

**Kode dan Rumpun Ilmu: 238/Bioteknologi Perikanan  
Fokus : Kemaritiman**

**LAPORAN KEMAJUAN  
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI  
(PDUPT)**



**JUDUL PENELITIAN  
POTENSI ANTI DIABETES DAN ANTI KANKER SERVIKS RUMPUT  
LAUT SEBAGAI BAHAN PANGAN FUNGSIONAL**

**TIM PENGUSUL**

**Dr. Ir. Grace Sanger, Msi. ; NIP.196101091986022001 (Ketua)  
Dr. Ir. Lena Jeane Damongilala, Msi. ; NIP. 19620221 199803 2002 (Anggota)  
Ir. Bertie Elias Kaseger ; NIP. 195606231984031001 (Anggota)**

**UNIVERSITAS SAM RATULANGI  
NOVEMBER 2019**

**Dibiayai Oleh:  
Direktorat Riset Dan Pengabdian Masyarakat  
Direktorat Jenderal Penguatan Riset Dan Pengembangan  
Kementerian Riset, Teknologi Dan Perguruan Tinggi  
Sesuai Dengan Kontrak Penelitian Tahun Anggaran 2019  
Nomor.150/12 13/LT/2019**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Potensi Anti Diabetes Dan Anti Kanker Serviks Rumput Laut Sebagai Bahan Pangan Fungsional

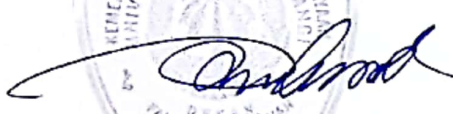
**Peneliti/Pelaksana**  
Nama Lengkap : Dr. Ir GRACE SANGER, M.Si  
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi  
NIDN : 0009016107  
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan  
Nomor HP : 085399940496  
Alamat surel (e-mail) : sanger.grace@yahoo.co.id

**Anggota (1)**  
Nama Lengkap : Dr. Ir LENA JEANE DAMONGILALA M.Si  
NIDN : 0021026203  
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi

**Anggota (2)**  
Nama Lengkap : BERTIE ELIAS KASEGER  
NIDN : 0023065602  
Perguruan Tinggi : Universitas Sam Ratulangi

**Institusi Mitra (jika ada)**  
Nama Institusi Mitra : -  
Alamat : -  
Penanggung Jawab : -  
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2. dari rencana 3 tahun  
Biaya Tahun Berjalan : Rp Rp 112.605.000,-  
Biaya Keseluruhan : Rp 0

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan  
Unsrat



(Prof. Ir. Farnis B. Boneka, M.Sc)  
NIP/NIK-19571229 1985031004

Kota Manado, 8 - 11 - 2019  
Ketua,



(Dr. Ir GRACE SANGER, M.Si)  
NIP/NIK 196101091986022001

Menyetujui,  
Ketua LPPM Unsrat



(Prof. Dr. Ir. Charles Lodewijk Kaunang, MS.)  
NIP/NIK 195910181986031002

**PROTEKSI ISI LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN**

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

**LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN MULTI TAHUN**

ID Proposal: 0c946daa-0f3b-4dbf-84f4-ffcd748a5414  
Laporan Kemajuan Penelitian: tahun ke-2 dari 3 tahun

**1. IDENTITAS PENELITIAN**

**A. JUDUL PENELITIAN**

Potensi Anti Diabetes Dan Anti Kanker Serviks Rumput Laut Sebagai Bahan Pangan Fungsional

**B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU**

Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi	Tema	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
Kemaritiman	-	Pemanfaatan Sumber Daya Alam (SDA): Non hayati dan hayati berbasis potensi megadiversitas secara berkelanjutan	Bioteknologi Perikanan

**C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN**

Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan)	Skema Penelitian	Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan)	SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan)	Target Akhir TKT	Lama Penelitian (Tahun)
Penelitian Desentralisasi	Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi	SBK Riset Dasar	SBK Riset Dasar	3	3

**2. IDENTITAS PENGUSUL**

Nama, Peran	Perguruan Tinggi/ Institusi	Program Studi/ Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta	H-Index
GRACE SANGER Ketua Pengusul	Universitas Sam Ratulangi	Teknologi Hasil Perikanan		6101143	0
Dr. Ir LENA JEANE DAMONGILALA M.Si Anggota Pengusul 1	Universitas Sam Ratulangi	Teknologi Hasil Perikanan		6101098	0

BERTIE ELIAS KASEGER Anggota Pengusul 2	Universitas Sam Ratulangi	Teknologi Hasil Perikanan	0	0
--	------------------------------	------------------------------	---	---

### 3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra
-------	------------

### 4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

#### Luaran Wajib

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian ( <i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i> )	Keterangan ( <i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i> )
2	Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional	accepted/published	International Journal of ChemTech

#### Luaran Tambahan

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian ( <i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i> )	Keterangan ( <i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i> )
2	Hak Cipta	granted	-

### 5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

**Total RAB 3 Tahun Rp. 214,989,880**

**Tahun 1 Total Rp. 0**

**Tahun 2 Total Rp. 112,605,690**

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	1	1,500,000	1,500,000
Analisis Data	Honorarium narasumber	OJ	1	1,500,000	1,500,000
Analisis Data	Tiket	OK (kali)	1	5,000,000	5,000,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	2	1,500,000	3,000,000
Analisis Data	Penginapan	OH	2	500,000	1,000,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	5	4,250,000	21,250,000
Analisis Data	Uang Harian	OH	6	250,000	1,500,000
Analisis Data	Transport Lokal	OK (kali)	6	500,000	3,000,000
Analisis Data	Biaya konsumsi rapat	OH	6	50,000	300,000
Bahan	ATK	Paket	3	800,000	2,400,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	4	3,000,000	12,000,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	6	1,500,000	9,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	1	500,000	500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	1	500,000	500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	1	1,500,000	1,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi artikel di Jurnal Nasional	Paket	1	2,500,000	2,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	5,400,000	5,400,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Paket	1	2,500,000	2,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Luaran Iptek lainnya (purwa rupa, TTG dll)	Paket	1	203,690	203,690
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya penyusunan buku termasuk book chapter	Paket	1	2,600,000	2,600,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Uang harian rapat di dalam kantor	OH	3	250,000	750,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Uang harian rapat di luar kantor	OH	3	250,000	750,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya konsumsi rapat	OH	3	34,000	102,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	1	1,000,000	1,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	1	500,000	500,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	2	250,000	500,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	2	2,000,000	4,000,000
Pengumpulan Data	HR Petugas Survei	OH/OR	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	Tiket	OK (kali)	2	5,000,000	10,000,000
Pengumpulan Data	Penginapan	OH	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	Uang Harian	OH	3	150,000	450,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Pengumpulan Data	Uang harian rapat di dalam kantor	OH	3	150,000	450,000
Pengumpulan Data	Uang harian rapat di luar kantor	OH	3	150,000	450,000
Pengumpulan Data	Biaya konsumsi	OH	10	50,000	500,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	1	500,000	500,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	1	500,000	500,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	4	3,000,000	12,000,000

**Tahun 3 Total Rp. 102,384,190**

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	1	1,500,000	1,500,000
Analisis Data	Honorarium narasumber	OJ	1	1,500,000	1,500,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	2	1,500,000	3,000,000
Analisis Data	Tiket	OK (kali)	2	5,000,000	10,000,000
Analisis Data	Penginapan	OH	2	500,000	1,000,000
Analisis Data	Transport Lokal	OK (kali)	3	500,000	1,500,000
Analisis Data	Biaya konsumsi rapat	OH	3	47,250	141,750
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	6	3,500,000	21,000,000
Analisis Data	Uang Harian	OH	6	250,000	1,500,000
Bahan	ATK	Paket	3	900,000	2,700,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	3	2,250,000	6,750,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	6	2,000,000	12,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	1	500,000	500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	1	500,000	500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	1	1,400,000	1,400,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi artikel di Jurnal Nasional	Paket	1	2,500,000	2,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	3,250,000	3,250,000
Pelaporan, Luaran	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Paket	1	1,500,000	1,500,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Wajib, dan Luaran Tambahan					
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Luaran Iptek lainnya (purwa rupa, TTG dll)	Paket	1	504,690	504,690
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya penyusunan buku termasuk book chapter	Paket	1	1,240,000	1,240,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Uang harian rapat di dalam kantor	OH	3	250,000	750,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Uang harian rapat di luar kantor	OH	3	250,000	750,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya konsumsi rapat	OH	3	49,250	147,750
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	1	500,000	500,000
Pengumpulan Data	Tiket	OK (kali)	1	5,000,000	5,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	1	500,000	500,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	2	250,000	500,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	2	1,500,000	3,000,000
Pengumpulan Data	HR Petugas Survei	OH/OR	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	Penginapan	OH	2	500,000	1,000,000
Pengumpulan Data	Uang Harian	OH	3	150,000	450,000
Pengumpulan Data	Uang harian rapat di dalam kantor	OH	3	150,000	450,000
Pengumpulan Data	Uang harian rapat di luar kantor	OH	3	150,000	450,000
Pengumpulan Data	Biaya konsumsi	OH	10	50,000	500,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	1	500,000	500,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	2	500,000	1,000,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	4	2,725,000	10,900,000

## 6. KEMAJUAN PENELITIAN

**A. RINGKASAN:** Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

B. Tujuan jangka panjang yang ingin dicapai yaitu memproduksi kapsul biofungsional rumput laut yang berfungsi sebagai antidiabetes dan anti kanker serviks yang dapat diaplikasikan pada produk makanan/minuman. Target Khusus Memproduksi ekstrak dan

isolat rumput laut sebagai bahan pangan fungsional yang mempunyai aktifitas menghambat dan mencegah diabetes dan kanker serviks. Jenis rumput laut yang digunakan adalah jenis rumput laut yang banyak tumbuh di Perairan Indonesia, teristimewa Sulawesi Utara.

C. Metoda Penelitian yang digunakan meliputi: proses optimasi ekstraksi senyawa senyawa biofungsional dari beberapa jenis rumput laut. b. Memfraksinasi ekstrak rumput laut yang mempunyai aktifitas biofungsional tertinggi 3. Mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa murni yang berfungsi sebagai antidiabetes dan anti kanker serviks. Untuk tujuan jangka panjang isolat antidiabetes dan anti kanker serviks akan dienkapsulasi dengan metoda spray drying agar supaya dapat dikembangkan menjadi produk industry. Penelitian kami sebelumnya adalah tentang aktifitas antioksidant beberapa jenis rumput laut. Selanjutnya dilakukan penelitian tentang aktifitas antidiabetes dan antikanker serviks beberapa jenis rumput laut. Hasil penelitian ini menggunakan rumput laut yang diambil dari perairan di Indonesia dan tulisan aktifitas antioksidan beberapa jenis rumput telah dipublikasikan di Jurnal Internasional. selain itu ingin dicapai dari penelitian ini yaitu publikasi internasional bereputasi, nasional terakreditasi dan buku ajar

D. Berdasarkan Renstra Unsrat bidang unggulan penelitian yang diusulkan adalah penelitian kemaritiman, tentang pemanfaatan sumber daya alam (SDA) dan Hayati berbasis potensi mega diversifikasi secara berkelanjutan. Penelitian ini termasuk dalam topik penelitian renstra Unsrat yaitu: untuk mengkarakterisasi biomaterial dari biota laut sebagai bahan baku industri pangan, kesehatan dan energy dan Optimasi teknik analisis dan peningkatan mutu produk hasil perairan.

E. Sulawesi Utara merupakan daerah penghasil rumput laut yang besar, yang dapat dimanfaatkan untuk kesehatan, obat-obatan dan industri.. Diversifikasi produk olahan akan berkelanjutan karena ketersediaan rumput laut yang memadai dan budidayanya yang mudah. Penelian ini juga termasuk dalam Strategi pengembangan ekonomi maritim wilayah pesisir kawasan pasifik menghadapi MEA. Dengan memanfaatkan rumput laut untuk tujuan pangan fungsional maka akan memberikan nilai tambah bagi rumput laut, karena rumput laut yang ada di Sulawesi hanya dieksport dalam bentuk kering. serta akan dapat meningkatkan pendapatan petani, pengumpul dan pengolah rumput laut. yang akhirnya akan meningkatkan kesejahteraan mereka. Hal ini sejalan dengan Undang-undang Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi Pasal 45 menegaskan bahwa penelitian di perguruan tinggi diarahkan untuk mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi, serta meningkatkan kesejahteraan masyarakat dan daya saing bangsa.

**B. KATA KUNCI:** Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

Ekstraksi, Fraksinasi, Isolasi , Diabetes, Kanker Serviks

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan seringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

**C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.



Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

**C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

## HASIL DAN PEMBAHASAN.

### TAHUN 1.

#### 1. Kadar Total Fenol

Kadar total Fenol ekstrak metanol *G. salicornia*, *S. oligocystum* dan *T. decurens*, dapat dilihat pada Tabel 1. Kadar Total fenol tertinggi terdapat pada rumput laut *H. macroloba* dan yang terendah pada *G. salicornia*.

Tabel 1. Kadar Total Fenol *G. Salicornia*, *H. durvilae*, *H. macroloba*, *Turbinaria decurens* dan *S. olygocystum* TPC ( $\mu\text{g GAE g}^{-1}$  dry extract)

<i>Seaweeds</i>	<i>TPC (<math>\mu\text{g GAE g}^{-1}</math> dry extract)</i>
<i>G. salicornia</i>	14.73±1.04
<i>H. durvilae</i>	27.60±2.37
<i>H. macroloba</i>	186.80±15.54
<i>T. decurens</i>	77.20±5.43
<i>S. olygocystum</i>	84.67±6.89

Note: GAE - gallic acid equivalent.

Komposisi senyawa fenolik dan senyawa fenolik lainnya berbeda antara Halimeda spp. Jumlah yang sangat besar pada *H. macroloba* berat kering adalah epigallocatechin sebesar 20.000 $\mu\text{g/g}$ . Asam cafeat dan hespiridin hanya pada *H. macroloba*. Catecol pada *H. macroloba* 5 kali dari *H. opuntia*. Myricetin dan morin pada *H. macroloba* rata-rata 2 kali lebih besar dari *H. opuntia* (1).

