

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM
KOLAGENASE NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN ALGA
MERAH *Gracilaria verrucosa***

SKRIPSI

**Oleh:
AHMAD EFENDI
NIM. 17620075**



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

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM
KOLAGENASE NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN ALGA
MERAH *Gracilaria verrucosa***

SKRIPSI

**Oleh:
AHMAD EFENDI
NIM. 17620075**

**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**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM
KOLAGENASE NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN ALGA
MERAH *Gracilaria verrucosa***

SKRIPSI

Oleh:

AHMAD EFENDI

NIM. 17620075

Telah Diperiksa dan Disetujui:

Tanggal: 03 September 2021

Dosen Pembimbing I



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

Dosen Pembimbing II



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

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi



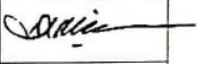
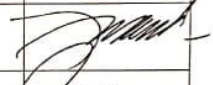
Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM
KOLAGENASE NANOPARTIKEL PERAK MENGGUNAKAN ALGA
MERAH *Gracilaria verrucosa***

SKRIPSI

Oleh:
AHMAD EFENDI
NIM. 17620075

telah dipertahankan
di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima sebagai salah satu
persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)
Tanggal: 27 September 2021

Ketua Penguji	Dr. Eko Budi Minarno, M.Pd NIP. 19630114 199903 1 001	
Anggota Penguji 1	Kholifah Holil, M.Si NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji 2	Dr. Evika Sandi Savitri, M.P NIP. 19741018 200312 2 002	
Anggota Penguji 3	M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I NIPT. 201402011409	

Mengesahkan,
Kerjasama Program Studi Biologi
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang




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

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini dipersembahkan untuk semua orang yang telah mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini, khususnya:

1. Bapak dan Ibu tercinta, Umar Hadi dan Kholidah yang telah merawat, mendidik serta mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Bapak Suyono, M.P selaku dosen wali yang telah memberikan motivasi dan bimbingan 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.SI selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan bimbingan terkait integrasi Sains dan Islam.
5. Teman-teman seperjuangan khususnya Alga Squad (Alkaif, Okta, Arum, Annisa, dan Lutfi).
6. Teman-teman Wolves Biologi 2017 dan BIO C 2017 yang selalu memberi semangat kepada penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik.
7. Teman-teman kos muslim (Kikik, Waladin, Fahmi, Naufal, Firli, Kaif, Cenna, mamad, dan muhajir) yang selalu memberikan energi positif sehingga penulis semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIHAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ahmad Efendi

NIM : 17620075

Program Studi : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase
Nanopartikel Perak menggunakan Alga Merah *Gracilaria verrucosa*

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

Malang, 29 September 2021

yang membuat pernyataan,



Scanned dengan CamScanner

Ahmad Efendi
NIM. 17620075

HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

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

MOTTO

“Terapkan Ilmu yang Amaliah dan Amal yang Ilmiah”

Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase Nanopartikel Perak Menggunakan Alga Merah *Gracilaria verrucosa*

