

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM
KOLAGENASE OLEH NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN
ALGA MERAH *Gelidium spinosum***

SKRIPSI

Oleh:

LUTFIYATUL AZIZAH

NIM. 17620039



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM
KOLAGENASE OLEH NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN
ALGA MERAH *Gelidium spinosum***

SKRIPSI

Oleh:

LUTFIYATUL AZIZAH

NIM. 17620039

diajukan kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM KOLAGENASE
OLEH SENYAWA NANOPARTIKEL PERAK ALGA MERAH
*Gelidium spinosum***

SKRIPSI

Oleh :

LUTFIYATUL AZIZAH

NIM. 17620039

telah diperiksa dan disetujui untuk diuji

tanggal : 29 September 2021

Pembimbing I



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

Pembimbing II



Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 201402011409

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM KOLAGENASE
OLEH SENYAWA NANOPARTIKEL PERAK ALGA MERAH
*Gelidium spinosum***

SKRIPSI

Oleh :

LUTFIYATUL AZIZAH

NIM. 17620039

Telah Dipertahankan

**di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima sebagai
Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si.)**

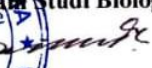
Tanggal : 29 September 2021

**Penguji Utama : Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si ()
NIP. 197109192000032001**

**Anggota Penguji I : Dr. Evika Sandi Savitri, M.P ()
NIP. 19741018 200312 2 002**

**Anggota Penguji II : Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd ()
NIP. 19630114 199903 1 001**

**Anggota Penguji III : Dr.M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I ()
NIPT. 201402011409**

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002



HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk orang-orang yang telah mendukung penulis untuk menyusun skripsi ini, khususnya:

1. Ayah dan Ibu tercinta, Bapak Wahyono dan Ibu Aliyah yang telah merawat, mendidik, dan mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Ibu Ruri Siti Resmisari, M.Si selaku dosen wali yang telah membimbing dan memberikan motivasi dari awal hingga akhir studi.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu untuk memberikan bimbingan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Bapak M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi Sains dan Islam.
5. Teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 17 khususnya Team riset Alga (Annisa, Okta, Arum, Effendi dan Kaif).
6. Keluarga Ndalem Lembaga Tinggi Pesantren Luhur Malang dan teman-teman angkatan tabassam 2017 yang selalu memberikan keceriaan dan motivasi.
7. Teman-teman seperjuangan dari awal hingga akhir skripsi Annisa Eka, Khoirul Zakiyah, Darul Muqomah, Samara Squad, Tim wedi luwe yang selalu memberikan motivasi untuk menyelesaikan skripsi.

MOTTO HIDUP

“Lebih baik mencoba daripada tidak sama sekali”

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lutfiyatul Azizah
NIM : 17620039
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim
Kolagenase Oleh Nanopartikel Perak Menggunakan Alga
Merah *Gelidium spinosum*

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi akademik maupun hukum atas perbuatan tersebut.

Malang, 14 September
2021

Yang membuat
pernyataan,



Lutfiyatul Azizah
NIM. 17620039

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizing penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

**Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penghambatan Enzim Kolagenase
Oleh Nanopartikel Perak Menggunakan Alga Merah *Gelidium
spinosum***

Lutfiyatul Azizah, Evika Sandi Savitri, M. Mukhlis Fahrudin

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam
Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Gelidium spinosum merupakan spesies alga merah yang mengandung pigmen fikoeritrin dan senyawa bioaktif lainnya seperti flavonoid, steroid dan katekin. Dalam bentuk senyawa nanopartikel, diduga memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan penghambatan terhadap enzim kolagenase, sehingga dapat berperan dalam mencegah penuaan dini pada kulit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase pada senyawa nanopartikel alga merah *Gelidium spinosum* serta korelasi antara keduanya. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Pengujian penghambatan enzim kolagenase dilakukan dengan substrat *bovine collagen*. Korelasi aktivitas antioksidan dengan penghambatan enzim kolagenase dilakukan dengan uji korelasi product moment dari Karl Pearson. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan AgNPs *Gelidium spinosum* menghasilkan nilai IC_{50} 18.34 ± 5.147 ppm, lebih baik daripada ekstrak biasa dengan nilai 19.57 ± 6.051 ppm. Aktivitas penghambatan enzim kolagenase AgNPs menghasilkan nilai IC_{50} 46.58 ± 3.64941 ppm, lebih baik daripada ekstrak biasa dengan nilai 128.0 ± 1.2915 ppm. Adapun nilai korelasi antara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase AgNPs *Gelidium spinosum* menunjukkan nilai $r=0,974$, hal ini menunjukkan bahwa korelasi yang dihasilkan sangat kuat. Singkatnya, korelasi antara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase dapat melindungi sel dari oksidasi radikal bebas sehingga dapat berperan sebagai antiaging.

Kata kunci : *Gelidium spinosum*, Antioksidan, Kolagenase, Nanopartikel perak, ROS

Antioxidant Activity and Inhibition of Collagenase Enzyme by Silver Nanoparticles Red Algae *Gelidium spinosum*

Lutfiyatul Azizah, Evika Sandi Savitri, M. Mukhlis Fahrudin

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana
Malik Ibrahim State Islamic University Malang

ABSTRACT

Gelidium spinosum is a species of red algae that contains the pigment phycoerythrin and other bioactive compounds such as flavonoids, steroids and catechins. In the form of nanoparticle compounds, it is thought to have high antioxidant activity and inhibition of the collagenase enzyme, so that it can play a role in preventing premature aging of the skin. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity and inhibition of the collagenase enzyme on the red algae nanoparticles *Gelidium spinosum* and the correlation between the two parameters. The antioxidant activity test was carried out using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. Collagenase inhibition testing was carried out with bovine collagen as a substrate. Correlation of antioxidant activity with inhibition of the collagenase enzyme was carried out using the product moment correlation test from Karl Pearson. The results showed that the antioxidant activity of AgNPs *Gelidium spinosum* resulted in an IC₅₀ value of 18.34 ± 5.147 ppm, better than the ordinary extract with a value of 19.57 ± 6.051 ppm. The inhibitory activity of the AgNPs collagenase enzyme resulted in an IC₅₀ value of 46.58 ± 3.64941 ppm, better than the extract with a value of 128.0 ± 1.2915 ppm. The correlation value between antioxidant activity and the inhibition of the collagenase enzyme AgNPs *Gelidium spinosum* shows a value of $r=0.974$, this indicates that the resulting correlation is very strong. In summary, the correlation between antioxidant activity and inhibition of collagenase enzymes can protect cells from free radical oxidation so that they can act as antiaging.

Key words : *Gelidium spinosum*, Antioxidant, Collagenase, Silver Nanoparticles, ROS

اختبار نشاط مضادات الأكسدة وتنشيط إنزيم الكولاجيناز بواسطة جزيئات الفضة النانوية للطحالب الحمراء
من *Gelidium spinosum*

لطيفة العزيرة ، إيفيكا ساندي سافيتري ، مخلص فخر الدين

برنامج دراسة الأحياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، مولانا مالك إبراهيم الدولة الإسلامية جامعة مالانج

نبذة مختصر

ويمكن العثور rhodophyta هو نوع واحد من الطحالب التي تنتمي إلى تقسيم *Gelidium spinosum* عليها بسهولة في المناطق الاستوائية ذات الركائز الصلبة. تحتوي الطحالب الحمراء على مستقبلات ثانوية في شكل مركبات الفلافونويد والمنشطات. مركبات الفلافونويد هي أكبر المركبات في الجسم. الفوائد الأخرى لمركبات LDL الفينولية في النباتات التي تعمل كعوامل مضادة للأكسدة تقلل الفلافونويد هي زيادة فعالية فيتامين ج ، مضاد للالتهابات ، مضاد حيوي ، كما أنه يحمي الخلايا. هذه المركبات أنواع الأكسجين التفاعلية) وتمنع نشاط إنزيم ROS قادرة أيضاً على تحلل الجذور الحرة التي تسببها (AgNPs) الكولاجيناز لمنع الشيخوخة المبكرة. يستخدم هذا البحث طريقة جسيمات الفضة النانوية الخضراء في تخليق جسيمات الفضة النانوية. تهدف هذه الدراسة إلى تحديد نشاط مضادات الأكسدة وتنشيط إنزيم نجح هذا البحث في تصنيع *Gelidium spinosum*. الكولاجيناز بواسطة جزيئات الطحالب الحمراء النانوية جزيئات الفضة النانوية بمتوسط حجم جسيم يبلغ 107.1 نانومتر. تم إجراء اختبار مضادات الأكسدة باستخدام وحمض الأسكوربيك كعنصر تحكم إيجابي. بينما DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) طريقة تم إجراء اختبار تنشيط إنزيم الكولاجيناز باستخدام الكولاجين البقري وحمض الأسكوربيك كركيزة مقارنة. علاوة على ذلك ، تم إجراء قراءة الامتصاصية باستخدام مقياس طيف ضوئي بطول موجي 517 لاختبار باستخدام الانحدار IC50 مضادات الأكسدة و 578 نانومتر لاختبار تنشيط إنزيم الكولاجيناز. تم تحليل قيم الخطي. تحليل الارتباط باستخدام تحليل ارتباط بيرسون. أظهرت النتائج أن النشاط المضاد للأكسدة لـ قدرها 5.147 ± 18.34 جزء في المليون ، أفضل IC50 نتج عنه قيمة *AgNPs Gelidium spinosum* من المستخلص العادي بقيمة 6.051 ± 19.57 جزء في المليون. نتج عن النشاط المثبط لإنزيم الكولاجيناز تبلغ 3.64941 ± 46.58 جزء في المليون ، أفضل من المستخلص العادي بقيمة IC50 قيمة *AgNPs* 1.2915 ± 128.0 جزء في المليون. تظهر قيمة الارتباط بين نشاط مضادات الأكسدة وتنشيط إنزيم ، وهذا يشير إلى أن الارتباط الناتج قوي $r = 0.974$ قيمة *AgNPs Gelidium spinosum* الكولاجيناز جداً.

، جزيئات الفضة النانوية Collagenase، مضادات الأكسدة ، *Gelidium spinosum* :الكلمات الأساسية ، ROS

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum wr. wb.

Bismillahirrohmanirrohiim.

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, karena berkat rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase Oleh Nanopartikel Perak Menggunakan Alga Merah *Gelidium spinosum*”. Sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada baginda rosul Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabat beliau.

Selanjutnya pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan proposal skripsi ini, khususnya kepada:

1. Prof. Dr. H. Muhammad Zainuddin, M.A selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Program Studi Biologi serta selaku Dosen Pembimbing yang telah sabar memberikan pengarahan, bimbingan serta waktu untuk membimbing penulis sehingga proposal skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku Dosen Pembimbing integrasi sains dan agama yang telah sabar memberikan pengarahan, bimbingan serta waktu untuk membimbing penulis sehingga proposal skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Ruri Siti Resmisari, M.Si, sebagai dosen wali yang telah banyak memberikan saran dan motivasi selama bimbingan akademik dan perwalian.
6. Prof. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si dan Dr. Eko Budi Minarno. M.Pd. yang telah membantu penulis dalam penulisan serta pelaksanaan penelitian dari awal sampai akhir.

7. Segenap Bapak/Ibu Dosen dan Laboran Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dalam penelitian.
8. Ayahanda Wahyono, Ibunda Aliyah dan Muhammad Bachrul Ulum yang selalu memberikan semangat, motivasi, serta doa yang terbaik untuk penulis.
9. Semua teman-teman Biologi angkatan 2017 khususnya team proyek alga yang telah berjuang bersama dalam proses penelitian ini.
10. Semua keluarga besar Lembaga Tinggi Pesantren Luhur Malang, dan teman-teman angkatan Tabassam 2018 yang telah memberikan dukungan dan semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan do'a yang diberikan kepada penulis. Dengan penuh rasa syukur yang mendalam kepada Allah SWT, semoga skripsi ini dapat memberi manfaat untuk banyak pihak dan mampu memberikan sumbangan pemikiran bagi ilmu pengetahuan. *Aamiin ya robbal 'alamiin.*

Wassalamu'alaikum wr.wb.

Malang, 29 September 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
ABSTRAK ARAB.....	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	5
1.3 Tujuan.....	6
1.4 Manfaat.....	6
1.5 Batasan masalah	6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Makroalga menurut Pandangan Al-Qur'an	8
2.2. Deskripsi Alga <i>Gelidium spinosum</i>	12
2.2.1 Klasifikasi Alga <i>Gelidium spinosum</i>	12
2.2.2 Habitat dan Persebaran Alga <i>Gelidium spinosum</i>	13
2.2.3 Morfologi Alga <i>Gelidium spinosum</i>	13
2.2.4 Kandungan Alga <i>Gelidium spinosum</i>	16
2.3. Antioksidan	17
2.3.1 Reactive Oxygen Species (ROS)	17

2.3.2 Penuaan.....	18
2.3.3 Peran Antioksidan.....	20
2.3.4 Uji Antioksidan.....	22
2.4 Nanopartikel	23
2.4.1 Pengertian	23
2.4.2 Teknik Green-synthesis	24
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian.....	27
3.2 Waktu dan Tempat	27
3.3 Alat dan Bahan	27
3.3.1 Alat.....	28
3.3.2 Bahan	28
3.4 Cara Kerja Penelitian.....	28
3.4.1 Ekstraksi Alga Merah <i>Gelidium spinosum</i>	28
3.4.2 Sintesis Nanopartikel perak (AgNPs)	29
3.4.3 Uji <i>Particle Size Analysis</i> (PSA)	29
3.4.4 Uji Antioksidan.....	30
3.5.3 Uji Aktivitas Penghambatan enzim kolagenase.....	31
3.6 Parameter Penelitian.....	32
3.7 Analisis Data	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Kemampuan ekstrak <i>Gelidium spinosum</i> menjadi bioreduktor nanopartikel perak	35
4.2 Aktivitas Antioksidan Nanopartikel perak (AgNPs) <i>Gelidium spinosum</i> ...	38
4.3 Aktivitas Penghambatan Enzim Kolagenase Nanopartikel perak (AgNPs) <i>Gelidium spinosum</i>	42
4.4 Korelasi Aktivitas Antioksidan dengan Penghambatan Enzim Kolagenase oleh Nanopartikel perak <i>Gelidium spinosum</i>	44
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	60

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Penggolongan tingkat penghambatan aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC ₅₀	28
3.2 Penggolongan tingkat penghambatan enzim kolagenase berdasarkan nilai IC ₅₀	28
4.1 Hasil <i>Particle Size Analyzer</i> (PSA)	30
4.2 Hasil aktivitas antioksidan nanopartikel, ekstrak <i>Gelidium spinosum</i> , dan asam askorbat	34
4.3 Hasil aktivitas penghambatan enzim kolagenase nanopartikel, ekstrak <i>Gelidium spinosum</i> , dan asam askorbat	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi <i>Gelidium spinosum</i>	14
2.2 Struktur DPPH dan Struktur DPPH yang bereaksi dengan antioksidan ...	20
4.1 Hasil analisis distribusi ukuran partikel AgNPs <i>Gelidium spinosum</i>	31
4.2 Korelasi antara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak alga <i>Gelidium spinosum</i>	42

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Makhluk hidup yang Allah ciptakan di muka bumi ini sangatlah banyak dan beragam, salah satunya adalah tumbuhan. Tumbuhan mempunyai kedudukan yang sangat diperlukan untuk kehidupan manusia ataupun keseimbangan di dalam ekosistem. Tumbuhan mempunyai berbagai manfaat bagi manusia, diantaranya untuk bahan makanan, obat, maupun tanaman hias. Allah SWT di dalam surah Asy-Syu'ara' ayat 7 berfirman sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”* (QS. Asy-Syu'ara':7).

Ayat di atas menunjukkan bahwa tumbuhan yang baik telah ditumbuhkan oleh Allah SWT dengan kuasa-Nya. Pertama, Allah SWT memerintahkan kepada makhlukNya untuk mengarahkan pandangannya atau memperhatikan pada kekuasaan Allah. Salah satu bukti kekuasaan Allah tersebut adalah dengan adanya tumbuh-tumbuhan yang diciptakan Allah mempunyai berbagai jenis dan juga faedah (Syihab, 2002). Ciptaan Allah contohnya adalah makroalga yang berupa alga *Gelidium spinosum* yang memiliki manfaat dan termasuk tanaman yang baik karena mengandung senyawa fenolik yang bermanfaat untuk menangkal radikal bebas dan menghambat penuaan (Leksono, dkk, 2018). Hal tersebut menjadi bukti bahwa ciptaan Allah SWT berupa “tumbuhan yang baik” dalam ayat tersebut

berperan sebagai obat yaitu senyawa antioksidan yang mampu melawan radikal bebas, untuk kesehatan kulit, dan juga penyakit yang lainnya. Tumbuhan yang beragam dengan berbagai manfaat antara lain adalah alga, walaupun klasifikasi yang terbaru menyebutkan bahwa alga bukan lagi termasuk pada tumbuhan, namun protista. Sesuai dengan pendapat Japa, dkk (2018) dalam jurnalnya bahwa alga atau ganggang merupakan organisme yang dikelompokkan dalam kingdom protista mirip tumbuhan.