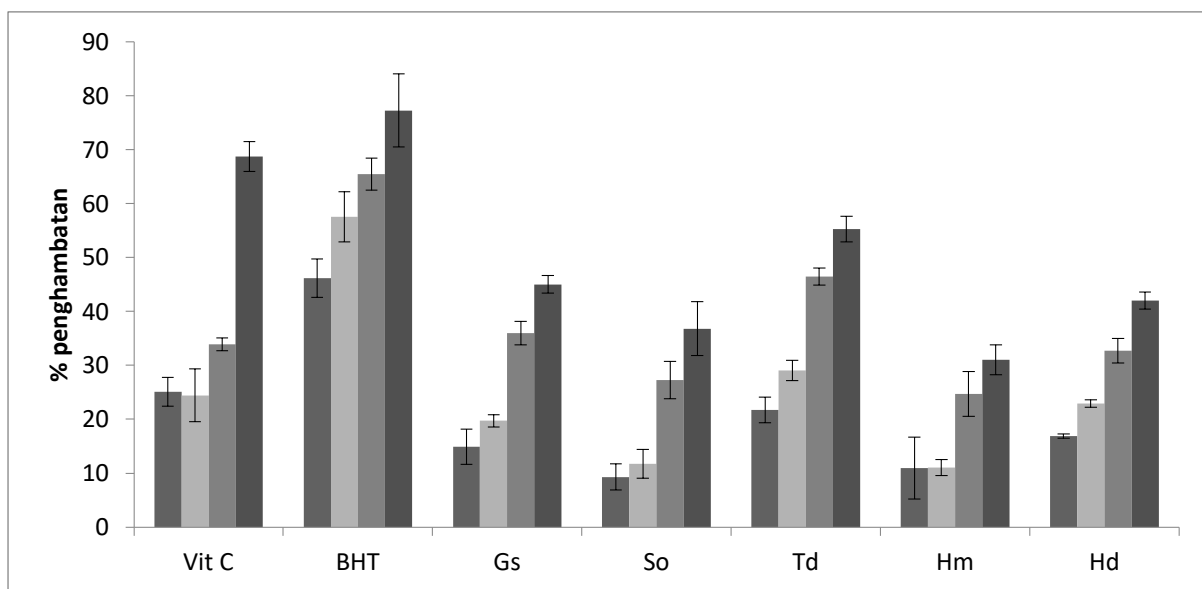
Fenol adalah senyawa yang sangat penting dalam alga laut karena mempunyai kemampuan meredam radikal bebas. karena gugus hidroksil yang dimilikinya. Senyawa fenolik mempunyai hubungan dengan aktivitas antioksidan dan memegang peranan penting dalam menstabilkan peroksidasi lipid (2). Senyawa fenolik dapat berfungsi sebagai antioksidan melalui pengkelatan ion logam. mencegah pembentukan radikal dan memperbaiki sistim antioksidan endogenous (3).

Aktiitas antioksidan ekstrak air yang tinggi ditemukan karena senyawa polyfenol yang berbeda (4). Banyak senyawa hidrofilik yang terdapat dalam rumput laut seperti epigallocatechin gallate, epicatechin (5) dan phlorotannins yang merupakan senyawa antioksidan yang kuat. Lagi pula aktifitas antioksidan ekstrak air bukan hanya hasil senyawa fenolik. Aktifitasnya disebabkan oleh senyawa hidrofilik lain, seperti peptide, fucoidan dan produk reaksi mailard. Senyawa Hydrofobik penolik didalam rumput laut tidak mengandung antioksidan yang potensial. Fenomena ini dapat diterangkan melalui observasi bahwa ekstrak etanol *H.macroloba*, yang mengandung kadar fenolik yang tinggi tetapi memiliki aktifitas antioksidan yang sangat rendah (6).

## 2. Aktifitas Antioksidan DPPH

Aktifitas peredam radikal DPPH ekstrak metanol *G. salicornia*, *S. oligocystum*, *T. decurens*, *H. macroloba* dan *H. durvilae* dapat dilihat pada Gambar 1. *T.decurens* mempunyai aktifitas penghambatan radikal bebas tertinggi.

Alga laut merupakan sumber yang kaya berbagai antioksidan alami yang mempunyai aktivitas sebagai penangkap elektron. Senyawa-senyawa seperti polifenol, flavonol, flavonol glukosida dan phlorotanin terdapat pada ekstrak metanol alga laut merah dan coklat (7). Polifenol memiliki aktifitas sebagai antioksidan melalui mekanisme meredam radikal, memadam (*quenching*) singlet oksigen dan mengkelat ion logam (8).

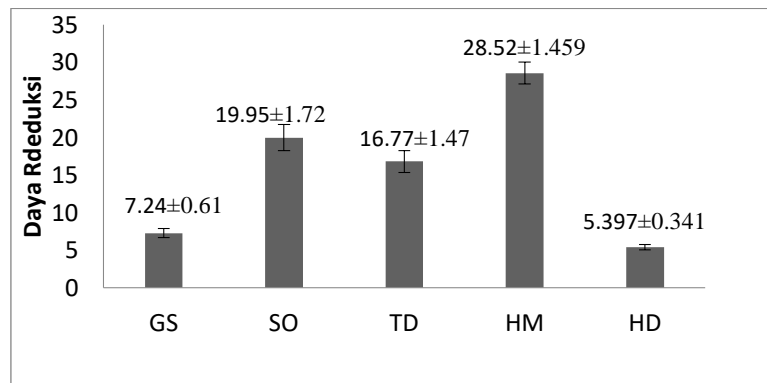


Gambar 1. Aktifitas antioksidan Vitamin C, BHT, ekstrak metanol *G. salicornia*, *S. oligocystum*, *T. decurens*, *H. macroloba* dan *H. durvilae* (Konsentrasi 3,5,10,12 mg/mL)

Senyawa aktif rumput laut coklat dengan sifat antioksidan adalah phlorotannin dan fucosantin. Fraksi heksan, c.hloroform dan ekstrak methanol *Porphyra yezoensis* menunjukkan aktifitas antioksidan ddengan kehadiran  $\beta$ -carotene, chlorophyll analog (Phephytin) dan senyawa amin (leusin, phenilalanin dan asam amino seperti mycosporine, usujirene). Laporan lain mengklam bahwa rumput laut mengandung senyawa antioksidan yang merupakan beberapa pigmen seperti fucosantin dan astaxantin, polyfenol seperti pholorotannin, chlorofil, phosfolipid, flavonoid, broefenol dan polisakarida (9) .

### 3. Daya reduksi

Daya reduksi ekstrak metanol *G. salicornia*, *Sargasum oligocystum*, *Turbinaria decurens*, *Halimeda macroloba* dan *Halimena durvilae* dapat dilihat pada Gambar 2. Daya reduksi tertinggi terdapat pada rumput laut *H.macroloba* dan yang terendah pada *H.durvilae*



Gambar 2. Daya reduksi ekstrak metanol *G. salicornia*, *S. oligocystum*, *T. decurens*, *H. macroloba* dan *H. durvilae*

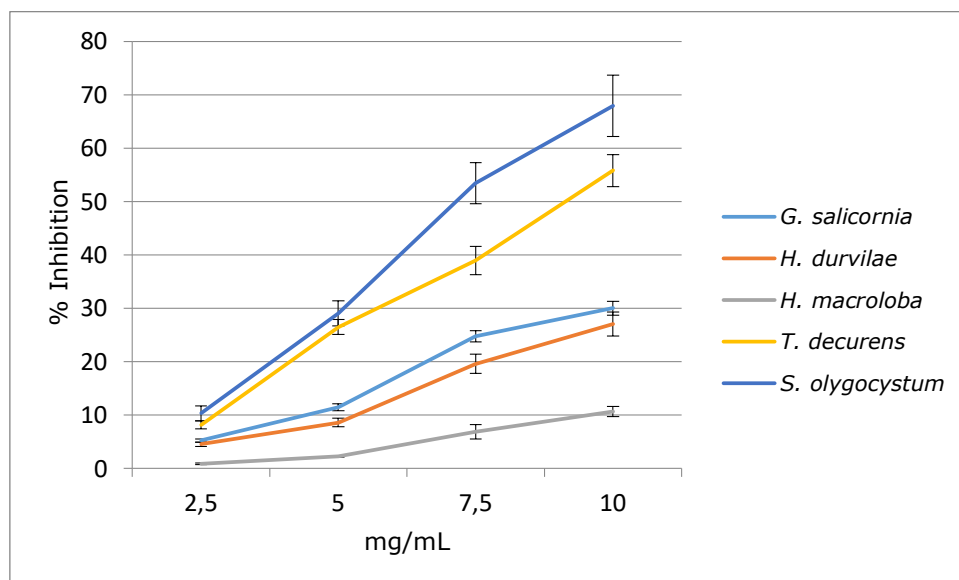
Kemampuan mereduksi ekstrak kimia atau senyawa umumnya tergantung pada reduktan yang berperan sebagai antioksidan melalui pemecahan rantai radikal bebas dengan donasi atom hidrogen (10). Polifenol adalah senyawa pereduksi dan bersama-sama dengan pereduksi lain seperti *dietary fiber*. vitamin C. E dan karotenoid. adalah antioksidan yang berfungsi melindungi jaringan tubuh melawan *stress oksidatif* yang berhubungan dengan patologi seperti kanker. penyakit jantung koroner dan peradangan (11).

Kemampuan mereduksi ekstrak atau senyawa umumnya tergantung pada reduktan yang menunjukkan ambil bagiannya sebagai aksi antioksidan melalui memecah rantai radikal bebas melalui donasi atom hydrogen . Kehadiran reduktan (seperti antioksidan) didalam fraksi nampaknya mereduksi  $Fe^{3+}$  / complex ferricyanat menjadi betake  $Fe^{2+}$  nya, yang dapat dimonitor melalui pengukuran pembentukan warna biru Perl's Prussian pada 700 nm.

Devi et al (12), ROS mengakibatkan peroksidasi lipida (PUFA) menghasilkan oksidan sekunder seperti heptanol dan heksanal yang berkontribusi ketengikan oksidatif, perubahan flavor makanan. ini tidak hanya menyebabkan kehilangan kealihan makanan tetapi juga diyakini sangat berhubungan dengan karsinogenesis, mutagenesis, arthritis, diabetes, peradangan, kanker dan genotoksitas. Alga Laut Halimeda mengandung jumlah polifenol yang tinggi seperti catechin, epicatechin galat dan asam galat (1).

#### 4 Pengkelat Ion

Pengkelat ion ekstrak metanol *G. salicornia*, *Sargasum oligocystum*, *Turbinaria decurens*, *Halimeda macroloba* dan *Halimena durvilae* dapat dilihat pada Gambar 3. Aktifitas pengkelat ion tertinggi terdapat pada rumput laut *S. olygocystum* dan yang terendah pada *H.macroloba* dengan nilai masing-masing sebesar  $35.88\pm 3.26\%$  dan  $2.58\pm 0.36\%$



Gambar 3. Aktifitas pengkelat ion ekstrak metanol *G. salicornia*, *S. oligocystum*, *T. decurens*, *H. macroloba* dan *H. durvilae*

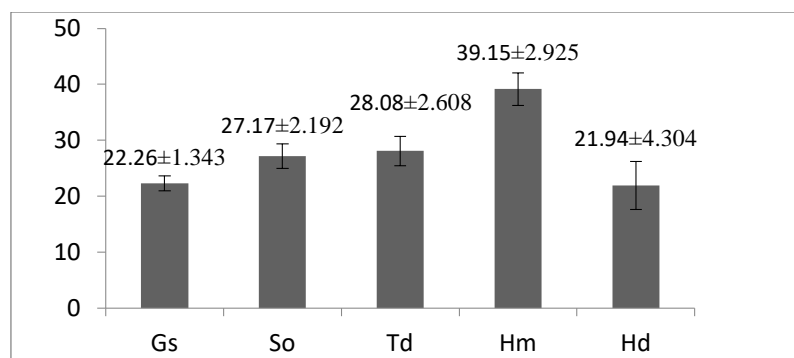
Sifat pengkelat ion senyawa rumput dapat berfungsi untuk mengobati penyakit kanker. Kapasitas mengikat logam dietary fiber yang telah dikenal seperti, pengaruh penghambatan absorpsi ferro dietary fiber alga seperti caragenan, agar dan alginat. Caragenan menunjukkan penyebab penurunan ion ferro didalam sistim uji (13). Pengikatan senyawa-senyawa antioksidan pada ion logam, dimana sebuah ekstrak dengan kemampuan mengikat lebih tinggi akan mencegah atau menghambat reaksi seperti type reaksi Fenton yang menghasilkan radikal hidroksil reaktif (14). ROS terdiri dari  $H_2O_2$ ,  $O_2$ ,  $OH$ , dimana molekul-molekul ini tidak stabil dan sangat reaktif, dan dapat merusak sel

melalui reaksi rantai seperti lipid peroksidasi atau pembentukkan DNA adduct yang dapat menyebabkan promosi kanker atau kematian sel. Untuk mengurangi atau mencegah kerusakan sel selalu mengandung antioksidan. (12).

Aktifitas antioksidan (DPPH), daya reduksi dan aktifitas mengkelat logam Turbinaria potensil karena kadar fenol dan kemampuan meredam DPPH<sup>\*</sup>, HO<sup>\*</sup> kapasitas reduksi, aktif pengkelat ion Fe<sup>2+</sup>. Turbinaria spp terdapat korelasi yang signifikan kadar fenol didalam fraksi etil asetat rumput laut dengan ABTS, DPPH, hidrosil radikal aktifitas dan kemampuan mengkelat ion Fe<sup>2+</sup> karena itu mengindikasikan bahwa kehadiran polifenol (15).

### 5 Aktifitas Andidiabetes.

Aktifitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase ekstrak metanol *G. salicornia*, *Sargasum oligocystum*, *Turbinaria decurens*, *Halimeda macroloba* dan *Halimena durvilae* dapat dilihat pada Gambar 4. Aktifitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase tertinggi terdapat pada rumput laut *H. macroloba* dan yang terendah pada *H. durvilae* dengan nilai masing-masing sebesar  $35.88 \pm 3.26\%$  dan  $2.58 \pm 0.36\%$



Gambar 4. Aktifitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase ekstrak metanol *G. salicornia*, *S. oligocystum*, *T. decurens*, *H. macroloba* dan *H. durvilae*.

Mekanisme aktifitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase senyawa polyphenol adalah penangkap hidrogen, karena  $\alpha$ -glukosidase menyediakan hidrogen untuk mengkatalisa hydrolysis ikatan  $\alpha$ -(1,4)- glikosida (16). Aksi penghambatannya melalui penangkapan ion hidrogen bebas dari sisi catalis  $\alpha$ -glukosidase. . Sejumlah senyawa penolik seperti flavonol, catechin dan theaflavin mempunyai aktifitas penghambat  $\alpha$ -glukosidase. dimana intensitas aktifitas tergantung pada struktur dan conformasi phenol.

