

KATA PENGANTAR

Dengan penuh rasa syukur kehadiran Allah SWT, Media Farmasi Vol. 12 No. 1 Tahun 2015 telah terbit.

Pada edisi ini, Jurnal Media Farmasi menyajikan 11 artikel yang kesemuanya merupakan hasil penelitian. Enam artikel dari luar Fakultas Farmasi UAD membahas, (1) Formulasi dan evaluasi masker wajah *peel-off* yang mengandung kuersetin (2) Pengaruh polivinil pirolidon (PVP) dalam absorpsi piroksikam (3) Uji perbandingan aktivitas antijamur *Pityrosporum ovale* dari kombinasi ekstrak etanol buah belimbing wuluh dan daun sirih (4) Aktivitas inhibisi α -amilase ekstrak karagenan dan senyawa polifenol (5) Uji antihipertensi infus kombinasi biji dan rambut jagung (6) Layanan pesan singkat pengingat meningkatkan kepatuhan minum obat. Lima artikel dari peneliti Fakultas Farmasi UAD yang membahas tentang : (1) Formulasi emulgel minyak biji bunga matahari (2) Aktivitas antifungi fraksi etil asetat ekstrak daun pacar kuku (3) Karakteristik genetik *Actinomyces* (4) Simvastatin sebagai hepatoprotektor (5) Faktor yang diprediksi berpengaruh terhadap pengobatan sendiri.

Harapan kami, jurnal ini dapat bermanfaat bagi pembaca atau menjadi referensi peneliti lain. Kritik dan saran membangun, senantiasa kami terima dengan tangan terbuka.

Dewan Editor

AKTIVITAS INHIBISI α -AMILASE EKSTRAK KARAGENAN DAN SENYAWA POLIFENOL DARI *Eucheuma denticulatum*

INHIBIT α -AMILASE ACTIVITY OF CARRAGEENAN AND POLYPHENOLS EXTRACT FROM *Eucheuma denticulatum*

Agung Giri Samudra¹, Agung Endro Nugroho², Amir Husni³

Akademi Farmasi Al-Fatah¹,
Bagian Farmakologi Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta²,
Mikrobiologi Perikanan Universitas Gajah Mada Yogyakarta³,
Email: agunggirisamudra@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini untuk mengetahui kemampuan karagenan dan polifenol dari *Eucheuma denticulatum* terhadap karbohidrat enzim α -amilase secara *in vitro*. Ekstraksi karagenan menggunakan larutan kalium hidroksida 0,5%. Polifenol diekstraksi dengan 50% (v/v) metanol. Identifikasi karagenan ditentukan dengan *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Kandungan total fenol ekstrak ditentukan menurut metode Folin-Ciocalteu. Kemudian hasil ekstraksi diuji daya hambat aktivitas α -amilase. Ekstrak karagenan dan polifenol mempunyai kemampuan menghambat aktivitas IC₅₀ α -amilase yaitu 12,16 dan 11,64 mg/mL. Ekstrak Polifenol memiliki daya hambat α -amilase lebih tinggi dari pada ekstrak karagenan.

Kata Kunci: *Eucheuma denticulatum*, karagenan, polifenol, α -amilase.

ABSTRACT

Carrageenan and polyphenols extract of Eucheuma denticulatum were tested for their ability to inhibit carbohydrate hydrolysis α -amylase enzymes in vitro methods. Extraction of carrageenan was using 0.5% KOH solution. Polyphenols were extracted from both marine algae by using 50% (v/v). Identification of carrageenan was determined by Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. Total polyphenols contents from the extracts were determined according to the Folin-Ciocalteu method. Carrageenan and polyphenols extracts from Eucheuma denticulatum showed the ability to inhibit the activity of α -amylase with an IC₅₀ 12.16 and 11.64 mg / mL. Polyphenols extract more effective to inhibit α -amylase than carrageenan extract.