Ahmad Efendi, Evika Sandi Savitri, M. Mukhlis Fahrudin

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

ABSTRAK

Alga merah memiliki pigmen unik warna merah yang disebut dengan fikoeritrin. Pigmen tersebut dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. *Gracilaria verrucosa* merupakan salah satu jenis alga merah yang banyak dibudidayakan di Indonesia. *Gracilaria verrucosa* memiliki kandungan Alkaloid, flavonoid, vitamin C, karotenoid, serta klorofil a dan b. senyawa-senyawa tersebut berperan sebagai antioksidan. Pembentukan nanopartikel diperlukan untuk meningkatkan aktivitasnya. Antioksidan dapat menjadi salah satu solusi untuk menghambat dan mencegah terjadi kerusakan kolagen yang menyebabkan kulit menjadi keriput., sehingga dapat berperan dalam mencegah penuaan dini pada kulit. Sintesis nanopartikel pada penelitian ini menggunakan metode *Green Synthesis Silver Nanoparticles* (AgNPs). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak menjadi bioreduktor nanopartikel perak, aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak menggunakan *Gracilaria verrucosa*. Karakterisasi AgNPs dilakukan dengan *Particle size analyzer*. Metode pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Uji aktivitas penghambatan enzim kolagenase dilakukan menggunakan substrat kolagen. Pembacaan absorbansi dilakukan menggunakan UV-Vis spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm untuk aktivitas antioksidan dan 578 nm untuk aktivitas penghambatan enzim kolagenase. Nilai IC₅₀ dianalisis menggunakan regresi linier. Analisis korelasi dilakukan menggunakan analisis korelasi *pearson*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa AgNPs *Gracilaria verrucosa* memiliki ukuran 11 nm dengan nilai zeta potensial +200 mV. aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 41,73 ± 2,16 mg/L, lebih baik daripada ekstrak (IC₅₀ = 83,43 ± 2,89 mg/L). AgNPs *Gracilaria verrucosa* memiliki aktivitas penghambatan enzim kolagenase lebih baik dengan IC₅₀ 52,579 ± 10,38 mg/L daripada ekstrak dengan IC₅₀ 122,35 ± 3,50 mg/L. Nilai korelasi 0,906 menunjukkan bahwa korelasi antara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase bersifat positif dengan kategori kuat.

Kata kunci: *antioksidan, Gracilaria verrucosa., kolagenase, nanopartikel, dan sinar UV*

Antioxidant and Collagenase Inhibition Activity of Silver Nanoparticles of Red Algae using Red Algae *Gracilaria verrucosa*

Ahmad Efendi, Evika Sandi Savitri, M. Mukhlis Fahrudin

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

ABSTRACT

Gracilaria verrucosa is one of the red algae group, which has a unique of characteristic that called phycoerythrin. *Gracilaria verrucosa* has been cultivated in Indonesia. It has been reported that *Gracilaria verrucosa* has bioactive compounds, such as alkaloid, terpenoid, carotenoid, and also the chlorophyll a and b. The previous research reported that *Gracilaria verrucosa* has antioxidant activity. That compound can be utilizes as antioxidant.. Antioxidants have a role in controlling and neutralize the ROS. The forming of nanoparticles are needed to increasing the effectiveness. Synthesis of nanoparticle in this research is using Green synthesis silver nanoparticles (AgNPs). The aims of this research are to find out the ability of extract to reducing silver nanoparticles, antioxidant and collagenase inhibition activity of silver nanoparticles using red algae *Gracilaria verrucosa*. Characterization of silver nanoparticles was used by particle size analyzer. the measurement of antioxidant is using DPPH method, and collagen substrate as the inhibition of collagenase activity method. Both of the measurements is using UV- Vis Spectrophotometry. 517 nm for antioxidant and 578 nm for inhibiton of collagenase activity. IC₅₀ was analyze by linear regression and correlation was analyzed by pearson correlation. The result showed that AgNPs forming using *Gracilaria verrucosa* has 11 nm in size, +200mV zeta potential number. The AgNPs better both antioxidant (IC₅₀ 41,73 ±2,16 mg/L) and collagenase inhibition activity (IC₅₀ 52,579 ± 10,38 mg/L) than extract (IC₅₀ 83,43 ± 2,89 mg/L) for antioxidant activity and collagenase inhibition activity (dengan IC₅₀ 122,35 ±3,50 mg/L). Correlation value was 0,906 that showed there is a relation between antioxidant and collagenase inhibition activity of AgNPs with a positive correlation and in the strong categories.

