

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI CANGKANG
KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DAN UJI AKTIVITASNYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

NURWAHDAWIAH

H031 18 1022



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI CANGKANG
KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DAN UJI AKTIVITASNYA
SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh :

NURWAHDAWIAH

H031 18 1022



MAKASSAR

2023

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI CANGKANG KERANG HIJAU (*Perna viridis*) DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN

Disusun dan diajukan oleh

NURWAHDAWIAH

H031.18.1022

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana Program Studi
Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

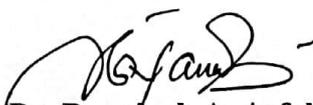
Universitas Hasanuddin

Pada 17 Januari 2023

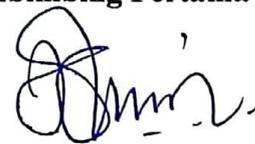
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama


Dr. Rugayah A. Arfah, M.Si
NIP. 19611231 198702 2 002

Pembimbing Pertama


Dr. Hasnah Natsir, M.Si
NIP. 19620320 198711 2 001

Ketua Program Studi


Dr. St Fauziah, M.Si
NIP.19720202 199903 2 00202

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurwahdawiah
NIM : H031 18 1022
ProgramStudi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul “Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari Cangkang Kerang Hijau (*Perna viridis*) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antioksidan” adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah hasil karya orang lain yang saya gunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 17 Januari 2023

Yang Menyatakan,



Nurwahdawiah

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya yang senantiasa dicurahkan kepada seluruh makhluk-Nya, juga sholawat serta salam atas junjungan Nabi Besar Muhammad SAW yang selalu dinantikan syafa'atnya di akhirat nanti. Alhamdulillah atas segala nikmat dan hidayah-Nya, penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari Cangkang Kerang Hijau (*Perna viridis*) dan Uji Aktivitasnya sebagai Antioksidan”** disusun sebagai salah satu persyaratan akademik untuk menyelesaikan program strata satu (S1) pada Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Banyak pihak yang telah berperan penting dalam membantu penyelesaian skripsi ini, baik secara moril, materil, maupun spiritual, maka dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua tercinta, **Saparuddin** dan **Hasnawiyah**, saudara dan keluarga yang telah mendoakan, memotivasi dan mambantu dari awal hingga penyusunan skripsi, dan kepada:

1. Ibu **Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si** selaku dosen pembimbing utama sekaligus penasihat akademik yang senantiasa memberikan bimbingan, arahan, ilmu, perhatian, dan motivasi hingga penulis mampu dan bisa berada pada tahap ini.
2. Ibu **Dr. Hasnah Natsir, M.Si** selaku dosen pembimbing pertama yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, motivasi, masukan serta pengarahan selama proses penyelesaian skripsi ini.
3. Ibu **Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phill** dan Bapak **Dr. Syahrudin Kasim, S.Si, M.Si** selaku tim penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberi saran dan masukan selama proses penyusunan skripsi ini.

4. Seluruh *Analisis Laboratorium* yang senantiasa membantu penulis selama proses penelitian mulai dari awal hingga selesai.
5. Seluruh **staf Departemen Kimia dan Fakultas MIPA** yang senantiasa membantu penulis dalam hal administrasi.
6. Sahabat-sahabat terbaik penulis, **Jejak Petualang** (Windos, Iin, Bu Aji, Cila, Ummul, dan Nada), yang selalu menemani dan memberikan dukungan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-teman seperjuangan **KIMIA 2018** yang selama ini telah berjuang sama-sama melewati masa studi dari awal perkuliahan hingga saat ini.
8. **Biochemistry Research 2018** yang selalu ada untuk satu sama lain, teman beradu nasib dan saling support dari awal penelitian hingga saat ini.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah turut mendoakan dan mendukung penulis selama proses penyelesaian skripsi ini.
10. *Last but not least, I wanna thank me. I wanna thank me for believing in me. I wanna thank me for doing all this hard work. I wanna thank me for having no days off. I wanna thank me for never quitting.*

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan masih jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang sangat membangun agar dapat bermanfaat bagi pihak lainnya.

Makassar, 06 Desember 2022

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'N' inside an oval followed by a series of overlapping, scribbled lines.

Nurwahdawiah
NIM. H031 18 1022

ABSTRAK

Kerang hijau (*Perna viridis*) merupakan hewan laut yang ada di perairan Indonesia. Selama ini, cangkang kerang hijau tidak mempunyai nilai jual dan dibuang ke pesisir pantai yang berpotensi menjadi limbah di lingkungan. Kandungan protein yang terkandung dalam cangkang kerang hijau dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kolagen. Penelitian ini bertujuan mengisolasi kolagen dengan metode kolagen larut asam, dan menentukan karakteristik struktur gugus fungsi kolagen cangkang kerang hijau menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR) serta aktivitas antioksidan kolagen menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrylhydrazyl (DPPH). Metode isolasi kolagen cangkang kerang hijau terdiri atas praperlakuan menggunakan NaOH 0,1 M dan ekstraksi menggunakan CH₃COOH 0,25 M selama 72 jam. Kolagen cangkang kerang hijau memiliki rendemen 0,03% dan pH 6,62. Hasil analisis FTIR pada wilayah serapan khusus gugus fungsi kolagen yaitu NH (3354,21 cm⁻¹), CH₂ (2924,09 cm⁻¹), C=O (1651,07 cm⁻¹), CN dan NH (1539,20 cm⁻¹), NH dan CN (1236,37 cm⁻¹). Hasil aktivitas antioksidan kolagen menunjukkan IC₅₀ yaitu 867,76 mg/L dengan aktivitas antioksidan sangat lemah.

Kata kunci : Cangkang Kerang Hijau, Kolagen, Isolasi, FTIR, Antioksidan

ABSTRACT

Green mussels (*Perna viridis*) are marine animals in Indonesian waters. So far, the shell has no selling value and is dumped on the coast which have the potential to become waste in the environment. The protein content contained in the green mussel shell can be used as a basic ingredient for making collagen. The aims of this study were to isolate collagen using the acid soluble collagen method and determine the structural characteristics of the functional group of green mussel shell collagen using Fourier Transform Infra-Red (FTIR), and the antioxidant activity of collagen using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. Green mussel shell collagen isolation method consisted of pretreatment using 0.1 M NaOH and extraction using 0.25 M CH₃COOH for 72 hours. Green mussel shell collagen have a yield of 0.03%, and pH of 6.62. The results of FTIR analysis on the special absorption region of collagen functional groups are NH (3354.21 cm⁻¹), CH₂ (2924.09 cm⁻¹), C=O (1651.07 cm⁻¹), CN dan NH (1539.20 cm⁻¹), NH dan CN (1236.37 cm⁻¹). The antioxidant activity of collagen showed IC₅₀ of 867.76 mg/L with very weak antioxidant effectiveness.