Keyword: *Eucheuma denticulatum*, carrageenan, polyphenols, α -amylase.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya. Salah satu tujuan utama terapi medis bagi pasien diabetes meliputi pengontrolan kadar glukosa darah mendekati normal dengan cara pemberian obat antidiabetik oral dan injeksi insulin. Namun, penggunaan obat antidiabetik masih memiliki efek samping, serta harga obat antidiabetik oral dan insulin tergolong mahal dan kurang terjangkau oleh masyarakat. Alasan ini, peneliti melakukan penelitian pada penggunaan sumber alami yang berasal dari tumbuhan sebagai salah satu manajemen alternatif dalam menangani diabetes melitus.

Alga laut jenis *Eucheuma denticulatum* merupakan jenis-jenis yang banyak ditemukan dan cukup melimpah di Indonesia. Polisakarida dari alga laut *Eucheuma*

denticulatum yaitu karagenan, Karagenan, alginat dan polifenol dapat menurunkan kadar glukosa darah pada hewan uji (Wikanta dkk., 2008; Nwosu dkk., 2011). Hingga saat ini, belum ditemukan sumber informasi penelitian tentang senyawa karagenan dan polifenol dari alga laut *Eucheuma denticulatum* yang berkhasiat sebagai penurun kadar glukosa darah dengan mekanisme menghambat kerja enzim α -amilase. Berdasarkan hal ini menarik dilakukan penelitian uji daya inhibisi terhadap enzim α -amilase terhadap senyawa karagenan, dan polifenol alga laut *Eucheuma denticulatum* yang diperoleh dari Gunung Kidul Yogyakarta sebagai khasiat penurun kadar glukosa darah.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi karagenan.

Alga laut *Eucheuma denticulatum* diekstraksi menggunakan larutan KOH 0,5% pada suhu 90°C selama 1 jam dengan perbandingan pelarut dan bahan baku 20 mL : 1 gr. Endapan disaring kemudian dikeringkan di dalam oven

dengan suhu 50°C selama 24 jam (Ramalingam dkk., 2003).

Ekstraksi polifenol.

Alga laut *Eucheuma denticulatum* dan *Sargassum hystrix* diekstrak dalam metanol 50%. Metanol diuapkan dengan menggunakan evaporator rotari vakum (Zhang dkk., 2006).

Identifikasi karagenan spektra FTIR.

Serbuk sampel yang telah disiapkan dicampurkan dengan KBr untuk dijadikan pelet. Pengukuran spektrum dilakukan menggunakan spektrometer FTIR. Pengukuran dilakukan dengan transmisi bilangan gelombang 4000-650 cm^{-1} , dengan kecepatan *scan* 0,20 cm/s dan 30 akumulasi pada resolusi 4 cm^{-1} (Gomez and Ruperez, 2011).

Pengukuran kandungan total polifenol.

Pengujian ini menggunakan reagen Folin–Ciocalteu's dan pereaksi natrium karbonat 7,5%. Larutan standar dan sampel masing-masing diambil 100 μL letakkan pada tabung reaksi. Larutan ditambahkan reagent folin–ciocalteu's sebanyak 500 μL dan diinkubasi selama 5 menit. Larutan

ditambahkan natrium karbonat sebanyak 400 μL dan diinkubasi selama 2 jam pada tempat yang gelap. Pembacaan absorbansi menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 750 nm (Zhang dkk., 2006).

Uji daya inhibisi terhadap enzim α -amilase.

Masing-masing ekstrak dibuat seri kadar 1,25; 2,5; 5; 10 dan 20 mg/mL . Setiap larutan seri kadar ekstrak di ambil 25 μL ditambahkan ke dalam 25 μL mengandung α -amilase dengan konsentrasi 750 U/mL dalam 20 mM bufer fosfat pH 6,9 dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Larutan tersebut ditambahkan 25 μL mengandung pati konsentrasi 0,5% dalam 20 mM buffer fosfat pH 6,9 dan larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan larutan 50 μL mengandung 96 mM asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS) dan larutan diinkubasi diatas penangas air selama 5 menit. Larutan didinginkan sampai suhu ruangan 37°C. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 540 nm (Apostolidis, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi

Ekstraksi karagenan dalam penelitian ini menggunakan larutan KOH 0,5% menurut Basmal dkk., (2003) ekstraksi menggunakan larutan KOH 0,5% dapat menghasilkan ekstrak karagenan yang paling tinggi di bandingkan larutan konsentrasi KOH 0; 2 dan 3,5 %. Larutan KOH konsentrasi yang lebih tinggi saat pembentukan karagenan kation K^+ terperangkap dalam koagulan karagenan sehingga menyebabkan adanya kation K^+ sulit untuk membentuk karagenan. Faktor lain adanya hidrolisis pada larutan KOH konsentrasi yang lebih tinggi mengakibatkan terbawanya (*leaching-out*) karagenan ke dalam larutan KOH selama proses ekstraksi. Larutan KOH juga dapat menurunkan kadar sulfat dalam karagenan dengan membentuk garam K_2SO_4 dan asam sulfat (Basmal dkk., 2003). Hasil rendemen karagenan sebesar $22 \pm 2,31\%$ dapat dilihat pada Tabel I.

Ekstraksi polifenol dari alga laut *Eucheuma denticulatum* dan

Sargassum hystrix diekstrak menggunakan metode maserasi. Pelarut ekstraksi yang digunakan yaitu metanol karena mempunyai kemampuan yang paling baik mengekstrak polifenol. Hal ini telah dibuktikan oleh penelitian Aryudhani (2007) mengekstrak polifenol alga laut *Caulerpa racemosa* menggunakan pelarut metanol sebagai pelarut polar menunjukkan nilai rendemen polifenol tertinggi sebesar 40,47% dibandingkan pelarut etil asetat sebagai pelarut semipolar sebesar 2,74% dan n-heksan sebagai pelarut nonpolar sebesar 1,07%. Pelarut metanol terbukti dapat mengekstrak kandungan fenol total alga *Sargassum swartzii* dengan hasil yang paling baik sebesar 12,00 dibandingkan pelarut etanol; kloroform; n-heksan berturut-turut sebesar 0,81; 11,05; 6,41 (mg asam galat/ 100g sampel kering) (Sadati dkk., 2011). Rendemen polifenol *Eucheuma denticulatum* sebesar 12% dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Rendemen karagenan, polifenol dari *Eucheuma denticulatum*

Ekstrak	Rendemen (%)
Karagenan	22 \pm 2,31
Polifenol	12 \pm 1,52

Keterangan: Nilai yang tertera berupa purata \pm SEM (n=3).

Identifikasi Ekstrak Karagenan

Karagenan standart yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tipe κ -karagenan. Hasil spektra yang didapat dari pengujian spektra karagenan standart dan spektra karagenan ekstrak dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel II. Band pertama spektrum karagenan standart frekuensi vibrasi daerah 1639,55 cm^{-1} dan spektrum karagenan ekstrak vibrasi frekuensi daerah 1640,2 cm^{-1} , menunjukkan adanya ikatan gugus grup karbonil daerah 1650 cm^{-1} . Band kedua spektrum karagenan standart frekuensi vibrasi daerah 1265,24 cm^{-1} dan spektrum karagenan ekstrak vibrasi frekuensi daerah 1227,88 cm^{-1} , menunjukkan adanya ikatan sulfat ester (O-SO₃.) pada daerah frekuensi 1210-1260 cm^{-1} terdapat di tipe κ -, ι -, dan λ -karagenan. Band ketiga dan keempat spektrum karagenan standart terdapat vibrasi frekuensi daerah 1069,78 cm^{-1}

; 928,64 cm^{-1} dan spektrum karagenan ekstrak terdapat vibrasi frekuensi daerah 1073,02 cm^{-1} ; 930,44 cm^{-1} menunjukkan adanya kandungan 3,6-anhidro-D-galaktosa daerah frekuensi 1070 cm^{-1} ; 928-933 cm^{-1} terdapat di tipe κ -karagenan. Band kelima spektrum karagenan standart terdapat vibrasi frekuensi daerah 847,34 cm^{-1} dan spektrum karagenan ekstrak terdapat vibrasi frekuensi daerah 848,94 cm^{-1} hal ini menunjukkan adanya kandungan D-galaktosa-4-sulfat daerah frekuensi 840-850 cm^{-1} terdapat di tipe κ - dan ι -karagenan. Dengan adanya spektrum yang sama antara standar karagenan dengan ekstrak karagenan dapat disimpulkan bahwa senyawa ekstrak identik dengan senyawa standart, tipe karagenan standart dan ekstrak yaitu tipe κ -karagenan.