Polifenol seperti lutein, quercetin, catechin dan flavonoid mempunyai aktifitas penghambatan  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase Senyawa polifenolik seperti phlorotannin bereaksi sebagai penangkap elektron yang bertanggung jawab sebagai sifat antioksidan

multifungsi seperti penangkap radikal hidroksil, radikal peroksil atau radikal superoksida. (17) Fucan dari *Himanthalia elongata* merendahkan glycemia (Kim *et al.*, 2008.)

American Diabetes Association merekomendasikan konsumsi 30-35 g dari total sumber serat yang meliputi serat larut maupun tidak larut. Konsumsi diet serat akan memperbaiki control glicemik, mereduksi total energy intake dan lipida darah. Rumput laut kaya akan polisakarida non-pati dan kadar lemak yang rendah. Dietary fiber rumput laut berbeda dalam komposisinya struktur kimia, sifat fisiko kimia, efek biologi dari tumbuhan darat (18).

Asam oleat yang terdapat pada rumput laut mempunyai pengaruh melawan kardiovaskular, komplikasi diabetes, menurunkan aktifitas faktor jaringan didalam penderita diabetes-hiperglicemik dan dapat melindungi jaringan dari resiko thrombosis (19).

## 6. Antikanker serviks

Aktifitas penghambatan sel kanker serviks (sel Hela (ATCC CCL2) ekstrak metanol rumput *H.durvilae*, *H.macroloba* dan *T. decurens*, dapat dilihat pada Tabel 2. Aktifitas penghambatan sel Hela (ATCC CCL2) *H.durvilae* 90,4;74.8; 64,1 dan 52.6% (pada konsentrasi ekstrak 10, 8, 6, dan 4 mg/mL); *H. macroloba* mempunyai nilai penghambatan 85,3; 87,2 dan 82,9 (3, 2, dan 0,5 mg/ml) sedangkan *T.decurens* mempunyai nilai penghambatan masing-masing 84,9; 91 dan 91% (3,2 dan 0.5 mg/mL).

Tabel 2. Aktifitas Penghambatan sel kanker serviks (sel Hela (ATCC CCL2) ekstrak metanol *T. decurens* *H. macroloba* dan *T. decurens*

No.	<i>H.durvilae</i> (%)	<i>Halimeda</i> <i>durvilae</i> (%)	<i>T.decurens</i> (%)
1	90.4	85.3	84.9
2	74.8	87.2	91
3	64.1	82.9	91
4	52.6	=	=

Rumput laut coklat lebih potensial sebagai anti kanker serviks dibandingkan rumput laut hijau. Rumput laut coklat *Dictyota cilliolata* dan *Dictyota menstrualis* menghambat proliferasi sel SiHa (cervix carcinoma). Studi dua ekstrak ini menggunakan *flow cytometry* dan *fluorescence microscopy* menunjukkan bahwa sel helayang terpapar *Dictyota cilliolata* dan *Dictyota menstrualis* menghambat morfologi dan merubah biokimia yang mengarakteristik apoptosis: hilangnya viabilitas sel, kondensasi kromatin, eksternalisasi

fosfatidilserin dan akumulasi fase siklus sel sub-G1. *Dictyota cilliolata* menginduksi siklus sel tertangkap dalam fase siklus S, juga mengaktifasi *gaspases* tingkat 3 dan 9 (20).

Karsinoma serviks uterus adalah tumor wanita yang menempati peringkat ke dunia didunia setelah kanker payudara, dimana insiden terbesar terjadi dinegara berkembang (> 80%) di negara berkembang dan sekitarnya. Pencegahan secara kimia adalah strategi menghambat, dan memperlambat carcinoma kanker manusia dengan cara menginduksi kerusakan struktur DNA, menghambat sintesis RNA, mencegah proses transkripsi atau mempengaruhi fungsi dan sintesis protein. Ekstrak atau bubuk rumput laut dapat mereduksi tingkat proliferasi seltumor in-vitro maupun in vivo. Ekstrak metanol (100µg/ml) algae merah *Asparagopsis taxiformis* menghambat proliferasi carcinoma sel kucing kira-kira 40%. Metanol ekstrak *Gracilaria corticata* menghambat aktifitas was used HepG2 dan sel kanker payudara and human breast adenocarcinoma (MCF-7) cells. Dengan rata-rata aktifitas penghambatan 91% dan 93%. menggunakan 500 µg/ml ekstrak (20).

## TAHUN II

### 1. Kandungan Fitokimia

Kandungan Fitokimia ekstrak methanol, dan fraksi heksana, chloroform dan air *H. durvillae* dapat dilihat pada Tabel 1. Steroid, flavonoid dan triterpenoid terdapat pada semua ekstrak maupun fraksi. Sedangkan alkaloid dan tannin tidak terdapat pada semua ekstrak dan fraksi Sedangkan hidroquinon dan saponin hanya terdapat pada ekstrak methanol.

**Table 1.** Phytochemical constituents in methanol extract, hexane, chloroform and water fraction of *H. durvillae*

Phytochemical Constituents	Extract and fractions			
	Methanol	Hexane	Chloroform	water
Alkaloids - Wagner	-	-	-	-
- Mayer	-	-	-	-
- Dragondorf	-	-	-	-
Steroids	+	+	+	+
Flavonoids	+	+	+	+
Tannins	-	-	-	-
Saponins	+	-	-	-
Triterpenoids	+	+	+	+
Hidroquinons	+	-	-	+

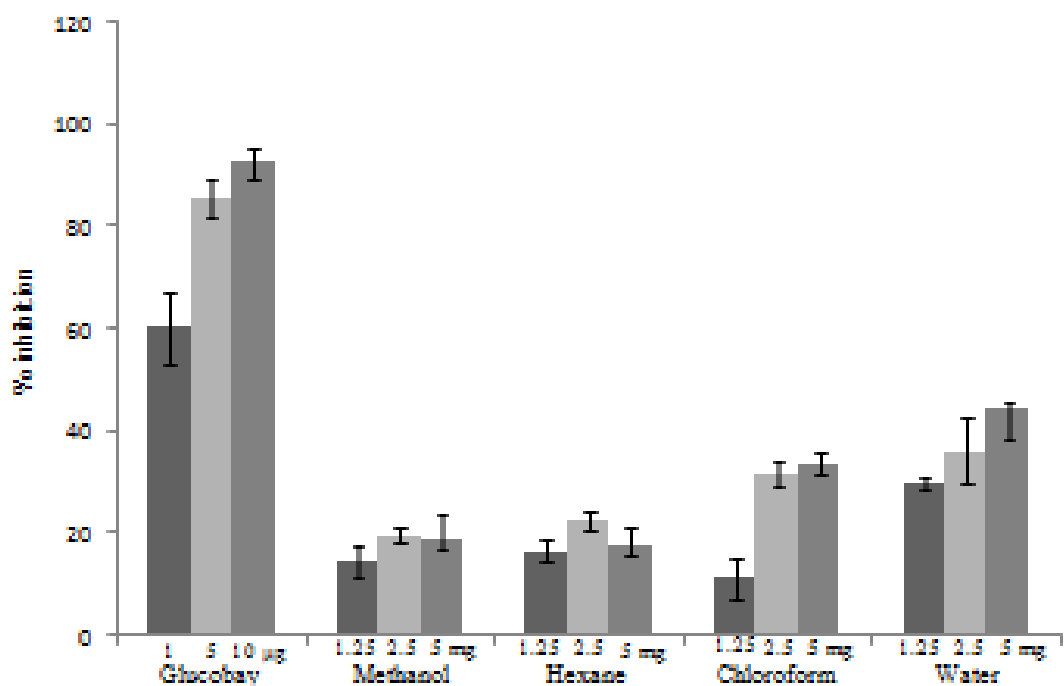
Beberapa spesies marine agae ditemukan memproduksi metabolik sekunder dengan aktifitas antitumor (21). *Sargasum stenophyllum*, *Capsosiphon fulvescens* menghambat migrasi dan

viabilitas cell melanoma manusia in-vitro dan in-vivo (22) dan rata-rata menginduksi apoptosis pada sel gastric manusia. Fucans dengan berat molekul rendah yang diekstraksi dari *Ascophillum nodosum* menunjukkan aktifitas antiproliferatif melawan adenocarcinoma colon manusia (23) dan cell line carcinoma bronchopulmonary (24).

Dengan meningkatnya penelitian menggunakan rodent model menunjukkan potensial sebagai anti carcinogenic aktifitas dari spesies rumput laut merah dan hijau, kenyataannya konsumsi alga disarankan sebagai zat chemopreventif melawan kanker payudara (21).

## 2. Aktifitas Antidiabetes

Aktifitas antidiabetes ekstrak methanol dan fraksi heksana, chloroform, dan air *H. durvillae* dapat dilihat pada Gambar 1. Fraksi air mempunyai aktifitas pernghambatan alfa-glukosidase tertinggi, dengan nilai  $IC_{50}$   $4.34 \pm 0.32$  mg/mL. Aktifitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase (5 mg/mL) ekstrak methanol, heksana, chloroform dan air adalah  $18.71 \pm 5.4$ ;  $17.53 \pm 3.55$ ;  $33.9 \pm 2.41$  dan  $44.56 \pm 1.37\%$ .



**Gambar 1. Aktifitas antidiabetes Ekstrak methanol, fraksi n-heksana, chloroform dan air**

Diabetes Type 2 adalah penyakit metabolikhiperglisemik. Adalah suatukondisi yang disebabkan oleh tidakcukupnya sekresiinsulin atau resisten insulin. Penggunaan insulin untuk mempertahankan gula darah mendekati normal, dibatasi karena terbukti dapat



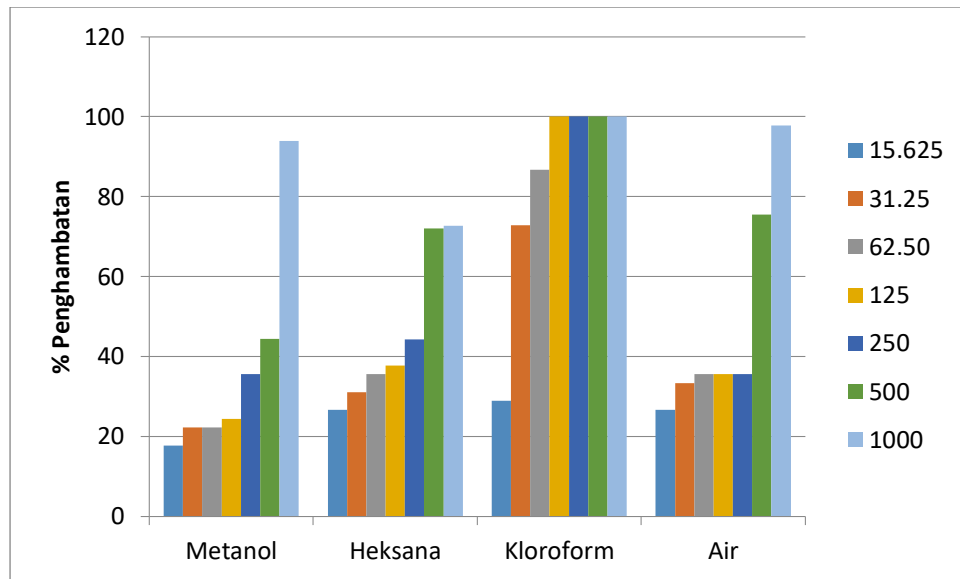
menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan. American Diabetes Association merekomendasikan konsumsi 30-35 g dari total sumber serat yang meliputi serat larut maupun tidak larut. Konsumsi diet serat akan memperbaiki control glicemik, mereduksi total energy intake dan lipida darah. Rumput laut kaya akan polisakarida non-pati (dietary fiber) dan kadar lemak yang rendah. Dietary fiber rumput laut berbeda dalam komposisinya, struktur kimi, sifat fisiko kimia, efek biologi dari tumbuhan darat. Karena itu komposisi dapat meningkatkan variasi dietary fiber (18).

Senyawa polifenolik seperti phlorotannin bereaksi sebagai penangkap elektron yang bertanggung jawab sebagai sifat antioksidan multifungsi seperti penangkap radikal hidroksil, radikal peroksil atau radikal superoksida. (17) Polyfenol seperti lutein, quercetin, catechin dan flavonoid mempunyai aktifitas penghambatan  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase Fucan dari *Himanthalia elongata* merendahkan glycemia (18). Asam oleat yang terdapat pada rumput laut mempunyai pengaruh melawan kardiovaskular, komplikasi diabetes, menurunkan aktifitas faktor jaringan didalam penderita diabetes-hiperglicemik dan dapat melindungi jaringan dari resiko thrombosis (19).

### **3 Uji Sitotoxic**

Aktifitas sitotoksik ekstrak methanol dan fraksi *H. durvilae* menunjukkan (Gambar 2) bahwa ekstrak metanol, hexane, chloroform dan air mempunyai aktifitas toxicity dengan IC 50 berkisar 33.834 - 431  $\mu\text{g/mL}$ . Fraksi chloroform mempunyai aktifitas cytotoxic yang tertinggi yaitu 33.834  $\mu\text{g/mL}$ .

Berdasarkan hasil penelitian ini rumput laut *H. durvilae* ini mempunyai senyawa cytotoxic yang potensial. Senyawa cytotoxic dalam rumput laut *H. durvilae* ini dapat dieksplorasi sebagai novel yang mengarah pada chemoprevention kanker dan komplementer chemotherapy. Beberapa spesies marine algae ditemukan memproduksi metabolik sekunder dengan aktifitas antitumor (20). Alkaloid ditemukan didalam alga laut dibagi dalam 3 golongan yaitu: alkaloid fenyletilamine, Indol dan halogenindol alkaloid dan alkaloid jenis lain. Secara structural Alkaloid diisolasi dari alga laut paling banyak mengarah pada feniletilamin dan indol, dimana aktifitas biologinya belum ditemukan sepenuhnya. Dengan meningkatnya penelitian menggunakan rodent model menunjukkan potensial sebagai anti carcinogenic aktifitas dari spesies rumput laut merah dan hijau, kenyataannya konsumsi alga disarankan sebagai zat chemopreventif melawan kanker payudara (21).