Keywords: Green Mussel Shell, Collagen, Isolation, FTIR, Antioxidants

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kolagen	6
2.1.1 Struktur Kolagen.....	7
2.1.2 Manfaat Kolagen.....	11
2.1.3 Ekstraksi Kolagen	12
2.2 Kerang Hijau	15
2.2.1 Klasifikasi Kerang Hijau	16
	ix

2.2.2 Anatomi dan Morfologi Kerang Hijau.....	17
2.2.3 Habitat Hidup Kerang Hijau	18
2.3 Antioksidan	19
2.3.1 Pengertian Antioksidan.....	19
2.3.2 Penggolongan Antioksidan	19
2.3.3 Manfaat Antioksidan.....	20
2.3.4 Uji Aktivitas Antioksidan Kolagen dengan Metode DPPH	21
BAB III METODE PENELITIAN.....	23
3.1 Bahan Penelitian	23
3.2 Alat Penelitian	23
3.3 Waktu dan Tempat.....	23
3.3.1 Waktu dan Tempat Pengambilan Sampel	23
3.3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.4 Prosedur Penelitian	24
3.4.1 Pembuatan Pereaksi	24
3.4.1.1 Pembuatan Larutan Induk NaOH 0,1 M	24
3.4.1.2 Pembuatan Larutan Induk CH ₃ COOH 5 M	24
3.4.1.3 Pembuatan Deret Standar CH ₃ COOH.....	24
3.4.1.4 Pembuatan Larutan Lowry A	24
3.4.1.5 Pembuatan Larutan Lowry B	25
3.4.2 Preparasi Sampel	25
3.4.3 <i>Pretreatment</i> Kolagen.....	25
3.4.4 Analisis Protein Terlarut (Lowry).....	25
3.4.5 Demineralisasi Kolagen.....	26
3.4.6 Optimasi Ekstraksi Kolagen	26
3.4.7 Penentuan Derajat Pengembangan.....	27

3.4.8	Produksi Kolagen pada Kondisi Optimum	27
3.4.9	Penentuan Rendemen Kolagen Cangkang Kerang Hijau	28
3.4.10	Karakterisasi Kolagen Cangkang Kerang Hijau	28
3.4.10.1	Penentuan Derajat Asam (pH)	28
3.4.10.2	Analisis Gugus Fungsi dengan FTIR	29
3.4.11	Aktivitas Antioksidan	29
3.4.11.1	Pembuatan Larutan DPPH	29
3.4.11.2	Pembuatan Larutan Asam Askorbat.....	29
3.4.11.3	Pembuatan Larutan Induk Sampel	29
3.4.11.4	Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	30
3.4.11.5	Penentuan Aktivitas Antioksidan Kolagen	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		32
4.1	<i>Pretreatment</i> Kolagen	32
4.2	Demineralisasi Kolagen	33
4.3	Optimasi Ekstraksi Kolagen.....	34
4.4	Rendemen Kolagen Cangkang Kerang Hijau	38
4.5	Karakterisasi Kolagen dari Cangkang Kerang Hijau	39
4.5.1	Derajat Keasaman (pH) Kolagen	39
4.5.2	Gugus Fungsi Kolagen.....	40
4.6	Aktivitas Antioksidan Kolagen.....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		48
5.1	Kesimpulan	48
4.1	Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA		49
LAMPIRAN		58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pemanfaatan Kolagen	11
2. Pemanfaatan Kolagen dalam Berbagai Bidang.....	12
3. Standar Mutu Kolagen	15
4. Kekuatan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC ₅₀	22
5. Optimasi Ekstraksi Kolagen	27
6. Hasil Demineralisasi Cangkang Kerang Hijau	34
7. Rendemen Kolagen.....	38
8. Karakteristik Gugus Fungsi Kolagen	41
9. Data Aktivitas Antioksidan Kolagen Cangkang Kerang Hijau.....	45
10. IC ₅₀ Kolagen Cangkang Kerang Hijau.....	46
11. Data Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur <i>Triple Helix</i> Kolagen	7
2. Ikatan Hidrogen Intramolekul pada Struktur <i>Triple Helix</i> Kolagen ..	8
3. Susunan Molekul Tropokolagen	9
4. Kerang Hijau (<i>Perna viridis</i>)	16
5. Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan	21
6. Reaksi NaOH dengan Protein	32
7. Reaksi Na ₂ EDTA dengan Kalsium	34
8. Diagram Derajat Pengembangan (DP) Cangkang Kerang Hijau	35
9. Reaksi AgNO ₃ dengan NaCl	37
10. Kolagen Cangkang Kerang Hijau	39
11. Spektrum Inframerah Kolagen	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Penelitian	58
2. Bagan Kerja.....	59
3. Peta Tempat Pengambilan Sampel Kerang Hijau	62
4. Perhitungan Pembuatan Larutan	63
5. Perhitungan Rendemen Kolagen.....	66
6. Perhitungan Derajat Pengembangan (DP)	67
7. Data Uji Lowry Larutan NaOH Hasil Perendaman	68
8. Perhitungan Kadar Mineral Cangkang Kerang Hijau	69
9. Spektrum Inframerah Kolagen Cangkang Kerang Hijau	70
10. Perhitungan Pembuatan Deret Standar Antioksidan	71
11. Data Aktivitas Antioksidan Kolagen	73
12. Dokumentasi Kegiatan	77

DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Arti
ABTS	2,2-Azinobis-3-Ethylbenzothiazoline-6 Sulfonic Acid
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
BM	Berat Molekul
BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy
CKH	Cangkang Kerang Hijau
Da	Dalton
DP	Derajat Pengembangan
DPPH	1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl
FMD	Foot and Mouth Disease
FTIR	Fourier Transform Infra Red
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
IC ₅₀	Inhibitor Concentration
KKP	Kementerian Kelautan dan Perikanan
OT	Operating Time
pH	Power of Hydrogen
SNI	Standar Nasional Indonesia
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography
UV-A	Ultraviolet A
UV-B	Ultraviolet B
UV- Vis	Ultraviolet Visibel

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara kepulauan terbesar di dunia dengan luas laut dan jumlah pulau yang besar. Jumlah pulau di Indonesia kurang lebih 17.504 pulau dan luas total wilayah perairan Indonesia adalah 6,4 juta km² dengan garis pantai 108 ribu km (Kementerian Kelautan dan Perikanan Indonesia, 2020). Kondisi tersebut menjadikan Indonesia kaya akan sumber daya perairan, salah satunya adalah kerang. Terdapat ribuan spesies kerang yang ada di perairan Indonesia, dimana diantara ribuan spesies kerang tersebut terdapat beberapa spesies yang mempunyai nilai ekonomis yang tinggi yaitu kerang hijau, kerang mutiara, kerang darah, kerang simping, dan tiram (Nazir, 2020). Menurut WWF Indonesia (2019), total produksi kerang hijau di Indonesia dari tahun 2016-2018 berturut-turut adalah 16.348 ton, 18.896 ton dan 15.623 ton.