Kadar Polifenol *Eucheuma denticulatum*

Nilai ekivalen asam galat ekstrak polifenol *Eucheuma denticulatum* alga laut merah 8,62 μg asam galat ekivalen / mg ekstrak. Menurut penelitian Mageid., dkk (2009) kandungan fenol di alga merah *Asparagopsis taxiformis*

berkisar 9mg katekin ekivalen (CE)/g sampel kering.

Daya inhibisi α -amilase

Enzim α -amilase dan α -glukosidase merupakan enzim yang bekerja untuk pencernaan karbohidrat menjadi glukosa. Penghambatan enzim pencernaan akan mengurangi laju pelepasan dan penyerapan glukosa sehingga dapat menekan kejadian hiperglikemia. Inhibisi aktivitas enzim merupakan penurunan kecepatan ataupun kemampuan suatu reaksi enzimatik karena adanya zat yang menghambat kerja aktifitas enzim. Enzim α -amilase mempunyai spesifitas memotong ikatan α -1,4-glikosida pada pati secara acak dan tidak akan memotong cabang yang memiliki ikatan α -1,6-glikosida.

Percobaan ini untuk mengetahui pengaruh sampel terhadap aktivitas penghambatan enzim α -amilase dalam memecah pati menjadi gula-gula sederhana seperti glukosa dan maltosa. Gula sederhana yang terbentuk akan bereaksi dengan 3,5-dinitrosalisilat (DNS). Larutan DNS berfungsi untuk menghentikan reaksi dan

mengukur kandungan gula-gula sederhana yang terbentuk dari hasil reaksi enzim α -amilase sehingga kadarnya dapat diukur secara spektrofotometri.

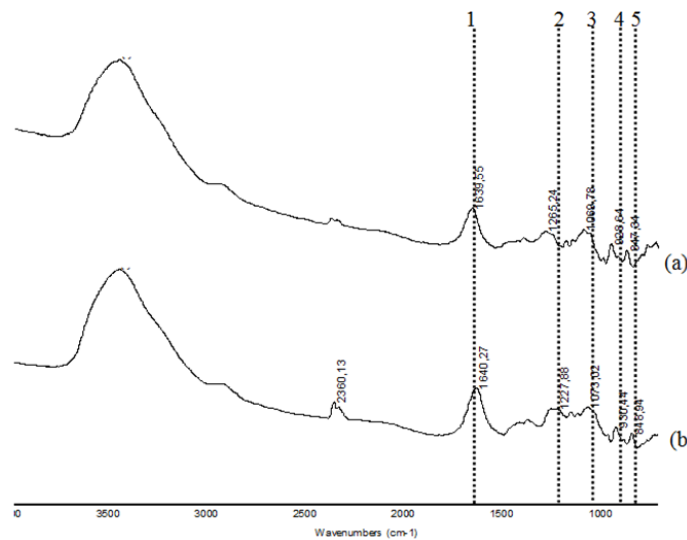
Inkubasi dalam pengujian aktivitas daya inhibisi terhadap enzim α -amilase dilakukan 2 kali masing-masing selama 10 menit dengan suhu 37°C. Waktu inkubasi yang digunakan 10 menit untuk enzim α -amilase bereaksi dengan sampel uji. Suhu yang digunakan 37°C merupakan suhu optimum untuk enzim α -amilase bekerja. Inkubasi pertama dimaksudkan agar enzim α -amilase bereaksi terlebih dahulu dengan sampel uji dalam menghambat aktivitas enzim. Inkubasi yang kedua untuk mengetahui aktivitas enzim α -amilase yang telah bereaksi dengan sampel uji dalam memecah pati menjadi gula-gula sederhana.