Keyword: Antioxidant, *Gracilaria verrucosa*, Collagenase, Nanoparticles, UV light

نشاط مضادات الأكسدة وامتناع إنزيم الكولاجيناز جزيئات الفضة النانوية باستخدام الطحالب

الحمراء *Gracilaria verrucosa*

أحمد أفندي، أفيفة ساندي سافطري، محمد مخلص فخر الدين

قسم علم الحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

مستخلص البحث

الطحالب الحمراء (*Gracilaria verrucosa*) أحد الطحالب المزروعة في نطاق واسع في إندونيسية. تتميز طحالب جراسيلاريا الحمراء في شكل عام بخصائص فريدة وهي وجود صبغة حمراء تسمى بفيوسونترين (fikoerittrin). تحتوي الجراسيلاريا فيروكوسا على عديد السكاريد وتحتوي على البوليفينول والفلافونويد وفيتامين ج والكاروتينات والكلوروفيل أ وب. أفادت دراسات سابقة أن الجراسيلاريا فيروكوسا لها نشاط مضاد للأكسدة يعمل على تحييد الجذور الحرة في الجسم التي تتشكل بسبب التعرض المفرط للأشعة فوق البنفسجية. تلعب الأشعة فوق البنفسجية دورًا في تكوين الأكسجين التفاعلية (ROS) التي يمكن لها تنشيط إنزيم الكولاجيناز ويمكن أن تمنع تكوين الكولاجين في الجلد. يمكن أن يساعد استخدام الجسيمات النانوية في زيادة فعالية المركب ضد الهدف. استخدم تخليق الجسيمات النانوية في هذه الدراسة طريقة التوليف الأخضر لجسيمات الفضة النانوية (AgNPs). يهدف هذا البحث إلى تحديد النشاط المضاد للأكسدة وتثبيط إنزيم الكولاجيناز للجسيمات النانوية الجراسيلاريا فيروكوسا *Gracilaria verrucosa*. تم إجراء اختبار نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة DPPH مع حمض الأسكوربيك كعنصر تحكم إيجابي. أجريت قراءات الامتصاصية باستخدام مقياس الطيف الضوئي UV-Vis بطول موجة 517 نانومتر. تم إجراء اختبار النشاط المثبط لإنزيم الكولاجيناز باستخدام ركيزة الكولاجين مع حمض الأسكوربيك كعنصر تحكم إيجابي. أجريت قراءات الامتصاصية باستخدام مقياس طيف ضوئي UV-Vis بطول موجي 578 نانومتر. تم تحليل قيمة IC50 باستخدام الانحدار الخطي. تم إجراء تحليل الارتباط باستخدام تحليل ارتباط بيرسون. أظهرت النتائج أن *Gracilaria verrucosa* AgNPs كان له نشاط مضاد للأكسدة بقيمة IC50 بقيمة $0,1326 \pm 0,19$ مجم / لتر ، أفضل من المستخلص ($3,04 \pm 0,162$ IC50 مجم / لتر). كان لدى *Gracilaria verrucosa* AgNPs نشاط مثبط أفضل للكولاجيناز مع IC50 من $52,579 \pm 10,38$ مجم / لتر من المستخلصات التي تحتوي على IC50 من $122,35 \pm 3,50$ مجم / لتر. تشير قيمة الارتباط البالغة 0,86 إلى أن الارتباط بين نشاط مضادات الأكسدة وتثبيط إنزيم الكولاجيناز إيجابي مع فئة قوية.

الكلمات المفتاحية : مضاد الأكسدة، الجراسيلاريا فيروكوسا ، الكولاجيناز، والجسيمات النانوية

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan baik. Penyusunan Skripsi tidak akan terwujud tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih banyak 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 sekaligus Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
4. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku pembimbing agama yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan terkait dengan integrasi Sains dan Islam dalam Skripsi.
5. Suyono, M.P selaku dosen wali yang telah memberikan motivasi dan arahan selama studi.
6. Bapak Umar Hadi dan ibu Kholidah yang selalu mendukung dan mendoakan, selama pengerjaan skripsi.