Kerang hijau (*Perna viridis*) adalah jenis kerang yang tersebar luas di perairan Indonesia dan ditemukan melimpah pada perairan pesisir, muara sungai dan daerah mangrove (Cappenberg, 2008). Komposisi gizi kerang hijau meliputi kandungan air (40%), protein (21,9%), karbohidrat (18,5%), lemak (14,5%), dan abu (4,3%) (Affandi, 2002). Kelimpahan kerang hijau yang dihasilkan harus diimbangi dengan adanya pengolahan dan pemanfaatan sumber daya kerang hijau tersebut. Bagian kerang hijau yang dapat dimanfaatkan adalah daging untuk kebutuhan konsumsi, namun cangkang yang tersisa jarang dimanfaatkan dan berpotensi menjadi limbah di lingkungan. Menurut Ariyanti dkk. (2018), hanya

20% dari limbah cangkang kerang diproduksi sebagai pakan, kerajinan dan produk lain. Salah satu upaya untuk memanfaatkan limbah cangkang kerang hijau adalah dengan mengolah limbah cangkang tersebut untuk dijadikan sebagai bahan baku dalam pembuatan kolagen.

Kolagen adalah salah satu komponen struktural utama jaringan ikat putih (*white connective tissue*) yang meliputi hampir 30% total protein pada organ tubuh *vertebrata* dan *invertebrata* (Setiawati, 2009). Kolagen berperan penting dalam tubuh manusia sebagai struktur organik pembangun tulang, gigi, sendi, otot, dan kulit (Draeos dan Thaman, 2006). Kolagen mempunyai karakteristik fisikokimia yang baik yaitu bersifat biokompatibel, *biodegradable*, antigenisitas yang rendah, dan nontoksik sehingga material tersebut dapat digunakan dengan mudah (Venkatesan dkk., 2017). Selain itu, kolagen mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat mencegah terjadinya penuaan, hipertensi, inflamasi, dan kanker sehingga kolagen banyak digunakan sebagai bahan additif pada kosmetik, makanan, biomedis maupun farmasi (Chi dkk., 2014).

Antioksidan merupakan sifat dari senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif, sehingga dapat menghambat kerusakan sel dalam tubuh (Sarma dkk., 2010). Aktivitas antioksidan pada kolagen dari biota laut dan hewan ternak dapat diuji dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Ardhani dkk., 2019). Pengukuran aktivitas antioksidan kolagen menggunakan DPPH telah dilakukan oleh Zakaria (2021) dengan menggunakan kolagen dari tulang ikan lele (*Clarias gariepinus*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} kolagen yang dihasilkan adalah sebesar 101,58 mg/L dengan kategori antioksidan sedang. Menurut Stephanie dkk. (2016), dalam tubuh manusia, kadar kolagen

dalam kulit akan semakin berkurang seiring dengan bertambahnya usia, terutama oleh paparan cahaya UV-A dan UV-B dari radiasi sinar matahari, sehingga penambahan kolagen diperlukan dari kolagen komersial.

Kolagen komersial sebagian besar berasal dari kulit dan tulang sapi, babi dan unggas yang menimbulkan beberapa isu penggunaan yang kurang tepat, seperti timbulnya beberapa penyakit akibat kontaminasi biologis, seperti *bovine spongiform encephalopathy* (BSE), *foot and mouth disease* (FMD) dan cacing pita (Liu dkk., 2015). Oleh karena itu, sumber alternatif bahan baku lainnya diperlukan sebagai penghasil kolagen yang aman dan halal. Kolagen yang berasal dari hewan yang hidup di air dapat menjadi sumber alternatif yang menjanjikan, salah satunya adalah cangkang kerang hijau yang belum banyak dimanfaatkan (Setyowati dan Setyani, 2015). Cangkang kerang hijau tersusun atas protein, mineral dan kitin. Kandungan pada tepung cangkang kerang hijau terdiri atas kitin (43,88%), kalsium (33,56%), protein (4,14%), lemak (3,55%), dan fosfor (0,12%) (Sumandari, 2012). Kandungan protein yang terkandung pada tepung cangkang kerang hijau dapat menjadi acuan sebagai bahan dasar pembuatan kolagen.

Kolagen dapat diperoleh dari cangkang kerang melalui proses ekstraksi dengan metode asam. Ekstraksi protein penyusun kolagen yang diperoleh dengan metode asam jauh lebih tinggi dari pada metode alkali atau metode enzim (pepsin). Hidrolisis dengan metode asam terjadi lebih cepat, karna tingkat degradasi molekul kolagen sangat tinggi (Yang dan Shu, 2014). Pada proses ekstraksi kolagen dengan menggunakan konsentrasi asam asetat dan lama waktu perendaman yang bervariasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ekstraksi protein kolagen.

Penelitian terkait isolasi kolagen dari cangkang kerang telah dilakukan oleh Ariyanti dkk. (2018) dengan menggunakan asam asetat 0,25 M selama 72 jam perendaman. Rendemen kolagen yang diperoleh dari cangkang kerang darah adalah sebesar 0,22% dan cangkang kerang hijau sebesar 1,12%. Selain itu, Pasaribu dkk. (2021b) pada penelitiannya mengisolasi kolagen dari cangkang kijing sungai dengan menggunakan NaOH 0,1 M pada proses *pretreatment* dan ekstraksi dengan asam asetat 0,50 M selama 48 jam yang memberikan rendemen sebesar 18,76%.

