelarut dengan perbandingan (1 gr : 20 mL), hal ini bertujuan untuk mempermudah pemecahan dinding sel rumput laut dibutuhkan kontak antar dinding sel rumput laut dengan pengeksrak yang besar. selanjutnya diekstraksi menggunakan UAE pada suhu 70°C selama 10 menit, dengan menggunakan metode UAE tidak membutuhkan suhu tinggi dan waktu yang lama karena adanya efek kavitasi.

Gelembung-gelembung yang diperoleh akibat efek kavitasi mengakibatkan peningkatan pori-pori dinding sel dan mempercepat proses difusi energi panas melalui dinding sel lebih mudah mengalami kerusakan, medium yang dilewati akan mengalami getaran disebabkan oleh gelombang ultrasonic. Getaran tersebut memberikan pengadukan yang intensif. Proses pengadukan ini akan meningkatkan osmosis antara bahan dan pelarut. Hal ini menyebabkan proses ekstraksi dengan menggunakan ultrasonic (UAE) menjadi lebih cepat (Sari, 2012).

Pemilihan pelarut dan konsentrasi pelarut juga mempengaruhi persen rendemen yang dihasilkan selama proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu larutan alkali natrium

hidroksida yang berfungsi sebagai katalis untuk menghilangkan gugus 6-sulfat yang bersifat hidrofilik dari unit monomer karagenan dan membentuk 3,6 anhidrogalaktosa yang bersifat hidrofobik sehingga dapat meningkatkan pembentukan gel pada karagenan (Suryaningrum, dkk. 2006). Pelarut alkali membantu perluasan jaringan sel rumput laut sehingga proses ekstraksi menjadi lebih maksimal. Pada saat ekstraksi larutan alkali menyebabkan pecahnya membrane sel rumput laut dan melepaskan kandungan sel rumput laut. Selanjutnya, anion OH⁻ dari larutan alkali dapat mengubah precursor karagenan . proses ini menyebabkan gugus 6 sulfat pada unit beta 1-galaktosa berubah menjadi 3,6 anhidrogalaktosa (Tarman, 2020).

Karagenan yang keluar dari jaringan rumput laut ditandai dengan meningkatnya viskositas larutan ekstraksi menjadi lebih kental, hal ini dapat terlihat pada saat proses penyaringan filtrat hasil penyaringan membentuk lapisan gel ketika filtrat dingin, sehingga selesai proses ekstraksi harus segera disaring dan diendapkan. Endapan yang diperoleh dinetralkan sampai pH 7 kemudian dikeringkan dengan oven sehingga diperoleh serbuk nanokaragenan *Eucheuma cottonii*. Nanokaragenan yang diperoleh dihitung % rendemen, serta dilakukan uji fitokimia.

3. Rendemen nanokaragenan

Rendemen merupakan parameter yang penting untuk melihat efektif atau tidaknya proses ekstraksi nanokaragenan. Efektif dan efisiensinya ekstraksi

nanokaragenan bisa dilihat dari nilai rendemennya. Rendemen yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.1 persen rendemen dan persen kadar air nanokaragenan dengan variasi konsentrasi pelarut.

Tabel 1. Porsentase rendemen nano karagenan dengan konsentrasi pelarut NaOH 0,1 M

Perlakuan	Rendemen (%)	Kadar air (%)
NaOH 0,1 M	14,7	2,57

Berdasarkan hasil rendemen karagenan yang dapat dilihat pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen yang dihasilkan dengan menggunakan pelarut NaOH 0,1 M belum memenuhi standar persyaratan minimum rendemen karagenan yang ditetapkan oleh departemen perdagangan (1989) dan SNI 01-2690-1888 yaitu sebesar 25%.