Peneliti berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, 05 September 2021

Peneliti

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIHAN TULISAN	v
HALAMAN PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	vi
MOTTO	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
مستخلص البحث.....	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat	8
1.5 Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 <i>Gracilaria verrucosa</i>	9
2.1.1 Karakteristik.....	9
2.1.2 Klasifikasi	12
2.1.3 Kandungan Alga Merah <i>Gracilaria verrucosa</i>	12
2.1.4 Hasil Riset <i>Gracilaria verrucosa</i>	13
2.2 Antioksidan	13
2.2.1 Klasifikasi Antioksidan.....	14
2.2.1.1 Antioksidan Alami	15
2.2.1.2 Antioksidan Sintetis	17
2.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan	18
2.3.1 α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH).....	18
2.4 Kolagen.....	20
2.5 Penghambatan Enzim Kolagenase	23
2.6 Nanopartikel.....	27
2.6.1 <i>Green Synthesis Silver Nanoparticles</i> (AgNPs).....	28
2.7 Nilai IC ₅₀ pada Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan enzim Kolagenase	30

BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1 Rancangan Penelitian.....	31
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	31
3.3 Alat dan Bahan.....	32
3.3.1 Alat.....	32
3.3.2 Bahan	32
3.4 Prosedur Penelitian	32
3.4.1 Ekstraksi <i>Gracilaria verrucosa</i>	32
3.4.2 Sintetis Nanopartikel perak	33
3.4.3 Uji Distribusi Partikel	33
3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan	33
3.4.5 Uji Penghambatan Enzim Kolagenase	35
3.5 Analisis Data.....	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Karakteristik Nanopartikel perak <i>Gracilaria verrucosa</i>	38
4.2 Aktivitas Penghambatan Enzim Kolagenase	47
4.3 Korelasi Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Nanopartikel perak <i>Gracilaria verrucosa</i>	52
BAB V PENUTUP	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN.....	66

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Penggolongan tingkat penghambatan berdasarkan nilai IC_{50}	30
Tabel 4. 1. Aktivitas Antioksidan.....	43
Tabel 4. 2. Aktivitas Penghambatan Enzim Kolagenase.....	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 <i>Gracilaria verrucosa</i>	9
Gambar 2. 2 Reaksi antara DPPH dengan Hidrogen Donor.....	19
Gambar 2. 3 Proses Pembentukan Kolagen Fibril.....	21
Gambar 2. 4 Mekanisme Pendegradasian Kolagen oleh Kolagenase.....	24
Gambar 2. 5 Mekanisme penuaan dan peran antioksidan.	27
Gambar 2. 6 Proses sintesis nanopartikel perak menggunakan bahan alam.....	29
Gambar 4. 1 Distribusi Ukuran Partikel AgNPs <i>Gracilaria verrucosa</i>	38
Gambar 4. 2 Karakteristik AgNPs <i>Gracilaria verrucosa</i> menggunakan PSA	40
Gambar 4. 3 Korelasi Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase AgNPS.....	53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kegiatan Penelitian.....	66
Lampiran 2. Hasil Uji PSA	76
Lampiran 3. Uji Aktivitas Antioksidan	77
Lampiran 4. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Kolagenase	78
Lampiran 5. Perhitungan.....	79
Lampiran 6. Kartu Bimbingan Skripsi	83
Lampiran 7. Kartu Bimbingan Skripsi Integrasi	84
Lampiran 8. Lembar Bukti Cek Plagiasi.....	85

bertasbih memuji-Mu dan menyucikan nama-Mu?” Dia berfirman, “Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui.”

Menurut Tafsir Kementrian Agama, ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menurunkan nabi Adam AS ke bumi untuk menjaga, melestarikan, dan memanfaatkan apapun yang ada di dalamnya. Menurut Maraghi dalam Mashuri & Romadon (2019), manusia merupakan makhluk Allah yang diberi akal dan kebebasan berkehendak. Malaikat beranggapan bahwa manusia cenderung membuat kerusakan di bumi, namun Allah dengan kebesaran-Nya memberikan anugerah berupa ilmu pengetahuan agar manusia dapat menjalankan tugasnya sebagai khalifah di bumi. Berdasarkan pernyataan tersebut, tugas manusia dapat diartikan dalam arti luas. Ilmu pengetahuan yang telah ada dapat menjadi salah satu cara untuk memecahkan masalah, salah satunya adalah masalah kesehatan kulit.