Hasil uji aktivitas *E. denticulatum* daya inhibisi terhadap enzim α -amilase dapat dilihat pada Tabel III.

Ekstrak dari alga laut *E.denticulatum* yaitu karagenan dan polifenol mempunyai kemampuan

menghambat aktivitas α -amilase. Karagenan ekstrak mempunyai daya hambat dengan nilai IC_{50} 12,16 mg/mL sedangkan karagenan standart dengan nilai IC_{50} 12,22

mg/mL tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), artinya karagenan ekstrak dan karagenan standart mempunyai kemampuan yang sama dalam



Gambar 1. Spektrum FTIR karagenan standart (a), karagenan ekstrak (b)

Tabel II. Bilangan gelombang puncak FTIR karagenan standart dan sampel

Band	Panjang Gelombang Karagenan (cm ⁻¹)		Vibrasi gugus fungsioanl
	Standart	Ekstrak	
1	1639,55	1640,27	Ikatan gugus karbonil
2	1265,24	1227,88	Ikatan sulfat ester
3	1069,78	1073,02	3,6-anhidro-D-galaktosa
4	928,64	930,44	3,6-anhidro-D-galaktosa
5	847,34	848,94	D-galaktosa-4-sulfat

Tabel III. Nilai IC_{50} inhibisi aktivitas enzim α -amilase *in vitro*

Senyawa Uji	IC_{50} α -amilase (mg/mL)
Kontrol Positif (akarbose)	10,71 ± 0,11 ^a
Karagenan Standart	12,22 ± 0,21 ^b
Karagenan Ekstrak	12,16 ± 0,20 ^b
Polifenol <i>E.denticulatum</i>	11,64 ± 0,15 ^b

Keterangan: Nilai yang tertera berupa purata ± SEM (n=3). tanda notasi huruf menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$).

menghambat aktivitas enzim α -amilase. Polifenol ekstrak mempunyai daya hambat dengan nilai IC_{50} 11,64 mg/mL. Polifenol mempunyai daya hambat aktivitas enzim α -amilase lebih baik daripada karagenan namun tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), artinya karagenan ekstrak dan polifenol ekstrak mempunyai kemampuan yang sama dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase. Jika karagenan dan polifenol dari alga laut *E.denticulatum* dibandingkan dengan kontrol positif akarbose nilai IC_{50} berbeda signifikan ($p < 0,05$), artinya ekstrak alga laut *E.denticulatum* tidak lebih baik atau tidak dapat menyamai kemampuan hambat aktivitas enzim α -amilase dari akarbose.

Dari hasil penelitian bahwa kemampuan dalam menghambat aktivitas α -amilase yang paling besar memberikan pengaruh yaitu metabolit sekunder (polifenol) dari pada metabolit primer (polisakarida). Karagenan termasuk polisakarida mempunyai serat yang mudah larut dalam air. Polisakarida ini dapat membentuk kisi-kisi seperti jala

mampu mengikat kuat banyak molekul air. Kisi-kisi jala yang terbentuk memungkinkan menjerat substrat ataupun enzim yang larut air (Sankalia dkk., 2006; Sankalia dkk., 2007). Substrat maupun enzim yang terjat kisi-kisi dan tertutup dalam polisakarida sehingga tidak saling bereaksi. Substrat tidak bereaksi dengan enzim maka tidak terjadi pembentukan gula-gula sederhana.

Polifenol memiliki efek penghambatan terhadap enzim α -amilase melalui ikatan hidrosilasi dan substitusi pada cincin β . Prinsip penghambatan ini serupa dengan akarbosa, yaitu dengan menghasilkan penundaan hidrolisis karbohidrat dan disakarida dan absorpsi glukosa serta menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (You dkk., 2012). Penghambatan pada enzim α -amilase dan α -glukosidase oleh kandungan fenol ini mengakibatkan gagalnya proses pemecahan karbohidrat menjadi bentuk monosakarida. Hal inilah yang menjelaskan efek kandungan fenol dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Keberadaan inhibitor terhadap enzim tidak selalu berakibat negatif, namun juga dapat memberikan efek positif, misalnya membantu dalam pengembangan suatu obat. Contoh dalam penelitian ini adalah adanya senyawa dari ekstrak alga laut *E.denticulatum* yang mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase.