1. Uji fitokimia nanokaragenan

Skrining fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang aktif dalam nanokaragenan hasil ekstraksi. Prinsip dasarnya yaitu adanya reaksi pengujian warna dengan berbagai pereaksi yang digunakan (Harborne , 1996). Hasil skrining fitokimia secara kualitatif nanokaragenan dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil skrining fitokimia nanokaragenan dari *Eucheuma cottonii*.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia nanokaragenan dari rumput laut *eucheuma*

Senyawa aktif	Metode Uji	Hasil	Hasil reaksi	Keterangan
Alkaloid				
Dragendrof	Pereaksi dragendroff	+		Endapan berwarna jingga
Mayer	Pereaksi Mayer	+		Endapan berwarna kuning

Flavonoid	Bate smith	+		Endapan berwarna merah
	HCl, serbuk Mg	+		Endapan warna jingga
Tanin	FeCl ₃ 1%	+		Perubahan warna menjadi hitam
Saponin	Air panas, HCl	+		Terdapat busa yang stabil selama 10 menit
Triterpenoid	Kloroform, pereaksi Lieberman-buchard	+		Perubahan warna menjadi ungu/violet

Kandungan senyawa alkaloid diuji dengan dua pereaksi yaitu dragendroff dan meyer. Hasil skrining fitokimia menunjukkan nanokaragenan dari *eucheuma cottonii* positif mengandung senyawa bioaktif alkaloid. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan kuning pada saat menggunakan pereaksi meyer, endapan jingga dengan pereaksi dragendroff. Pembentukan senyawa kompleks pereaksi dan ion logam mengakibatkan adanya endapan yang terbentuk, sehingga senyawa alkaloid sanggup untuk bergabung dengan logam

yang memiliki atom yang lebih tinggi (Murtadlo, Y. 2013).

Identifikasi senyawa flavonoid pada nanokaragenan dari *Eucheuma cottonii* teridentifikasi mengandung flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya endapan merah bata ketika ditambahkan H₂SO₄ pekat.

Identifikasi senyawa tannin pada nanokaragenan dari *Eucheuma cottonii* teridentifikasi mengandung tannin kuat karena terjadinya perubahan warna menjadi hitam pekat. Gugus fenolik pada tannin berikatan dengan ion Fe dari FeCl₃ membentuk senyawa yang kompleks yang memberi warna hijau kehitaman. Tannin juga memiliki peran biologis dari mulai pengendapan protein sampai pengkelat ion logam (Malangngi, 2012).

Identifikasi senyawa saponin pada nanokaragenan dari rumput laut *Eucheuma cottonii* positif dan kuat yang ditandai dengan terbentuknya busa setelah dikocok selama 2 menit dan busa yang terbentuk stabil setelah penambahan HCl. Terbentuknya busa dikarenakan senyawa saponin mempunyai gugus hidroksil yang berikatan dengan air dan gugus hidrofob mengikat oksigen di udara, dimana gugus polar berada diluar misel dan gugus non polar berada di dalam misella (Yunitasari I., 2015) Prinsipnya pada peristiwa ini disebut adanya reaksi hidrolisis yang ditandai dengan terbentuknya busa atau buih (Wardana, 2016).

Identifikasi senyawa triterpenoid pada nanokaragenan *Eucheuma cottonii* teridentifikasi dengan adanya perubahan warna menjadi ungu atau violet. Senyawa

triterpenoid cenderung bersifat nonpolar yang dapat dihasilkan dalam pelarut yang sama. Triterpenoid merupakan salah satu senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan sehingga ekstraknya banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang (Ergina, E., 2014).