Potensi alga di Indonesia mengalami peningkatan, pada tahun 2010 sebanyak 3,028 ton meningkat dari 2,574 pada tahun 2009. Hal tersebut terjadi karena peningkatan kesadaran masyarakat akan pentingnya kebutuhan karbohidrat dan juga pentingnya menjaga kesehatan karena alga mengandung bahan organik serta metabolit sekunder yang dapat melindungi dari bahaya radikal bebas (Muslimin dan Nelly, 2020). Sebagian besar alga merah mudah ditemukan pada perairan laut yang dangkal dan sedikit yang berada di perairan umum. Alga merah biasanya hidup dengan suhu yang lebih hangat di daerah-daerah tropis, salah satunya adalah alga *Gelidium spinosum* (Kasim, 2016). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ghazali, dkk (2018), *Gelidium spinosum* memiliki *holdfast* serabut, talus silinderis, dan beberapa talus memiliki percabangan seperti terdapat tonjolan kecil. Talusnya memiliki ujung yang melengkung, lancip dan ada pula yang membulat, dan berwarna merah keunguan sampai ungu pekat.

Alga memiliki senyawa fenolik yang dapat bertindak sebagai agen antioksidan untuk melindungi tubuh dari radikal bebas. Menurut Prasetiowati *et al.*, (2018) antioksidan memiliki kemampuan untuk mendegradasi radikal bebas dengan bereaksi atau mengoksidasi senyawa radikal bebas melepas elektron sehingga yang

tereduksi adalah senyawa antioksidan bukanlah molekul yang lainnya. Khaira (2010) menambahkan bahwa antioksidan berperan sebagai inhibitor penghambat oksidasi menjadi radikal stabil sehingga efek berbahaya yang ditimbulkan radikal bebas dapat dikurangi. Senyawa fenol mempunyai peran antioksidan yang efisien sehingga disebut juga dengan agen antioksidan (Zang dan Rong, 2016). Menurut Khaira (2010) menambahkan bahwa antioksidan alami pada tumbuhan diperoleh dari senyawa fenol dan turunannya, misalnya flavonoid, kumarin, turunan senyawa hidroksiamat, tokoferol dan asam organik.

Antioksidan juga dapat menghambat proses penuaan pada kulit. Penuaan adalah salah satu kejadian alamiah bagi manusia. Salah satu penyebab penuaan adalah adanya sinar UV (*ultra violet*) (Wungkana, dkk, 2013). Radikal bebas yang menjadi penyebab penuaan selain berupa sinar UV, juga dapat berupa faktor *reactive oxygen species (ROS)* yang secara alami berada didalam mitokondria. Menurut Sharma *et al.*, (2012) ROS merupakan hasil samping dari proses metabolisme yaitu respirasi aerobik. Apabila berada pada konsentrasi yang tinggi, semua bentuk ROS ini akan berbahaya bagi tanaman sehingga tanaman akan mengalami fase stress oksidatif yaitu fase dimana terjadi ketidakseimbangan kadar ROS dan antioksidan didalam sel. Nur dkk, (2017) menambahkan bahwa secara normal, terdapat antioksidan endogen yang dapat mendegradasi ROS di dalam sel, seperti *superoksida dismutase (SOD)*, *katalase (CAT)*, *glutathione peroxidase (GPx)* dan *glutathione reduktase (GR)*.

Penuaan juga diakibatkan oleh adanya aktivitas dari enzim kolagenase. Menurut Ananda, dkk (2019) enzim kolagenase merupakan enzim yang dapat mendegradasi kolagen dan termasuk enzim non-sitotoksik yang mampu memecah

protein matriks ekstraseluler tanpa merusak membran sel. Nur dkk, (2017) menambahkan bahwa aktivitas enzim kolagenase yang mendegradasi kolagen ini menjadi salah satu penyebab penuaan, karena kolagen menjadi struktur protein yang utama pada kulit manusia. Serat kolagen bersama dengan serat elastis menjadi penyusun jaringan bawah epidermis kulit sehingga dengan adanya aktivitas enzim tersebut, protein matriks jaringan ikat utama akan rusak dan kemudian menyebabkan kulit menjadi mengkerut. Berdasarkan pendapat Ardhie (2011) di dalam jurnalnya yang menyatakan bahwa ROS yang berlebihan akan membuat enzim MMP (*matrix metalloproteinase*) menjadi aktif kemudian akan mendegradasi matriks ekstraseluler dan menurunkan pembentukan kolagen. Selain itu, ROS akan memicu penurunan ekspresi *transforming growth factor beta* (TGF-B) sebagai promotor pembentukan kolagen yang berada pada epidermis dan dermis kulit, sehingga kulit akan menjadi keriput yang menjadi tanda-tanda penuaan. Dalam penelitian Ghimeray, *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa antioksidan dan penghambatan enzim antiokolagenase mempunyai hubungan berbanding lurus. Artinya apabila tingkat aktivitas inhibisi (antioksidan) tinggi, maka inhibisi terhadap kolagenase juga akan meningkat. Hal tersebut dikarenakan radikal bebas yang mengaktifkan prekursor kolagenase menjadi berkurang dengan adanya antioksidan yang menjadikan radikal bebas menjadi stabil sehingga aktivitas kolagenase menjadi terhambat dan kolagen tidak terdegradasi.

Melihat potensi dari makroalga tersebut sebagai penangkal radikal bebas, manusia dapat mendayagunakannya dengan lebih efisien dan efektif melalui sebuah teknologi yaitu nanopartikel. Teknologi nanopartikel mampu dimanfaatkan secara luas di berbagai bidang seperti bidang biomedik, ekosistem, elektronika, kosmetik,

dan lain sebagainya (Prasetiowati, *et al.*, 2018). Nanopartikel memiliki kelebihan dalam peningkatan afinitas dari sistem, yang disebabkan oleh meningkatnya luas permukaan sentuhan pada jumlah yang sama (Martien, dkk, 2012). Menurut Fabiani, dkk (2018) nanopartikel adalah sebuah materi yang memiliki ukuran nano yakni $\pm 1-100$ nm. Materi nano ini mempunyai sedikit perbedaan karakter yang berbeda dibandingkan material murninya. Saryanti, dkk (2019) menambahkan bahwa nanopartikel banyak dimanfaatkan karena memiliki sistem penghantaran yang baik, menangkal kelembapan berlebih, menaikkan dampak absorpsi dan juga meningkatkan penetrasi zat aktif. Penelitian mengenai uji antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase pada nanopartikel *Gelidium spinosum* ini belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menguji lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase pada nanopartikel perak alga *Gelidium spinosum* menggunakan metode *Green syntesis*.

1.2 Rumusan masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Apakah ekstrak alga merah *Gelidium spinosum* mampu menjadi bioreduktor nanopartikel perak?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan oleh senyawa nanopartikel alga *Gelidium spinosum*?
3. Bagaimana aktivitas penghambatan enzim kolagenase oleh senyawa nanopartikel alga *Gelidium spinosum*?
4. Apakah ada korelasi aktivitas antioksidan dengan penghambatan enzim kolagenase oleh senyawa nanopartikel alga *Gelidium spinosum*?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui kemampuan ekstrak alga merah *Gelidium spinosum* menjadi bioreduktor nanopartikel perak.
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada senyawa nanopartikel alga *Gelidium spinosum*
3. Untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim kolagenase pada senyawa nanopartikel alga *Gelidium spinosum*
4. Untuk mengetahui korelasi antara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase pada senyawa nanopartikel alga *Gelidium spinosum*.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase pada senyawa nanopartikel alga *Gelidium spinosum*.
2. Untuk memberikan informasi mengenai ekstrak alga merah *Gelidium spinosum* yang mampu menjadi bioreduktor nanopartikel perak.
3. Dalam jangka panjang dapat digunakan sebagai dasar untuk pengembangan kosmetik tropikal.

1.5 Batasan masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Sampel pembuatan nanopartikel alga yang digunakan adalah spesies alga *Gelidium spinosum* berbentuk sediaan kering.

2. Pembuatan nanopartikel alga *Gelidium spinosum* menggunakan metode *green-syntesis* dengan perak (AgNO_3).
3. Parameter pengujian nanopartikel alga meliputi uji antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase.
4. Metode uji antioksidan menggunakan metode DPPH.
5. Metode uji penghambatan enzim kolagenase menggunakan substrat *bovine collagen*.
6. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung % inhibisi dari nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Makroalga menurut Pandangan Al-Qur'an

Tumbuhan merupakan bentuk makhluk Allah dengan manfaat yang utama baik untuk kehidupan, manusia ataupun untuk keseimbangan ekosistem. Tumbuhan mempunyai manfaat diantaranya untuk bahan makanan, obat, maupun tanaman hias. Dalam surah Asy-Syu'ara' ayat 7, Allah SWT berfirman:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”* (QS. Asy-Syu'ara' [26]:7).

Ayat di atas menunjukkan bahwa berbagai jenis tumbuhan yang memiliki manfaat telah Allah ciptakan dengan kuasa-Nya. Allah SWT telah mensyariatkan makhlukNya untuk memikirkan serta mengarahkan pandangannya pada kekuasaan Allah. Salah satu bukti kekuasaan Allah tersebut adalah dengan adanya tumbuh-tumbuhan dengan banyak jenis dan juga kegunaan (Syihab, 2002).

Kebermanfaatan tumbuhan yang telah Allah ciptakan, tidak akan diketahui apabila manusia tidak berusaha untuk berfikir tentang kekuasaan Allah, yakni dengan cara melakukan penelitian. Peran manusia sebagai kholifah di dunia, haruslah menjadi motivasi supaya dapat mengembangkan sumberdaya alam secara proporsional untuk kebermanfaatan umat. Terkait hal tersebut, pada surah Al-Baqarah ayat 30, Allah SWT telah berfirman:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً ۖ قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَنْ يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ
وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ۝ ٣٠

Artinya: “Dan (ingatlah) ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat, “Aku hendak menjadikan khalifah di bumi.” Mereka berkata, “Apakah Engkau hendak menjadikan orang yang merusak dan menumpahkan darah disana, sedangkan kami bertasbih memuji-Mu dan menyucikan nama-Mu?” Dia berfirman, “Sungguh, Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui.” (QS. Al-Baqarah [2]: 30).

Ayat di atas mengisyaratkan bahwa Allah SWT berkuasa dalam hal apapun di dunia dan mengetahui apapun yang makhluk tidak mengetahuinya. Sedangkan arti manusia sebagai khalifah di muka bumi menunjukkan bahwa Allah telah memberikan hak dan kekuasaan kepada manusia untuk merawat bumi dan melarang untuk berbuat kerusakan. Salah satu bentuk peran manusia sebagai khalifah adalah dengan melakukan penelitian kemudian mendayagunakan sumberdaya alam dengan bijak tanpa mengeksploitasinya secara berlebihan. Selain itu, manusia juga memiliki tanggung jawab untuk menyelesaikan masalah di bumi, salah satunya adalah masalah kesehatan yang diakibatkan oleh radikal bebas seperti penyakit degenatif dan penuaan dini.

Allah juga menciptakan organisme berupa alga merah *Gelidium spinosum* yang memiliki ciri khas berwarna merah karena kandungan pigmen di dalamnya. Menurut Lidiana, *et al.*, (2018) pigmen yang terkandung di dalam alga merah *Gelidium spinosum* yaitu klorofil dan pigmen tambahan berupa fikobilin yang terdiri dari fikoeritrin dan fikosianin. Haryatfrehni, dkk (2015) menambahkan

bahwa pigmen tambahan ini berperan membantu optimalisasi klorofil dalam menangkap cahaya untuk proses fotosintesis. Menurut penelitian yang dilakukan Ardiles *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa warna merah yang dihasilkan oleh alga merah *Gelidium spinosum* ini memiliki potensi sebagai agen antioksidan yang dapat menghambat proses oksidasi radikal bebas. Sesuai dengan firman Allah SWT di dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah ayat 191 yang berbunyi:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ
هٰذَا بَاطِلًا سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ - ١٩١

Artinya: “(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah engkau menciptakan semua ini sia-sia; Maha Suci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka” (QS. Ali Imron (3): 191).

Ayat tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan warna merah pada alga *Gelidium spinosum* ini tidak sia-sia, pigmen ini bermanfaat sebagai agen antioksidan yang melindungi sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Selain itu, pigmen di dalam alga merah ini secara tidak langsung juga berperan dalam penghambatan enzim kolagenase karena dengan adanya antioksidan maka senyawa radikal bebas yang mengaktifkan enzim kolagenase dapat dihambat. Sesuai dengan pendapat Ardiles *et al.*, (2020) dalam jurnalnya bahwa pigmen fikoeritrin memiliki manfaat untuk kesehatan manusia karena kandungan antioksidan, anti inflamasi, dan melindungi penyakit hati.

Organisme berupa tumbuhan maupun makroalga memiliki senyawa yang dapat bertindak sebagai obat. Salah satu jenis makroalga adalah alga *Gelidium spinosum* yang memiliki senyawa fenolik yang dapat melawan radikal bebas pemicu penyakit degeneratif. Di dalam Al-Qur'an Surah Ash-Shaffat ayat 145-146, Allah SWT berfirman:

فَنَبَذْنَاهُ بِالْعَرَاءِ وَهُوَ سَقِيمٌ ۖ - ١٤٥ وَأَنْبَتْنَا عَلَيْهِ شَجَرَةً مِّنْ يَقْطِينٍ ۖ - ١٤٦

Artinya: “Kemudian kami lemparkan dia ke daerah yang tandus, sedang ia dalam keadaan sakit. Dan kami tumbuhkan untuk dia sebatang pohon dari jenis labu”. (QS. Ash-Shaffat [37]: 145-246).

Ayat tersebut diturunkan ketika Nabi Yunus AS, telah Allah keluarkan dalam kondisi sakit dari perut ikan paus, kemudian Allah mengeluarkan tumbuhan dari jenis labu untuk mengembalikan kesehatan tubuh Nabi Yunus. Hal tersebut mengisyaratkan bahwa didalam suatu tumbuhan terdapat kandungan senyawa yang dapat mengobati penyakit. Terkait hal tersebut terdapat sebuah hadist Nabi Muhammad SAW yang diriwayatkan dari Ibnu Majah, sebagai berikut:

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ رُمْحٍ وَمُحَمَّدُ بْنُ الْحَارِثِ الْمِصْرِيُّ قَالَا : حَدَّثَنَا اللَّيْثُ بْنُ سَعْدٍ عَنْ عُقَيْلٍ عَنْ ابْنِ شِهَابٍ أَخْبَرَنِي أَبُو سَلَمَةَ بْنُ عَبْدِ الرَّحْمَنِ وَسَعِيدُ بْنُ الْمُسَيَّبِ أَنَّ أَبَا هُرَيْرَةَ أَخْبَرَهُمَا أَنَّهُ سَمِعَ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ : إِنَّ فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ شِفَاءً مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ وَالسَّامَ الْمَوْتُ وَالْحَبَّةُ السَّوْدَاءُ السُّوَيْزُ

Artinya: “Telah menceritakan kepada kami Muhammad bin Rumh dan Muhammad bin Al Harits Al Mushriyan keduanya berkata: telah menceritakan kepada kami Al-Laits bin Sa’d dari ‘Uqail dari Ibnu Syihab telah mengabarkan kepadaku Abu Salamah bin Bdurrahman dan Sa’idnbin Al Musayyab bahwa

Abu Hurairah mengabarkan kepada keduanya, bahwa dia mendengar *Rasulullah SAW* bersabda: *Sesungguhnya dalam habbatus sauda' (jinten hitam) terdapat obat dari segala jenis penyakit kecuali as saam, dan as saam adalah kematian, dan habbatus sauda' adalah Asy syuniz''* (HR. Ibnu Majah).