Berdasarkan latar belakang, untuk mengoptimalkan pemanfaatan limbah dari cangkang kerang hijau maka penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi kolagen dari cangkang kerang hijau dan menguji aktivitas antioksidannya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah adalah sebagai berikut:

1. bagaimana kondisi optimum proses ekstraksi kolagen dari cangkang kerang hijau?
2. berapa rendemen kolagen yang diperoleh dari proses ekstraksi kolagen cangkang kerang hijau pada kondisi optimum?
3. bagaimana karakteristik fisikokimia kolagen dari cangkang kerang hijau?
4. bagaimana aktivitas antioksidan kolagen dari cangkang kerang hijau?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud penelitian ini adalah untuk menentukan karakteristik fisikokimia kolagen yang diekstrak dari cangkang kerang hijau dan uji aktivitasnya sebagai antioksidan.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. menentukan kondisi optimum (konsentrasi asam asetat dan waktu perendaman) pada proses ekstraksi kolagen dari cangkang kerang hijau,
2. menentukan rendemen kolagen yang terdapat pada cangkang kerang hijau pada kondisi optimum,
3. mengkarakterisasi fisikokimia kolagen dari cangkang kerang hijau,
4. menganalisis aktivitas antioksidan kolagen dari cangkang kerang hijau.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. sebagai upaya untuk memanfaatkan limbah cangkang kerang hijau
2. memberikan informasi mengenai karakteristik fisikokimia kolagen dari cangkang kerang hijau.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

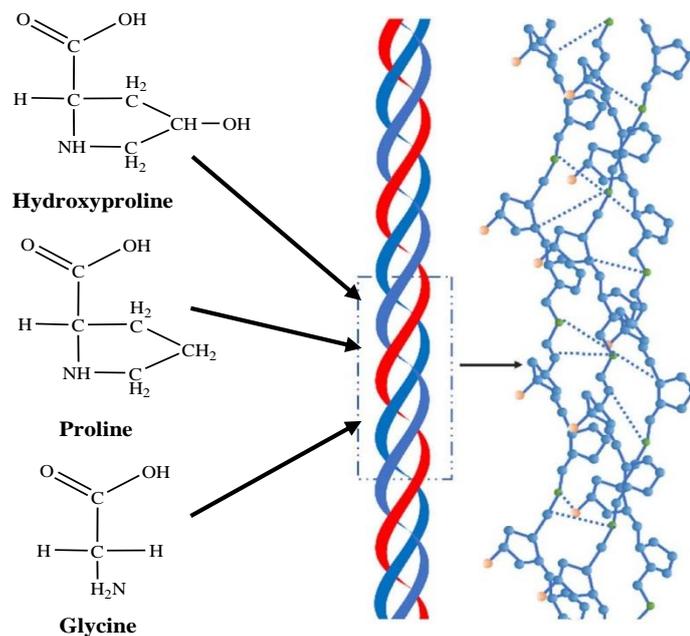
2.1 Kolagen

Kolagen berasal dari bahasa Yunani yaitu “*cola*” yang berarti lem (*glue*) dan “*genno*” yang berarti kelahiran (*birth*). Hal ini disebabkan karena karakteristik kolagen yang melekatkan sel untuk membentuk kerangka jaringan organ tubuh. Molekul kolagen berdiameter 1,5 nm dengan panjang 280 nm dan berat molekulnya 290.000 Da yang mengandung tiga rantai polipeptida dengan lebih dari 1000 asam amino di masing-masing rantainya. Kolagen adalah protein serabut yang memberikan kekuatan dan fleksibilitas pada jaringan dan tulang serta memegang peranan penting bagi jaringan lainnya, termasuk kulit dan tendon (Asyiraf, 2011). Kolagen merupakan protein *fibrilar*, terdiri atas tiga rantai polipeptida (*triple helix*) sebagai komponen utama penyusun kulit dan tulang yang mewakili sekitar 25% dari total berat kering mamalia (Ogawa dkk., 2004).

Sumber kolagen komersial umumnya berasal dari jaringan kulit dan tulang sapi ataupun babi yang perlu diwaspadai keamanan dan kehalalannya, sehingga diperlukan alternatif sumber kolagen yang aman dan halal (Alhana dkk., 2015). Salah satu biota perairan yang berpotensi sebagai sumber kolagen adalah kerang. Cangkang kerang yang merupakan hasil samping dari berbagai perusahaan industri budidaya dan pengolahan kerang dianggap sebagai limbah, sehingga pemanfaatan cangkang kerang sebagai alternatif sumber kolagen tidak hanya dapat mengurangi jumlah limbah industri pengolahan, tetapi sekaligus juga meningkatkan nilai tambah limbah tersebut. Ariyanti dkk. (2019) menyatakan bahwa lebih dari 71% protein kulit *vertebrata* dan *invertebrata* adalah kolagen.

2.1.1 Struktur Kolagen

Kolagen memiliki susunan *triple helix* dari tiga rantai α polipeptida, dimana setiap α tersusun atas 1014 asam amino dengan berat molekul berkisar sekitar 100 kDa (Sorushanova dkk., 2019). Struktur *triple helix* kolagen berasal dari tiga asam amino utama, yakni glisin, prolin dan hidroksiprolin (Muyonga dkk., 2004). Kolagen membentuk kekuatan tarik yang besar dan stabil, berkontribusi pada stabilitas dan integritas struktural jaringan dan organ (Hashim dkk., 2015). Asam amino dominan yang membentuk struktur kolagen dan merupakan ciri-ciri semua famili kolagen adalah pengulangan dari sekuen asam amino X-Gly-Y (X adalah prolin, Gly adalah glisin dan Y adalah hidroksiprolin) seperti yang terlihat pada Gambar 1 (Chuaychan dkk., 2015).

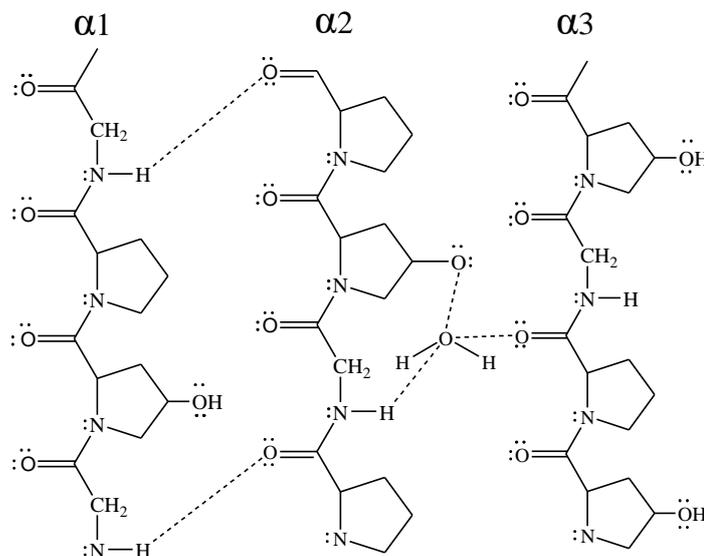


Gambar 1. Struktur *Triple Helix* Kolagen (Chuaychan dkk., 2015)

Kolagen merupakan protein penting dalam memelihara elastisitas kulit karena mampu mengikat air. Kolagen seperti protein pada umumnya, memiliki struktur yang terdiri atas karbon, hidrogen, gugus hidroksil (OH), gugus karbonil

(C=O), gugus C≡N, dan gugus amina (N-H). Gugus amina pada kolagen terdiri atas pita amida A, amida B, amida I, amida II, serta amida III (Harris dkk., 2016).