Antioksidan didefinisikan sebagai substansi yang dapat melawan ROS (*reactive oxygen species*) secara langsung maupun tidak langsung dengan mengatur pertahanan antioksidan atau menghambat produksi ROS (Gulcin, 2020). Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki peran penting dalam melawan beberapa penyakit, seperti inflamasi, kanker, kardiovaskular, dan proses penuaan yang disebabkan oleh adanya radikal bebas (Ramdani *et al.*, 2017). Antioksidan merupakan suatu molekul yang dapat menghambat oksidasi dari molekul lain. Antioksidan merupakan senyawa stabil yang dapat menyumbangkan elektronnya ke radikal bebas yang tidak terkehendaki dan dapat menetralkannya (H. Kumar *et al.*, 2020). Antioksidan dapat diaplikasikan di berbagai kondisi, salah satunya adalah untuk melindungi kulit dari radikal bebas.

Antioksidan dapat berperan sebagai inhibitor enzim dengan cara mengikat sisi katalik dari enzim kolagenase (Andrade *et al.*, 2021). Selain itu antioksidan dapat menurunkan produksi MMPs dengan meregulasi MAPKs (*mitogen activated protein kinase*) dan AP-1 (*activator protein-1*). Kemudian antioksidan juga dapat membantu aktivasi prokolagen dengan menstimulasi reseptor TGF- β yang merupakan reseptor yang bertanggung jawab pada perkembangan sel, diferensiasi dan hal-hal yang berhubungan dengan homeostasis sel (Bang & Choung, 2020). Keberadaan antioksidan dapat menjadi solusi pencegahan terbentuknya radikal bebas yang menjadi sebab proses penuaan dini (Nurrochmad *et al.*, 2018).

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk hidup yang telah diciptakan Allah SWT. Manusia memanfaatkan tumbuhan untuk mendukung jalannya kehidupan. Tumbuhan yang bermanfaat sejatinya telah terkonsep dalam firman Allah yang berbunyi 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 (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (QS: As-Syuara’ [42]: 7).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah telah menumbuhkan banyak tumbuhan yang baik. Ayat tersebut ditujukan kepada orang-orang musyrik yang tidak percaya terhadap kekuasaan Allah, padahal bukti-buktinya telah banyak ditemukan, salah satunya adalah ditemukannya tumbuhan-tumbuhan di bumi yang dapat dimanfaatkan. Kata (كَرِيمٍ) merepresentasikan segala sesuatu yang baik bagi objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik minimal adalah tumbuhan yang bermanfaat

(Shihab, 2002). Menurut Tafsir Kementrian Agama, ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah mengajak orang-orang belajar dari alam, agar mereka tahu bahwa Allah benar-benar menunjukkan kuasa-Nya. Orang-orang tidak memikirkan betapa banyaknya tumbuhan yang telah diciptakan Allah di bumi, yang membawa banyak kemanfaatan bagi umat manusia. Hal tersebut merupakan pertanda atas kuasa Allah dan keanugerahan yang diberikan kepada manusia.

Alga merah memiliki keunikan sekaligus pembeda dengan organisme yang lain, yakni adanya pigmen warna merah (fikoeritrin) yang termasuk dalam *phycobiliprotein* (Pereira *et al.*, 2020). Pigmen ini juga dapat menjalankan proses fotosintesis (Kumari *et al.*, 2018). Jumlahnya sekitar 1-10% berat kering dari alga merah (Alves *et al.*, 2018). Penelitian telah melaporkan bahwa fikoeritrin juga memiliki aktivitas antioksidan, seperti pada *Martocarpus stellatus*, *Palmaria palmata*, *Polysiphonia urceolata* (Ismail *et al.*, 2020). Fikoeritrin merupakan pigmen yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan memiliki kemampuan untuk melindungi dari perubahan fisiologis dibawah stress oksidatif yang salah satunya sebagai antiaging (Gracia *et al.*, 2021). Aktivitas antioksidan fikoeritrin dilaporkan pada alga merah *Bangia ortopurpurea* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 7,66 µg/mL (Punampalam *et al.*, 2018).