Menurut Safarsyah (2018), hadist tersebut memberikan informasi dan juga anjuran dari Nabi Muhammad SAW bahwa dalam jinten hitam terdapat manfaat yang baik bagi kesehatan, khususnya untuk memperkuat sistem kekebalan tubuh dan juga zat anti kanker. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa dalam jinten hitam terdapat senyawa metabolik yang juga berperan sebagai antioksidan alami untuk melindungi kekebalan tubuh dari penyakit degeneratif dan juga penyakit yang lainnya. Seperti halnya pada jinten hitam, makroalga *Gelidium spinosum* juga mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder berupa fenolik yang memiliki manfaat bagi kesehatan dan dalam pengobatan dari penyakit. Salah satu perannya yakni dalam melawan radikal bebas pemicu penyakit degeneratif dan juga penuaan sehingga disebut dengan agen antioksidan

2.2. Deskripsi Alga *Gelidium spinosum*

2.2.1 Klasifikasi Alga *Gelidium spinosum*

Menurut Zin dan Ei (2020) alga *Gelidium spinosum* termasuk kedalam jenis alga merah (*Rhodophyta*) yang memiliki klasifikasi berikut:

Kingdom : Protista

Divisio : Rhodophyta

Classis : Floridophyceae

Ordo : Gelidiales

Familia : Gelidiaceae

Genus : Gelidium

Species : *Gelidium spinosum*

2.2.2 Habitat dan Persebaran Alga *Gelidium spinosum*

Alga *Gelidium spinosum* merupakan kelompok alga merah yang mudah ditemukan pada daerah tropis. Sebagian besar alga merah mudah dijumpai pada perairan laut yang dangkal dan sedikit yang berada di perairan umum. Alga merah biasanya hidup dengan suhu yang lebih hangat di daerah-daerah tropis. Alga ini cocok pada daerah yang memiliki substrat yang keras dan jarang ditemukan pada daerah yang berlumpur maupun berpasir (Kasim, 2016). Alga *Gelidium spinosum* memiliki sebaran geografik yang luas di Indonesia. Umumnya hidup di pantai yang memiliki ombak yang kuat seperti pantai Barat Sumatera, pantai Selatan Jawa, Bali, Nusa Tenggara dan Maluku. Mayoritas jenis *Gelidium* menyukai substrat berupa batu-batuan, kecuali jenis *G. pusillum* yang menyukai substrat berlumpur yang tumbuh di Australia Selatan dan *G. crinale* pada substrat berpasir yang tumbuh di pantai Cadiz (Sjafrie, 1999).

2.2.3 Morfologi Alga *Gelidium spinosum*

Makroalga merupakan salah satu pembagian jenis alga yang berukuran besar. Alga tergolong dalam kingdom protista yang mirip tumbuhan. Alga memiliki struktur tubuh berupa *tallus* (tidak memiliki perbedaan antara morfologinya) dan mempunyai klorofil sehingga dapat berfotosintesis sendiri (Ira, dkk, 2018). Menurut Sumich (1992) dalam Meriam, dkk, (2016) bahwa struktur tubuh yang dimiliki makroalga terdiri dari 3 bagian utama, yaitu *blade*, *stipe* dan *holdfast*. Pertama *blade* merupakan struktur seperti daun yang pipih dan terkadang melebar,

kedua bagian *stipe* seperti batang bersifat lunak yang memiliki fungsi seperti batang yaitu menahan deburan air laut, dan terakhir *holdfast* adalah struktur seperti akar yang memiliki fungsi untuk melekatkan tubuh alga pada substratnya. Secara umum, makroalga dibagi menjadi 3 divisi yaitu *Chlorophyta* (alga hijau yang memiliki kandungan klorofil baik a maupun b), *Rhodophyta* (alga merah yang memiliki kandungan klorofil baik a maupun b dan juga berbagai pigmen seperti fikoeritrin, karoten, xantofil dan fikobilin) dan *Phaeophyceae* (alga coklat yang memiliki kandungan klorofil baik a maupun c, alfa karoten, flukoxantin dan juga xantofil).

Alga mudah ditemukan melekat pada substrat yang berupa batu karang, lumpur, pasir, batuan, dan substrat yang lain misalnya cangkang kerang, kayu atau menempel pula pada tumbuhan epifit. Alga laut di Asia sejak zaman kuno telah menjadi bagian penting dari makanan manusia dan juga terkenal karena manfaatnya terhadap kesehatan. Banyak studi yang mengatakan bahwa makroalga laut tidak hanya merupakan sumber serat makanan, dan zat organik lainnya, namun juga mengandung metabolit sekunder yang memiliki efek biologis lebih besar daripada tanaman yang hidup di daratan. Berbagai spesies rumput laut telah diidentifikasi mengandung beberapa senyawa metabolit yang berperan sebagai antioksidan seperti klorotannin, polisakarida tersulfat, pigmen karotenoid seperti fucoxanthin dan astaxanthin, sterol, katekin, dan asam amino mirip mikosporin (Wang, *et al.*, 2012). Alga merah (*Rhodophyta*) adalah makroalga yang mengandung dominan pigmen fikoeritrin dibandingkan pigmen lainnya, sehingga memiliki warna kemerahan. Makroalga ini banyak macamnya dan mudah ditemui di daerah tropis dengan substrat yang keras. Alga merah mempunyai talus dari hasil perkembangan sel-sel penyusunnya. Sel alga merah tersusun berlapis dan juga memiliki pigmen

fotosintetik fikobilin serta pirenoid dalam kloroplasnya. Peran pirenoid ini sebagai tempat penyimpanan hasil fotosintesis dan juga cadangan makanannya. Faktor yang berpengaruh dalam pertumbuhan serta penyebaran alga merah diantaranya adalah kadar garam, tingkat penyinaran cahaya, tingkat kekeruhan air dan jenis substrat serta kedalaman dasar lautan. Contoh dari alga merah adalah *Porollina* sp., *Gelidium* sp., *Gracilaria* sp., *Euchema* sp., dan *Skinaia furkellata* (Kasim, 2016).

Alga *Gelidium spinosum* termasuk dalam jenis alga merah (*Rhodophyta*). Menurut Ghazali, dkk (2018), *Gelidium spinosum* memiliki *holdfast* serabut, talus silinderis, dan beberapa talus memiliki percabangan seperti terdapat tonjolan kecil. Talusnya memiliki ujung yang melengkung, lancip dan ada pula yang membulat, dan berwarna merah keunguan sampai ungu pekat. Kemudian Sjafrie (1999) menambahkan bahwa talus yang dimiliki *Gelidium spinosum* sangat bervariasi antara 1 mm – 30 cm. Bentuk talus yang pipih dan bersifat cartilagenous yang berumpun dan jenis cabang dikotomis atau menyirip dan *stipe* tegak. Thallus *Gelidium spinosum* berwarna coklat, hijau-colat ataupun pirang kemerahan. Berdasarkan penelitian Sjafrie (1993) dalam Sjafrie (1999) menyatakan bahwa sporofit *Gelidium amansii* mengeluarkan spora yang berbentuk mirip amoeba kemudian berubah menjadi bulat berdiameter 25 µm yang menempel di dasar petridish. Kemudian muncul *germ tube* dan isi sel berpindah ke tonjolan yang dibentuk dan membelah. Semakin lama, sel akan semakin bertambah panjang dan banyak dan kemudian kumpulan sel (*thallus*) tersebut membentuk cabang-cabang dan akar. Alga *Gelidium spinosum* disajikan pada gambar 1.



**Gambar 2.1 Alga *Gelidium spinosum* yang ditemukan di Pantai Drini
Gunung Kidul (Leksono, et al, 2018)**

2.2.4 Kandungan Alga *Gelidium spinosum*

Alga *Gelidium spinosum* memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan steroid. Senyawa fenol terbesar pada tumbuhan yang berperan sebagai agen antioksidan yang mereduksi LDL dalam tubuh adalah dari jenis flavonoid. Adapun manfaat lain dari flavonoid yaitu meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, antibiotik dan juga melindungi sel (Sopianti, 2019). *Gelidium spinosum* sering digunakan untuk bahan pembuatan agar-agar dan juga bahan antioksidan serta antibakteri dalam bidang farmasi. Alga ini mengandung pigmen fikoeritrin yang berpotensi sebagai antioksidan. Menurut penelitian (Ku *et al*, 2008) dalam Leksono dkk (2018), alga *Gelidium* sp ini mengandung senyawa katekin yang menjadi antioksidan kuat melebihi vitamin E, C dan betakaroten. Katekin yang dimilikinya adalah jenis *epigallocatechin-gallate* (EGCG), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin-gallate* (ECG), *gallocatechin*, dan *catechin*. Katekin menjadi salah satu jenis fenolik yang berpotensi sebagai agen antioksidan serta antibakteri. Katekin ini bersifat asam lemah, sulit larut didalam air, mudah terurai oleh cahaya, dan dalam udara bersifat labil. Mudah melakukan oksidasi pada

pH yang hampir netral (pH 6,9) namun stabil dalam pH yang lebih kecil sekitar 2,8 dan 6,9 (Leksono, dkk, 2018).

Alga merah *Gelidium spinosum* juga memiliki pigmen berupa fikoeritrin. Menurut Lidiana, *et al.*, (2018) pigmen yang terkandung di dalam alga merah yaitu klorofil dan pigmen tambahan berupa fikobilin yang terdiri dari fikoeritrin dan fikosianin. Haryatfrehni, dkk (2015) menambahkan bahwa pigmen tambahan ini berperan membantu optimalisasi klorofil dalam menangkap cahaya untuk proses fotosintesis. Menurut penelitian yang dilakukan Ardiles *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa warna merah yang dihasilkan oleh alga merah *Gelidium spinosum* ini memiliki potensi sebagai agen antioksidan yang dapat menghambat proses oksidasi radikal bebas.

2.3. Antioksidan

2.3.1 Reactive Oxygen Species (ROS)

Reactive Oxygen Species adalah molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbit terluarnya sehingga bersifat labil. Untuk menstabilkannya, ROS akan berpasangan dengan elektron lain yang pada umumnya didapatkannya dari sel tubuh yang lain. Apabila produksi ROS meningkat dan tidak seimbang maka akan berdampak kerusakan pada tingkat sel, menjalar ke jaringan hingga ke organ tubuh. ROS juga dapat mengakibatkan terjadinya proses penuaan dini dan munculnya berbagai penyakit degeneratif (Ardhie, 2011) seperti kanker, tumor dan lain sebagainya (Wikanta, dkk, 2005).

Reactive Oxygen Species atau dikenal dengan radikal bebas dapat berasal dari udara bebas maupun berasal dari dalam sel yakni akibat dari aktivitas pembuatan energi sel. Pada tahap transpor elektron dalam pembuatan ATP dimungkinkan dapat terjadi kebocoran elektron yang dapat bereaksi dengan oksigen

membentuk superoksida yang kemudian akan mengalami dismutasi menjadi H_2O_2 atau ROS. Keadaan ini dapat menyebabkan tubuh mengalami hipoksia yang terjadi di dalam sel (Aziz, dkk, 2018). Namun aktivitasnya mampu ditangkal dengan antioksidan yang bereaksi dengan molekul radikal bebas yang tidak stabil menjadi molekul yang stabil sehingga sel dapat dilindungi (Khaira, 2010).

2.3.2 Penuaan

Tubuh manusia memiliki perlindungan pertama dari faktor luar, salah satunya adalah kulit. Menurut Sari, (2015) kulit menjadi organ pertahanan pertama yang dimiliki manusia dari lingkungan. Kulit tersusun dari banyak sel yang dapat beregenerasi. Kulit tersusun atas tiga bagian utama yakni epidermis (bagian terluar dan tipis), dermis (bagian tengah yang berisi serat kolagen, elastin, sel saraf, pembuluh darah, jaringan limfatik dan juga kelenjar ekrin, apokrin dan sebaceous) dan subkutis (lapisan yang berada pada bagian paling dalam struktur kulit dan tersusun atas jaringan ikat dan lemak).

Penuaan kulit merupakan proses biologis kompleks yang dipengaruhi oleh kombinasi faktor endogen atau intrinsik (genetik, metabolisme sel, hormon dan metabolisme) dan faktor eksogen atau ekstrinsik (paparan cahaya kronis, polusi, radiasi pengion, bahan kimia, racun). Faktor-faktor tersebut menyebabkan perubahan secara struktural maupun fisiologis sehingga terjadi perubahan pada setiap lapisan kulit dan juga penempilan kulit terutama pada area kulit yang terpapar sinar matahari (Mohiuddin, 2019). Indikator penuaan kulit adalah ketika terdapat keriput, kendur, maupun tampilan kasar pada kulit manusia. Hal tersebut dikarenakan karena hilangnya elastisitas kulit. Serat kolagen dan elastin berperan penting dalam elastisitas kulit. Menurut Villegas, *et al.* (2018) dan Boggio, *et al.* (2011) kolagen menjadi protein yang paling melimpah di jaringan ikat tubuh

mamalia (sekitar 30% dari semua protein) dan merupakan komponen struktural utama dalam matriks ekstraseluler (ECM). Menurut Hartmann, et al. (2015) kolagen berperan untuk memberikan dukungan struktural dalam tulang, kulit, tendon, ligamen, pembuluh darah, dan juga memberikan kekuatan pada elastisitas kulit.

Kulit dapat mengalami penuaan yang diakibatkan dari adanya radikal bebas dan sinar matahari. Menurut Widyastuti, dkk (2016) sinar matahari dapat berakibat buruk terhadap manusia tergantung frekuensi dan lama penyinarannya dalam mengenai kulit, intensitas matahari serta kepekaan kulit setiap orang. Kemudian Aziz, et al. (2020) menambahkan bahwa radikal bebas dapat meningkatkan kerusakan pada DNA dan kemungkinan akan terjadi mutasi maupun efek genetik lainnya sehingga dapat menyebabkan kanker dan penuaan.

Proses penuaan juga dapat terjadi akibat aktivitas dari beberapa enzim proteolitik seperti tirosinase, kolagenase, hyaluronidase dan elastase (Widowati et al., 2017 dalam Greeta et al., 2019). Enzim kolagenase akan mempengaruhi pendegradasian kolagen dengan menghidrolisis ikatan peptida di dalam kolagen dan memecahnya menjadi fragmen-fragmen yang kecil (Boggio et al., 2011) sehingga akan merusak jaringan kulit dermal serta menghilangkan elastisitas kulit. Nur dkk, (2017) menambahkan bahwa kolagen menjadi struktur protein yang utama pada kulit manusia. Serat kolagen bersama dengan serat elastis menjadi penyusun jaringan bawah epidermis kulit sehingga dengan adanya aktivitas enzim tersebut, protein matriks jaringan ikat utama akan terdegradasi dan kemudian menyebabkan kulit menjadi mengkerut.

Peningkatan enzim kolagenase yang merupakan bagian dari MMP (*Matrixmetallo protease*) yang ada pada kulit dan menyebabkan penurunan produksi kolagen sehingga kulit akan lebih cepat menua bahkan mendorong perkembangan kanker (Hartmann, *et al.* 2015). Terdapat tiga jenis enzim kolagenase pada manusia, yaitu MMP-1 (*Matrixmetallo protease*), MMP-8 dan MMP-13. Peningkatan enzim ini dapat dipengaruhi oleh radiasi sinar *ultraviolet* (UV) yang merangsang untuk membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) misalnya hidrogen peroksida dan menghambat kolagen (Greeta *et al.*, 2019). Pientaweeratch *et al.* (2016), menambahkan bahwa polifenol yang terkandung di dalam tanaman dapat berikatan dengan rantai samping gugus fungsi kolagenase. Selain itu, interaksi hidrofobik antara cincin benzen polifenol dan kolagenase akan mengakibatkan perubahan formasi sehingga menyebabkan enzim tidak berfungsi.

2.3.3 Peran Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu dalam menangkal radikal bebas, kemudian akan memperlambat oksidasi yang dapat merusak sel bahkan akan mempercepat penuaan dini, penyakit kanker kulit, dan sebagainya. Antioksidan dapat memperbaiki sel kulit sehingga sel dapat beregenerasi dan penuaan dapat dicegah (Widyastuti, dkk, 2016). Antioksidan bekerja dengan dua cara, yaitu pertama radikal bebas akan mengikat hidrogen yang ada pada antioksidan sehingga akan membentuk kompleks yang stabil, dan kedua antioksidan akan mentransfer elektron tunggal pada radikal bebas, sehingga akan terjadi deaktivasi radikal bebas kemudian akan menjadi stabil. Antioksidan alami yang terdapat pada makroalga akan menghambat ataupun mencegah proses oksidasi yang disebabkan oleh radikal, sehingga resiko kanker dapat diturunkan (Agustina, dkk 2018). Tubuh manusia juga

memiliki antioksidan endogen (enzim antioksidan) yaitu superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT) dan glutathione peroksidase (GSH-Px) yang mampu menangkal langsung spesies oksigen reaktif (Martins et al., 2016).

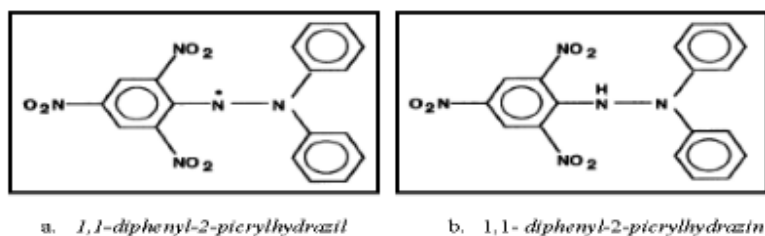
Cadangan antioksidan yang dimiliki oleh tubuh manusia terkadang tidak mampu menangkal paparan radikal bebas, sehingga antioksidan perlu dipasok dari luar (eksogen). Berdasarkan sumbernya, antioksidan dari luar dibedakan menjadi dua, yaitu antioksidan alami yang berasal dari bahan alami seperti vitamin (vitamin C, E dan B), mineral (selenium, tembaga, besi, seng dan mangan), dan fitokimia seperti flavonoid, karotenoid, fenol, karoten yang semuanya dapat ditemukan pada tumbuhan, sayuran ataupun buah-buahan (Aziz, et al., 2020) dan antioksidan sintetik (buatan) seperti BHA (*Butylated hydroxyanisole*), BHT (*butylated hyrdoxytoluene*) dan PG (*propylgallate*). Antioksidan sintesis berdampak cukup serius apabila digunakan dalam jangka panjang seperti kanker dan juga merusak hati. Oleh karena itu, untuk lebih aman dalam penggunaan yang berkelanjutan, dapat menggunakan sumber alami sebagai cadangan antioksidan bagi tubuh, misalnya dari tumbuh-tumbuhan (Husni, dkk, 2014).