Serat kolagen terdiri atas subunit polipeptida yang disebut tropokolagen, yaitu terdiri atas tiga rantai polipeptida yang membentuk pilinan erat *triple helix*. *Triple helix* juga disebut tropokolagen yang merupakan satuan struktural dasar dari kolagen. Tropokolagen ini berbentuk batang dengan diameter 15 Å dan panjang 3000 Å. Pada heliks tropokolagen, ketiga benang terikat hidrogen satu dengan yang lain melalui perantara gugus peptida -NH dari residu glisin dan gugus peptida -C=O pada rantai yang lain (Katili, 2009). Ikatan hidrogen (Gambar 2) akan terbentuk sepanjang rantai tropokolagen karena urutan asam amino (Gly-Pro-Hyp) akan berulang lagi secara bergantian (Octavian, 2015).

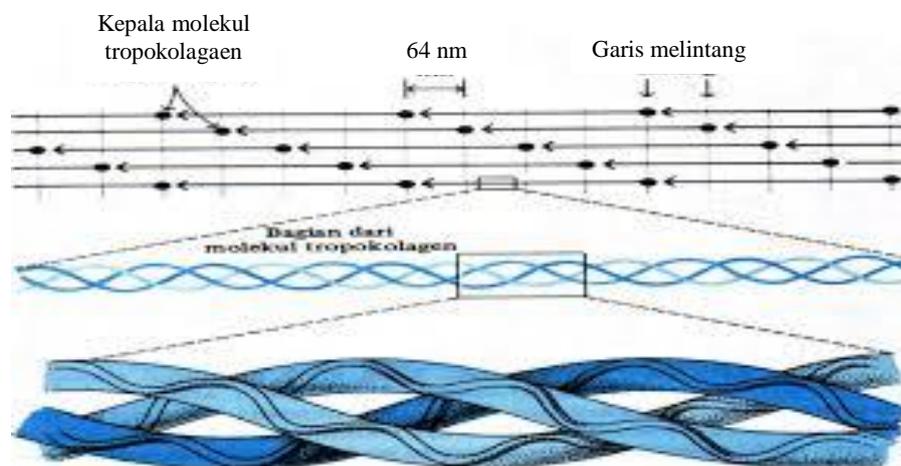


Gambar 2. Ikatan Hidrogen Intramolekul pada Struktur *Triple Helix* Kolagen (Zhang dkk., 2020)

Satuan tropokolagen terangkai secara kovalen yang membentuk suatu ikatan atau berkas yang disebut mikrofibril. Kolagen fibril dapat terbentuk pada ikatan paralel, dalam pembentukan urat atau dalam lembaran-lembaran seperti ikatan pembentukan kertas dan pembentukan kulit. Tiap tropokolagen memanjang

sampai empat garis melintang dengan selang 64 nm. Pada bagian bawah diagram skema fibril terlihat gambaran bagian molekul tropokolagen, yang menunjukkan kerangka tropokolagen *triple helix*. Setiap rantai dari ketiga peptida tropokolagen merupakan satuan heliks, dimana sudut dan ruang antaranya ditentukan oleh gugus R yang kaku dari sejumlah residu prolin dan hidroksiprolin (Katili, 2009). *Triple helix* tersebut dihubungkan oleh ikatan hidrogen dan sejenis ikatan kovalen silang (jembatan) yang tidak umum, hanya dapat dijumpai pada kolagen. Jembatan ini dibentuk di antara residu lisin pada kedua rantai. Tropokolagen *triple helix* yang berdekatan juga saling berikatan silang. Protein ini tidak dapat meregang karena lekatnya lilitan *triple helix* tropokolagen dan ikatan silangnya (Katili, 2009).

Tropokolagen akan terdenaturasi dengan zat seperti asam, basa, urea, dan kalium permanganat. Kolagen akan mengalami penyusutan menjadi lebih pendek sepertiga atau seperempat dari panjang asalnya ketika dipanaskan di atas suhu penyusutannya yaitu 45°C. Struktur kolagen juga akan rusak pada suhu 60°C dan berubah menjadi lilitan acak yang larut dalam air yang disebut gelatin pada suhu 80°C (Miskah dkk., 2010). Susunan molekul tropokolagen pada fibril kolagen terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Susunan Molekul Tropokolagen pada Fibril Kolagen (Lehninger, 1982)

Protein kolagen terdiri atas 18 jenis asam amino dan tujuh di antaranya merupakan asam amino esensial (Kumar dkk., 2011). Kadar asam amino pada kolagen akan mempengaruhi stabilitas termal dan kadar asam amino yang tinggi pada pembentukan kolagen akan memiliki kestabilan suhu yang tinggi (Jamilah dkk., 2013). Fawzya dkk. (2016) menyatakan bahwa penyebab perbedaan kadar asam amino pada bahan baku yang sama yaitu metode isolasi, bahan isolasi dan metode penentuan asam amino.

Terdapat berbagai jenis kolagen, bergantung pada struktur dan fungsinya. Jenis-jenis tersebut di antaranya kolagen tipe I, II, III, V, XI yang membentuk fibril (*fibrillar collagen*) (Ramdhani, 2016). Kolagen yang paling banyak dikenal adalah kolagen tipe I yang terdiri atas tiga rantai α polipeptida dan paling banyak terdapat pada bagian tubuh yang lunak seperti kulit dan tendon maupun bagian tubuh yang keras seperti tulang dan gigi serta jaringan penghubung (Cardoso dkk., 2014). Kolagen tipe I banyak ditemukan pada lapisan dermis dan tendon, kolagen tipe II dominan pada kartilago, sedangkan kolagen tipe III ditemukan pada dermis ketika usia muda dan konsentrasinya menurun seiring dengan bertambahnya usia (Hsiao dkk., 2004). Jenis kolagen yang lain adalah *fibril-associated collagen*, yaitu kolagen yang ada di permukaan kolagen fibril, dimana yang termasuk jenis ini adalah kolagen tipe IX dan XII yang ditemukan di kartilago (Ramdhani, 2016).

Jenis kolagen lain adalah *network-forming collagen* yaitu kolagen yang membentuk jaringan dengan molekul lain di lamina basalis. Kolagen yang tergolong jenis ini yaitu kolagen tipe IV dan VII. Jenis yang lain yaitu *transmembrane collagen*, artinya kolagen yang menghubungkan sel, yang termasuk *transmembrane collagen* adalah kolagen tipe XVII yang membentuk hemidesmosom. Jenis kolagen yang terakhir adalah *core protein of proteoglycan*

yaitu kolagen tipe XVIII yang dapat ditemukan di lamina basalis. Saat ini, berdasarkan “*Human Genom Project*”, ada 27 tipe kolagen dan 42 tipe rantai α yang telah teridentifikasi pada tubuh manusia (Ramdhani, 2016).