Gracilaria merupakan salah satu genus alga merah dari *family* Gracilariaceae yang berperan penting dalam industri dan bioteknologi karena memiliki kandungan fikokoloid. Kandungan utamanya agar dan galaktan dengan sedikit esterifikasi pada dinding selnya (Almeida *et al.*, 2011). Genus Gracilaria terdiri dari 300 spesies yang tersebar di dunia (Di *et al.*, 2017). Alga genus Gracilaria merupakan sumber daya

agarofit di dunia yang banyak dibudidayakan untuk kebutuhan industri (Souza *et al.*, 2012).

Gracilaria verrucosa merupakan salah satu komoditas utama pada bidang akuakultur di Indonesia. *Gracilaria verrucosa* banyak dibudidayakan di daerah sulawesi, dan daerah bagian utara pulau jawa. Produksi *Gracilaria verrucosa* meningkat dari tahun 2010 hingga 2015. Produksinya meningkat 27% pertahun, yakni sekitar 10 juta ton (Kementrian Kelautan dan Perikanan, 2015). Peningkatan produksi disebabkan oleh tingginya permintaan untuk kebutuhan bahan baku pangan, industri kosmetik dan farmasi (Rejeki *et al.*, 2018). *Gracilaria verrucosa* digunakan sebagai *stabilizer* dan *elmusifier* karena memiliki kandungan agar (Rahim, 2018). *Gracilaria verrucosa* dilaporkan memiliki senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan senyawa fenol yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan (Chellapandian *et al.*, 2019). Adanya pigmen fikoeritin yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan pada *Gracilaria verrucosa* juga menjadi salah satu alasan pentingnya penelitian dilakukan.

Penelitian terdahulu telah melaporkan adanya aktivitas antioksidan pada spesies *Gracilaria verrucosa*. ekstrak *Gracilaria verrucosa* memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda-beda. Menurut Gouda *et al.*, (2013) nilai IC₅₀ ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebesar 71,69 mg/L. Menurut Ibrahim dkk., (2020) ekstrak *Gracilaria verrucosa* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 8,29 mg/L.

Penelitian pemanfaatan makroalga dibidang kosmetik yang berkembang saat ini yaitu dengan pembentukan nanopartikel (Sanaeimehr *et al.*, 2018). Penggunaan teknologi nano untuk membentuk partikel berukuran nano (1-100 nm) dapat

membantu meningkatkan keefektifan suatu senyawa terhadap target (Ibm *et al.*, 2016). Pengaplikasian nanopartikel pada antioksidan di bidang biologi dapat menjadi salah satu alternatif untuk meningkatkan kompatibilitas, stabilitas, dan ketepatan yang lebih baik pada target (H. Kumar *et al.*, 2020). Penelitian melaporkan pada alga *Acanthophora spicifera* menunjukkan bahwa pembentukan nanopartikel memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada ekstrak, dengan nilai penghambatan DPPH sebesar 62,8%, sedangkan ekstrak memiliki penghambatan dengan presentase lebih kecil, yakni 42,2% dalam 500 µg/ml (Babu *et al.*, 2020). Aktivitas antioksidan nanopartikel emas menggunakan alga merah *Gelidia acerosa* dilaporkan memiliki nilai IC₅₀ sebesar $2,9 \pm 0,01$ µg/mL, lebih baik daripada ekstrak dengan IC₅₀ sebesar $3,6 \pm 0,01$ µg/mL (Senthilkumar *et al.*, 2019).