**Gambar 2. Sitotoksik ekstrak methanol, fraksi n-heksana, kloroform dan air *H.durvilae***

#### 4. Aktifitas Antikanker Serviks

Aktifitas antikanker serviks ekstrak methanol dan fraksi heksana, chloroform, dan air *H. durvilae* dapat dilihat pada Tabel 2. Ekstrak methanol mempunyai daya hambat terendah terhadap Sel hela (ATCC CCL), sedangkan semua fraksi mempunyai daya hambat proliferasi terhadap kanker serviks berkisar 92,2 – 94,2%. Tingkat apoptosis sel kanker dari ekstrak dan fraksi dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 2. Aktifitas penghambatan kanker serviks (sel hela ATCC CCL) ekstrak methanol dan Fraksi heksana, kloroform dan air *H.durvilae*.

Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Daya Hambat Sel hela (ATCC CCL) (%)			
	Metanol	Heksana	kloroform	Air
10.000	90.4	92.9	92.2	92.6
8000	74.8	93.4	92.3	92.8
6000	64.1	93.6	92.3	93.1
4000	52.6	94.2	93.2	93.0

## Metanol



## Heksana



## Chloroform



## Air



**Gambar 2. Viabilitas sel kanker pada beberapa konsentrasi ekstrak methanol dan fraksi heksana, klorofom dan air *H.durvilae***

*Sargasum stenophyllum* *Capsosiphon fulvescens* menghambat migrasi dan viabilitas cell melanoma manusia in-vitro dan in-vivo (22) dan rata-rata menginduksi apoptosis pada sel gastric manusia. Fucans dengan berat molekul rendah yang diekstraksi dari *Ascophyllum nodosum* menunjukkan aktifitas antiproliferatif melawan adenocarcinoma colon manusia (23) dan cell line carcinoma bronchopulmonary (24). Sterol yang diisolasi dari *Galaxaura marginata* dan *G. oblongata* mempunyai aktifitas cytotoxic untuk beberapa type sel kanker (25).

Alga coklat *Laminaria japonica* mengandung glycoprotein, *Sargassum hornery*, *Eclonia cava*, dan *Costaria costata* mengandung fucoidan, *Sargassum filipendula* mengandung heterofucan. Senyawa-senyawa ini memberikan pengaruh anti-proliferasi pada sel kanker serviks, prostat dan liver. Ekstrak *Gracilaria corticata* dan *Sargassum*

*oligocystum* menghambat proliferasi cell lines leukemia manusia (26). Senyawa antikanker ekstrak rumput laut termasuk polisakarida yang larut air seperti sulfat polisakarida dan metabolik sekunder seperti flavonoid dan fluorotannin, antiprolifaratif rumput laut tergantung pada senyawa fenolik (27),

## KESIMPULAN

Rumput laut *H.durvilae* mengandung senyawa fitokimia mempunyai aktifitas antioksidan, antidibetes, aktifitas sitotoksik dan antikanker serviks, sebab itu rumput laut ini dapat digunakan sebagai pangan fungsional. Perlu dilakukan isolasi untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terkandung dalam rumput laut ini.

**D. STATUS LUARAN:** Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas.

2. Internasional Jurnal, Published, dan accepted 2019; 1. Jurnal Nasional terakreditasi published, 2018 1; Paten (Granted); 3 buah pemakalah internasional; 2 buah pemakalah nasional

**E. PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan, Penelitian Pengembangan, PTUPT, PPUPT serta KRUPPT). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas.

Tidak ada mitra

**F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN:** Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Ketersediaan bahan kimia harus menunggu kiriman dari perusahaan, bahan kimia dan fasilitas laboratorium masih belum memadai sehingga ada analisis perlu dikirim ke IPB Bogor.

**G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA:** Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

**PETA JALAN PENELITIAN**

Tahun	sudah	sudah	sedang	Sedang	akan	Dream
2023						Kapsul biofungsional rumput Laut sesuai standart Industri.
2020, 2019, 2018					PDUPT Produksi ekstrak rumput laut yang mempunyai aktifitas antidiabetes dan antikanker dengan tahap-tahap	
2017				.Kandungan pigmen beberapa Jenis rumput laut yang diambil dari perairan Sulawesi Utara.	• Optimasi ekstraksi	
2015		•.Antioxidant Activity of Methanol Extract of Seaweeds Obtained from North Sulawesi.	•Antioxidant Actifity of Marine Algae <i>Halimenea durvilae</i> Obtained from North Sulawesi.	Jenis rumput laut pada beberapa Jenis pelarut.	• Fraksinasi	
2014		•Aktifitas Antioksidan AlgaLaut <i>Gracilaria salicornia</i> dan <i>Turbinaria decurens</i>	•Sitotoksik dan aktifitas kanker serviks rumput laut	-Aktifitas antioksidan pigmen rumput laut	• Isolasi dan karakterisasi	
2013	•Kandungan Fitokimia beberapa Jenis Rumput Laut DRPM					
2010	•Isolasi senyawa antioksidan rumput laut <i>Halimeda macroloba</i> dan <i>Halimenea durvilae</i>	•Aktifitas Antioksidan AlgaLaut <i>Gracilaria salicornia</i> dan <i>Turbinaria decurens</i>	•Aktifitas antioksidan dan antidiabetes beberapa Rumput Laut.		•Mutu Kesegaran ikan yang direndam dengan ekstrak rumput laut	
	•Kandungan Fosfor Minuman Sari Rumput Laut ( <i>Euchema cottonii</i> )	•Aktifitas Antioksidan AlgaLaut <i>Gracilaria salicornia</i> dan <i>Turbinaria decurens</i>	•DIPA UNSRAT Aktivitas antioksidan <i>G. salicornia</i> dan <i>H. macroloba</i>			
<b>Luaran</b>	2.Jurnal Nasional	1.Jurnal Internasioal 1.Prosiding	2.Prosiding	2. Jurnal Internasional	2. J. Inter.nasional bereputasi a Food biotechnology /food science	
					1. Nasional terakreditasi (JPHPI/ ).Buku.	

### **Kegiatan Penelitian Yang Telah Dilakukan:**

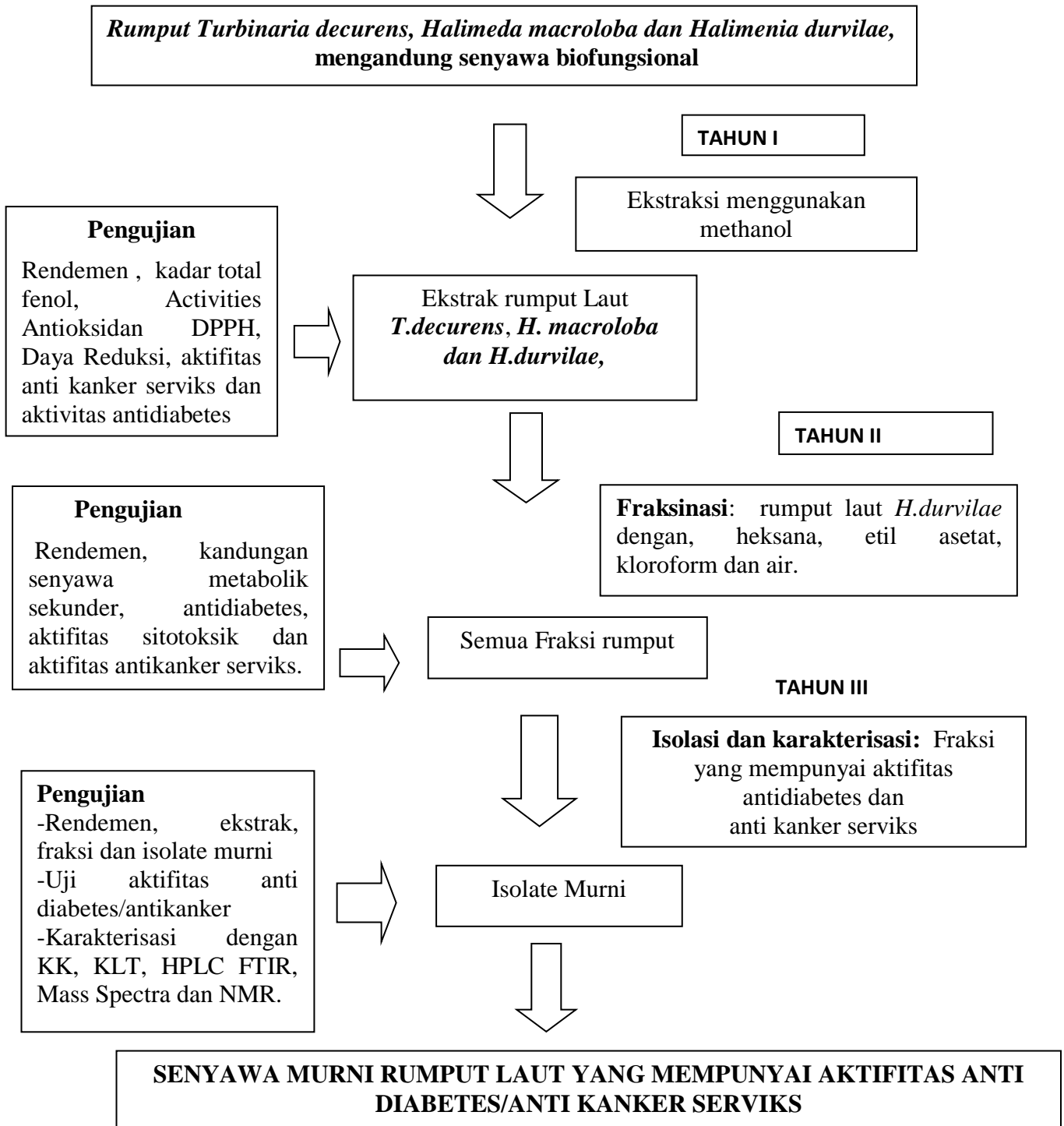
- Sanger G.** Widjanarko, S.B., Kusnadi, J. and Berhimpon S. 2013 Antioxidant Activity of Methanol Extract of Seaweeds Obtained from North Sulawesi. 2013. Food Science and Quality Management. Vol. 19. ISSN 2224-6088 (Paper).
- Sanger G.** 2014. Activities Antioksidan Algae Laut *Gracilaria salicornia* And *Turbinaria decurens*. Prosiding Pemanfaatan dan Konservasi Sumber Daya Alam Dalam Perspektif Pembangunan Berkelanjutan. HKI (Himpunan Kimia Indonesia). Manado.
- Sanger G.** 2014. Antioxidant Actifity of Marine Algae *Halimena durvilae* Obtained from North Sulawesi. International Prossiding on Marine and Fisheries Product Processing and Biotechnology. Ministry of Marine Affairs and Fisheries. Jakarta.
- Sanger G,** Kaseger BE, Rarung LK, Damongilala L. 2018. Potensi Beberapa Jenis Rumput Laut Sebagai Bahan Pangan Fungsional, Sumber Pigmen Dan Antioksidan Alami. Jphpi 2018, 21 (2). 208-217.
- Sanger G.** Rarung LK. Kaseger BE. Timbowo S. 2017. Composition of pigments and antioxidant activity in edible seaweed *Halimena durvilae* obtained from north sulawesi. *International Journal of Chemical Technology Research*. 10(15): 255-262.
- Sanger G.** Pandey E.V and Palenewen J.Ch.V. 2014. Antioxidant Activity of Marine Algae Sargassum Sp.and Halimeda Sp. Obtained from North Sulawesi..Prosiding Hari Pangan sedunia Tahun 2014. PATPI).
- Sanger G.** Activities antioksidan dan antidiabetes rumput laut *Gracilaria salicornia* dan *Halimeda macroloba*.
- Sanger G.** Activities Sitotoksik beberapa jenis rumput laut yang diambil dari perairan Sulawesi Utara.
- Sanger G.** Activities antikanker serviks rumput laut *Gracilaria salicornia* dan *Halimeda macroloba*.
- Sanger G.** Activities antioksidan pigmen beberapa jenis rumput laut dengan menggunakan beberapa jeis pelarut.
- Sanger G.,** Rarung L. K., Kaseger B. E., Timbowo S., 2017 Composition of pigments and antioxidant activity in edible seaweed *Halimena durvilae* obtained from north sulawesi. *International Journal of ChemTech Research*. 10(15):255-262.
- Sanger S.,** Kaseger B. E., Rarung L. K., Damongilala L. K., 2018 Potensi rumput laut sebagai pangan fungsional sumber oigmen dan antioksidan alami. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia 21(2):208-218.
- Sanger G,** Rarung L.K, L J Damongilala L.K, Kaseger B.E and L A D Y Montolalu L.A.D.Y 2019. Phytochemical constituents and antidiabetic activity of edible marine red seaweed (Halymenia durvilae). IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science The 3rd EIW1. 1-8.

## METODE PENELITIAN

### Tempat Penelitian.

Penelitian ini akan dilaksanakan di laboratorium: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat dan Laboratorium Farmakologi IPB Bogor, Fakultas MIPA Unpad dan LIPI Serpong.

### Tahapan Penelitian



### **Hasil Penelitian yang telah diperoleh Tahun 1 (2018).**

Hasil penelitian terdiri dari: rendemen, kadar Total fenol, aktifitas antioksidan peredam radikal DPPH (1,1 difenilpicrilhidrazil) dan Daya Reduksi menurut Chew et al. (14) aktifitas antidiabetes menggunakan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranososa (PNPG) menurut Sancheti et al., (28) dan aktifitas antikanker serviks menggunakan Sel Hela (ATCC CCL 2) dan MTT Formazon menurut Gomes et al, (20) Rumput Laut *Turbinaria decurens*, *Halimeda macroloba* dan *Halimena durvillae*, telah dilaksanakan.

**Luaran yang diperoleh terdiri dari:** 1. 1. Jurnal Nasional terakreditasi (Published); . 2. 2 (dua) Seminar internasional; 4. 2 (dua) Seminar nasional.

### **Hasil Penelitian yang telah dicapai Tahun ke 2 (2019).**

Hasil penelitian yang diperoleh berdasarkan fraksinasi rumput laut *H. durvillae* dengan n-heksana, kloroform dan air, yaitu Kandungan senyawa fitokimia, aktifitas antidiabetes enzim  $\alpha$ -glukosidase dan p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranososa (PNPG)\* dengan metoda Sancheti *et al.*(28). Aktifitas sitotoksik dan aktifitas antikanker serviks menggunakan Sel Hela (ATCC CCL 2) dan MTT Formazon dengan metoda Gomez et al. (20).