2.1.2 Manfaat Kolagen

Menurut Ramdhani (2016), pemanfaatan kolagen mengalami kemajuan yang cukup pesat dalam berbagai bidang industri. Bentuk kolagen yang berbeda mempunyai bidang pemanfaatan yang berbeda pula seperti yang terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pemanfaatan Kolagen (Simanjuntak, 2013)

Bentuk Kolagen	Produk atau Bidang Pemanfaatan
Kulit-alami Kulit-sintetis	Produk kulit
Gelatin	Lem, pangan, fotografi, farmasetika, obat-obatan, dan plastik
Produk kolagen murni a. Larutan/Gel b. Serat c. Membran	Bidang medis
Hidrolisat parsial	Bidang gizi, <i>reducing diets</i> , suplemen pangan, selongsong (<i>casings</i>)
Hidrolisat parsial (terlarut ataupun <i>native</i>)	Kosmetik, krim kulit, hair spray, cat kuku, dan sabun

Pemanfaatan kolagen cukup luas, baik dalam bidang industri makanan, kosmetik, biomedis, dan industri farmasi karena memiliki sifat *biodegradable*, *biocompatible* dan antigenitas rendah (Liu dkk., 2009). Aplikasi kolagen dalam berbagai bidang industri dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pemanfaatan Kolagen dalam Berbagai Bidang

Sumber Kolagen	Bidang dan Pemanfaatan	Pustaka
Kulit, tulang dan sirip ikan	Industri makanan: sebagai pelembut makanan	Arvanitoyannis dan Kassaveti, 2008
Kulit, tulang, tendon, dan tulang rawan ikan	Bidang kosmetik: a. mengurangi keriput pada wajah b. menggantikan jaringan kulit yang telah rusak Bidang biomedis: sebagai <i>sponges</i> untuk luka bakar, benang bedah, agen hemostatik, penggantian atau substitusi pada pembuluh darah, dan katup jantung tiruan	Guillen dkk., 2011
Kulit, tulang sapi dan babi	Bidang farmasi: a. sebagai <i>drug carrier</i> , yaitu <i>mini-pellet</i> dan tablet untuk penghantaran protein b. formulasi gel pada kombinasi dengan liposom untuk sistem penghantaran terkontrol c. bahan pengontrol untuk penghantaran transdermal d. nanopartikel untuk penghantaran gen	Silvipriya dkk., 2015

2.1.3 Ekstraksi Kolagen

Metode ekstraksi kolagen pada umumnya didasarkan pada sifat kelarutan kolagen dalam larutan garam netral, asam, maupun asam yang ditambah dengan enzim. Sebelum ekstraksi, proses *pretreatment* atau praperlakuan dilakukan terlebih dahulu untuk menghilangkan pengotor, lemak dan protein nonkolagen. *Pretreatment* dapat dilakukan dengan menggunakan alkohol, larutan asam atau basa encer (Nazeer dkk., 2014). Proses ekstraksi adalah proses untuk menentukan

karakteristik fisik kolagen yang didapatkan. Proses ekstraksi dipengaruhi oleh waktu, karena waktu sangat menentukan perpindahan molekul zat selama proses difusi (Setyowati dan Setyani, 2015). Menurut Nurhayati dan Rosmawaty (2009), suhu ekstraksi juga berpengaruh terhadap rendemen kolagen yang dihasilkan. Serabut kolagen dapat mengalami penyusutan jika dipanaskan di atas suhu 60-70°C. Proses penyusutan kolagen menyebabkan struktur kolagen pecah menjadi gelatin yang larut dalam air.

Astiana dkk. (2016), menyatakan bahwa asam asetat banyak dipilih sebagai pelarut ekstraksi kolagen karena kemampuan mengekstraknya lebih baik dibanding pelarut yang lain. Jumlah kolagen yang terekstrak menggunakan pelarut asam asetat lebih tinggi dibandingkan asam sitrat dan asam klorida, karena asam asetat mampu melarutkan kolagen yang tidak berikatan silang (Kasim, 2013). Konsentrasi larutan asam asetat yang lebih tinggi dapat menyebabkan penurunan kadar protein, karena asam asetat akan menghidrolisis peptida lebih kuat sehingga akan terjadi kehilangan protein (Tridhar, 2016). Perbedaan jenis kulit, konsentrasi asam, pH, dan jumlah kolagen yang terbuang selama proses *pretreatment* dan pencucian dapat menyebabkan perbedaan persentase rendemen yang dihasilkan (Ratnasari dkk., 2013). Rendahnya nilai rendemen terjadi akibat proses *leaching* kolagen selama proses pencucian atau denaturasi selama proses ekstraksi (Jamilah dan Havinder, 2002).

Menurut Komala (2015), *pretreatment* dalam mengisolasi kolagen sangat berpengaruh terhadap kualitas kolagen yang dihasilkan. Penggunaan larutan basa untuk *pretreatment* lebih efektif dalam proses ekstraksi protein nonkolagen dan hanya menyebabkan tingkat kehilangan kolagen yang rendah jika dibandingkan dengan penggunaan larutan asam. Larutan alkali yang dapat digunakan untuk menghilangkan protein nonkolagen yaitu NaOH dan

Ca(OH)₂ (Zhou dan Regenstein, 2005). Ariyanti dkk. (2019) menyatakan bahwa proses ekstraksi senyawa nonkolagen terjadi akibat terputusnya sebagian ikatan antar serat pada struktur kolagen dalam kondisi basa. Mayasari (2016) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa kemampuan pengembangan kulit ikan tuna untuk menghasilkan rendemen kolagen tertinggi dicapai dengan perendaman NaOH 0,05 M dan CH₃COOH 1 M.

Hasil interaksi antar konsentrasi NaOH dan waktu perendaman berpengaruh signifikan ($p < 0,05$), terhadap kadar protein terlarut. Konsentrasi NaOH yang tinggi dengan waktu perendaman yang lama dapat mengakibatkan jumlah protein terlarut semakin meningkat, sehingga diduga bukan hanya protein nonkolagen yang terlarut tetapi juga protein kolagen (Gadi dkk., 2017). Wulandary dkk. (2015) pada penelitiannya menyimpulkan bahwa, proses *pretreatment* NaOH dengan konsentrasi 0,05 M selama 6 jam memberikan pengaruh nyata terhadap eliminasi protein nonkolagen ($p < 0,05$), sedangkan untuk asam asetat terbaik dengan konsentrasi 0,1 M selama 2 jam berpengaruh signifikan terhadap derajat pengembangan dan tingkat kelarutan kolagen dari kulit ikan gabus. Pelarut NaOH digunakan dalam proses *pretreatment* ekstraksi kolagen karena kemampuannya untuk meminimalkan kehilangan kolagen serta secara signifikan dapat menyebabkan pembengkakan pada kulit apabila dibandingkan dengan larutan alkali lainnya (Liu dkk., 2015). Pada saat perendaman dalam NaOH terjadi sedikit pembengkakan protein nonkolagen yang terjebak dalam matriks kolagen sehingga lebih mudah dilepaskan (Jaswir dkk., 2011).