4. Pengujian nanokaragenan sebagai antidiabetes secara in vitro

Pada tahap ini melakukan pengujian nanokaragenan hasil ekstraksi rumput laut *Eucheuma cottonii* sebagai antidiabetes secara in vitro. Untuk mengetahui nanokaragenan dapat digunakan sebagai antiadibetes maka perlu dilakukan serangkaian pengujian dari aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase. Ada 9 jenis larutan yang diuji yaitu larutan blanko, larutan control blanko, larutan pembanding(akarbosa), larutan control pembanding (akarbosa), larutan sampel nanokaragenan dari *Eucheuma cottonii* yang diekstraksi dengan pelarut NaOH 0,1M. Dilakukan pengujian larutan blanko dan control blanko sebagai pembanding untuk mengetahui aktivitas dari enzim tanpa adanya sampel sebagai inhibitor. Pada pengujian ini menggunakan larutan dapar fosfat pH 7 karena pada pH ini enzim alfa-glukosidase dapat bekerja dengan baik. Suhu inkubasi yang digunakan yaitu 37°C dimana suhu ini merupakan suhu optimum untuk enzim bekerja. Setelah masa inkubasi berakhir maka ditambahkan natrium karbonat untuk menghambat kerja enzim pada larutan enzim. Pengujian ini dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 400nm. Enzim alfa-glukosidase bekerja dengan

menghidrolisis p-nitrofenil-alfa-D-glukopiranosida menjadi glukosa dan p-nitrofenol yang berwarna kuning. Semakin rendah intensitas warna kuning p-nitrofenol maka semakin sedikit produksi glukosa yang dihasilkan (Ergina, E., 2014).

Larutan pembanding (akarbosa) dibuat lima seri konsentrasi yaitu 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Sedangkan untuk larutan sampel nanokaragenan dengan pelarut NaOH 0,1 M dibuatkan juga masing-masing lima seri konsentrasi yaitu 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Tujuan pembuatan lima seri konsentrasi yaitu untuk mengetahui efektivitas inhibisi dari masing-masing larutan uji terhadap enzim alfa-glukosidase serta untuk mengetahui perbedaan aktivitas inhibisi ekstrak terhadap akarbosa sebagai pembanding.

Hasil uji aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase dari larutan pembanding yaitu akarbosa dan nanokaragenan dari rumput laut *Eucheuma cottonii* konsentrasi pelarut 0,1 M dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi akarbosa dan ekstrak nanokaragenan rumput laut *Eucheuma cottonii* sebagai inhibitor enzim α -glukosidase.

Tabel 3. Hasil pengukuran absorbansi akarbosa dan ekstrak nanokaragenan sebagai inhibitor enzim α -glukosidase.

Perlakuan	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi					IC50 (ppm)
		blanko	Ktrl blanko	Sampel	Ktrl sampel	% inhibisi	
Akarbosa	100	0,094	0,108	0,068	0,081	7,14	126,25
	200			0,072	0,078	57,14	
	300			0,074	0,068	192,86	
	400			0,095	0,056	378,57	
	500			0,103	0,045	514,29	
NaOH 0,1 M	100	0,094	0,108	0,040	0,062	-57,14	160,65
	200			0,048	0,060	14,28	
	300			0,050	0,059	35,71	
	400			0,058	0,046	185,71	
	500			0,070	0,044	285,71	

Hasil uji aktivitas inhibisi enzim alfa-glukosidase dari nanokaragenan *Eucheuma cottonii* dapat dilihat pada Tabel 3 yang menunjukkan bahwa persentase inhibisi nanokaragenan terhadap enzim alfa-glukosidase meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi dari masing-masing perlakuan. Nilai persen inhibisi tidak dapat secara langsung dipakai sebagai parameter utama aktivitas antiadibetes dari suatu sampel, karena persen inhibisi merupakan respon dari tiap konsentrasi uji sehingga tidak menggambarkan aktivitas antidiabetes yang paling baik diantara semua sampel yang diujikan. Setelah diketahui persen inhibisi nanokaragenan terhadap enzim alfa-lukosidase, dilanjutkan dengan menghitung IC50 yang dimana nilai persen inhibisi digunakan untuk menghitung nilai IC50. Nilai IC50 menggambarkan besarnya konsentrasi untuk menghambat 50% aktivitas dari enzim. Besarnya IC50 dapat diperoleh dengan melakukan pengujian pada berbagai variabel konsentrasi ekstrak dan hasilnya diplot dalam grafik. Dari hasil perhitungan data diperoleh nilai IC50 dari masing-masing perlakuan yaitu akarbosa memiliki IC50 126,25 ppm sedangkan nanokaragenan 160,65 ppm. Senyawa uji yang memiliki nilai IC50 kecil menunjukkan bahwa aktivitas penghambat terhadap enzim alfa-glukosidase tinggi. Akarbosa dan nanokaragenan memiliki kategori kekuatan antioksidan sedang.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa nanokaragenan dari rumput laut *Eucheuma*