**Luaran yang diperoleh:** 2. jurnal internasional bereputasi (Published dan accepted). 1. Paten (Granted). 3 (tiga) seminar internasional (presenter); 2 (dua) seminar nasional (pemakalah)

### **Tahun 3 (2020). Isolasi dan Karakterisasi senyawa murni.**

Rumput laut yang mempunyai aktifitas biofungsional terlebih dahulu dilakukan ekstraksi, fraksinasi setelah itu diisolasi. Kemudian dilakukan analisis aktifitas antioksidan peredam radikal DPPH (Chew *et al.*, 2008), aktifitas antidiabetes menggunakan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranososa (PNPG)\* (Sancheti *et al.*, 2002).dan aktifitas antikanker serviks menggunakan Sel Hela (ATCC CCL 2) dan MTT Formazon menurut Gomez et al., (20). Proses isolasi untuk memperoleh senyawa murni dan karakterisasi struktur senyawa dengan menggunakan KLT, KK, HPLC, FTIR, Mass Spectra, NMR (H-NMR,C-NMR, DEPT, COSY, HMQC dan HMBC. Spektrum yang dihasilkan kemudian diinterpretasi (29).

**Indikator capaian Tahun ke 3** diperoleh: Isolat murni,. Aktifitas antioksidan, Aktifitas antidiabetes dan aktifitas anti kanker serviks, Struktur senyawa murni, jurnal internasional bereputasi (Tabel 1.)



**Tabel 1. Indikator Capaian Penelitian Tahun ke 3.**

<b>Tahun</b>	<b>Metoda penelitian</b>	<b>Indikator Capaian</b>
2020	Isolasi Rumput Laut menggunakan Kolom kromatografi dan Kromatografi lapis tipis. --Pengujian Aktifitas antioksidan, aktifitas andiabetes, aktifitas antikanker serviks. - isolasi dan Karakterisasi menggunakan KLT, KK, HPLC, FTIR, Mass Spectra, NMR (H-NMR,C-NMR, DEPT, COSY, HMQC dan HMBC	-Isolat murni, rendemen, - Aktifitas Peredam radikal DPPH, Aktifitas antidiabetes (IC 50), Aktifitas anti kanker serviks (IC 50), - Gugus Fungsi, Berat molekul dan struktur senyawa murni -Jurnal, buku ajar.

## **BIAYA DAN JADWAL PELAKSANAAN**

### **Ringkasan Anggaran Biaya**

Ringkasan Anggaran Biaya Tahun ke 3, dapat dilihat pada table 2. dibawah ini:

**Tabel 2. Ringkasan Anggaran Biaya Penelitian**

No	Jenis Pengeluaran	Biaya yang diusulkan (Rp)
		Tahun ke 3
1.	Honor penelitian (max 30%)	30.250.000.-
2.	Pembelian Bahan Habis Pakai (60%)	56.681.490.-
3	Perjalanan (Max 40%)	8.000.000.-
4	Sewa (max 40%)	7.500.000.-
	<b>Jumlah</b>	<b>102.384.190.-.</b>

## Jadwal Penelitian

Jadwal Penelitian sebagai berikut:

### Tahun III.

No	Jenis Kegiatan	1 tahun											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	Persiapan alat dan Bahan	■											
2	Proses isolasi		■	■	■	■							
3.	Analisis Activities antioksidan						■	■					
4	Analisis Activities antidiabetes						■	■	■	■			
5	Analisis aktifitas antikanker serviks							■	■	■	■		
6	Karakterisi isolate senyawa murni								■	■	■		
7	Analisis Data									■	■	■	
8	Penyusunan Laporan												■

**H. DAFTAR PUSTAKA:** Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. Yoshie, Y., Wand,W., Hsieh, Y.P. and Suzuki, T. 2002. Compositional Difference of Phenolic Compounds between two Seaweeds, Halimeda spp. J.TokyoUniv Fish, 88:21-24.
2. Vinayak, R.C., Sabu, A.S. and Chatterji, A. 2010 Bio-Prospecting of a Few Brown Seaweeds for their Cytotoxic and Anioxidant Activity. Complementary and Alternative Medicine, Vol. 2011.1-9.
3. Cox, S., Abu-Ghannam, N. and S. Gupta, 2010. An Assessment of the Antioxidant and Antimicrobial Activity of Six Species of Edible Irish Seaweeds. Int. Food Res. J., 17: 205-220.
4. Boonchum, W., Y. Peerapornpisal, P. Vacharapiyasophon, J. Pekkoh, C. Pumas, U. Jamjai, D. Amornlerdpison, T. Noiraksar and D.Kanjanapothi, 2011. Antioxidant activity of some seaweed from the gulf of Thailand. Int. J. Agric. Biol., 13: 95-99.
5. Takeshi, S., Yumiko, Y. and Joko, S. 2005, Mineral Components and Antioxidant Activities of Tropical Seaweeds. J. Ocean University China, 4: 205-208.
6. Kuda, T. and T. Ikemori, 2009. Minerals, polysaccharides and antioxidant properties of aqueous solutions obtained from macroalgal beach-coasts in the Noto Peninsula, Ishikawa, Japan. Food Chem., 112: 575-581.
7. Zakaria N.A.,1, Darah Ibrahim, Shaida Fariza Sulaiman and Nor Afifah Supardy. 2011 Assessment of antioxidant activity, total phenolic content and *invitro* toxicity of Malaysian red seaweed, *Acanthophora spicifera*. J. Chem. Pharm. Res., 2011, 3(3):182-191

8. Sroka, Z. and Cisowski, W. 2003. Hydrogen Peroxide Scavenging, Antioxidant and Anti-Radical Activity of Some Phenolic Acids. *Food Chem. Toxicol.*, 41: 753-758.
9. Yuan, H., Zhang, W., Li, X., Lu, X., Li, N., Gao, X. et al., 2005<sup>b</sup>. Preparation and in vitro antioxidant activity of κ-carrageenan oligosaccharides and their oversulfated, acetylated, and phosphorylated derivatives. *Carbohydrate Research*, 340, 685-692.
10. Acoh, C.C. and Min B.D. 1997. *Food Lipid Chemistry*. In *Nutrition Biotechnology*, New York: Marcel Dekker Inc.
11. Matanjun, P., Mohamed, S. Mustapha, N.M., Muhammad, K. and Ming, C.H. 2008. Antioxidant Activities and Phenolics Content of Eight Species of Seaweeds from North Borneo. *J. Appl. Phycol.*, 20: 367–373.
12. Devi, G.K., Manivannan, K., Thirumaran, G., Rajathi, F. A. A. and Anantharaman, P. 2011. In Vitro Antioxidant Activities of Selected Seaweeds from Southeast Coast of India *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 205-211.
13. Kumar, K.S., Ganesan, K. and Subba-Rao, P.V. 2008. Antioxidant Potential of Solvent Extracts of *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Doty-An Edible Seaweed. *Food Chem.*, 107: 289-295.
14. Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M. and Khoo, K.S. 2008. Antioxidant Activity of Three Seaweeds from Two Areas in South East Asia. *Science Direct LWT*, 41: 1067-1072.
15. Prabhasankar, P.P., Ganesan, Bhaskar, N., Hirose, A., Stephen, N., Gowda, L.R. and Miyashita K. 2009. Edible Japanese Seaweed, Wakame (*Udaria pinatifida*) as an ingredient in pasta. *Food Chem.* 115:501-508.
16. Melo, E.B., da Silveira Gomes, A. and Carvalho, I. 2006. α- and β-glucosidase inhibitor: chemical structure and biological activity. *Tetrahedron*, 62, 10277-10302.
17. Chakraborty, K., Praveen N.K., Vijayan K.K. and Rao G.S. 2013. Evaluation of Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Brown Seaweeds Belonging to *Turbinaria* spp. (Phaeophyta, Sargassaceae) Collected from Gulf of Mannar Asian Pac. *J. Trop. Biomed.* 3(1): 8–16.
18. Kim M.S., Kim J. Y.W., Choi H. and Lee S. S. 2008. Effects of Seaweed Supplementation on Blood Glucose Concentration, Lipid Profile, And Antioxidant Enzyme Activities in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus. *Nutr Res Pract.* Summer; 2(2): 62–67.
19. Devery, R., Miller, A. and Stanton, C. 2001. Conjugated Linoleic Acid and Oxidative Behavior in Cancer Cells. *Biochem. Soc. Trans.* 29: 341-344.
20. Gomes D.L., Telles C.B.S., Costa M.S.S., Almeida-Lima J. 1, Leandro L.S., Keesen T.S.L., And Rocha H.A.O. 2015. Methanolic Extracts From Brown Seaweeds *Dictyota Cilliolata* And *Dictyota Menstrualis* Induce Apoptosis In Human Cervical Adenocarcinoma Hela Cells. *J. Molecules* 20, 6573-6591.
21. Blunt, J.W., Copp, B.R, Munro, M.H.G., Northcote, P.T. and Prinsep, M.R. 2003. Marine Natural Products. *Nat. Prod Rep*, 20:1–48
22. Dias P.F., Siqueira, J.M. Jr. and L. F. Vendruscolo, “Antiangiogenic And Antitumoral Properties of A Polysaccharide Isolated from The Seaweed *Sargassum stenophyllum*,” *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, Vol. 56, No. 4, Pp. 436–446, 2005. View at Publisher · View At Google Scholar · View At Scopus.

23. Ellouali, M., Boisson-Vidal, C., Durand, P. and Jozefonvicz, J. 1993. Antitumor Activity of Low Molecular Weight Fucans Extracted from Brown Seaweed *AscophyllumNodosum*,” *Anticancer Research*, Vol. 13, no. 6, pp. 2011–2019.
24. Rioux, L.E., Turgeon, S.and Beaulieu, M. 2010. Structural Characterization of Laminaran and Galactofucan Extracted from the Brown Seaweed *SacchariaLongicruris*. *Phytochemistry*,71:1586–1595.
25. Huang, X., Zhou, H., and Zhang, H., “The effect of *Sargassum fusiforme* polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp *Fenneropenaeus chinensis*,” *Fish Shellfish Immunology*, Vol. 20,pp. 750-757 (2006). 12
26. Lee J.C. Hou M.F., Huang H.W, Chang F.R., Yeh C.C, Tang J.Y and Chang H.W. 2013. Marine Algae natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, anti cancer *Cell Int.* 13:55
27. Giner J.L, H Zhao, C Thomas, 2008. Sterols and Fatty Acids of Three Harmful Algae Previously Assigned as *Chatonella*. *Journalof Phytochemistry* 2008(2167-2171).
28. Sancheti S., Sancheti S. and Seo S.Y. 2009. *Chenomeles Sinensis*: A Potent  $\alpha$  and  $\beta$  Glukosidase Inhibitor. *American J. of Pharm.and Toxic.* 4(1):8-11.

Dokumen pendukung luaran Wajib #1

Luaran dijanjikan: Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional

Target: accepted/published

Dicapai: Published

Dokumen wajib diunggah:

1. Artikel yang terbit

Dokumen sudah diunggah:

1. Artikel yang terbit

Dokumen belum diunggah:

- Sudah lengkap

Nama jurnal: Earth and Environmental Science

Peran penulis: first author | EISSN: 1755-1315/278

Nama Lembaga Pengindek: Scopus

URL jurnal: IP adress 114.125.187.24 on 12/07/2019

Judul artikel: Phytochemical Constituents and antidiabetic activity of edible marine red seaweeds (*Halymenia durvillae*)

Tahun: 2019 | Volume: 278 | Nomor: 1

Halaman awal: 1 | akhir: 8

URL artikel: IP adress 114.125.187.24 on 12/07/2019

DOI: doi:10.1088/1755-1315/278/1/012069

PAPER • OPEN ACCESS

## Phytochemical constituents and antidiabetic activity of edible marine red seaweed (*Halymenia durvillae*)

To cite this article: G Sanger *et al* 2019 *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* **278** 012069

View the [article online](#) for updates and enhancements.



**IOP | ebooks™**

Bringing you innovative digital publishing with leading voices to create your essential collection of books in STEM research.

Start exploring the collection - download the first chapter of every title for free.

# Phytochemical constituents and antidiabetic activity of edible marine red seaweed (*Halymenia durvilae*)

G Sanger<sup>1\*</sup>, L K Rarung<sup>2</sup>, L J Damongilala<sup>1</sup>, B E. Kaseger<sup>1</sup> and L A D Y Montolalu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Technology of Fishery product, Sam Ratulangi University, Manado

<sup>2</sup>Department of Agribisnis of Fishery, Sam Ratulangi University, Manado

\*E-mail: sanger.grace@yahoo.co.id

**Abstract.** Seaweeds have bioactive compounds with enormous health prospective which interests the pharmaceutical industries. The isolated bioactive compounds of seaweeds have been utilized as drug and food in the world. Phytochemical constituents of seaweeds have an assortment of prospective biological activity, such as antidiabetes. In worldwide the appearance of type two diabetes mellitus (T2DM) as the greatest non-transmittable disease has motivated search for new antidiabetic approaches. The purpose of the research was to determine the phytochemical properties and antidiabetic effect using  $\alpha$ -glukosidase on methanol extract, n-hexane, chloroform, and water fraction of marine red algae *Halymenia durvilae*. The result of this study showed the phyto-constituent of *H.durvilae* includes steroids, flavonoids and triterpenoids are present in all extracts. Saponins and hyquinones showed their presence only in methanol extract. Alkaloid and tannin were not present in methanol extract and its fractions. *H.durvilae* on the extract and its fractions had antidiabetic activity. Water fraction had the highest activity to inhibit  $\alpha$ -glukosidase (IC<sub>50</sub> 4.34±0.32 mg mL) followed by chloroform, hexane and methanol extract. Therefore, it can be concluded that *H.durvilae* could be used as a dietary food source of bioactive compound especially natural antidiabetic compounds.

**Keyword:** antidiabetic, *Halymenia durvilae*, seaweed

## 1. Introduction

Over the past three decades seaweeds have included one of the wealthiest and largest amount potential resources of bio-functional compounds in industry [1]. In excess of 2400 marine ordinary bioactive compounds as we distinguished as secondary metabolites of seaweed have been isolated which possess a wide variety of bio-functional properties. Seaweeds have been utilized by human as drug and food and their extracts have yielded an immense quantity of attention in medicinal manufacturing as a fresh source of bioactive compound with enormous therapeutic prospective [2].

Edible seaweeds contain low calories and large amount of dietary fibers, unsaturated fatty acids and vitamins appropriate for administrating diabetes [3]. Seaweed bioactive compounds have important responsible in the inflection of glucose-stimulated oxidative stress, reserve of starch-digestive enzymes [4, 5].

Diabetes mellitus is one of multifarious diseases typed by chronic hyperglycemia because of shortage in insulin secretion or resistance [5, 6]. The encouragement and improvement of endogenous insulin secretion, and restrain ordinary nutritional enzymes for instance  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase are the presently existing therapeutic method [7]. Alga glucosidase inhibitor functioned as medically oral



antihyperglycemic agents, for example acarbose and voglibose. However they often instigate harsh gastrointestinal side impact. Consequently, the medication of postprandial hyperglycemia have developed into an attractive method for explore new  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from natural resources [8].