Proses hidrolisis kolagen dengan perendaman dalam larutan asam membutuhkan waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan perendaman dalam larutan basa. Hal ini disebabkan karena asam mampu mengubah serat kolagen *triple helix* menjadi rantai tunggal, sedangkan larutan perendam basa hanya mampu

menghasilkan rantai ganda. Tahapan perendaman harus dilakukan dengan tepat (konsentrasi dan waktu), agar tidak terjadi kelarutan kolagen dalam larutan dan menyebabkan penurunan rendemen yang dihasilkan (Minah dkk., 2016).

Ariyanti dkk. (2018) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa, proses ekstraksi cangkang kerang darah dan cangkang kerang hijau yang menggunakan konsentrasi asam asetat 0,75 M menghasilkan persentase kolagen tertinggi, yang berarti semakin tinggi konsentrasi asam asetat yang digunakan maka semakin banyak kolagen yang dihasilkan. Proses ekstraksi pada sampel cangkang kijing sungai dengan konsentrasi asam asetat 0,50 M menghasilkan persentase rendemen yang paling besar yaitu 18,76% dan untuk sampel cangkang kijing kolam diperoleh rendemen tertinggi sebanyak 18,73% pada konsentrasi asam asetat 0,75 M (Pasaribu dkk., 2021a). Mutu kolagen yang diproduksi dapat ditentukan melalui sifat fisika dan kimianya, yaitu karakteristik bau, warna, rasa, kadar protein, kadar air, kadar abu, dan sebagainya. Beberapa parameter standar mutu kolagen berdasarkan SNI 8076:2014 dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Standar Mutu Kolagen (SNI 8076:2014)

Karakteristik	Syarat
Warna	Tidak berwarna sampai kekuningan
Kadar air	Maksimum 12%
Kadar abu	Maksimum 1%
Kadar protein	>75%
pH	6,5-8

2.2 Kerang Hijau

Kerang hijau (*Perna viridis*) atau *green mussels* merupakan jenis spesies spesifik di benua Asia yang tersebar luas di perairan Indonesia dan ditemukan

melimpah pada perairan pesisir serta memiliki nilai ekonomis tinggi (Cappenberg, 2008). Kerang hijau memiliki sebaran yang luas yaitu mulai dari laut India bagian barat hingga Pasifik barat, dari Teluk Persia hingga Filipina, laut China bagian utara dan timur, Taiwan hingga Indonesia (Carpenter dan Niem, 1998). Kerang hijau dikenal dengan beberapa nama, yaitu *serindit* (Jakarta), *kedaung* (Banten), *kemudi kapal* (Riau), *siput sudu* (Malaysia), *tohong* (Filipina), *hoimong poo* (Thailand), dan disebut *tam cay* atau *chay luan* di Singapura (Kastoro, 2002).

2.2.1 Klasifikasi Kerang Hijau

Menurut Fernanda (2012), klasifikasi kerang hijau (*Perna viridis*) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Moluska
Kelas : Bivalvia
Ordo : Mytilidae
Famili : Mytilidae
Genus : *Perna*
Species : *Perna viridis*



Gambar 4. Kerang Hijau (*Perna viridis*) (Ariyanti dkk., 2018)

Kerang hijau (*Perna viridis*) mempunyai potensi yang besar untuk dimanfaatkan karena populasinya cukup besar di perairan Indonesia dan memiliki nilai ekonomis tinggi serta kandungan gizi yang sangat baik untuk dikonsumsi. Kandungan gizi yang dikandung kerang hijau terdiri atas air (40%), protein (21,9%), lemak (14,5%), karbohidrat (18,5%), dan abu (4,3%), sehingga menjadikan kerang hijau sebanding dengan daging sapi, telur maupun daging ayam, dari 100 g daging kerang hijau mengandung 100 kal (Affandi, 2002). Menurut Sumandari (2012), cangkang kerang hijau tersusun atas protein, mineral dan kitin. Kandungan pada tepung cangkang kerang hijau terdiri atas kitin (43,88%), kalsium (33,56%), protein (4,14%), lemak (3,55%), dan fosfor (0,12%). Lapisan dalam cangkang tersusun atas kalsit yang berwarna putih keperakan.

2.2.2 Anatomi dan Morfologi Kerang Hijau

Kerang hijau (*Perna viridis*) merupakan organisme biota yang tergolong binatang lunak (*mollusca*), bercangkang dua (*bivalvia*), berkaki lapak (*palecypoda*), insang berlapis (*lamellibrachiata*), dan hidup di laut (Askin, 2002). Kerang hijau mempunyai cangkang yang simetris dan berwarna hijau kecoklatan (Kastawi dkk., 2003). Kerang hijau memiliki bentuk yang agak pipih dengan cangkang padat yang memanjang dan memiliki umbo (puncak cangkang) yang mengarah tepi sentral (Sari dkk., 2014). Tubuh kerang hijau terbagi menjadi tiga bagian, yaitu kaki, mantel dan organ dalam, dimana pada kedua bagian mantel dihubungkan oleh engsel sehingga mantel tersebut dapat terbuka dan tertutup. Mantel (cangkang) adalah bagian tipis yang berfungsi melindungi organ dalam kerang. Pada bagian belakang mantel terdapat dua lubang yang disebut sifon, berfungsi

untuk tempat keluar masuknya air. Kaki kerang berupa bagian pipih yang terdapat dalam cangkang dan akan menjulur keluar saat kerang akan berjalan. Pada organ dalam kerang terdiri atas insang berlapis-lapis yang berjumlah dua pasang yang mengandung banyak pembuluh darah, organ jantung, organ pencernaan, dan alat sekresi (Kastawi dkk., 2003). Panjang cangkang kerang berkisar sekitar 8-10 cm, bahkan dapat mencapai 16,5 cm. Terdapat garis-garis lengkung pada cangkang bagian luar yang disebut dengan garis pertumbuhan atau garis umur, sedangkan cangkang bagian dalamnya halus dan berwarna putih mengkilat kepelangian (Sari dkk., 2014).