KESIMPULAN

Nilai IC₅₀ diperoleh dari hasil uji aktivitas enzim senyawa polifenol dari *E. denticulatum* mempunyai kemampuan yang lebih tinggi dari pada karagenan *E. denticulatum* dalam menghambat aktivitas kerja enzim α -amilase, namun penghambatan ini tidak lebih baik dari pada akardiose.

DAFTAR PUSTAKA

- Apostolidis, E., Kwon, Y.I. and Shetty, K., 2007, Inhibitory Potential of Herb Fruit and Fungal-Enriched Cheese Against Key Enzymes Linked to Type 2 Diabetes And Hypertension, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 46–54.
- Aryudhani, N., 2007, Kandungan Senyawa Fenol Rumput Laut *Caulerpa racemosa* dan Aktivitas Antioksidannya, *Skripsi*, Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Basmal, J., Syarifudin., Ma'ruf, W.F., 2003, Konsentrasi Larutan Potasium Hidroksida terhadap Mutu Kappa-Karagenan yang Diekstraksi dari *Euclima cottonii*, *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 9 (5): 95-103.
- Gómez, E. and Rupérez, P., 2011, FTIR-ATR Spectroscopy as A Tool for Polysaccharide Identification in Edible Brown and Red Seaweeds, *Food Hydrocolloids*, 2: 1514-1520.
- Mageid, A. E., Salama, N. A., Saleh, M. A., Taleb, H. M., 2009, Antioxidant and Antimicrobial Characteristics of Red and Brown Algae Extracts, *4th Conference on Recent Technologies in Agriculture*, 818-828.
- Nwosu, F., Morris, J., Victoria, A.L., Stewart, D., Heather, A.R., Gordon, J.M, 2011, Anti-Proliferative and Potential Anti-Diabetic Effects of Phenolic-Rich Extracts from Edible Marine Algae, *Food Chemistry*, 126:1006–1012.
- Ramalingam, J.R., Kaliaperumal, N. and Kalimuthu, S., 2003, Commercial Scale Production of Carrageenan from Red Algae, *Seaweed Res. Utiln*, 25 (1 & 2) : 37 – 46.

- Sadati, N., Khanavi, M., Mahrokh, A., Nabavi, S.M.B., Sohrabipour, J., Hadjiakhoondi, A., 2011, Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenolic Contents of Some Persian Gulf Marine Algae, *Journal of Medicinal Plants*, 10 (37) :73-79.
- Sankalia, M.G., Mashru, R.C., Sankalia, J.M., Sutariya, V.B., 2006, Stability Improvement of Alpha-Amylase Entrapped in Kappa-Carrageenan Beads: Physicochemical Characterization and Optimization Using Composite Index, *International Journal of Pharmaceutics*, 312:1-14.
- Sankalia, M.G., Mashru, R. C., Sankalia, J.M., Sutariya, V.B., 2007, Reversed Chitosan-Alginate Polyelectrolyte Complex for Stability Improvement of Alpha-Amylase: Optimization and Physicochemical Characterization, *Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65:215-232.
- Wikanta, T., Kurniawan, R., Rahayu, L., 2005, Pengaruh Pemberian β -Karaginan dan \hat{E} -Karaginan Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Usus Kelinci, *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 11 (8) :1-10.
- You, Q., Chen, F., Wang, X., Jiang, Y. and Lin, S., 2012, Anti-Diabetic Activities of Phenolic Compounds in Muscadine Against Alpha-Glucosidase and Pancreatic Lipase, *LWT - Food Science and Technology*, 46: 164-168.
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D., Barrow, C., 2006, A Simple 96-Well Microplate Method for Estimation of Total Polyphenol Content in Seaweeds, *Journal of Applied Phycology*, 18: 445-450.