Tumbuhan maupun ganggang laut (Asif, 2015; Wang, et al., 2012; Wikanta, dkk, 2005) banyak mengandung metabolit sekunder misalnya senyawa flavonoid, karotenoid, polifenol yang dapat berperan sebagai antioksidan alami. Senyawa fenolik ini terdapat pada hampir semua bagian tumbuhan tumbuhan, seperti daun, buah, akar, bunga, dan batang tanaman (Asif, 2015). Menurut Leksono dkk (2018), alga *Gelidium spinosum* ini mengandung senyawa flavonoid dan katekin yang menjadi antioksidan kuat melebihi vitamin E, C dan betakaroten. Katekin yang dimilikinya adalah *epigallocatechin-gallate* (EGCG), *epigallocatechin* (EGC),

epicatechin-gallate (ECG), *gallocatechin*, dan *catechin*. Katekin adalah senyawa jenis polifenol yang memiliki potensi sebagai agen antioksidan dan juga antibakteri. Kemudian Wikanta, dkk (2005) menambahkan bahwa biota laut seperti alga yang hidup di laut dangkal mempunyai kandungan *UV-absorbing substance* yang lebih tinggi jika daripada alga yang hidup di lautan dalam sehingga UVAS berfungsi sebagai penghambat penetrasi sinar UV kedalam sel alga.

2.3.4 Uji Antioksidan

Aktivitas antioksidan dapat diuji dengan tiga jenis uji yaitu: metode DPPH (1,2-diphenil-2-picrylhydrazyl), FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), dan BCB (*Beta-carotene bleaching assay*) (Nur, dkk, 2017). Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrozil) menjadi metode pengujian antioksidan yang memiliki prinsip penghilangan warna yang dilihat dari nilai absorbansi hasil pembacaan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Radikal dalam DPPH merupakan nitrogen yang bersifat organik yang warna ungu gelap, apabila mengalami reduksi akan berubah menjadi warna kuning. Metode DPPH ini termasuk dalam metode yang sederhana, cepat serta dibutuhkan sampel yang sedikit (Febrianti, dkk, 2017). Struktur DPPH dan DPPH yang bereaksi bersama antioksidan terdapat pada gambar 2 berikut.



Gambar 2.2 (a) struktur DPPH dan (b) struktur DPPH yang bereaksi dengan antioksidan (Leksono, *et al*, 2018)

Hasil aktivitas antioksidan diterangkan dengan parameter *inhibitory concentration* 50% (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel yang dapat mengurangi DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari kurva hubungan antara persen penangkapan radikal besar dengan konsentrasi (ppm) menggunakan regresi linear. Prinsip dari metode ini yaitu semakin rendah nilai IC₅₀ maka peran antioksidan akan semakin besar (Febrianti, dkk, 2017; Husni, dkk, 2014).

Menurut Febrianti, dkk (2017) nilai IC₅₀ dihitung menggunakan rumus persamaan regresi yang kemudian dikategorikan dalam tingkat kekuatan antioksidan yakni dapat dilihat dalam tabel 1:

Tabel 1. Tabel Kekuatan Antioksidan (Putri dan Nurul, 2015)

Intensitas	Nilai IC₅₀
Sangat kuat	Kurang dari 50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	101-250 ppm
Lemah	251-500 ppm
Sangat lemah	Lebih dari 500 ppm

2.4 Nanopartikel

2.4.1 Pengertian

Nanopartikel merupakan material yang memiliki ukuran nano. Nanopartikel banyak dimanfaatkan sebagai penghantar obat karena memiliki kemampuan untuk menghidrasi kulit, menaikkan dampak absorpsi, menambah daya masuknya zat aktif dan juga untuk sistem lepas terkendali (Saryanti, dkk, 2019). Fabiani, dkk (2018) menambahkan bahwa ukuran nanopartikel adalah kurang lebih 1-100 nm. Materi nano ini mempunyai sedikit perbedaan karakter yang berbeda dibandingkan material murninya. Sifat murninya dapat diubah melalui pengontrolan ukuran partikel, pengaturan komposisi kimia, modifikasi permukaan, dan pengontrolan interaksi antar partikel. Menurut Kojong, dkk. (2018) nanopartikel banyak

diaplikasikan dalam beberapa bidang diantaranya bidang medis, sensor, antimikroba, elektronika, pertanian, katalis, kosmetik, dan optik.

Nanopartikel memiliki aplikasi yang begitu luas dan nantinya akan dibutuhkan untuk dikembangkan lebih lanjut, karena relatif aman bagi kesehatan maupun lingkungan. Rumput laut dapat dimanfaatkan dalam pembuatan nanopartikel. Tumbuhan ataupun alga memiliki kandungan metabolik sekunder yang dapat dimanfaatkan dalam sintesis nanopartikel yang ramah lingkungan (*green-synthesis*) yang digunakan sebagai reduktornya. Bahan organik dalam makroalga yang dilibatkan dalam biosintesis nanopartikel berupa enzim, protein, karbohidrat dan senyawa metabolit tersebut seperti flavonoid dan terpenoid (Sari, dkk, 2016). Nuraeni, dkk (2013) menambahkan bahwa penggunaan nanomaterial memiliki dua alasan, yaitu pertama nanomaterial memiliki luas permukaan yang besar daripada material awalnya sehingga dapat meningkatkan reaktivitas kimia dan juga kekuatan sifat elektronik. Alasan kedua adalah efek kuantum yang mendominasi bahan dari skala nano terutama dari pengaruh optikal dan sifat magnetik material.

2.4.2 Teknik *Green-synthesis*

Salah satu teknik pembuatan nanopartikel adalah *green synthesis* yang merupakan suatu metode untuk menyintesis senyawa nanopartikel dengan bantuan media tanaman sebagai bioreduktor. *Green-synthesis* memerankan berbagai prinsip seperti mengulangi limbah, menggunakan bahan yang tidak merusak lingkungan, serta menjadi terobosan materi baru. Oleh karena itu, *green-synthesis* diharapkan akan mampu menciptakan teknologi rekayasa material yang ekonomis, berkelanjutan, dan ramah lingkungan. *Green-synthesis* banyak yang berasal dari nanopartikel logam oksida yang mengambil dari material alami atau hidup seperti

bakteria, jamur, ganggang, dan dari ekstraksi tanaman. Ekstraksi tanaman akan memperoleh enzim, protein, flavonoid, dan terpenoid yang mampu berperan sebagai agen bioreduktor dan agen stabilizer nanopartikel (Mustari, dkk, 2019). Kemudian Marthur (2014) dalam penelitiannya menyatakan bahwa setelah terjadi reduksi selama 48 jam, filtrat sampel akan berubah warna dari kuning menjadi coklat. Perubahan warna ini disebabkan oleh resonansi plasmon permukaan nanopartikel perak, dimana ion perak nitrat berkurang selama paparan dengan ekstrak tumbuhan. Perubahan warna menjadi coklat pada sampel menandakan bahwa nanopartikel perak telah terbentuk (Marthur, 2018).

Sintesis nanopartikel perak dari ekstrak tumbuhan telah banyak dilakukan, karena di dalam beberapa jenis tumbuhan terkandung senyawa kimia atau metabolit sekunder seperti terpenoid dan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan sehingga dapat digunakan sebagai bioreduktor untuk menghasilkan nanopartikel perak. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Parmitha, dkk (2019) menunjukkan bahwa semakin kecil konsentrasi larutan AgNO_3 yang digunakan maka akan semakin besar panjang gelombang dan semakin kecil nilai absorbansinya. Selain itu, terkait dengan pengukuran distribusi partikel, metode yang lebih akurat adalah menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) yang diperoleh data ukuran berupa intensitas, nomor dan volume sehingga dapat menggambarkan keseluruhan kondisi sampel. Nuraeni, dkk (2013) menambahkan bahwa *Particle Size Analyzer* (PSA) adalah alat yang dapat mengukur distribusi ukuran partikel yang berukuran nanometer. Prinsipnya adalah hamburan cahaya laser oleh partikel-partikel di dalam sampel. Cahaya dari laser akan dipancarkan kemudian dikirim ke partikel sampel untuk dihamburkan kembali melalui *pinhole*

(jarum kecil) dan masuk kembali ke dalam detektor. Sinyal yang terdeteksi adalah sinyal analog yang kemudian diubah menjadi sinyal digital dan diolah menjadi deret hitung.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase oleh Nanopartikel Perak menggunakan Alga Merah *Gelidium spinosum*” ini menggunakan metode deskriptif eksploratif. Pembuatan nanopartikel alga *Gelidium spinosum* menggunakan metode *Green synthesis* menggunakan AgNO₃. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH sedangkan pengujian penghambatan enzim kolagenase menggunakan substrat *bovine collagen*. Kemudian untuk kontrol positif menggunakan asam askorbat dan kontrol negatif menggunakan sampel non-nanopartikel (ekstrak alga *Gelidium spinosum*).

Adapun konsentrasi dalam pengujian antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase adalah 50 ppm; 100 ppm; 150 ppm; 200; dan 250 ppm. Pembacaan nilai absorbansi untuk uji aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase menggunakan UV-Vis spektrofotometer merk. Kemudian hasil analisis datanya dinyatakan dalam bentuk IC₅₀.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase nanopartikel alga *Gelidium spinosum* ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2021. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender (merk signora), saringan whatmann 0.01 mm, timbangan analitik (merk sartorius), sendok, gelas kimia 500 ml (merk iwaki), *magnetic stirer*, pipet tetes, tube 15 ml, tabung sentrifugasi (merk Megafure 8R), *freezer*, mortar dan pistil, cawan petri, *hot plate* (merk cimarec), spektrofotometer UV-Vis (merk Bio-rad), plastik *wrap*, pengaduk, inkubator, mikropipet 20-200 µl (merk Bio-rad) dan 100-1000 µl (merk Bio-rad), kertas label dan alat tulis.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak alga *Gelidium spinosum*, *Silver nitrate* (AgNO_3), akuades, etanol absolut, larutan DPPH, enzim kolagenase, buffer trisin (campuran trisin, kalsium klorida, sodium klorida), TCA, tirosin, asam askorbat, folin, dan substrat *bovine collagen*.

3.4 Cara Kerja Penelitian

3.4.1 Ekstraksi Alga Merah *Gelidium spinosum*

Cara kerja dalam ekstraksi alga dengan modifikasi yaitu alga *Gelidium spinosum*. dikeringkan, kemudian dipotong kecil-kecil, dimasukkan ke dalam blender dan dihaluskan. Selanjutnya disaring dengan saringan whatmann 0.01 mm sampai memperoleh serbuk yang halus. Sampel serbuk ditimbang sesuai dengan kebutuhan. Setelah itu, sampel dilarutkan dengan akuades sebagai pelarutnya dengan perbandingan sampel:akuades yaitu 1:10 g/ml. Kemudian dihomogenkan dengan stirer pada suhu 30°C selama ± 15 menit. Dimasukkan kedalam tube 15 ml dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm pada suhu 4 °C selama 15 menit. Setelah itu, diambil supernatan dari hasil ekstraksi *Gelidium spinosum*.

3.4.2 Sintesis Nanopartikel perak (AgNPs)

Prosedur kerja dalam pembuatan nanopartikel perak mengacu dalam jurnal Rajivgandhi, *et al.* (2020) dengan modifikasi, yaitu dengan mengambil 100 ml perak nitrat (AgNO_3) 1 mM dan 100 ml ekstrak alga *Gelidium spinosum* (rasio perbandingan 1:1) kemudian diinkubasi dalam kondisi ruangan gelap dan suhu ruangan. Kemudian perubahan warna diamati setelah 1 jam apabila larutan berubah menjadi kuning coklat pada suhu kamar, maka menunjukkan bahwa pembentukan nanopartikel selesai. Selanjutnya larutan disentrifuge selama 30 menit pada suhu 20 °C selama 30 menit. Kemudian pelet hasil sentrifugasi dikeringkan dalam oven dengan suhu 45 °C selama 24 jam dan selanjutnya pelet dihaluskan, nanopartikel alga *Gelidium spinosum* siap untuk diuji aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase.

3.4.3 Uji Particle Size Analysis (PSA)

Prosedur kerja dalam pengujian ukuran partikel menggunakan metode PSA (*Particle Size Analysis*) yang mengacu pada jurnal Nuraeni, dkk (2013) yaitu pertama alat PSA dipanaskan selama sekitar 20 menit. Setelah itu, dinyalakan perangkat komputer yang terhubung dengan alat. Kemudian mulai dilakukan pengaturan pada alat. Larutan standar 20 kali pengenceran dikocok menggunakan vortex mixer selama ± 1 menit. Kemudian dimasukkan ke dalam cuvet bersih hingga terisi 2/3 cuvet. Setelah itu cuvet yang berisi larutan standar di masukkan kedalam alat dan ditutup dengan sebuah sensor. Sebelum diukur, suhu dikondisikan terlebih dahulu pada 25°C dengan menekan menu “Temp.Panel”. Standar mulai diukur dengan menekan menu “Auto1”. Maka secara otomatis alat akan mengukur besarnya ukuran partikel sebanyak enam kali pengukuran. Prosedur yang sama

dilakukan terhadap larutan standar 200 kali pengenceran dan 2000 kali pengenceran. Prosedur selanjutnya menggunakan cara otomatis dengan bentuk distribusi *sharp*. Prosedur dilakukan sama dengan pada metode otomatis pertama, tetapi pengaturan grafik distribusi diganti dengan bentuk *sharp*.

3.4.4 Uji Antioksidan

Pengujian antioksidan ini menggunakan metode DPPH (larutan *1,1-diferil-2-pikrihidrazil*) dengan modifikasi meliputi tahapan sebagai berikut:

1. Pembuatan Larutan Stok DPPH

Larutan DPPH yang digunakan memiliki konsentrasi 0,1 mM dengan melarutkan serbuk DPPH sebanyak 1,97 mg dengan 50 ml pelarut methanol pro analisis kemudian dihomogenkan.

2. Pembuatan Larutan Berseri

Larutan berseri disiapkan untuk sampel nanopartikel, ekstrak dan juga asam askorbat dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Sampel nanopartikel alga *Gelidium spinosum* dibuat dengan 5 seri konsentrasi yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm. Perhitungan massa nanopartikel yang ditambahkan menggunakan rumus $\text{ppm} = \text{mg/L}$ sehingga didapatkan massa nanopartikel disetiap konsentrasinya yaitu 0,25 mg, 0,5 mg, 0,75 mg, 1 mg, dan 1,25 mg kemudian masing-masing dilarutkan dengan 5 ml akuades.

Pembuatan larutan berseri pada ekstrak *Gelidium spinosum* juga dibuat dengan 5 seri konsentrsi yang sama dengan nanopartikel alga, yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm dan 250 ppm. Perhitungan volume penambahan ekstrak menggunakan rumus pengenceran $M_1.V_1 = M_2.V_2$ sehingga didapatkan volume ekstrak 250 μl , 500 μl , 750 μl , 1000 μl , 1250 μl yang masing-masing dilarutkan dengan 5 ml akuades.

Pembuatan larutan berseri untuk asam askorbat dilakukan sebagai standar dengan membuat larutan stok asam askorbat dengan melarutkan 0,5 mg askorbat dalam akuades 100 ml. Adapun konsentrasi yang diujikan adalah 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm, sehingga didapatkan volume askorbat yang diambil masing-masing 40 µl, 80 µl, 160 µl dan 200 µl serta dilarutkan dalam akuades hingga 10 ml.

3. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan acuan menurut Rahmayani, dkk (2013) dengan modifikasi. Pertama dilakukan penentuan seri konsentrasi, kemudian mengambil 500 µl larutan sampel dan 500 µl larutan DPPH kedalam tube, dan dibuat dengan ulangan 3 kali. Selanjutnya larutan diinkubasi dengan suhu ruang selama 30 menit dalam tempat gelap. Kemudian larutan dibaca absorbansinya dengan alat UV-Vis spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm dan diulangi pembacaannya sebanyak 3 kali.

3.5.3 Uji Aktivitas Penghambatan enzim kolagenase

Pengujian penghambatan enzim kolagenase ini menggunakan acuan metode yang dipaparkan dalam jurnal penelitian Geeta, *et al.*, (2019) dengan modifikasi yaitu dengan mencampurkan 20 uL sampel, 20 uL kolagenase (yang diperoleh dari enzim *clostridium histolyticum*) dan 20 uL buffer trisin (campuran 50 mM trisin, 10 mM kalsium klorida, 100 mM Sodium klorida serta pada pH 7.5) kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam suhu 37°C. Setelah itu dimasukkan 20 uL substrat *bovine collagen* sebanyak 100 µl dan kembali diinkubasi selama 10 menit dengan suhu yang sama. Kemudian larutan ditambahkan 400 µl TCA 5% dan 200

µl Folin Ciocalteu. Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan UV-Vis spektrofotometer dengan gelombang 378 nm dan diulangi setiap sampel sebanyak 3 kali pengulangan pembacaan.