*Ecklonia cava*, a marine brown algae contains phloroglucinol derivatives, had capacity to inhibit  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase activities [4, 9]. Polysaccharides drawn from seaweed mostly in low molecular weight oligosaccharides are also potential as stimulant of insulin secretion [10].

The majority of marine algae from North Sulawesi, Indonesia are still unexploited for bioactive substance and there are no previous report of an antidiabetic activity of *H.durvilae* that grow abundantly in North Sulawesi. This research aimed to determine the phytochemical compound qualitatively and antidiabetic effect on *H. durvilae* by *in vitro* assays using  $\alpha$ -glucosidase enzyme.

Seaweed is an enormous source of carotenoids, pigments, polyphenols, enzymes, various useful polysaccharides and is also an admirable source of vitamin A, B1, B12, C, D and E [2]. From the previous researches, it is well known that seaweed contain antibacterial, antiviral, antidiabetic, cytotoxic and anticancer compounds [2, 10, 11]. Due to their potentially beneficial activities, seaweed have been intensive studied.

Seaweeds ethanol extracts commonly consisted of polyphenol compounds about 70-80% and polysaccharides around 20-30%, while seaweeds water extracts have extremely small quantity of polyphenols and > 90% polysaccharides. *Gracilaria* species contain phycocolloids, the major source of agar  $\alpha$ -(1,4)-3,6-anhydro-L-galactose and  $\beta$ -(1,3)-D-galactose with slight esterification in cell wall. Therefore they are essential substances for the manufacturing and biotechnological purposes [12, 13].

Diabetes mellitus is one of acute diseases, recognized from hyperglycaemia, a situation characterized as a result of an extreme degree of glucose flowing in the blood [1] with unsteadiness in carbohydrate, fat and protein metabolism [8]. Diabetes mellitus categorized into two major types specifically Type one diabetes mellitus (T1DM), instigated of the total insulin manufacture nonattendance because the auto-immune refereed collapse of pancreatic  $\beta$ -cells. Type two diabetes mellitus (T2DM), which caused by the virtual insufficiency of the similar hormone concerning insulin defiance, peculiar forming of hepatic glucose and growing relapse of pancreatic  $\beta$ -cell roles [1].

T2DM reports roughly 90% of diabetes situation global, edge on epidemic magnitude impressing both developed and developing countries [11]. This ascending is featured to larger occurrence of inactive daily life, detrimental diet and increasing of obesity inside contemporary civilization, as well as a rising number of old populations [2, 14].

Diabetes is regularly associated with enlarged risk in hypertension, vascular complications, blindness and kidney malfunction [12]. Macrovascular complications have been studied to be higher in T2DM patients with the probability of emergent diseases connecting the human vascular tree for instance stroke, coronary artery disease and peripheral arterial disease to be fourfold greater, which extended reasonably formerly in diabetic than non-diabetic patients. Sufferers of T2DM usually have decreased life hope by reason of these diverse co-morbidities [11].

One of the healing methods for managing diabetes is to diminish postprandial hyperglycaemia. This can be attained by suspending the absorption of glucose by means of reducing of carbohydrate hydrolyzing enzymes,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase in digestive tract. The  $\alpha$ -glucosidase can delay the relase of glucose from dietary multifarious carbohydrate and obstruction glucose absorption, consequently a diminished postprandial plasma glucose level and decreased postprandial hyperglycaemia [8].

Hyperglycemia can be treated in two ways, namely by using injections of insulin and oral antidiabetic medications such as sulfonylureas, biguanide, thiazolidinedion, and by supplementing or



functionalizing food. Functional food are like a drug and they can also inhibit the enzyme glucosidase and amylase so that it can inhibit the absorption of glucose for patients with T2DM [15].

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Sampling

Red seaweed *Halimena durvilae* was collected from North Sulawesi Coastal Area of Indonesia. The fresh sample was carefully cleaned with marine water and fresh water to eliminate epiphytes, and grime particles [16]. The sample was then delivered to the laboratory for future analysis.

### 2.2. Preparation of the sample extract and fractions

Sample (1 kg) extracted using 70% methanol (1/2 w/v) overnight for 3 times in room temperature, then filtered with Whatman paper No. 1 and converged down to 500 ml at 40 °C by rotary vacuum evaporator. The extract obtained was dissolved in 1 L ethyl acetate for 3 times and concentrated by rotary evaporator, and then the undissolved residue was removed. The ethyl acetate extract was subjected to the first solvent-fractionation step of using 500 mL of an aqueous 90% methanol solution and 3.5 L of n-hexane. As a result of this fractionation, bioactive ingredients were found in the aqueous methanol solution layer. Again, this aqueous solution layer was subjected to the second solvent-fractionation step of using 500 mL of an aqueous 30% methanol solution and 1 L of chloroform. Thereafter, the aqueous 30% methanol solution layer was dried in vacuo. The extract and fraction were stored in -20 °C before analysis [17].

### 2.3. Chemicals and reagents

$\alpha$ -glukosidase,  $p$ -nitrophenil- $\alpha$ -D-glucopyranoside, phosphate buffer, sodium carbonate were bought from Sigma-Aldrich (St. Louis MO, USA) .

### 2.4. Phytochemical analysis

The phytochemical analysis qualitatively of *Halimena durvilae* extract consisted of alkaloids, tannins, saponins, flavonoids, triterpenoids/steroids and hydroquinon.

**2.4.1. Test for alkaloids.** Test for alkaloid of methanol extract and fractions were estimated by the method of [18] with slight modification. Briefly, 0.5 g of sample was added with a few drops of ammonium and dissolved in 5 mL  $\text{CHCl}_3$ . Filtrate was added with 2-5 drops of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  M and shaken until it formed 2 layers. The filtrate at upper layer (acid layer) dissolved in the three reagens. Then observated the establishment of precipitates and any color changes. Purple (Dragendroff reagent) and Brown (Wagner reagent), White creamy impetuous (Meyer reagent) imply the attendance of alkaloids.

**2.4.2. Test for tannins.** Test for tannins of crude methanol extract and fractions were determined based on the method of Mehdinezhad [20]. Briefly, 1 g of sample was boiled using 20 mL of distilled water for 5 minutes in a water bath and filtered. The cold filtrate (1 mL) was diluted into 5 mL of aquades and added with 2-3 drops of 10% ferric chloride, and then detected the establishment of impulsive and any color transformation. Forming a bluish-black or brownish-green sudden shown the attendance of tannins.

**2.4.3. Test for saponins.** Test for saponins of crude methanol extract and fractions were estimated [19]. Briefly, 100 mg of sample was boiled with 1 mL of aquades and filtered. Then 0.5 mL of aquades was added in filtrate and quivered strongly for about 5 minutes. Formation of bubbles (froth) which persevered on affectionate suggested the existence of saponins.

**2.4.4. Test for flavonoids.** Test for flavonoids of crude methanol extract and fractions were determined according to the method of [19] with slight modification. Briefly, 1 g sample was boiled with 10 mL of aquades, added with 5-10 drops of HCL and small piece of magnesium and then boiled for few minutes. Formation of reddish-brown color designated the attendance of flavonoids.

**2.4.5. Test for triterpenoid/steroid.** Test for triterpenoids/steroids of crude methanol extract and fractions were determined by the method prescribed [20]. Briefly, A one-grams of sample was put in a test mixer (test tube) and added with 5 ml of 50% ethanol, heated for 3 minutes in a water bath and let to cool at room temperature and filtered. The filtrate was dried a dish evaporator and it was then dissolved in 1 ml of diethyl ether and mixed for 5 minutes. The ethyl ether fraction was then decanted and removed. After that 10 ml of chloroform was added and stirred for about 5 min, it was then removed into test mixer, added with 0.5 mg of anhydrous sodium sulphate, shaken softly and filtered, the filtrate was then alienated into two test tubes for applied to the following tests:

-Liebermann-Burchard's reaction: To test mixer I, the same volume of acetic anhydride was added and shaken tenderly. Then 1 ml pure sulfuric acid was put down to the side of the tube. The formation of a brownish-red ring at the contact region of the two liquids and a greenish color in the partition layer specified the attendance of sterols and triterpenes.

-Salwoski's test: To test mixer II, 2 to 3 drops of pure sulphuric acid was added to construct a lower layer. Formation reddish-brown color at the inter stage implies the existence of steroidal ring.

**2.4.6. Test for Hydroquinones.** Test for hydroquinones of crude methanol extract and fractions were determined [18], with slight modification. Briefly, 1 g sample was boiled with 2 ml of methanol for 5 minutes, filtered even as it was hot and let to cool and then subjected with 3 drops of 10% NaOH. Formation a red color designed the presence of hydroquinone.

### 2.5. $\alpha$ -glucosidase inhibition assay

The  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity the extract and fractions were performed following to the method reported [21], with a slight modification. Briefly, sample (10  $\mu$ l) at diverse concentration (0.156, 0.312, 0.625, 1.25, 2.5 and 5 mg/mL), 20  $\mu$ l  $\alpha$ -glucosidase (0.5 unit/ml), 120  $\mu$ l of 0.1M phosphate (pH 6.9) were mixed. The solution was incubated in 96-well plates at 37°C for 15 minutes (pre-incubation). After incubating the enzymatic reaction was instigated by adding 20  $\mu$ l of 5 mM phosphate buffer (pH 6.9) and again incubated for 15 minutes at 37°C. The reaction was ceased by adding 80  $\mu$ l of 0.2 M sodium carbonate, the absorbance was determined at 405 nm by ELISA (Epoch, Biotech, USA. Positive control using glucobay (0.1; 1; 5 and 10  $\mu$ /mL). the reaction system exclusive of extract was performed as control and the system exclusive of  $\alpha$ -glucosidase was performed as blank for adjusting the surroundings absorbance. The percent inhibition of  $\alpha$ -glucosidase was calculated using the following equation (1).

$$\% \text{ inhibition} = \left( \frac{\text{control absorbance} - \text{sample absorbance.}}{\text{control absorbance.}} \right) \times 100 \quad (1)$$

## 3. Results and Discussion

### 3.1. Phytochemical constituents

Phytochemical constituents of crude methanol extract of *Halymenia durvilae* and its n-hexane, chloroform, and water fraction is depicted in table 1. The phyto-constituent present in the extract and all fractions includes steroids, flavonoids and triterpenoids, saponin and hydroquinone showed its presence only in methanol extract. Alkaloid and tannin were not attendance in the extracts and fractions.

Saponins are essential to avoid disease offensive to plants by parasitic fungi and this property may be accountable for antimicrobial activity of seaweed extracts [19]. In traditional chinese medicines saponins are respected as a key ingredient and are accountable for the the majority of the detected biological activity. Saponins give respons on inflammation and are exported commercially as nutritional complement [2]. Saponins contain distinctive residue like 2, 3-dihydro-2, 5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one (DDMP), which permits saponins to scavenge superoxides by resulting hydroperoxide intermediates which avoids bio-molecular injury [22].

**Table 1.** Phytochemical constituents in methanol extract, hexane, chloroform and water fraction of *H. durvillae*.

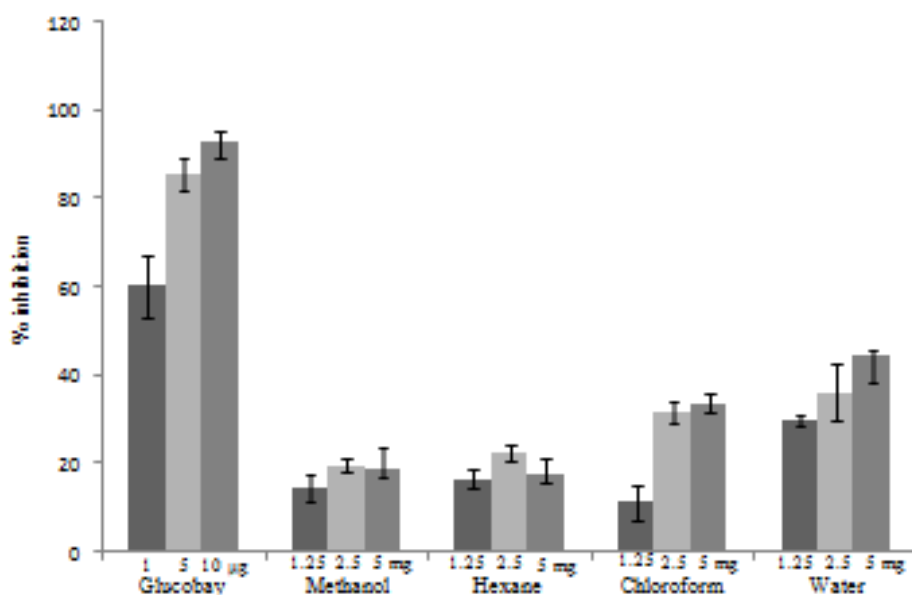
Phytochemical Constituents	Extract and fractions			
	Methanol	Hexane	Chloroform	water
Alkaloids - Wagner	-	-	-	-
- Mayer	-	-	-	-
- Dragondorf	-	-	-	-
Steroids	+	+	+	+
Flavonoids	+	+	+	+
Tannins	-	-	-	-
Saponins	+	-	-	-
Triterpenoids	+	+	+	+
Hydroquinons	+	-	-	+

Steroids, flavonoids and triterpenoids showed its presence in all of the extracts. Plant are source of steroids which are recognized to be the principal by reason of insecticidal, antimicrobial, antiparasitic and cardiotoxic capacities. Steroids also have essential purpose in diet, herbal drug and cosmetics [2]. Flavonoids are also an important antimicrobial agent found in marine and terrestrial plants. Flavonoids, particularly isoflavonones, have higher capacity in contrary to gram positive bacteria than gram negative bacteria. Isoflavanones, isoflavones, and isoflavonones have activity against fungal pathogens [19]. Flavonoids, isoflavones, flavones, anthocyanins, coumarins, lignans, catechins, and isocatechins are proven have anti-tumour and antioxidant activity [23]. The composition of steroid, flavonoids and triterpenoids, saponins and anthroquinones in red algae *Champia parvula*, each were  $24.30 \pm 0.11$ ,  $10.17 \pm 0.01$ ,  $55.33 \pm 0.14$ ,  $22.50 \pm 0.11$  and  $10.43 \pm 0.00$  mg g<sup>-1</sup> [23].