cottonii dapat digunakan sebagai antidiabetes karena memiliki kemampuan antioksidan yang terlihat dari nilai IC50 yang berada pada kategori intensitas sedang sama halnya dengan akarbosa yang berada pada intensitas sedang akarbosa yang digunakan sebagai pembanding karena dipakai untuk menurunkan kadar gula darah penderita DM 2.

DAFTAR PUSTAKA

- Sharifuddin, Y., Yao-Xian Chin, Y.X., Lim, P.E. and Phang, S.M. 2015. Potential Bioactive Compounds from Seaweed for Diabetes Management. Mar. Drugs. 13, 5447-5491; doi:10.3390/md13085447
- Sihite, N.W., Eliza, dan Zebua, E.A. 2023. Daya Terima Fortifikasi Tepung *Eucheuma Cottonii* Pada Produk Dimsum Sebagai Alternatif Pangan Kaya Serat. Jurnal Sehat Mandiri. 18 (1): 42-51.
- Panjaitan P.S., Panjaitan T.F., Siregar A.N., dan Sipahutar Y.H. 2020. Karakteristik Mutu Tortila Dengan Penambahan Rumput Laut (*Eucheuma Cottonii*). Aurelia J.;2(1):73.
- Takanjanji, L.M., Marcelien D., Oedjoe, R., dan Linggi, Y. 2018. Tingkat Pertumbuhan Dan Karaginan Rumput Laut *Eucheuma Cottonii* Di Perairan Batubao Teluk Kupang Dengan Menggunakan Bibit Petikan (F2). Jurnal Akuatik. 1 (1): 77-83.
- Damayanti, A. dan Andhiarto, Y. 2022. Antihyperglycemic effects of carrageenan from *eucheuma spinosum* in alloxaninduced diabetic rats. International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 7 (3): 43-47.
- Noor, H.M. 2018. Potential of carrageenans in foods and medical applications. Global Health Management Journal, 2 (2):