Pembuatan larutan blanko menggunakan 40 µl buffer dan 20 µl akuades. Selanjutnya enzim kolagenase direaksikan tanpa inhibitor dengan reaksi yang sama seperti sampel. Semua sampel dibaca absorbansinya dengan panjang gelombang 578 nm sebanyak 3 kali menggunakan alat UV-Vis Spektrofotometer. Kontrol positif dalam pengujian ini juga menggunakan asam askorbat sebagai pembanding.

Persentase inhibisi enzim dihitung dengan melihat aktivitas enzim kolagenase yang direaksikan dengan sampel. Rumus yang digunakan yaitu:

$$UA = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{absorbansi blanko}}{\text{absorbansi standar} - \text{absorbansi blanko}} \times PX1/T$$

Dengan:

UA/ml = jumlah tirosin yang dihasilkan enzim per menit

P = pengenceran

T = waktu inkubasi (10 menit)

Kemudian dihitung persentase penghambatan kolagenase menggunakan rumus dan dihitung IC₅₀.

3.6 Parameter Penelitian

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pengujian antioksidan nanopartikel alga *Gelidium spinosum*

Pengujian antioksidan ini menggunakan metode DPPH kemudian dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Wungkana, dkk, 2013):

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Tabel 3.1 Penggolongan kategori penghambatan aktivitas antioksidan
(Febrianti, dkk, 2017)

Kemampuan Penghambatan	Nilai IC ₅₀
Sangat Kuat	< 50 ppm
Kuat	50 – 100 ppm
Sedang	100 – 200 ppm
Lemah	200 – 500 ppm

2. Pengujian penghambatan enzim kolagenase nanopartikel alga *Gelidium sp.*

Pengujian penghambatan enzim kolagenase ini menggunakan substrat *bovine collagen* kemudian dihitung presentase menggunakan rumus sebagai berikut (Geeta, *et al.*, 2019):

$$\% \text{ collagenase inhibition} = 1 - \frac{\text{control absorbance} - \text{sample absorbance}}{\text{control absorbance}} \times 100\%$$

Tabel 3.2 Penggolongan kategori penghambatan enzim kolagenase
(Tanur *et al*, 2020)

Kemampuan Penghambatan	Nilai IC ₅₀
Sangat Kuat	< 50 ppm
Kuat	50 – 100 ppm
Sedang	101 – 150 ppm
Lemah	>150 ppm

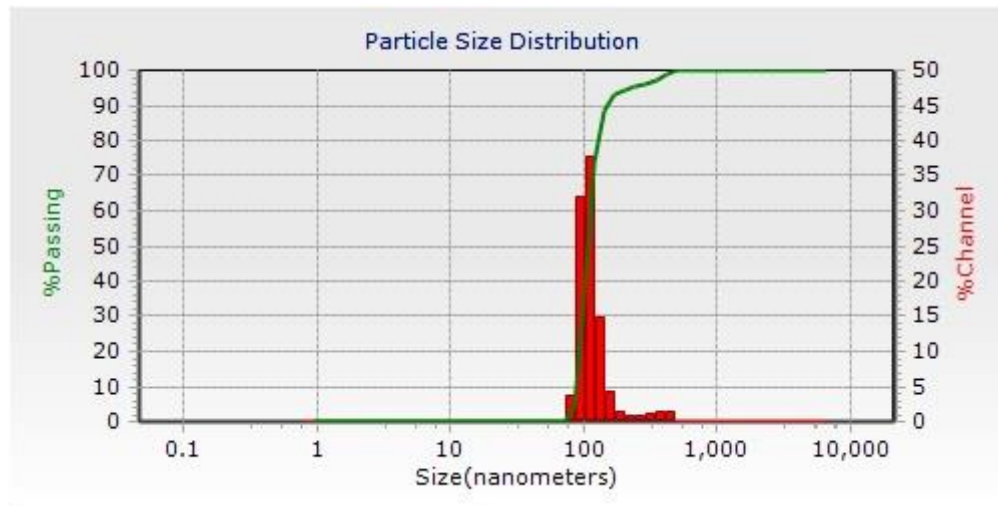
3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa nilai absorbansi yang kemudian dianalisis untuk mencari nilai IC_{50} dengan aplikasi graphPad Prism version 7. Sedangkan untuk analisis korelasi menggunakan korelasi pearson dengan aplikasi microsoft excel.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kemampuan ekstrak *Gelidium spinosum* menjadi bioreduktor nanopartikel perak



Gambar 4.1 Distribusi Ukuran Partikel AgNPs *Gelidium spinosum*

Distribusi ukuran nanopartikel perak (AgNPs) yang terbentuk dalam penelitian ini memiliki ukuran rata-rata 107,1 nm setelah dilakukan analisis menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA), yang dapat dilihat pada gambar 4.1. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak alga merah *Gelidium spinosum* dapat menghasilkan nanopartikel perak. Sesuai dengan pendapat Ahdyani dkk, (2020) bahwa partikel yang berukuran 10-1000 nm sudah dapat disebut sebagai nanopartikel. Saryanti, dkk (2019) menambahkan bahwa nanopartikel banyak dimanfaatkan sebagai penghantar obat karena memiliki kemampuan untuk menghidrasi kulit, menaikkan dampak absorpsi, menambah daya masuknya zat aktif dan juga untuk sistem lepas terkendali. Menurut pendapat Khodashenas, (2019) bahwa perlakuan yang dilakukan selama pembuatan nanopartikel dapat mempengaruhi ukuran dan juga bentuknya, seperti suhu, konsentrasi AgNO_3 , pH,

serta metode yang dilakukan. Mustari, dkk (2019) menambahkan bahwa ekstraksi tanaman akan memperoleh enzim, protein, flavonoid, dan terpenoid yang mampu berperan sebagai agen bioreduktor dan agen stabilizer dalam sintesis nanopartikel.

Tabel 4.1 Hasil PSA (Particle Size Analyzer) pada Nanopartikel Perak (AgNPs) alga merah *Gelidium spinosum*

PARAMETER	NILAI
MN (Mean Number Diameter)	103.2 nm
MI (Mean Intensity Diameter)	123.6 nm
MA (Mean Area Diameter)	111.7 nm
PDI (Polidispersitas Indeks)	0.02657

Tabel 4.1 menunjukkan hasil PSA selain ukuran sampel nanopartikel perak yang diuji, yakni terdapat nilai MN (*Mean Number Diameter*), MI (*Mean Intensity Diameter*), MA (*Mean Area Diameter*) dan PDI (*Polidispersitas Index*). Adapun nilai MN (*Mean Number Diameter*) pada nanopartikel perak *Gelidium spinosum* yaitu 103.2 nm. Menurut Microtac (2005), *Mean Number Diameter* (MN) adalah diameter rata-rata yang dihitung menggunakan data distribusi volume dan ditimbang menjadi partikel-partikel kecil dan berhubungan dengan populasi partikel.

MI (*Mean Intensity Diameter*) bernilai 123.6 nm. MI berarti diameter rata-rata dari intensitas distribusi suatu partikel yang dihitung dari intensitas distribusi. Rata-rata intensitas tidak dikoreksi untuk efek pembiasan namun hanya mencerminkan hubungan sinyal dari cahaya yang terdeteksi. Nilai ini hanya akan ditampilkan ketika intensitas distribusi disajikan (Microtac, 2005).

MA (*Mean Area Diameter*) pada pengujian PSA ini bernilai 111.7 nm. Menurut Microtac (2005), MA adalah diameter rata-rata area yang mana mengukur permukaan suatu partikel. Sedangkan untuk nilai PDI (*Polidispersitas Index*) bernilai 0.02657 yang menunjukkan bahwa distribusi partikelnya homogen. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Taurina, dkk (2017) dalam jurnalnya bahwa indeks polidispersitas menunjukkan distribusi ukuran partikel dimana rentang indeks polidispersitas berada diantara 0 sampai dengan 1. Nilai polidispersitas yang mendekati nol menunjukkan distribusi partikel yang homogen atau seragam sedangkan yang melebihi 0.5 maka memiliki tingkat heterogenitas yang tinggi

Penelitian mengenai sintesis nanopartikel perak menggunakan ekstrak alga *Gelidium spinosum* yang mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, steroid dan juga katekin ini dilakukan dengan metode *green synthesis* perak nitrat (AgNPs). Nanopartikel disintesis dengan masa inkubasi selama 1 jam pada suhu kamar di tempat yang gelap. Kemudian larutan tersebut berubah warna dari kuning kemerahan menjadi kuning kecoklatan. Hal tersebut menunjukkan bahwa telah terbentuk nanopartikel perak. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Singh *et al.*, (2021) bahwa sintesis nanopartikel perak dilakukan menggunakan 1 mM perak nitrat yang direaksikan dengan ekstrak tumbuhan. Nanopartikel perak terbentuk dalam waktu satu jam dengan pengadukan pada suhu kamar (30°C). Dalam hal ini, perubahan warna menjadi coklat kekuningan menunjukkan nanopartikel telah terbentuk. Ekstrak tumbuhan ataupun alga bertindak sebagai pereduksi dan juga *capping agent* dalam sintesis nanopartikel yaitu melalui gugus amino serta polisakarida sulfat. Brar *et al.*, (2019) menambahkan bahwa metabolit sekunder berupa flavonoid memiliki kemampuan

mengikat logam dengan cara mendonorkan elektronnya pada ion Ag^+ sehingga berubah menjadi Ag^0 karena flavonoid mempunyai gugus hidroksil (OH) dan karbonil (CO).

4.2 Aktivitas Antioksidan Nanopartikel Perak (AgNPs) *Gelidium spinosum*

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan nanopartikel perak alga merah *Gelidium spinosum* dilakukan menggunakan metode DPPH (larutan 1,1-diferil-2-pikrihidrazil) yang dibuat dengan konsentrasi berbeda untuk mengetahui tingkat aktivitas antioksidan yaitu 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan, didapatkan hasil nilai IC_{50} yang berbeda antara nanopartikel dan ekstrak *Gelidium spinosum* yang dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Aktivitas Antioksidan oleh Nanopartikel, Ekstrak *Gelidium spinosum*, dan asam askorbat

SAMPEL	IC_{50} (ppm)	KATEGORI (Febrianti, dkk, 2017)
Nanopartikel	18.34 ± 5.147	SANGAT KUAT
Ekstrak	19.57 ± 6.051	SANGAT KUAT
Asam Askorbat	1.808 ± 0.0067	SANGAT KUAT

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa nilai IC_{50} nanopartikel perak (AgNPs) *Gelidium spinosum* sebesar 18.34 ± 5.147 ppm yang lebih kecil dibandingkan dengan nilai IC_{50} ekstrak *Gelidium spinosum* sebesar 19.57 ± 6.051 ppm, namun lebih besar jika dibandingkan dengan kontrol positif berupa asam askorbat yaitu dengan nilai 1.808 ± 0.0067 ppm. Hasil nanopartikel perak (AgNPs) *Gelidium spinosum* termasuk dalam kategori sangat kuat, sehingga dapat dikatakan bahwa pembentukan nanopartikel perak *Gelidium spinosum* dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dalam mendegradasi radikal bebas. Nilai IC_{50} AgNPs *Gelidium spinosum* memiliki nilai yang lebih rendah daripada ekstraknya, hal tersebut

dikarenakan keefektifan nanopartikel dalam mendegradasi molekul DPPH, sehingga aktivitas antioksidannya lebih kuat daripada bentuk ekstrak. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Febrianti, dkk (2017) dalam jurnalnya bahwa prinsip dari metode DPPH yaitu semakin rendah nilai IC_{50} maka peran antioksidan akan semakin besar. Menurut pendapat Elemika (2017) menyatakan bahwa senyawa bioaktif pada tumbuhan atau alga bertindak sebagai *capping agent* dan juga katalisator untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga nanopartikel perak memiliki aktivitas yang lebih baik jika dibandingkan dengan non-nanopartikel atau ekstrak. Restrepo, *et al.*, (2021) menambahkan bahwa gugus fungsi tertentu yang terdapat pada senyawa bioaktif dapat melekat pada permukaan AgNP, dengan demikian AgNP menjadi stabil. Menurut Singh *et al.*, (2021) dalam penelitian yang telah dilakukannya menyatakan bahwa nanopartikel perak (AgNPs) yang disintesis menunjukkan aktivitas antioksidan potensial melalui uji DPPH. AgNPs ini juga menunjukkan aktivitas antibakteri potensial terhadap bakteri patogen sehingga jelas menunjukkan bahwa AgNPs hasil *green synthesis* dapat menghasilkan antioksidan yang efektif dan juga sebagai agen antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan potensi antioksidan AgNPs meningkat dari 5-15% konsentrasi. Aktivitas antioksidan penangkap radikal bebas DPPH dapat mencapai kapasitas antioksidan tinggi sekitar 90,3% untuk AgNPs yang disintesis pada suhu 25°C. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Bunghez (2012) dalam Sari, dkk (2016) menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara nanopartikel perak bahan alam dengan kemampuan antioksidannya. Efektifitas antioksidan dari tumbuhan sangat bergantung dengan ukuran nano/mikro partikelnya, apabila

semakin kecil ukurannya maka akan semakin efektif pula kemampuan antioksidannya.

Sedangkan hasil dari ekstrak *Gelidium spinosum* menghasilkan nilai IC_{50} 19.57 ± 6.051 ppm yang termasuk dalam kategori sangat kuat namun nilai IC_{50} ekstrak masih lebih besar jika dibandingkan dengan kontrol positif berupa asam askorbat dengan nilai IC_{50} 1.808 ppm. Pembuatan ekstrak *Gelidium spinosum* dalam penelitian ini menggunakan pelarut akuades yang diinkubasi serta dihomogenkan dalam suhu ruang. Total kandungan fenol yang dihasilkan dalam proses ekstraksi dengan suhu ruang mengandung kadar fenol yang lebih banyak, sehingga aktivitas antioksidannya juga akan meningkat. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Thoo *et al.*, (2010) dalam jurnalnya bahwa suhu yang meningkat berpengaruh hasil senyawa fenolik yang diperoleh. Peningkatan suhu dapat mendorong ekstraksi pelarut dengan meningkatkan koefisien difusi dan kelarutan kandungan polifenol, sehingga terjadi peningkatan permeabilitas membran sel kemudian pelepasan polifenol menjadi lebih banyak. Kandungan flavonoid dalam alga berperan sebagai agen antioksidan alami akan akan menghambat ataupun mencegah proses oksidasi yang disebabkan oleh radikal, sehingga resiko kanker dapat diturunkan (Agustina, dkk 2018). Wikanta, dkk (2005) menambahkan bahwa biota laut seperti alga yang hidup di laut dangkal mempunyai kandungan *UV-absorbing substance* yang lebih tinggi jika daripada alga yang hidup di lautan dalam sehingga UVAS berfungsi sebagai penghambat penetrasi sinar UV kedalam sel alga.

Alga merah *Gelidium spinosus* memiliki senyawa metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid yang berperan sebagai agen antioksidan dan juga bioreduktor dalam pembentukan nanopartikel perak. Menurut penelitian Ku *et al*,

(2008) dalam Leksono dkk (2018), alga *Gelidium spinosum* mengandung senyawa katekin yang menjadi antioksidan kuat melebihi vitamin E, C dan betakaroten. Katekin yang dimilikinya adalah jenis *epigallocatechin-gallate* (EGCG), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin-gallate* (ECG), *galocatechin*, dan *catechin*. Katekin menjadi salah satu jenis fenolik yang berpotensi sebagai agen antioksidan serta antibakteri. Pengujian untuk aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH (larutan *1,1-diferil-2-pikrihidrazil*) serta asam askorbat sebagai kontrol positifnya. Sesuai dengan pendapat Febrianti dkk, (2017) dalam jurnalnya bahwa metode DPPH menjadi metode pengujian antioksidan yang memiliki prinsip penghilangan warna yang dilihat dari nilai absorbansi hasil pembacaan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Radikal dalam DPPH merupakan nitrogen yang bersifat organik yang warna ungu gelap, apabila mengalami reduksi akan berubah menjadi warna kuning.

Pemberian konsentrasi yang semakin tinggi dalam pengujian antioksidan menghasilkan persentase penghambatan yang meningkat. Hal tersebut dikarenakan kandungan senyawa fitokimia akan semakin banyak menangkal radikal bebas apabila konsentrasinya semakin tinggi. Sesuai dengan pendapat Kup et al, (2020) bahwa peningkatan aktivitas antioksidan diikuti dengan meningkatnya konsentrasi zat aktif yang diberikan atau terkandung didalamnya.