### 3.2. Antidiabetic activity

Alga glukosidase inhibition (% inhibition) of crude methanol extract of *H. durvillae* and its n-hexane, chloroform, and water fraction are shown in figure 1. The result showed all the test concentration in extract and fractions have  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity. The inhibition activities of extract methanol and hexane, chloroform and water fraction (5 mg mL<sup>-1</sup>) each were  $18.71 \pm 5.4$ ,  $17.53 \pm 3.55$ ,  $33.9 \pm 2.41$ ,  $44.56 \pm 1.37\%$ . Water fraction showed the highest inhibition (IC<sub>50</sub>  $4.34 \pm 0.32$  mg mL<sup>-1</sup>). Aqueous extract of red seaweed *G. edulis* and *G. corticata* showed good  $\alpha$ -glucosidase inhibitory property [8].

In human body  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase react simultaneously to digest by breaking down starch via pancreatic  $\alpha$ -amylase and the absorption of glucose by intestinal  $\alpha$ -glucosidase. Pancreatic  $\alpha$ -amylase is a key enzyme that ascertains the degree of starch digestion by the hydrolysis of inner  $\alpha$ -1,4-glucosidic linkages, and yields linear and branched malto-oligosaccharides. These are then acted on by  $\alpha$ -glucosidases, which have important function in the exchange of carbohydrates into glucose, and this may initiate postprandial hyperglycemia [5].



**Figure 1.**  $\alpha$ -glucosidase inhibition activity of glucobay, methanol extract, hexane, chloroform and water fraction of *H.durvilae*.

A valuable approach for diminishing postprandial hyperglycaemia is the reserve of pancreatic  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase, which holdups the carbohydrate digestion and glucose absorption appreciably [5, 24]. Many algae which were extracted with several organic solvents were potential inhibit  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. Acetone crude extract of *Caulerpa racemosa* and *Spatoglossum schroederi* restrained the  $\alpha$ -amylase activity, ED<sub>50</sub> of 0.09 mg/mL and 0.58 mg mL, respectively [7]. Fucoidan which extracted from *Ascophyllum nodosum* was capable to obstruct  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase activity, while fucoidan from *Fucus vesiculosus* is barely active against  $\alpha$ -glucosidase. Fucoidan from *A. nodosum* also inhibit  $\alpha$ -amylase activity between 7% and 100% (5 mg/mL) (IC<sub>50</sub> 0.12 to 4.64 mg/ mL) [25]. Phenolic compounds in seaweed *Ascophyllum nodosum* reported have capacity to against  $\alpha$ -glucosidase [26], as well as fatty acid in *Spatoglossum macrodontum* [27]. In the present study it is shown that inhibitory activity against  $\alpha$ -glucosidase of methanol extract of *H.durvilae* (5 mg mL<sup>-1</sup>) was 18.71±5.4 %. Total phenolic content of 70% methanol extract of *H.durvilae* was 18.83±0.77 g GAE/100 g [28] and the ethanol extract was 7,605±0.383 µg GAE g<sup>-1</sup> [29]. Two pure compounds of bromophenols from red seaweed *Grateloupia elliptica* prevented  $\alpha$ -glucosidase activity to diverse organisms. Inhibitory capacity of 2,4,6-tribromophenol was more intense than 2,4-dibromophenol against *Bacillus. stearothermophilus* and *Saccharomyces.cerevisiae*  $\alpha$ -glucosidase particular, while 2,4-dibromophenol was comparably stronger against rat-intestinal maltase and sucrase but relatively more delicate than acarbose and voglibose, perhaps because of variances in particular substrates [25].

#### 4. Conclusion

The result of the study can be concluded that various various phytochemical constituents detected in *H. durvilae* and showed potential to inhibit  $\alpha$ -glucosidase activity. Therefore, it can be utilized as a functional food especially for the treatment of diabetes. Future studies are required to evaluate the effect of the extracts in diabetic rats and to isolate the active compound which is responsible for antidiabetic effect.

## References

- [1] Cardozo K H M, Guaratini T, Barros M P, Falcão V R and Tonon A P et al 2007 Metabolites from Algae with Economical Impact. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: *Journal of Toxicology & Pharmacology* **146** 60-78
- [2] Domettila C, Joselin J and Jeeva S 2013 Phytochemical analysis on some south Indian seaweeds, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* **5** 275-278
- [3] Lee H.Y, Won J C and Kang Y J 2010 Type 2 diabetes in urban and rural districts in Korea: Factors associated with prevalence difference, *J Korean Med. Sci* **25** 1777–1783
- [4] Lee S H, Li Y, Karadeniz F, Kim M M and Kim S K 2008  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of phloroglucinol derivatives from edible marine brown alga, *Ecklonia cava*. *Journal of Science Food Agriculture* **89** 1552–1558
- [5] Unnikrishnan P S, Suthindhiran K and Jayasri M A 2015 Antidiabetic potential of marine algae by inhibiting key metabolic enzymes. *Journal Frontiers in Life Science* **8** 148-159
- [6] Nickavar B and Yousefian N 2011 Evaluation of  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of selected antidiabetic medicinal plants. *J. Verbr. Lebensm* **6** 191–195
- [7] Teixeira V L, Rocha F D, Houghton P J, Kaplan M A and Pereira R C 2007  $\alpha$ -Amylase inhibitors from Brazilian seaweeds and their hypoglycaemic potential. *Journal of fitoterapia* **78** 35–36
- [8] Kumar P S and Sudha S 2013 Evaluation of Alpha Amylase And Alpha Glucosidase Inhibitory Properties of Selected Seaweeds from Gulf Of Mannar. *International Journal. Research of Pharmacology* 128-130
- [9] Okada Y, Ishimaru A, Suzuki R and Okuyama T 2004 A New Phloroglucinol Derivative from the Brown Alga *Eisenia bicyclis*: Potential For the Effective Treatment of Diabetes Complications. *J. Nat. Prod* **67** 103-105
- [10] Zhang D, Fujii I, Lin C, Ito K, Guan H, Zhao J, Shinohara M and Matsukura M 2008 The stimulatory activities of polysaccharide compounds derived from algae extracts on insulin secretion *in vitro*. *Journal Biology Pharmacology* **31** 921–924
- [11] Sharifuddin Y, Chin Y X, Lim P E and Phang S M 2015 Potential Bioactive Compounds from Seaweed for Diabetes Management *Marine Drugs* **13** 5447–5491
- [12] Oh J H, Kim J and Lee Y 2016 Anti-inflammatory and anti-diabetic effects of brown seaweeds in high-fat diet-induced obese mice *Journal Nutrition Research & Practice* **10** 42–48
- [13] Layse C F de Almeida, Heloína de S, Falcão, Gedson R, de M Lima, Camila de A, Montenegro, Narlize S, Lira, Petronio F, de Athayde-Filho, Luis C, Rodrigues, Maria de Fátima V de Souza, José M, Barbosa-Filho and Leônia M Batista 2011 Bioactivities from Marine Algae of the Genus *Gracilaria*. *Int. J. Mol. Sci.* **12** (7) 4550–4573
- [14] Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R. and King H 2004 Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* **27** 1047–1053
- [15] Hardoko I, Titri Siratantri T, Eveline, Yogabuana M and Olivia S 2014 An In Vitro Study of Antidiabetic Activity of *Sargassum Duplicatum* and *Turbinaria Decurens* Seaweed *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* **3** 13-18
- [16] Kumar K S, Ganesan K and Subba-Rao P V 2008 Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty-An edible seaweed *Food Chem.* **107** 289-295
- [17] Nasir M, Saeidnia S, Mashinchian-Moradi A and Gohari A R 2011 Sterols from the Red Algae, *Gracilaria salicornia* and *Hypnea flagelliformis*, from Persian Gulf. *Pharmacogn Mag* **7** 97–100
- [18] Harborne J B 1996 Phytochemical Methods: A Guide to modern Techniques For Plant Analysis. *Fakenham Press Limited, Great Britain.* 278 Pages.
- [19] Danapalan R And Thangaraju N 2013. Phytochemical Screening And Comparative Analysis of Antimicrobial Activity Of Selected Species Of Brown Seaweeds From Gulf Of Mannar, Tamil Nadu, India. *Journal Of Modern Biotechnology* **4** 1–7
- [20] Mehdinezhad N, Alireza G A and Yegdaneh A 2016 Phytochemical and biological evaluation of some *Sargassum* species from Persian Gulf. *Res. Pharm. Sci.* **11** 243–249
- [21] Ranilla L G, Kwon Y, Apostolidis E and Shetty K 2010 Phenolic Compounds, Antioxidant Activity and in vitro Inhibitory Potential Against Key Enzymes relevant for Hyperglycemia and hypertension of Commonly used medicinal plants, herbs and species in Latin America. *Bioresource Technology* **101** 4676 – 4689

- [22] Zulkifly K S, Abdullah N, Abdullah A, Aziman N and Kumarudin W 2012. Phytochemical Screening and activities of hydrophilic and lipophilic antioxidant of some fruit peels, *The Malaysian journal of Analytical Science* **16** 309-317
- [23] Boopathy N S and Kathiresan K 2010 Anticancer Drugs from Marine Flora: An Overview. *Journal of Oncology*. Article 18 pages
- [24] Tarling C A, Woods K, Zhang R, Brastianos H C, Brayer G D, Andersen R J and Withers S G 2008 The search for novel human pancreatic  $\alpha$ -amylase inhibitors: high-throughput screening of terrestrial and marine natural product extracts. *Chem. Bio. Chem.* **9** 433–438
- [25] Kim K Y, Nguyen T H, Kurihara H and Kim S M 2009 Alpha-glucosidase inhibitory activity of bromophenolpurified from the red alga *Polyopes lancifolia* *Journal Food Science* **75** 45-50
- [26] Apostolidis E, Karayannakis P D, Kwon Y I, Lee C M and Seeram N P 2011 Seasonal variation of phenolic antioxidant-mediated  $\alpha$ -glucosidase inhibition of *Ascophyllum nodosum* *Plant Foods Human Nutrition* **66** 313–319
- [27] Gosch B J, Paul N A, de Nys R and Magnusson M 2015 Seasonal and within-plant variation in fatty acid content and composition in the brown seaweed *Spatoglossum macrodontum* (Dictyotales, Phaeophyceae) *Journal Applied Phycology* **27** 387–398
- [28] Sanger G, Widjanarko, S B, Kusnadi, and Berhimpon S J 2013 Antioxidant Activity of Methanol Extract of Seaweeds Obtained from North Sulawesi. *Food Science and Quality Management* **19** 63-70
- [29] Sanger G, Rarung L K, Kaseger B E and Timbowo S 2017 Composition of pigments and antioxidant activity in edible seaweed *Halimena durvilae* obtained from north sulawesi. *International Journal of Chemical Technology Research* **10** 255-262

Dokumen pendukung luaran Tambahan #1

Luaran dijanjikan: Hak Cipta

Target: granted

Dicapai: Bersertifikat

Dokumen wajib diunggah:

1. Deskripsi dan spesifikasi ciptaan
2. Sertifikat hak cipta

Dokumen sudah diunggah:

1. Deskripsi dan spesifikasi ciptaan
2. Sertifikat hak cipta

Dokumen belum diunggah:

-

Nama Ciptaan: Asam Lemak Pentadekanoat Alga Laut (*Halymenia durvilae*) Srbagai Antioksidan Dan Proses Isolasinya.

Pemegang Hak Cipta: Grace Sanger

No Pencatatan: IDP000053431

Tgl Pencatatan: 14 Desember 2018

## Deskripsi

### ASAM LEMAK PENTADEKANOAT ALGA LAUT *Halimenia durvilae* SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN METODE EKSTRAKSINYA

5

#### Bidang Teknik

Invensi ini berhubungan dengan isolasi asam lemak pentadekanoat alga laut *Halimenia durvilae* sebagai antioksidan.

#### 10 Latar belakang

Alga laut adalah sumber yang kaya akan polisakarida, mineral, protein dan vitamin, serta mempunyai aktifitas antioksidan yang sangat bermanfaat bagi manusia sebagai makanan dan suplemen obat (Kumar et al., 2008). Alga laut mengandung  
15 *phloroglucinol* fenolik yang merupakan antioksidan yang baik, karena senyawa fenolik bersifat sebagai peredam spesies oksigen reaktif, pengkelat logam, modulator enzim dan mencegah peroksidasi lipida (Rodrigo and Bosco, 2006). Polifenol adalah senyawa pereduksi yang bersama-sama senyawa pereduksi lain  
20 seperti vitamin C, E, dan karotenoid bersifat antioksidan yang dapat melindungi jaringan tubuh melawan *oksidative stress* (Tapiero et al., 2002).

Menurut Armitage et al. (2002) bahwa senyawa biofungsional dapat diambil dari ekstraksi rempah-rempah dan herbal. Untuk  
25 mengekstrak senyawa-senyawa biofungsional yang terkandung dalam jaringan tanaman, sebaiknya digunakan pelarut yang berbeda-beda tingkat polaritasnya. Jenis pelarut, suhu dan pH dapat menentukan hasil ekstraksi, aktifitas dan stabilitas bioaktif.

Antioksidan sintetik seperti BHA (*Butylated hydroxyanisol*),  
30 BHT (*butylated hydroxy toluena*) dan TBHQ (*Tert-butyl hydroxyquinon*) yang digunakan secara komersial saat ini, telah dibatasi karena diduga bersifat karsinogenik. Oleh karena itu, bahan tambahan pangan alami lebih dianjurkan untuk digunakan sebagai alternatif (Huang and Wang, 2004).



Alga laut kaya akan asam lemak yang berfungsi menghalangi pertumbuhan penyebaran sistemik kanker payudara (Deveri *et al.*, 2001) sebagai anti inflamasi, anti thrombotik dan anti-arrhythmik respons (Kumari *et al.*, 2013 dan Gillies *et al.* 2011). Mohammed *et al.* (2004) melaporkan bahwa asam oleat memiliki pengaruh melawan komplikasi kardiovaskular dan diabetes karena tingkat glutathion (GSH), total lipid, dan triasilgliserol (TAG) dapat terkontrol. Didalam diabetes hiperlipidemik asam lemak dapat melindungi jaringan dari resiko thrombosis (Alturfan *et al.*, 2002).

Invensi tentang isolasi zat murni asam lemak pentadekanoat dari alga laut *H.durvilae* menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel 60 F<sub>254</sub> dan eluen *n*-heksana-aseton. Isolat murni asam pentadekanoat yang diperoleh, dievaluasi aktifitas antioksidan dengan menggunakan radikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydracyl*).