- 32-36.
- Mechchate, H.; Es-safi, I.; Louba, A.; Alqahtani, A.S.; Nasr, F.A.; Noman, O.M.; Farooq, M.; Alharbi, M.S.; Alqahtani, A.; Bari, A.; et al. In vitro alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitory activity and in vivo antidiabetic activity of *Withania frutescens* L. Foliar extract. *Molecules* 2021, 26, 293.
- Mechchate, H.; Es-Safi, I.; Amaghnoije, A.; Boukhira, S.; Alotaibi, A.A.; Al-Zharani, M.; Nasr, F.A.; Noman, O.M.; Conte, R.; Amal, E.H.E.Y. Antioxidant, anti-inflammatory and antidiabetic proprieties of LC-MS/MS identified polyphenols from coriander seeds. *Molecules* 2021, 26, 487.
- Alqahtani, A.S.; Hidayathulla, S.; Rehman, M.T.; ElGamal, A.A.; Al-Massarani, S.; Razmovski-Naumovski, V.; Alqahtani, M.S.; El Dib, R.A.; AlAjmi, M.F. Alpha-amylase and alpha-glucosidase enzyme inhibition and antioxidant potential of 3-oxolupenal and katononic acid isolated from *Nuxia oppositifolia*. *Biomolecules* 2019, 10, 61.
- Mechchate, H.; Es-safi, I.; Conte, R.; Hano, C.; Amaghnoije, A.; Jawhari, F.Z.; Radouane, N.; Bencheikh, N.; Grafov, A.; Boustia, D. In Vivo and In Vitro Antidiabetic and Anti-Inflammatory Properties of Flax (*Linum usitatissimum* L.) Seed Polyphenols. *Nutrients* 2021, 13, 2759
- Reys LL, Silva SS, Soares da Costa D, Reis RL, Silva TH (2022) Fucoidan- based hydrogels particles as versatile carriers for diabetes treatment strategies. *J Biomater Sci Polym Ed* <https://doi.org/10.1080/09205063.2022.2088533>
- Dewanjee, S., Chakraborty, P., Mukherjee, B., and De Feo, V. 2020. Plant- Based Antidiabetic Nanoformulations: The Emerging Paradigm for Effective Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 21 (6), 2217: 1-44
- Al Rashid, H. 2017. Preparation and characterization of plga loaded nanoparticles obtained from *D. melanoxylon* Roxb. leaves for their antiproliferative and antidiabetic activity. *Int. J. Green Pharm.* 11, S438-S447.
- Anand, K., Tiloke, C., Naidoo, P., Chuturgoon, A.A. 2017. Phytonanotherapy for management of diabetes using green synthesis nanoparticles. *J. Photochem. Photobiol.* 173, 626-639
- Deng, W. Wang, H. Wu, B. and Zhang, X. 2019. Selenium-layered nanoparticles serving for oral delivery of phytomedicines with hypoglycaemic activity to synergistically potentiate the antidiabetic effect. *Acta Pharm. Sin.* 9, 74-86.
- Lombardo, D., Kiselev, M.A., Caccam, M.T. 2019. Smart nanoparticles for drug delivery application: Development of versatile nanocarrier platforms in biotechnology and nanomedicine. *J. Nanomater.* 2019, 3702518.
- Khan, T. and Gurav, P. 2018. PhytoNanotechnology: Enhancing delivery of plant based anti-cancer drugs. *Front. Pharmacol.* 8, 1002.
- Panggabean, J.E., Verly Dotulong, V., Montolalu, R.I., Damongilala, L., Harikedua, S.D. dan Makapedua, D.M. 2018. Ekstraksi Karaginan Rumput Laut Merah (*Kappaphycus Alvarezii*) Dengan Perlakuan Perendaman Dalam Larutan Basa. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan.* 6 (3): 65-70.
- Nosa, S.P., Karnila, R., Diharmi, A. 2020. Potensi Kappa Karaginan Rumput Laut (*Eucheuma Cottonii*) Sebagai Antioksidan Dan Inhibitor Enzim α -Glukosidase. *BERKALA PERIKANAN TERUBUK.* 48 (2): 1-10.
- González-Ballesteros, N., Torres M.D.,