4.3 Aktivitas Penghambatan Enzim Kolagenase Nanopartikel perak (AgNPs) *Gelidium spinosum*

Tabel 4.3 Aktivitas Penghambatan Enzim Kolagenase oleh Nanopartikel *Gelidium spinosum*, Ekstrak *Gelidium spinosum* dan Asam Askorbat

SAMPEL	IC ₅₀ (ppm)	KATEGORI (Tanur <i>et al</i> , 2020)
Nanopartikel	46.58 ± 3.64941	KUAT
Ekstrak	128.0 ± 1.2915	SEDANG
Asam Askorbat	1.689 ± 0.30335	SANGAT KUAT

Pengujian penghambatan enzim kolagenase yang dilakukan pada nanopartikel perak alga merah *Gelidium spinosum*, ekstrak dan juga asam askorbat menghasilkan nilai IC₅₀ yang berbeda seiring dengan peningkatan konsentrasi yang diujikan. Hasil persentase penghambatan enzim kolagenase yang diperoleh dapat dilihat dalam tabel 4.3. Berdasarkan tabel tersebut, persentase aktivitas penghambatan enzim kolagenase oleh senyawa nanopartikel sekitar 49-87% dengan nilai IC₅₀ 46.58 ± 3.64941 ppm yang tergolong dalam kategori kuat. Kemudian sampel ekstrak memiliki persentase penghambatan sekitar 18-80% terhadap enzim kolagenase dengan nilai IC₅₀ 128.0 ± 1.2915 ppm yang tergolong dalam kategori sedang. Sedangkan asam askorbat yang digunakan sebagai pembandingnya memiliki persentase penghambatan terhadap enzim kolagenase sekitar 44-53% dengan nilai IC₅₀ 1.689 ± 0.30335 ppm dan tergolong dalam kategori sangat kuat dalam menghambat aktivitas enzim kolagenase. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Tanur *et al*, (2020) bahwa untuk penghambatan enzim kolagenase nilai IC₅₀ dapat dikategorikan menjadi 5 yaitu untuk nilai IC₅₀ < 50 dalam kategori sangat kuat, nilai IC₅₀ 51-100 kategori kuat, nilai IC₅₀ 101-150 kategori sedang dan nilai IC₅₀ >150 dalam kategori lemah.

Hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa AgNPs alga merah *Gelidium spinosum* mampu menghambat aktivitas enzim kolagenase yang lebih baik dari pada ekstrak. Hal tersebut dikarenakan dalam bentuk nanopartikel perak, partikel-partikel tersebut berukuran sangat kecil dan memiliki luas permukaan yang besar, sehingga kandungan fenolik yang berfungsi sebagai agen antioksidan juga sangat tinggi. Oleh karena kandungan antioksidannya yang tinggi sehingga juga dapat menghambat aktivitas kerja enzim kolagenase dengan baik. Menurut Singh, *et al*, (2021) dalam penelitiannya bahwa nanopartikel perak memiliki hasil ekspansi permukaan yang tinggi sehingga memberikan kontak maksimum dengan lingkungan. Flavonoid yang terkandung dalam alga merah mampu menutup atau membatasi AgNPs dalam ikatannya, dengan demikian meningkatkan aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari AgNPs juga dilaporkan pada banyak penelitian AgNPs yang sintesis dari ekstrak tanaman.

Nanopartikel perak alga merah *Gelidium spinosum* memiliki nilai IC_{50} yang lebih tinggi daripada ekstrak. Hal tersebut dikarenakan bentuk dan ukurannya telah berubah menjadi nanopartikel sehingga memiliki luas permukaan yang tinggi dan kandungan antioksidan yang kuat pula. Maka dari itu, AgNPs alga merah *Gelidium spinosum* mampu menghambat aktivitas enzim kolagenase dengan baik. Mustafa, *et al* (2019) menambahkan dalam penelitiannya bahwa nilai IC_{50} nanopartikel perak lebih kecil daripada nilai IC_{50} ekstrak. Hal tersebut menunjukkan bahwa nanopartikel yang terbentuk dapat menghambat aktivitas enzim kolagenase yang lebih baik daripada ekstrak karena mengandung antioksidannya yang lebih tinggi.

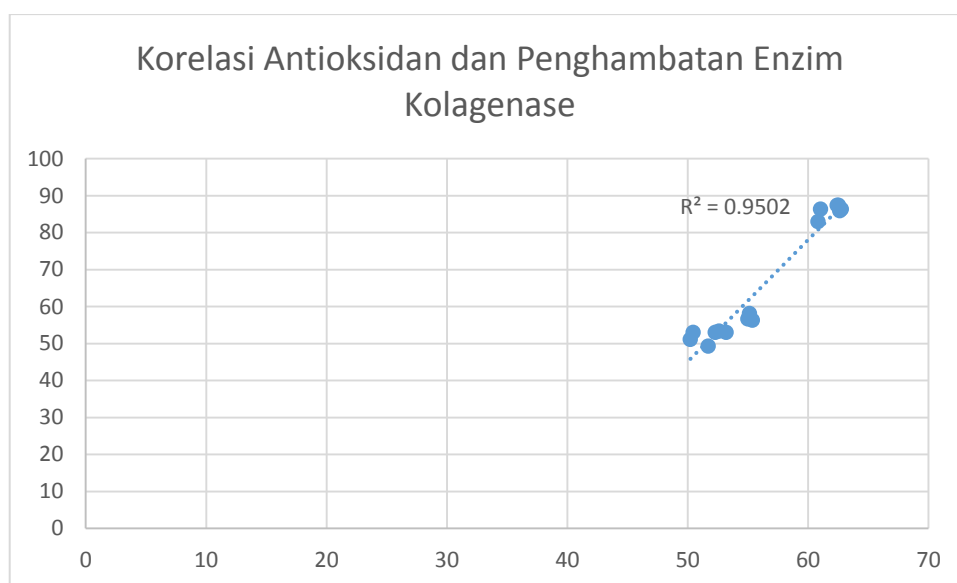
Menurut Hartmann, *et al*. (2015) kolagen berperan untuk memberikan dukungan struktural dalam tulang, kulit, tendon, ligamen, pembuluh darah, dan juga

memberikan kekuatan pada elastisitas kulit. Proses penuaan juga dapat terjadi akibat aktivitas dari beberapa enzim proteolitik seperti tirosinase, kolagenase, hyaluronidase dan elastase (Widowati *et al.*, 2017 dalam Greeta *et al.*, 2019). Enzim kolagenase akan mempengaruhi pendegradasian kolagen dengan menghidrolisis ikatan peptida di dalam kolagen dan memecahnya menjadi fragmen-fragmen yang kecil (Boggio *et al.*, 2011) sehingga akan merusak jaringan kulit dermal serta menghilangkan elastisitas kulit. Peningkatan enzim ini dapat dipengaruhi oleh radiasi sinar *ultraviolet* (UV) yang merangsang untuk membentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS) misalnya hidrogen peroksida dan menghambat kolagen (Greeta *et al.*, 2019). Sehingga untuk menghambat aktivitas enzim kolagenase diperlukan antioksidan yang dapat diperoleh dari ekstrak tumbuhan. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Pientaweeratch *et al.* (2016), bahwa polifenol yang terkandung di dalam tanaman dapat berikatan dengan rantai samping gugus fungsi enzim kolagenase. Selain itu, interaksi hidrofobik antara cincin benzen polifenol dan kolagenase akan mengakibatkan perubahan formasi sehingga menyebabkan enzim tidak berfungsi.

4.4 Korelasi Aktivitas Antioksidan dengan Penghambatan Enzim Kolagenase oleh Nanopartikel perak alga merah *Gelidium spinosum*

Korelasi antara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim oleh nanopartikel perak alga merah *Gelidium spinosum* memiliki nilai koefisien korelasi 0,974 yang dihitung menggunakan korelasi pearson dalam aplikasi excel, seperti pada gambar 4.2 dan termasuk dalam korelasi positif. Menurut Safitri (2016) koefisien korelasi adalah ukuran keeratan hubungan diantara dua variabel yang diuji. Hasil nilai koefisien korelasi (r) dalam penelitian ini menunjukkan bahwa hubungan korelasi antar aktivitas antioksidan dan aktivitas penghambatan enzim kolagenase tersebut memiliki hubungan yang sangat tinggi. Sesuai dengan pendapat

Bertan (2016) dalam jurnalnya bahwa interval koefisien korelasi pearson dengan rentang nilai 0.800-1.000 memiliki tingkat hubungan yang sangat tinggi. Selain itu, nilai koefisien korelasi (r) juga bernilai positif yang berarti hubungannya berbanding lurus, yang artinya bahwa semakin tinggi antioksidan yang terkandung maka akan semakin tinggi pula aktivitas penghambatannya terhadap enzim kolagenase. Sesuai dengan pendapat Budiwanto (2017) dalam bukunya yang menyatakan bahwa apabila nilai koefisien korelasi bernilai positif maka menunjukkan arah hubungan yang berbanding lurus diantara variabelnya. Selain itu letak titik-titik dalam grafik yang berkumpul dari sudut kiri bawah ke sudut kanan atas menunjukkan korelasi positif antar variabel.



Gambar 4.2 Gambar grafik korelasi antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase

Korelasi yang kuat diantara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak alga merah *Gelidium spinosum* dikarenakan di dalam *Gelidium spinosum* terdapat senyawa bioaktif yang termasuk dalam agen antioksidan sehingga dapat menghambat aktivitas enzim kolagenase. ROS dan juga

senyawa radikal bebas lainnya dapat menyebabkan peningkatan aktivitas enzim kolagenase, sehingga dengan adanya antioksidan maka enzim kolagenase dapat dihambat aktivitasnya. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Zemour (2019) yang menyatakan bahwa adanya senyawa bioaktif mengakibatkan alga merah dapat menjadi agen antioksidan dan juga menghambat enzim kolagenase. Nur, dkk (2017) menambahkan bahwa senyawa fenolik dan flavonoid mempunyai cincin fenol yang dapat menghambat ROS, mereduksi ion logam, memodulasi fosforilasi protein yang dapat menghambat kerja enzim dan peroksidasi lemak.

Kajian Al-Qur'an mengenai nanopartikel yang dinisbatkan pada kata *dzarrah* yang berarti ukuran partikel yang sangat kecil. Sesuai dengan firman Allah SWT dalam Al-quran surah An-Nisa' ayat 40 sebagai berikut:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَظْلِمُ مِثْقَالَ ذَرَّةٍ وَإِنْ تَكَ حَسَنَةً يُّضْعِفْهَا وَيُؤْتِ مِنْ لَدُنْهُ أَجْرًا عَظِيمًا - ٤٠

Artinya: *“Sesungguhnya Allah tidak menganiaya seseorang walaupun sebesar zarrah dan jika ada kebajikan sebesar zarrah, niscaya Allah melipat gandakannya dan memberikan dari sisiNya pahala yang besar”* (QS. An-Nisa (4): 40).

Menurut Isnanto (2018) ayat tersebut menjelaskan bahwa pada lafadz *zarrah* dapat dimaknai dengan tubuh yang paling kecil, semut ataupun debu yang tampak pada cahaya matahari yang masuk melalui kaca. Berdasarkan pemikiran Al-Maraghi, menyatakan bahwa arti lafaz tersebut memiliki pengertian yang mendalam karena mempunyai makna yang luas, tidak hanya sebatas biji sawi. Dalam tafsir Al Azhar menjelaskan bahwa atom masih dapat dibagi lagi menjadi neutron, proton dan elektron. Jadi dapat disimpulkan bahwa kata *zarrah* memiliki beberapa makna

yang berbeda namun tetap mempunyai esensi yang sama yaitu suatu hal yang terkecil yang ada di dunia ini salah satunya dapat diartikan dengan nanopartikel.

Peneliti kini banyak yang meneliti tentang nanopartikel, karena memiliki banyak kelebihan jika dibandingkan dengan partikel yang berukuran diatas nanometer. Mengenai hal tersebut Allah SWT berfirman dalam surah Ali Imron ayat 190-191 sebagai berikut:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۝ ١٩٠

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَٰذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۝ ١٩١

Artinya: *“sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Maha Suci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka” (QS. Ali Imron (3): 190-191).*

Ayat tersebut menjelaskan bahwa sebagai manusia yang telah diberikan karunia berupa akal pikiran, harus digunakan sebagaimana mestinya untuk merenung dan berfikir mengenai apa yang telah Allah ciptakan. Menurut Purwasih (2018) ayat ini menjelaskan tentang *ulul albab* yakni orang yang selalu berdzikir, berfikir, tawakkal, bakti serta ibadah pada Allah SWT. Dengan adanya perintah dari ayat tersebut, manusia diwajibkan untuk memikirkan ciptaan Allah dan juga tentang kerusakan sel dan penuaan dini yang diakibatkan oleh aktivitas radikal bebas. Selain itu, manusia juga dianjurkan berfikir misalnya dengan melakukan penelitian

mengenai aktivitas antioksidan sehingga dapat mengetahui manfaat dari alga merah *Gelidium spinosum* yang memiliki aktivitas antioksidan yang bermanfaat untuk kesehatan yakni mencegah penyakit degeneratif seperti kanker, tumor, penuaan dini dan lain sebagainya.

Alga merah *Gelidium spinosum* memiliki pigmen atau zat warna jenis fikoeritrin karena tergolong dalam *Rhodophyta*. Menurut Meriam, dkk (2016) alga merah yang memiliki kandungan klorofil baik a maupun b dan juga berbagai pigmen seperti fikoeritrin, karoten, xantofil dan fikobilin). Mengenai zat warna yang ada dalam alga, Allah SWT berfirman didalam Al-Qur'an surah Fathir ayat 27 yang berbunyi:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ ثَمَرَاتٍ مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهَا وَمِنَ الْجِبَالِ جُدَدٌ بَيضٌ وَحُمْرٌ
مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهَا وَغَرَابِيبُ سُودٌ - ٢٧

Artinya: “Tidaklah engkau melihat bahwa Allah menurunkan air dari langit lalu dengan air itu Kami hasilkan buah-buahan yang beraneka macam jenisnya. Dan di antara gunung-gunung itu ada garis-garis putih dan merah yang beraneka ragam warnanya dan ada (pula) yang hitam pekat”

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan berbagai macam buah-buahan yang beraneka ragam. Muhammad Zaglunnajar dalam Mahfud (2018) menyatakan bahwa ayat tersebut mengungkap fenomena alam yang sangat mengesankan dan terdapat perbedaan jenis buah-buahan yang dilambangkan dengan perbedaan warna. Perbedaan warna tersebut karena kandungan zat-zat didalamnya. Ternyata perbedaan pigmen yang ada dalam alga ataupun tumbuhan menunjukkan manfaat yang berbeda pula. Menurut penelitian yang dilakukan Ardiles *et al.*, (2020) bahwa warna merah yang dihasilkan oleh alga merah *Gelidium*

spinosum ini menjadikannya sebagai agen antioksidan yang dapat menghambat proses oksidasi radikal bebas.

Allah SWT menjadikan manusia sebagai khalifah di muka bumi yang berarti memiliki tanggung jawab dalam menjaga, melestarikan serta menyelesaikan masalah yang terjadi di bumi, sesuai dengan firman Allah SWT dalam surah Al-Baqarah ayat 30:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً ۖ قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَنْ يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ ۚ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ - ٣٠

Artinya: “Dan (ingatlah) ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat, “Aku hendak menjadikan khalifah di bumi.” Mereka berkata, “Apakah Engkau hendak menjadikan orang yang merusak dan menumpahkan darah disana, sedangkan kami bertasbih memuji-Mu dan menyucikan nama-Mu?” Dia berfirman, “Sungguh, Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui.” (QS. Al-Baqarah [2]: 30).

Menurut Syihab (2002) dalam tafsir Al-Misbah, lafadz khalifah yang berarti menggantikan siapa yang datang sebelumnya. Allah memberikan penghormatan kepada manusia untuk menjalankan perintahNya dalam menjaga bumi. Selain itu, dengan karunia Allah manusia diberikan kelebihan akal yang digunakan dalam berfikir karena di bumi ini banyak pengetahuan atau ilmu untuk menyelesaikan masalah yang terjadi, salah satunya adalah masalah radikal bebas yang mengganggu kesehatan. Dengan belajar ilmu pengetahuan mengenai alga merah *Gelidium spinosum*, manusia menjadi mengetahui bahwa didalamnya terdapat senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan untuk menyelesaikan masalah

kesehatan terkait dengan aktivitas radikal bebas misalnya kanker, penyakit degeneratif, penuaan dini dan lain sebagainya serta dapat digunakan untuk mengedukasi masyarakat dalam mengoptimalkan potensi alga merah *Gelidium spinosum* untuk menjaga kesehatan dari bahaya radikal bebas

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan pada penelitian yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase oleh Senyawa Nanopartikel Alga Merah *Gelidium spinosus*” adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak alga merah *Gelidium spinosum* mampu menjadi bioreduktor dalam sintesis nanopartikel perak yang menghasilkan nanopartikel berukuran rata-rata 107,1 nm berdasarkan hasil pengujian PSA (*Particle Size Analyzer*). Hal tersebut dikarenakan di dalam alga merah *Gelidium spinosum* terdapat senyawa kimia atau metabolit sekunder seperti terpenoid dan flavonoid yang dapat digunakan sebagai bioreduktor untuk menghasilkan nanopartikel perak sehingga terjadi perubahan warna menjadi kuning kecoklatan yang mana mengindikasikan sintesis perak nanopartikel berhasil dilakukan.
2. Aktivitas antioksidan nanopartikel perak alga *Gelidium spinosus* memiliki aktivitas penghambatan dengan nilai IC_{50} dengan nilai $18,34 \pm 5,147$ ppm tergolong kategori sangat kuat, sedangkan ekstrak *Gelidium spinosus* memiliki nilai IC_{50} dengan nilai $19,57 \pm 6,051$ ppm tergolong kategori sangat kuat pula. Nilai IC_{50} nanopartikel lebih kecil daripada nilai IC_{50} ekstrak menunjukkan bahwa nanopartikel perak memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada ekstrak meskipun masih dalam kategori yang sama yaitu sangat kuat. Hal tersebut dikarenakan nanopartikel

perak memiliki hasil ekspansi permukaan yang tinggi sehingga memberikan kontak maksimum dengan lingkungan.