Invensi sebelumnya yang berkaitan dengan ekstraksi asam lemak dari alga adalah paten CN 102977993 A, US8815570 B2 dan WO 2014134411 A1. Semua invensi tersebut menggunakan alga yang telah dikeringkan. Invensi yang diajukan ini menggunakan alga tanpa pengeringan (segar). Invensi lain pada paten US 5508033a adalah ekstrak alga laut yang mempunyai aktifitas antioksidan terhadap radikal superoksida diperoleh melalui ekstraksi menggunakan senyawa polar dengan pengontrolan pH. Sedangkan asam lemak yang dihasilkan dari invensi yang diajukan ini dari algae *H. durvilae* diperoleh dengan menggunakan pelarut metanol-air tanpa pengontrolan pH. Isolasi senyawa alga laut untuk *Halimena* dari spesies yang lain yaitu *Halymenia porphyroides* diperoleh senyawa dengan rumus N-[2,3,4-trihidroksil-1-(hidroksimetil) oktadesil] siklo nonadekana pentanamida dengan komposisi C 74,19%; H 12,31%; N 2,01%; O 11,49% dengan berat molekul 696,148 (Beno *et al.*, 1990. *H. durvilae* mempunyai aktifitas hipotensif dan diuretik (Lakshmi *et al.*, 2006).

Asam lemak pentadekanoat  $\beta$ -glukosida juga telah diisolasi dari ekstrak *n*-heksana *Clerodendrum inerme* (Pandey *et.al.*, 2006). Telah ditemukan juga aktifitas antioksidan TEAC (*Trolox*

*equivalent antioxidant Capacity*) dan FRAP (*Ferric Reducing antioxidant power*) ekstrak metanol alga laut *H.durvilae* masing-masing sebesar  $1,67 \pm 0,04 \text{ mM.mg}^{-1}$  dan  $182,29 \pm 13,35 \text{ } \mu\text{mol.mg}^{-1}$  ekstrak kering (Matanjudin *et al.*, 2007). *H. durvilae* mengandung spingosin (Muranidhar *et al.*, 2003) merupakan sumber Yodium yang tinggi 0,255% dengan LD<sub>50</sub> 119,1489  $\pm 4,9873 \text{ g/kg}$  pada tikus dan telah diformulasi menjadi tablet (Lakshmi *et al.*, 2006). Oleh karena itu, hasil isolasi asam lemak pentadekanoat dari alga *H. durvilae* merupakan invensi baru yang dapat dijadikan sebagai antioksidan.

### Ringkasan

Alga laut *H.durvilae* segar diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol 70% (metanol-air). Ekstrak metanol 70% kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, kloroform dan air. Ekstrak dan fraksi yang diperoleh diukur rendemen, kadar total fenol, aktifitas antioksidan peredam radikal DPPH, daya reduksi dan pengkelat ion. Dari hasil fraksinasi ini diperoleh bahwa fraksi n-heksana mempunyai rendemen, kadar total fenol dan aktifitas pengkelat ion tertinggi

Proses isolasi dan pemurnian dilakukan dari fraksi n-heksana *H.durvilae* sebanyak 789,4 mg menggunakan kromatografi kolom. Kemurnian senyawa hasil pemisahan dengan kromatografi kolom dan keberadaan senyawa antioksidan dideteksi dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan eluen n-heksana-aseton. Deteksi noda pada kromatogram diamati di bawah lampu UV 254 dan 365 nm. Isolat murni yang diperoleh dari hasil pemurnian dengan kromatografi kolom menggunakan silika gel 60 F<sub>254</sub> dengan eluen n-heksana-aseton. Isolat murni diukur aktifitas antioksidan dan dikarakterisasi dengan menggunakan NMR (Nuclear magnetic Resonance) merk JEOL tipe ECA-500 MHz, FTIR (Fourier Transform Infra Red) merk IR Prestige-21 SHIMADZU, dan ESMS (Electrospray Mass Spectrofotometer) merk WATERS tipe UPLC.MS/MS TQD.

### Uraian Lengkap

Invensi ini dimulai dengan menyiapkan *H. Durvilae*. Alga segar ini sebanyak 18 kg dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir, kemudian diblender selanjutnya dimaserasi menggunakan metanol 70% dengan perbandingan 1:2 (b/v) selama semalam. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali dengan cara yang sama, dengan menggunakan metanol yang baru. Maseratnya ditampung, kemudian difiltrasi dengan kertas saring Whatman no.1. Filtrat dikumpulkan kemudian dievaporasi dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* (40<sup>0</sup>C) hingga didapatkan ekstrak metanol 70% alga laut. Kemudian ekstrak kental yang diperoleh dilarutkan dalam aquades setelah itu difraksinasi secara bertingkat atau berkesinambungan dalam corong pisah dengan menggunakan pelarut *n*-heksana sehingga diperoleh fraksi *n*-heksana (bagian atas) dan fraksi air (bagian bawah). Selanjutnya fraksi air difraksinasi dengan kloroform, sehingga diperoleh fraksi kloroform dan fraksi air. Fraksi-fraksi hasil fraksinasi (*n*-heksana, kloroform dan air) diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 40°C. Kemudian semua ekstrak dan fraksi alga laut dianalisis kadar total fenol, aktifitas antioksidan peredam radikal DPPH, daya reduksi dan pengkelat ion. Fraksi *n*-heksana (FH) sebanyak 789,4 mg kemudian diisolasi dengan menggunakan 4 (empat) tahap pemisahan/pemurnian dengan kromatografi kolom. Setiap tahap pemurnian dalam kromatografi kolom, sampel terlebih dahulu diimprknasi dengan cara melarutkannya dengan *n*-heksana kemudian ditambahkan silika gel secukupnya sehingga terbentuk gumpalan lembut.

Pemurnian dengan kolom kromatografi pertama dilakukan pada Fraksi *n*-heksana (FH). Fraksi *n*-heksana (FH) sebanyak 789,4 mg terlebih dahulu diimprknasi kemudian dimasukkan ke dalam kromatografi kolom berdiameter 1,8 cm yang telah diisi dengan silika gel sebanyak 1,57 g. Hasil pemisahan dalam kromatografi kolom ini dengan menggunakan eluen *n*-heksana-aseton, diperoleh 16 fraksi (FH-1 s/d FH-16), dimana massa terbanyak terdapat

pada fraksi FH-3 yaitu sebesar 458,9 mg. Fraksi ini kemudian di pisahkan menggunakan KLT, kromatogram hasil KLT kemudian disemprot dengan DPPH 0,05% dan noda yang dihasilkan berwarna kuning. Hal ini mengindikasikan bahwa fraksi ini mengandung  
5 senyawa antioksidan. Oleh karena itu, untuk pemurnian dengan kromatografi kolom ke 2 menggunakan fraksi FH-3.

Fraksi FH-3 sebanyak 458,9 mg terlebih dahulu diimprknasi kemudian dimasukkan dalam kromatografi kolom berdiameter 1,8 cm, yang telah diisi silika gel sebanyak 1,2 g. Hasil pemisahan  
10 dengan kromatografi kolom ke 2 ini, dengan menggunakan eluen n-heksana-aseton diperoleh 21 fraksi (FH-3-1 s/d FH-3-21). Fraksi ini kemudian dipisahkan menggunakan KLT. Kromatogram hasil KLT setelah disemprot dengan DPPH 0,05%, semua fraksi terbentuk noda berwarna kuning. Fraksi FH-3-1 s/d FH-3-5 menunjukkan warna  
15 kuning yang lebih kuat, berarti fraksi-fraksi ini mempunyai aktifitas antioksidan yang tinggi. Pemurnian dengan kromatografi kolom ke 3 dan 4 dilakukan pada fraksi FH-3-2 dan FH-3-3 karena massanya besar.

Fraksi fH-3-2 dengan massa 179 mg terlebih dahulu  
20 diimprknasi kemudian dimasukkan dalam kromatografi kolom berdiameter 0,5 cm yang telah diisi silika gel sebanyak 1 g, Hasil pemisahan dengan kromatografi kolom ke 3 ini menggunakan eluen n-heksana-aseton, diperoleh 21 fraksi (FH-3-2-1 s/d FH-3-2-21), selanjutnya fraksi ini dipisahkan menggunakan KLT. Noda  
25 pada kromatogram setelah diamati di bawah lampu UV 254 dan 365 nm, menunjukkan senyawa murni terdapat pada fraksi FH-3-2-5 dengan massa 5,7 mg.

Pemurnian dengan kromatografi kolom ke 4 dilakukan pada Fraksi FH-3-3. Fraksi FH-3-3 dengan massa 179,2 mg terlebih  
30 dahulu diimprknasi kemudian dimasukkan dalam kromatografi kolom berdiameter 0,5 cm yang telah diisi silika gel 736 mg. Hasil pemurnian dengan kromatografi kolom ini dengan menggunakan eluen n-heksana-aseton diperoleh 21 fraksi (FH-3-3-1 s/d FH-3-3-21). Kemudian pemisahan dengan KLT dilakukan pada fraksi yang  
35 mempunyai massa yang besar yaitu pada FH-3-3-1 s/d FH-3-3-9.

Noda pada kromatogram setelah diamati di bawah lampu UV 254 dan 365 nm, menunjukkan senyawa murni terdapat pada fraksi FH-3-3-7, FH-3-3-8 dan FH-3-3-9, dengan massa masing-masing 2,5 mg; 4,3 mg dan 11,5 mg.

5 Hasil pemurnian 4 Tahap dengan Kromatografi kolom setelah dipisahkan menggunakan KLT dan diidentifikasi berdasarkan penampakan noda dan penyemprotan larutan DPPH 0,05%, maka diperoleh bahwa fraksi yang menunjukkan terdapat senyawa murni dan mempunyai senyawa antioksidan yaitu FH-3-2-5 , FH-3-3-7, FH-  
10 3-3-8 dan FH-3-3-9. Fraksi yang dapat diidentifikasi struktur senyawa murni adalah FH-3-3-9 (isolat fraksi n-heksana), karena massanya cukup (11,5 mg) untuk dikarakterisasi struktur senyawa dengan FTIR, ESMS dan NMR dan diuji aktifitas antioksidan.

Isolat murni FH-3-3-9 berupa padatan amorf berwarna putih  
15 dilarutkan dalam kloroform, kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan NMR, FTIR, dan ESMS. Berdasarkan hasil interpretasi terhadap spektrum C-NMR, H-NMR, DEPT 135<sup>0</sup>, HMQC dan HMBC, FTIR dan ESMS menunjukkan bahwa isolat murni fraksi n-heksana *H.durvilae* (FH-3-3-9) adalah asam lemak pentadekanoat (C<sub>15</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>),  
20 dengan berat molekul m/z 242.

Isolat murni fraksi FH-3-3-9 diuji aktifitas antioksidan. Fraksi FH-3-3-9 ini kemudian dipisahkan dengan KLT menggunakan eluen n-heksana aseton. Kromatogram hasil KLT setelah disemprot dengan DPPH 0,05% dalam metanol menghasilkan noda yang berwarna  
25 kuning, hal ini mengindikasikan bahwa fraksi ini terbukti mengandung senyawa antioksidan. Hasil analisis aktifitas antioksidan peredam radikal DPPH menunjukkan bahwa isolat murni fraksi n-heksana *H.durvilae* (FH-3-3-9) memiliki aktifitas antioksidan IC<sub>50</sub> 800 ppm.

30

35

**Klaim**

1. Asam lemak pentadekanoat yang diekstrak dari alga laut *Halimena durvilae* sebagai antioksidan.
2. Asam lemak pentadekanoat seperti dalam klaim 1 diekstrak  
5 melalui tahap-tahap sebagai berikut:
  - a. mengekstraksi dengan cara maserasi menggunakan metanol 70%.
  - b. fraksinasi hasil ekstrak metanol 70% dengan menggunakan n-heksana, kloroform dan air.
  - 10 c. Fraksi n-heksana (FH) dimurnikan/diisolasi dengan menggunakan kromatografi kolom.
3. Asam lemak pentadekanoat alga *H. durvilae* dari fraksi n-heksana yang diperoleh melalui tahap-tahap yang dinyatakan dalam klaim 2 memiliki aktivitas antioksidan sebesar  $IC_{50}$   
15 800 ppm.

**Abstrak.****ASAM LEMAK PENTADEKANOAT ALGA LAUT *Halimena durvilae* SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN METODE EKSTRAKSINYA**

5

Invensi ini berkaitan dengan asam lemak pentadekanoat alga laut *Halimena durvilae* yang berfungsi sebagai antioksidan. Tahap-tahap untuk memperoleh asam lemak pentadekanoat adalah dengan metoda ekstraksi, fraksinasi, dan isolasi. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan metanol 70%. Hasil ekstrak methanol 70% alga dilakukan fraksinasi secara berkesinambungan dengan menggunakan pelarut n-heksana, kloroform dan air. Hasil fraksi n-heksana alga dimurnikan dengan menggunakan kromatografi kolom sebanyak 4 tahap dengan silika gel 60 F<sub>254</sub> dan eluent n-heksana-aseton. Untuk mendeteksi kemurnian senyawa, semua fraksi hasil pemurnian dengan kromatografi kolom dielusidasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Kromatogram hasil KLT diamati di bawah lampu UV 254 dan 365 nm. Isolat murni fraksi n-heksana yang diperoleh kemudian di karakterisasi menggunakan NMR, FTIR dan ESMS. Berdasarkan hasil interpretasi terhadap spektrum C-NMR, H-NMR, DEPT 135<sup>0</sup>, HMQC dan HMBC, FTIR dan ESMS dan pengujian aktifitas antioksidan peredam radikal DPPH disimpulkan bahwa isolat murni fraksi n-heksana *H.durvilae* adalah asam lemak pentadekanoat (C<sub>15</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>) dengan berat molekul m/z 242 dan aktifitas antioksidan isolat murni sebesar IC<sub>50</sub> 800 ppm.

25



REPUBLIK INDONESIA  
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

## SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : LPPM UNIVERSITAS SAM RATULANGI  
Kampus Unsrat, Manado 95115  
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul : ASAM LEMAK PENTADEKANOAT ALGA LAUT *Hallymenia durvillae* SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN PROSES ISOLASINYA

Inventor : Dr. Ir. Grace Sanger, M.Si.  
Prof. Dr. Ir. S.B. Widjanarko, M.App.Sc.  
Dr. Ir. Joni Kusnadi, M.Si.  
Prof. Dr. Ir. S. Berhimpon, M.App.Sc.

Tanggal Penerimaan : 09 Desember 2016

Nomor Paten : IDP000053431

Tanggal Pemberian : 14 September 2018

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA  
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.  
NIP. 196611181994031001