2.2.3 Habitat Hidup Kerang Hijau

Romimohtarto dan Juwana (1999), menyatakan bahwa *bivalvia* mempunyai tiga cara hidup, yaitu (1) membuat lubang pada substrat seperti cacing kapal (*Ship worm*); (2) melekat pada substrat dengan segmen seperti tiram (*Cassostrea* sp.); dan (3) melekat pada substrat dengan benang bysus (*bissal threads*) seperti kerang hijau (*Piridis viridis*). Kerang hijau hidup pada perairan estuari, teluk dan daerah mangrove dengan substrat pasir lumpuran serta salinitas yang tidak terlalu tinggi. Secara umum hidup menempel dan bergerombol pada dasar substrat yang keras seperti batu karang, kayu, bambu, atau lumpur keras dengan bantuan bysus (Cappenberg, 2008).

Kerang hijau merupakan organisme sesil yang hidup bergantung pada ketersediaan zooplankton, fitoplankton dan material yang kaya akan kandungan organik. Benih kerang hijau akan menempel di bawah permukaan air pada kedalaman 1,50-11,70 m saat pasang tertinggi (Setyobudiandi, 2004). Kerang hijau

dapat berpindah di daerah tropis sepanjang tahun, akan tetapi puncaknya biasa terjadi pada bulan Maret hingga Juli (Hidayat, 2019). Kelangsungan hidup kerang hijau sangat bergantung pada faktor pencemaran lingkungan. Rajagopal dkk. (1994) menyatakan bahwa suhu yang tinggi atau daerah yang tropis dapat menjadi kontrol kelangsungan hidup bagi kerang hijau. Pada penelitiannya menyatakan bahwa kerang hijau di daerah tropis akan mati pada suhu 43°C hanya dalam waktu 30 menit dan pertumbuhan juvenil yang sangat meningkat. Menurut Cappenberg (2008), rata-rata perkembangan bysus akan menurun seiring dengan kenaikan suhu dan bysus akan berhenti berkembang pada suhu 35-37°C.

2.3 Antioksidan

2.3.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah suatu zat yang dapat memberi perlindungan endogen dan tekanan oksidatif eksogen dengan menangkap radikal bebas (Haerani dkk., 2018). Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan dalam orbitnya, sehingga bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul lain di sekitarnya (protein, karbohidrat, lipid, dan DNA). Antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi kerusakan molekul lain akibat oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif (Werdhasari, 2014).

2.3.2 Penggolongan Antioksidan

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dikelompokkan menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim-enzim yang bersifat antioksidan, seperti *superoksida dismutase* (SOD), katalase (Cat) dan *glutathione peroksidase* (Gpx);

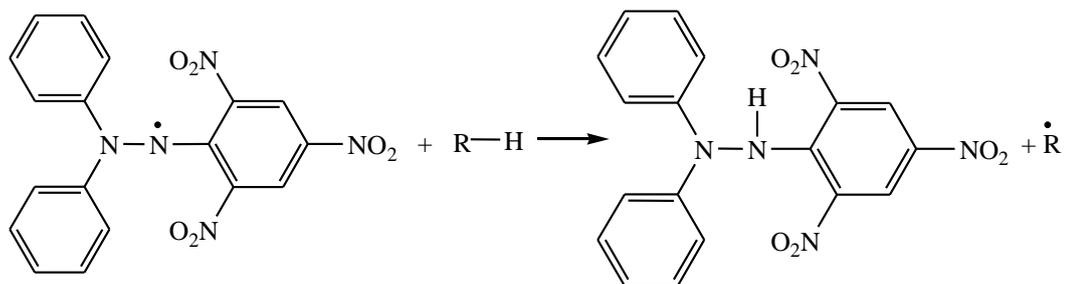
serta antioksidan eksogen, yaitu antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh atau makanan. Banyak bahan alam asli Indonesia yang mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya, seperti vitamin C, E, pro vitamin A, organosulfur, *α-tocopherol*, *flavonoid*, *thymoquinone*, statin, niasin, *phycocyanin*, dan lain-lain. Selain itu, beberapa bahan alam baik yang sudah lama digunakan sebagai makanan sehari-hari atau baru dikembangkan sebagai suplemen makanan, juga mengandung berbagai antioksidan (Werdhasari, 2014). Berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya, antioksidan diklasifikasikan menjadi antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru dengan mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang dampak negatifnya berkurang sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Antioksidan sekunder bekerja dengan mengkelat logam pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan tersier bekerja dengan memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan oleh radikal bebas (Sayuti dan Yenrina, 2015).

2.3.3 Manfaat Antioksidan

Antioksidan berperan penting dalam mempertahankan mutu produk pangan serta kesehatan dan kecantikan. Pada bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain. Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang bersifat sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasi dengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, lipid, asam nukleat, dan polisakarida (Sayuti dan Yenrina, 2015).

2.3.4 Uji Aktivitas Antioksidan Kolagen dengan Metode DPPH

Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) merupakan uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan kemampuannya menangkal radikal bebas. Prinsip analisis dengan metode DPPH didasarkan pada reduksi larutan DPPH ketika terdapat senyawa antioksidan yang mendonorkan atom hidrogennya. Interaksi tersebut menghasilkan reaksi DPPH-H yang bersifat tidak radikal. Metode uji penangkapan radikal DPPH bersifat cepat, mudah dan efisien untuk memprediksi aktivitas hidrolisat protein, fraksi dan peptida yang dimurnikan (Wang dkk., 2013). Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan metanol oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril (Prayoga, 2013). Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan (Prayoga, 2013)

Radikal DPPH memiliki elektron yang tunggal, berwarna ungu violet dan memiliki absorbansi pada panjang gelombang 517 nm dalam larutan etanol. Absorbansi akan menurun secara bertahap ketika ada senyawa yang mendonorkan proton dan larutan akan berubah warna menjadi kuning (Luo dkk., 2013). Parameter

pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH adalah IC_{50} . IC_{50} merupakan konsentrasi yang dapat menurunkan aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Apabila nilai IC_{50} semakin kecil, maka aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh bahan yang diuji semakin besar (Jadid dkk., 2017). Adapun efektivitas antioksidan pada kolagen hewan dapat dikelompokkan seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Kekuatan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50} (Jadid dkk., 2017)

IC_{50} (mg/L)	Kekuatan Aktivitas Antioksidan
<50	Sangat kuat
50-100	Kuat
101-150	Sedang
151-200	Lemah
>200	Sangat lemah

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan untuk menentukan konsentrasi yang dapat menurunkan aktivitas radikal bebas sebesar 50% sehingga dapat diperoleh sumber pengobatan yang efektif dan efisien (Ardhani dkk., 2019). Pengukuran aktivitas antioksidan kolagen menggunakan metode DPPH telah dilakukan oleh Zakaria (2021) dengan menggunakan kolagen dari tulang ikan lele (*Clarias gariepinus*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} kolagen yang dihasilkan adalah 101,58 mg/L yang diklasifikasikan efektivitas antioksidan sedang. Apabila nilai IC_{50} semakin kecil, maka semakin besar aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh bahan yang diuji (Jadid dkk., 2017).