3. Aktivitas penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak alga *Gelidium spinosus* memiliki aktivitas penghambatan dengan nilai IC_{50} $46,58 \pm 3,64941$ ppm tergolong kategori kuat, sedangkan ekstrak *Gelidium spinosum* memiliki nilai IC_{50} dengan nilai $128,0 \pm 1,2915$ ppm tergolong kategori sedang. Hal tersebut dikarenakan nanopartikel mempunyai luas permukaan yang besar dibandingkan dengan ekstrak sehingga flavonoid yang terkandung dalam alga merah mampu menutup atau membatasi AgNPs dalam ikatannya, dengan demikian meningkatkan aktivitas antioksidannya. Apabila kandungan antioksidannya tinggi maka akan banyak molekul radikal bebas yang dihambat sehingga aktivitas enzim kolagenase juga akan terhambat.
4. Terdapat korelasi antara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak dengan nilai $r = 0,974$ dengan kategori korelasi yang sangat kuat. Hal tersebut dikarenakan molekul radikal bebas banyak yang dihambat oleh antioksidan yang berasal dari senyawa metabolit alga merah *Gelidium spinosum* sehingga enzim kolagenase menjadi terhambat karena enzim kolagenase akan aktif apabila terdapat banyak rangsangan dari adanya molekul radikal bebas.

5.2 Saran

Penelitian ini masih terdapat kekurangan, maka penulis memiliki saran untuk penelitian lanjutan yaitu sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan karakterisasi senyawa bioaktif lainnya pada ekstrak dan nanopartikel perak alga merah *Gelidium spinosum*
2. Perlu dilakukan uji lanjut secara *in vitro* (misalnya antibakteri, uji toksisitas, dll), *in silico* kemudian *in vivo*.
3. Penggunaan nanopartikel perak sangat diperlukan karena mampu dengan efektif meningkatkan aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, Siti, Novi Nur Aidha, & Eva Oktarina (2018). Ekstraksi Antioksidan *Spirulina sp.* Dengan Menggunakan Metode Ultrasonikasi dan Aplikasinya Untuk Krim Kosmetik. *Jurnal Kimia dan Kemasan*. 40(2). Hal: 105-116.
- Ahdyani, Risa, Sri Rahayu, Irfan Zamzani, & Andika. (2020). Review: Pengembangan Sistem Penghantaran Berbasis Nanopartikel dalam Sediaan Kosmesetika Herbal. *Journal Current Pharmaccutical Sciences* (JCPS). 4 (1). Page: 1-11.
- Ananda, Ekayanti Mulyawati Kaiin, Ni Wayan Kurniani Karja & Mohammad Agus Setiadi. (2019). Perkembangan Sel Endometrium Domba setelah Inkubasi dalam Kolagenase dan Dikultur in Vitro dengan Estradiol dan Progesteron. *Jurnal Veteriner*. 20 (3). Hal: 298-306.
- Arbi, Basyrowi, Widodo Farid Ma'ruf & Romadhon Romadhon. (2016). Aktivitas Senyawa Bioaktif Selada Laut (*Ulva lactuca*) sebagai Antioksidan pada Minyak Ikan. *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*. 12 (1). Hlm: 12-18.
- Ardiles, Paula, Pedro Cerezal-Mezquita, Francisca Salinas-Fuentes, Daniel Ordenes, Gabriel Renato, and Mari Carmen Ruiz-Dominguez. (2020). Biochemical Composition and Phycoerythrin Extraction from Red Microalgae: A Comparative Study Using Green Exraction Technologies. *Journal Processes*. 8. (1628). Page: 1-16.
- Ardhie, Ari Muhandari. (2011). Radikal Bebas dan Peran Antioksidan dalam Mencegah Penuaan. *Medicinus*. 24 (1).
- Asif, Mohammad. (2015). Chemistry and antioxidant activity of plants containing some phenolic compounds. *Chemistry International*. 1 (1). Page: 35-52.
- Aziz, Muhammad Alamsyah, Sofie Rifayani Krisnadi, Budi Setiabudiawan, & Budi Handono. (2018). Pengaruh Pemberian Vitamin D3 terhadap Kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada Sel PHM1-41 yang Mengalami Hipoksia. *Majalah Kedokteran Bandung*. 50 (3). Hlm: 194-200.
- Aziz, Manal Azat, Abdulkareem Shehab Diab, & Abeer Abdulrazak Mohammed. (2020). Antioxidant Categories and Mode of Action. IntechOpen.
- Bertan, Cindy Vlane. (2016). Pengaruh Pendayagunaan Sumber Daya Manusia (Tenaga Kerja) terhadap Hasil Pekerjaan (Studi Kasus Perumahan Taman Mapanget Raya (TAMARA)). *Jurnal Sipil Statik*. 4 (1). Hlm: 13-20
- Boggio, Ricardo F, Vannesa M. Freitas, Flavia M. Cassiola, Marcel Urabayashi, Glaucia M. Machado-Santelli. (2011). Effect of a calcium-channel blocker (verapamil) on themorphology, cytoskeleton and collagenase activity of humanskin fibroblasts. *BURN*. Vol 37. Page 616-625.
- Brar, S. K., Dhillon, G. S., & Soccol, C. R. (2014). Biotransformation of waste biomass into high value biochemicals. *Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals*, 9781461480(July), 1–504.
- Budiwanto, Setyo. (2017). *Metode Statistika*. Malang: UM Penerbit & Percertakan.
- Chidambararajan, P., Keerthana V, Priyadharsini K., & Sakthivel B. (2019). In Vitro Antioxidant and Anticancer Activity of *Ulva lactuca* using Molt-3 Cell Line. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 12 (5). Pg: 75-79.
- Elmegeed, Dalia F. Abd, Doaa A. Ghareeb, Muhammad Elsayed & Muhammad El-Saadani. (2014). Phytochemical constituents and bioscreening activities of

- green algae (*Ulva lactuca*). *International Journal of Agricultural Policy and Research*. Vol.2 (11), pp. 373-378.
- Fabiani, Verry Andre, Febry Sutanti, Desti Silvia & Megawati Ayu Putri. 2018. Green Synthesis Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Duan Pucuk Idat (*Cratoxylum glaucum*) sebagai Bio reduktor. *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*. 1 (2). Page: 68-76.
- Febrianti, Petrina, Wisnu Cahyo Prabowo & Laode Rijai. (2017). Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.). *Proceeding of the 5th Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman.
- Geeta, Wahyu Setia Widodo, Wahyu Widowat, Chrismis Novalinda Ginting, I Nyoman Ehrich Lister, Adek Armansyah, & Ermi Girsang. (2019). Comparison of Antioxidant and Anti-collagenase Activity of Genistein and Epicatechin. *Pharmaceutical Sciences and Research*. 6 (2). Page: 111-117.
- Ghazali, Mursal, Hiffatul Husna & Sukiman. (2018). Diversitas dan Karakteristik Alga Merah (Rhodophyta) pada Akar Mangrove di Teluk Serewe Kabupaten Lombok Timur. *Jurnal Biologi Tropis*. 18 (1). Hlm: 1-11.
- Ghimeray, Amal Kumar, Un Sun Jung, Ha Youn Lee, Young Hoon Kim, Uen Kyung Ryu, & Moon Sik Chang. (2015). In vitro Antioxidant, Collagenase Inhibition, and in vivo Anti-wrinkle Effect of Combined Formulation Containing *Punica granatum*, *Ginkgo biloba*, *Ficus carica*, and *Morus alba* Fruits Extract. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology DovePress*.
- Hartmann, Anja, Johanna Gostner, Julian E. Fuchs, Eliza Chaita, Nektarios Aligiannis, Leandros Skaltsounis & Markus Ganzera. (2015). Inhibition of Collagenase by Mycosporine-like Amino Acids from Marine Sources. Vol 81. Page: 813-820.
- Haryatfrehni, Riswi, Shinta Candra Dewi, Afra Meilianda, Selvi Rahmawati, and Ihda Zuyina Ratna Sari. (2015). Preliminary Study the Potency of Macroalgae in Yogyakarta: Extraction and Analysis of Algal Pigmen from Common Gunungkidul Seaweeds. *Procedia Chemistry Elsevier*. 14. Page: 373-380.
- Husni, Amir, Deffy R. Putra & Iwan Yusuf Bambang Lelana. (2014). Aktivitas Antioksidan *Padina* sp. Pada Berbagai Suhu dan Lama Pengeringan. *JPB Perikanan*. 9 (2). Hal 165-173.
- Isnanto, Ginanjar. (2018). *Zarrah dalam Perspektif Mufassir dan Sains*. Skripsi. Jurusan Ilmu Al-Qur'an dan Tafsir, Fakultas Ushuluddin dan Humaniora Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang
- Japa, Lalu, Syamsul Bahri, & Prapti Sedijani. (2018). Mengenal Fitoplankton untuk penguatan Materi Kompetensi Dasar Protista pada Siswa Jurusan IPA (Biologi) MA Hidayatul Muhsinin Desa Labulia Lombok Tengah. *Jurnal Pengabdian Magister Pendidikan IPA*. 1 (1).
- Kasim, Ma'ruf. (2016). *Makro Alga: Kajian Biologi, Ekologi, Pemanfaatan, dan Budidaya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Khaira, Kuntum. (2010). Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-oksidan. *Jurnal Sainstek*. 2 (2). Hal: 183:187.
- Khodashenas, B., & Ghorbani, H. R. (2019). Synthesis of silver nanoparticles with different shapes. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8).

- Küp, F. Ö., Çoşkunçay, S., & Duman, F. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles using leaf extract of *Aesculus hippocastanum* (horse chestnut): Evaluation of their antibacterial, antioxidant and drug release system activities. *Materials Science and Engineering C*, 107, 110207
- Kojong, Talita Margharetha Immanuelin, Henry Aritonang & Harry Koleagan. (2018). *Green Synthesis Nanopartikel Perak (Ag) menggunakan Larutan Daun Rumpun Macan (Lantana camara L.)*. *Chem. Prog.* 11 (2).
- Leksono, Wahyu Bagio, Rini Pramesti, Gunawan Widi Sntosa & Wilis Ari Setyati. (2018). Jenis Pelarut Metanol dan N-Heksana terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumpun Laut *Gelidium* sp. dari Pantai Drini Gunungkidul Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*. 21 (1). hlm: 9-16.
- Lidiana, Hi, L Sulmartiwi, and S Andriyono. (2018). The Effect of Maceration Period on Content and Color Brightness of Phycoerythrin from *Glacilaria* sp. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 137. Page: 1-7.
- Mahfud, Sonif. (2018). Warna dalam Al-Qur'an (Studi Komparatif Penafsiran Ayat-Ayat Isyarat tentang Warna menurut Tafsir *al-Jawahir fi Tafsir Al-Qur'an Al-Karim* dan Tafsir Al-Mishbah). *Thesis*. Program Studi Ilmu Al-Qur'an dan Tafsir. Institut Ilmu Al-Qur'an (IIQ) Jakarta.
- Martien, Ronny, Adhyatmika, Iramie D. K. Irianto, Verda Farida & Dian Purwita Sari. (2012). Perkembangan Teknologi Nanopartikel sebagai Sistem Penghantabhatran Obat. *Majalah Farmaseutik*. 8 (1).
- Martins, Natalia, Lilian Barros, Isabel C.F.R Ferreira. (2016). In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: facts and gaps. *Trends in Food Science & Technology*.
- Mathur, Abhishek, Akhilesh Kushwaha, Vandana Dalakoti, Garima Dalakoti & Deep Shikha Singh. (2014). *Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Medicinal Plant and Its Characterization*. *Der Pharmacia Sinica*. 5 (5): 118-122.
- Meriam, Watung Preisy Meicy., Rene Charles Kepel, & Lawrence J.L. Lumingas. 2016. Inventarisasi Makroalga Di Perairan Pesisir Pulau Mantehage Kecamatan Wori, Kabupaten Minahasa Utara, Provinsi Sulawesi Utara. *Jurnal Ilmiah Platax*. 4(2): 84-108
- Mostafa, Eman, Marwa A.A. Fayed, Rasha A. Radwan, & Riham O. Bakr. (2019). *Centaurea pumilio* L. extract and nanoparticles: A candidate for healthy skin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 182(July).
- Mustari, Evi J, Aliefia Noor, Rifqi Almusawi Rafsanjani, & Yuant Tiandho. (2019). *Green-Synthesis Nanopartikel SnO₂ Termediasi Ekstrak Daun Pelawan (Tristanopsis merguensis Griff.)*. *Jurnal EduMatSains*, 4(1) Juli 2019, 41-50.
- Muslimin, dan Nelly Hidayanti Sarira. (2020). Budidaya Rumpun Laut *Gelidium* sp. menggunakan Kantong pada Metode Long Line dan Lepas Dasar. *Jurnal Perikanan*. 22 (2): 127-131.
- Nur, Syamsu, Rumiati, & Endang Lukitaningsih. (2017). Skrining Aktivitas Antioksidan, Antiaging dan Penghambatan Tyrosinase dari Ekstrak Etanolik dan Etil Asetat Daging Buah dan Kulit Buah Langsung (*Lansium domesticum* Corr) secara *in vitro*. *Traditional Medicine Journal*. 22 (1).
- Nuraeni, Witri., Isti Daruwati, Eva Maria W, & Maula Eka Sriyani. 2013. Verifikasi Kinerja Alat *Particle Size Analyzer* (PSA) Horiba LB-550 Untuk Penentuan

- Distribusi Ukuran Nanopartikel. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir*: 266- 271
- Oktarina, Eva. (2017). Alga: Potensinya pada Kosmetik dan Biomekanismenya. *Majalah Teknologi Agro Industri*. 9 (2).
- Prasetiowati, Andi Lana, Agung Tri Prasetyo & Sri Wulandari. (2018). Sintesis Nanopartikel Perak dengan Bioreduktor Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi L.*) sebagai Antibakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 7(2).
- Pientaweeratch, Sirinya, Vipaporn Panapisal & Anyarporn Tansirikongkol. (2016). Antioxidant, Anti-collagenase and Anti-Elastase Activities of *Phyllanthus emblica*, *Manilkara zapota* and Silymarin: an In vitro Comparative Study for Antiaging Application. *Pharmaceutical Biology*. Pg:1-9.
- Putri, A. A. S & Nurul Hidajati. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Bawang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*). *UNESA Journal of Chemistry*. 4 (1). Hlm: 1-6.
- Purwasih, Intan Sari. (2018). Kecerdasan Spiritual Konselor dalam Perspektif Al-Qur'an. *Skripsi*. Prodi Bimbingan Konseling Islam. Jurusan Dakwah Fakultas Ushuluddin, Adab dan Dakwah Institut Agama Islam Negeri Bengkulu.
- Rajivgandhi, Govindan Nadar., Govindan Ramachandranb, Muthuchamy Maruthupandyc, Natesan Manoharanb, Naiyf S. Alharbi, Shine Kadaikunnand, Jamal M. Khaled, Taghreed N. Almanaad & Wen-Jun Li. 2020. Anti-oxidant, anti-bacterial and anti-biofilm activity of biosynthesized silver nanoparticles using *Gracilaria corticata* against biofilm producing *K. pneumonia*. *Colloids and Surfaces*. 600: 1-15.
- Rahmayani, Ulfah, Delianis Pringgenies dan Ali Djunaedi. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Keong Bakau (*Telescopium telescopium*) dengan Pelarut yang Berbeda terhadap metode DPPH (*Diphenil Picril Hidrazil*). *Journal of Marine Research*. 2 (4). Hlm: 36-45.
- Restrepo, Cindy Vanessa and Cristian C. Villa. (2021). Synthesis of Silver Nanoparticle, influence of Capping Agents and Dependence on Size and Shape: A Rivew. *Journal Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management ELSEVIER*. 15. Page: 1-11.
- Safarsyah, Alfandi Ilham. (2018). Hadits Nabi SAW tentang Obat dalam Tinjauan Ilmu Kedokteran Modern. *Jurnal Studi Ilmu Al-Qur'an dan al Hadits*. 12 (2). Hal: 165-188.
- Safitri, Widayanti Ratna. (2016). Analisis Korelasi Pearson dalam Menentukan Hubungan Antara Kejadian Demam Berdarah Dengue dengan Kepadatan Penduduk di Kota Surabaya pada Tahun 2012-2014. *Journal STIKES*. Hlm: 1-9.
- Sari, Ayu Nirmala. (2015). Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas pada Kulit. *Elkawanie: Journal of Islamic Science and Technology*. 1 (1). Hlm: 203-211.
- Sari, Denni Kartika, Retno Sulisty Dhamar Lestari, & Agus Rahmat. (2016). Biosintesis Nano/Mikro Partikel Perak dari Rumpun Laut (*Euchema cottonii*) Berbantu Gelombang Ultrasonik. *Jurnal UMAJ Seminar Nasional Sains dan Teknologi*.