- Flórez-Fernández, N., Diego- González, L., Simón-Vázquez, R., Rodríguez-Argüelles, M.C Domínguez.
- H. 2021. Eco-friendly extraction of *Mastocarpus stellatus* carrageenan for the synthesis of gold nanoparticles with improved biological activity. *International Journal of Biological macromolecules*. 183, 2021: 1436-1449
- Milena Álvarez-Viñas , Sandra Rivas , María Dolores Torres and Herminia Domínguez. 2023. Microwave-Assisted Extraction of Carrageenan from *Sarcopeltis skottsbergii*. *Mar. Drugs* 2023, 21, 83.1-17.
- Gupta, V., Mohapatra, S., Mishra, H., Farooq, U., Kumar, K., Ansari, M.J., Aldawsari, M.F., Alalaiwe, A.S., Mirza, M.A. and Iqbal, Z. 2022. Nanotechnology in Cosmetics and Cosmeceuticals—A Review of Latest Advancements. *Gels*. 8, 173: 1-31. <https://doi.org/10.3390/gels8030173>
- M. Rajinipriya, M. Nagalakshmaiah, M. Robert, S. Elkoun Importance of agricultural and industrial waste in the field of nanocellulose and recent industrial developments of wood based nanocellulose: A review *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 6 (2018), pp. 2807-2828
- J.S. Taurozzi, V.A. Hackley, M.R. Wiesner Ultrasonic dispersion of nanoparticles for environmental, health and safety assessment—issues and recommendations *Nanotoxicology*, 5 (2011), pp. 711-729
- H. Du, M. Parit, M. Wu, X. Che, Y. Wang, M. Zhang, R. Wang, X. Zhang, Z. Jia ng, B. Li. Sustainable valorization of paper mill sludge into cellulose nanofibrils and cellulose nanopaper. *J. Hazard. Mater.*, 400 (2020), Article 123106
- T. Li, C. Chen, A.H. Brozena, J.Y. Zhu, L. Xu, C. Driemeier, J. Dai, O.J. Rojas, Isogai, L. Wagberg, L. Hu. Developing fibrillated cellulose as a sustainable technological material. *Nature*, 590 (2021), pp. 47-56
- B. Mazela, W. Perdoch, B. Peplinska, M. Zielinski. Influence of chemical pre-treatments and ultrasonication on the dimensions and appearance of cellulose fibers. *Materials (Basel)*, 13 (2020)
- Garcia-Vaquero M., Ummat V., Tiwari B., Rajauria G. Exploring ultrasound, microwave and ultrasound-microwave assisted extraction technologies to increase the extraction of bioactive compounds and antioxidants from brown macroalgae. *Mar. Drugs*. 2020;18:172. doi: 10.3390/md18030172.
- Garcia-Vaquero M., O'Doherty J.V., Tiwari B.K., Sweeney T., Rajauria G. Enhancing the extraction of polysaccharides and antioxidants from macroalgae using sequential hydrothermal-assisted extraction followed by ultrasound and thermal technologies. *Mar. Drugs*. 2019;17:457. doi: 10.3390/md17080457
- Youssef L., Lallemand L., Giraud P., Soulé F., Bhaw-Luximon A., Meilhac O., D'Hellencourt C.L., Jhurry D., Couprie J. Ultrasound-assisted extraction and structural characterization by NMR of alginates and carrageenans from seaweeds. *Carbohydr.Polym.* 2017;166:55–63. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.01.041.
- Anxo Carreira-Casais,1 Paz Otero,1 Pascual Garcia-Perez,1 Paula Garcia-Oliveira,1,2 Antia G. Pereira,1,2 Maria Carpena,1 Anton Soria-Lopez,1 Jesus Simal-Gandara,1,* and Miguel A. Prieto. 2021. Benefits and Drawbacks of Ultrasound-Assisted Extraction for the Recovery of Bioactive Compounds from Marine Algae. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Sep; 18(17): 9153.

- Sari, D.K., Dyah, H.W dan Aji, P. 2012. Pengujian Kandungan Total Fenol *Kappahycus alvarezzi* dengan Metode Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Suhu dan Waktu. Prosiding SNST Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Suryaningrum, dkk. 2006. Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Rumput Laut *Halymenia harveyana* dan *Eucheuma cottonii*. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Vol. 1, No. 1
- Tarman, K., Uju, S., Joko, S and Linawati Hardjito. 2020. Carrageenan and its Enzymatic Extraction. Encyclopedia of Marine Biotechnology:Five Volume Set, First Edition.
- Harborne, J. B. (1996). Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Terbitan Kedua. Bandung: Penerbit ITB. 71, 130 – 147, 259.
- Murtadlo, Y. (2013). Isolasi, Identifikasi Senyawa Alkaloid Total Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* linn.) dan Uji Sitotoksik Dengan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Chem Info Journal, 1 (1): 379-385.
- Malangngi, L., Sangi, M., Paendong, J. (2012). Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* mill.). Jurnal MIPA UNSRAT, 1(1): 5-10.
<https://doi.org/10.35799/jm.1.1.2012.423>
- Wardana, A., Tukiran, T. (2016). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Tumbuhan Gowok (*Syzygium polycephalum*). Prosiding Seminar Nasional Kimia Dan Pembelajarannya. Hal 21– 26.
- Ergina, E., Nurhayati, S., Pursitasari, I. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. Jurnal Akad Kim, 3(3):165-172.
- Yunitasari I, Aminin AL, Anam K. Aktivitas Inhibisi α -Glukosidase dan Identifikasi Senyawa dalam Fraksi Aktif Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi. 2015;18(3):110-115.