- Saryanti, Dwi, Dian Nugraheni, Nisa Sindi Astuti, & Natasya Intania Pertiwi. (2019). Optimasi Karbopol dan HPMC dalam Formulasi Gel Antijerawat Nanopartikel Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 5 (2). Hal: 192-199.
- Sharma, Pallavi, Ambuj Bhushan Jha, Rama Shanker Dubey & Mohammad Pessarakli. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage and Antioxidative Defense Mechanism in Plant under Stressful Conditions. *Journal of Botany*. Page: 26.
- Singh, Reetika, Cristophe Hano, Gopal Nath, & Bechan Sharma. (2021). Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using Leaf Extract of *Carissa carandas* L. and Their Antioxidant and Antimicrobial Activity against Human Pathogenic Bacteria. *Biomolecules*. 11, 299. Page: 1-10.
- Sopianti, Densi Selpia. (2019). Uji Aktivitas Antikolesterolemia Ekstrak Polifenol *Gelidium* sp. secara in vivo pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L.). *Scientia Jurnal Farmasi dan Kesehatan*. 9 (2). hlm: 126-131.
- Syihab, M. Quraish. (2002). *Tafsir Al Mishbah: Pesan, kesan dan keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Tanur, Ellys, I Nyoman Ehrice Lister, Edy Fachrial, & Ermi Girsang. 2020. Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and Inhibition of Collagenase Enzyme Activity from Ethanol Extract of Pineapple (*Ananas cosmus* (L.) Merr) Core. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS)*. 70(1): 99-105.
- Taurina, Wintari, Rafika Sari, Uray Cindy Hafinur, Sri Wahdaningsih, Isnindar. (2017). Optimasi Kecepatan dan Lama Pengadukan terhadap Ukuran Nanopartikel Kitosan-Ekstrak Etanol 70% Kulit Jeruk Siam (*Citrus nobilis* L. var Microcarpa). *Traditional Medicine Journal*. 22 (1). Pg: 16-20.
- Ulaan, Gia Aprilia Kartini, Adithya Yudistira, & Henki Rotinsulu. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Alga *Ulva lactuca* Menggunakan Metode DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Pharmacon*. 8(3).
- Villegas, Maria Rocio, Alejandro Baeza, Alicia Usategui, Pablo L Ortiz Romero, Jose L Pablos & Maria Vallet-Regi. (2018). Collagenase Nanocapsules: AN Approach to Fibrosis Treatment. *Acta Biomaterialia*. Pg: 1-30.
- Wahyudi, Tatang, Doni Sugiyana & Qomaudin Helmy. (2011). Sintesis Nanopartikel Perak dan Uji Aktivitasnya terhadap Bakteri *E.coli* dan *S. aureus*. *Arena Tekstil*. 26 (1). Hal:1-6.
- Wang, Tao, Rósa Jónsdóttir, Haiyan Liu, Liwei Gu, Hordur G. Kristinsson, Sivakumar Raghavan, & Gudrun Ólafsdóttir. (2012). Antioxidant Capacities of Phlorotannins Extracted From The Brown Algae *Fucus vesiculosus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Wikanta, Thamrin, Hedi Indra Januar & Muhammad Nursid. (2005). Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas, dan Sitotoksisitas Ekstrak Alga Merah *Rhodomenia palmata*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11 (4).
- Widyastuti, Ariya Eka Kusuma, Nurlaili & Fitriani Sukmawati. (2016). Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Ekstrak Etanol Daun Stroberi (*Fragraria x ananassa* A.N. Duchese). *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 3 (1). Hal: 19-24.
- Windyaswari, Ari Sri, Elfahmi, Fahrauk Faramyuda, Soraya Riyanti, Oktiyas Muzaki Luthfi, Inna Puspa Ayu, Niken Tunjung Murti Pratiwi, Khaerunnisa

- Harisqi Nurul Husna, & Ridzka Maghfira. (2019). Profil fitokimia selada laut (*Ulva lactuca*) dan mikro alga filamen (*Spirogyra sp*) sebagai bahan alam bahari potensial dari perairan Indonesia. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Des 2019, 7(2), 88-101.
- Wungkana, Injilia, Edi Suryanto,& Lidya Momuat. (2013). Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Fraksi Fenolik dari Limbah Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2 (2).
- Zhang, Hua & Rong Tsao. (2016). Dietary polyphenols, Oxidative Stress and Antioxidant and Anti-inflammatory Effect. *Current Opinion in Food Science*. 8 (33).
- Zin, Phu Pwint & Ei Ei Mon. (2020). The Morphology of Genus *Gelidium* Lamouroux (Gelidiales, Rhodophyta) from Kyaikkhami and Setse Coastel Areal Myanmar. *Journal of Aquatic Science and Marine Biology*. 3 (1). pp: 1-10.
- Zemour, K., Labdelli, A., Adda, A., Dellal, A., Talou, T., & Merah, O. (2019). Phenol Content and Antioxidant and Antiaging Activity of Safflower Seed Oil (*Carthamus Tinctorius* L.). *Cosmetics*, 6(3), 55

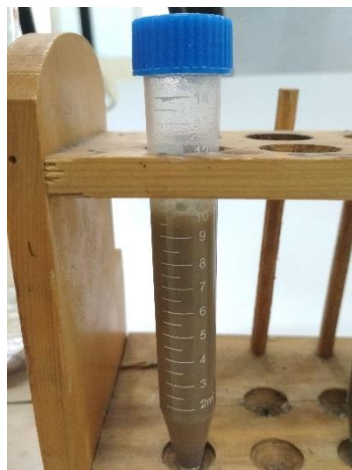
. LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Kegiatan

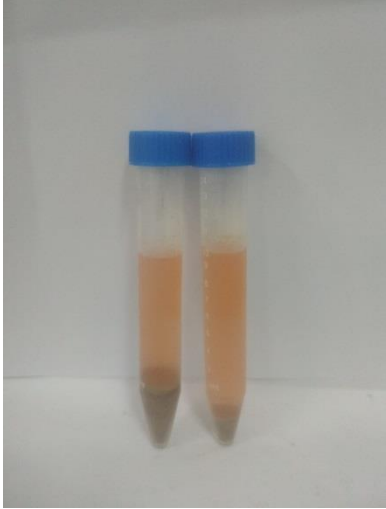
Gambar	Keterangan
	Sampel alga <i>Gelidium spinosum</i> dikeringkan dibawah terik matahari kemudian dihaluskan sampai berbentuk bubuk dan disaring menggunakan saringan whatmann 0.01
	Penimbangan sampel alga
	Melarutkan sampel dengan akuades



Menghomogenkan sampel yang telah diberi pelarut aquades dengan stirrer pada suhu ruang 35°C selama 15 menit dengan kecepatan 400 rpm



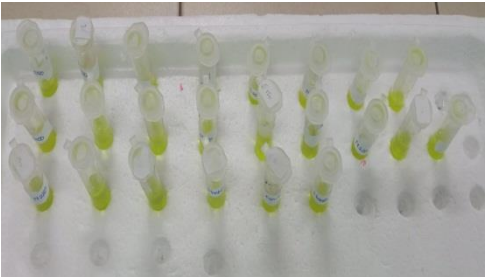
Menuangkan larutan sampel ke ependorf 15 ml

	Sampel disentrifuge pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4°C
	Sampel yang sudah disentrifuge, kemudian diambil supernatannya
	Supernatan diambil kemudian diberi larutan AgNO_3 dan diinkubasi dalam ruangan gelap bersuhu kamar selama 1 jam.

	Hasil sampel yang sudah diinkubasi berubah warna menjadi kekuningan
	Sampel dimasukkan dalam ependorf 15 ml
	Sampel disentrifuge pada 4000 RCF dengan suhu 20°C selama 30 menit

	Hasil akhir terdapat supernatant dan pellet. Selanjutnya, supernatant dibuang dan diambil peletnya.
	Pelet dioven selama 24 jam pada suhu 45°C

	Pelet dihaluskan
	Pelet ditimbang untuk stok

	Uji antioksidan
	Uji penghambatan enzim kolagenase

Lampiran 2. Perhitungan

1. Pembuatan Larutan AgNO₃ 1mM

Diketahui, berat molekul (BM) AgNO₃ = 169,87

Konsentrasi yang dibutuhkan (M) : 1 mM

Volume yang dibutuhkan (V) : 500mL

Ditanya : massa (m) AgNO₃ untuk membuat 500mL konsentrasi 1 mM

Jawab:

$$\text{Rumus: } M = \frac{m}{BM \times V} \longrightarrow \frac{1}{1000} = \frac{m}{169,87 \times 0,5} \longrightarrow m = 84 \text{ mg}$$

2. Pembuatan Larutan Stok Sampel Pengujian Antioksidan Dan Penghambatan Enzim Kolagenase Nanopartikel Perak Alga Merah *Gelidium spinosum*

1) Pembuatan 50 ppm dalam 5 mL

$$\text{Rumus: } ppm = mg/L$$

$$mg = ppm \times L = 50 \times 0,005 = 0,25 \text{ mg}$$

2) Pembuatan 100 ppm dalam 5 mL

$$\text{Rumus: } ppm = mg/L$$

$$mg = ppm \times L = 100 \times 0,005 = 0,5 \text{ mg}$$

3) Pembuatan 150 ppm dalam 5 mL

$$\text{Rumus: } ppm = mg/L$$

$$mg = ppm \times L = 150 \times 0,005 = 0,75 \text{ mg}$$

4) Pembuatan 200 ppm dalam 5 mL

Rumus: $ppm = mg/L$

$$mg = ppm \times L = 200 \times 0,005 = 1 \text{ mg}$$

5) Pembuatan 250 ppm dalam 5 mL

Rumus: $ppm = mg/L$

$$mg = ppm \times L = 250 \times 0,005 = 1,25 \text{ mg}$$

3. Pembuatan Konsentrasi Larutan Asam Askorbat Sebagai Standar

Larutan stok asam askorbat dibuat menjadi 50 ppm

Pembuatan 50 ppm dalam 1000 mL

$$\text{Rumus: } ppm = mg/L \longrightarrow mg = ppm \times L = 50 \times 0,01 = 0,5 \text{ mg}$$

1) Pengenceran menjadi 2 ppm dalam 1 mL

$$\text{Rumus: } M1.V1 = M2.V2$$

$$50.V1 = 2.1 = V1 = 0,04 \text{ mL} = 40 \text{ uL}$$

2) Pembuatan 4 ppm dalam 1 mL

$$\text{Rumus: } M1.V1 = M2.V2$$

$$50.V1 = 4.1 = V1 = 0,08 \text{ mL} = 80 \text{ }\mu\text{l}$$

3) Pembuatan 6 ppm dalam 1 mL

$$\text{Rumus: } M1.V1 = M2.V2$$

$$50.V1 = 6.1 = V1 = 0,12 \text{ mL} = 120 \text{ }\mu\text{l}$$

4) Pembuatan 8 ppm dalam 1 mL

Rumus: $M1.V1 = M2.V2$

$$50.V1 = 8.1 = V1 = 0,16 \text{ mL} = 160 \mu\text{l}$$

5) Pembuatan 10 ppm dalam 1 mL

Rumus: $M1.V1 = M2.V2$

$$50.V1 = 10.1 = V1 = 0,2 \text{ mL} = 200 \mu\text{l}$$

4. Pembuatan Konsentrasi Larutan Ekstrak Biasa

Ekstrak yang telah didapatkan encerkan menjadi beberapa konsentrasi sebagai berikut:

1) pembuatan 50 ppm dalam 5 mL

Rumus: $M1.V1 = M2.V2$

$$1000.V1 = 50.0,005 = V1 = 0,25 \text{ mL} = 250 \mu\text{l}$$

2) Pembuatan 100 ppm dalam 5 mL

Rumus: $M1.V1 = M2.V2$

$$1000.V1 = 100.0,005 = V1 = 0,5 \text{ mL} = 500 \mu\text{l}$$

3) Pembuatan 150 ppm dalam 5 mL

Rumus: $M1.V1 = M2.V2$

$$1000.V1 = 150.0,005 = V1 = 0,75 \text{ mL} = 750 \mu\text{l}$$

4) Pembuatan 200 ppm dalam 5 mL

Rumus: $M1.V1 = M2.V2$

$$1000.V1 = 200 . 0,005 = V1 = 1 \text{ mL} = 1000 \mu\text{l}$$

5) Pembuatan 250 ppm dalam 5 mL

Rumus: $M1.V1 = M2.V2$

$$1000.V1 = 250 . 0,005 = V1 = 1,25 \text{ mL} = 1250 \mu\text{l}$$

5. Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,1 Mm Dalam 50 mL

Berat Molekul (BM) senyawa = 394,32

Volume (V) Larutan = 50 mL

$$M = \frac{m}{BM \times V} = \frac{1}{10000} = \frac{m}{394,32 \times 0,05} = 1,97 \text{ mg}$$

Lampiran 3. Uji Aktivitas Antioksidan

SAMPel	KONSENTRASI (ppm)	ULANGAN			% PENGHAMBATAN			RATA-RATA PENGHAMBATAN	IC50	KATEGORI (Febrianti, dkk, 2017)
		1	2	3	1	2	3			
Nanopartikel	50	0.424	0.435	0.437	51.70842825	50.45558087	50.22779043	50.79726651	18.34 ± 5.147	SANGAT KUAT
	100	0.411	0.416	0.419	53.18906606	52.61958998	52.27790433	52.69552012		
	150	0.392	0.394	0.395	55.35307517	55.12528474	55.01138952	55.16324981		
	200	0.344	0.342	0.33	60.82004556	61.04783599	62.41457859	61.42748671		
	250	0.328	0.327	0.329	62.64236902	62.75626424	62.5284738	62.64236902		
Ekstrak	50	0.499	0.491	0.492	43.16628702	44.07744875	43.96355353	43.7357631	19.57 ± 6.051	SANGAT KUAT
	100	0.485	0.491	0.492	44.76082005	44.07744875	43.96355353	44.26727411		
	150	0.461	0.46	0.463	47.49430524	47.60820046	47.26651481	47.45634017		
	200	0.421	0.423	0.425	52.0501139	51.82232346	51.59453303	51.82232346		
	250	0.391	0.393	0.392	55.46697039	55.23917995	55.35307517	55.35307517		
Asam Askorbat	2	0.277	0.275	0.276	68.45102506	68.67881549	68.56492027	68.56492027	1.808 ± 0.0067	SANGAT KUAT
	4	0.046	0.046	0.045	94.76082005	94.76082005	94.87471526	94.79878512		
	6	0.038	0.037	0.036	95.67198178	95.78587699	95.89977221	95.78587699		
	8	0.027	0.029	0.028	96.92482916	96.69703872	96.81093394	96.81093394		
	10	0.007	0.007	0.005	99.20273349	99.20273349	99.43052392	99.27866363		
Kontrol		0.878	0.872	0.875						

Lampiran 4. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Kolagenase

SAMPel	KONSENTRASI	PERSENTASE PENGHAMBATAN			IC50	KATEGORI (Tanur <i>et al.</i> , 2017)
		ULANGAN-1	ULANGAN-2	ULANGAN-3		
NANOPARTIKEL	50	49.2593	52.963	51.111	46.58 ± 3.64941	KUAT
	100	52.963	53.3333	52.963		
	150	56.2963	58.1481	56.6667		
	200	82.9259	86.2963	87.4074		
	250	85.9259	86.2963	87.4074		
EKSTRAK	50	16.2963	17.037	16.6667	128.0 ± 1.2915	SEDANG
	100	28.1481	27.4074	28.1481		
	150	34.4444	35.1852	33.7037		
	200	76.2963	75.5556	76.6667		
	250	79.2593	80.7407	80.7407		
ASAM ASKORBAT	2	44.8148	44.4444	44.8148	1.689 ± 0.30335	SANGAT KUAT
	4	44.0741	45.5556	45.1852		
	6	46.2963	45.1852	46.6667		
	8	50	48.8889	48.8889		
	10	52.963	53.3333	53.3333		

Lampiran 5. Cek Plagiasi

Form Checklist Plagiasi

Nama : Lutfiyatul Azizah

NIM : 17620039

**Judul : Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan
Enzim Kolagenase Oleh Nanopartikel Perak
Menggunakan Alga Merah *Gelidium spinosum***

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD. Med. Sc	5%	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.19741018 200312 2 002