Green Synthesis silver nanoparticles (AgNPs) merupakan salah satu metode sintesis nanopartikel yang banyak digunakan karena memiliki keunggulan, diantaranya *non toxic*, ramah lingkungan, aman, dan memiliki stabilitas lebih baik (Parveen *et al.*, 2016). Beberapa penelitian telah menggunakan makroalga untuk menyintesis nanopartikel, baik golongan alga hijau (*Ulva fasciata*) dengan ukuran 7 nm, alga coklat (*Sargassum wightii*) dengan ukuran 8-27 nm, maupun alga merah (*Gelidium amansii*) dengan ukuran 27-54 nm (Ahmad *et al.*, 2019).

Penelitian ini merujuk pada penelitian Rajivgandhi *et al.* (2020) yang telah berhasil membuat *Green synthesis silver nanoparticles* dan melihat aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Penelitian tentang aktivitas penghambatan enzim kolagenase pada *Gracilaria verrucosa* belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, pada penelitian ini pengujian aktivitas penghambatan enzim kolagenase dilakukan

dengan merujuk pada penelitian Baehaki *et al.*, (2012) dan Nurhayati *et al.*, (2013) dengan modifikasi. Penelitian aktivitas penghambatan enzim kolagenase dilakukan dengan mereaksikan sampel, enzim kolagenase dan kolagen sebagai substrat enzim.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian yang berjudul “Aktivitas Antioksidan Dan Penghambatan Enzim Kolagenase Nanopartikel Perak menggunakan Alga Merah *Gracilaria verrucosa*” adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana karakteristik nanopartikel perak yang dibentuk oleh ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebagai bioreduktor?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan nanopartikel perak menggunakan alga merah *Gracilaria verrucosa*?
3. Bagaimana aktivitas penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak menggunakan alga merah *Gracilaria verrucosa*?
4. Bagaimana korelasi antara aktivitas antioksidan dengan penghambatan enzim kolagenase pada nanopartikel perak menggunakan alga merah *Gracilaria verrucosa*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan Dari Penelitian yang berjudul “Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase Nanopartikel Perak menggunakan Alga Merah *Gracilaria verrucosa*” adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui bagaimana karakteristik nanopartikel perak menggunakan *Gracilaria verrucosa* sebagai bioreduktor
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan nanopartikel perak menggunakan alga merah *Gracilaria verrucosa*.
3. Untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak menggunakan alga merah *Gracilaria verrucosa*.
4. Untuk mengetahui korelasi antara aktivitas antioksidan dengan penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak menggunakan alga merah *Gracilaria verrucosa*.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian yang berjudul “Aktivitas Antioksidan Dan Penghambatan Enzim Kolagenase Nanopartikel Perak menggunakan Alga Merah *Gracilaria verrucosa*” adalah sebagai berikut:

1. Sebagai salah satu bahan pengembangan penelitian yang berhubungan dengan pemanfaatan alga merah.
2. Menambah informasi bagi masyarakat tentang pentingnya memanfaatkan bahan alam alga merah, khususnya dari genus *Gracilaria*.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian yang berjudul “Aktivitas Antioksidan Dan Penghambatan Enzim Kolagenase Nanopartikel Perak menggunakan Alga Merah *Gracilaria verrucosa*” adalah sebagai berikut:

1. Sampel *Gracilaria verrucosa* yang digunakan didapatkan dari hasil budidaya di daerah Gresik Jawa Timur dalam kondisi basah dengan ciri morfologi talus berwarna merah, sebagian berwarna hijau. Tipe percabangan tidak teratur dan memiliki panjang 10 hingga 35 cm dengan bentuk talus silinder.
2. Metode sintesis nanopartikel menggunakan *Green synthesis silver nanoparticles*.
3. Senyawa-senyawa yang menjadi *capping agent* pada nanopartikel perak pada tidak dikarakterisasi
4. Metode pengujian antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dan pengujian penghambatan enzim kolagenase dilakukan menggunakan substrat kolagen. Pengujian dilakukan menggunakan UV-Vis Spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm untuk pengujian aktivitas antioksidan dan 578 nm untuk pengujian aktivitas penghambatan enzim kolagenase. Penentuana aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase didasarkan pada nilai IC_{50} .

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Gracilaria verrucosa*

2.1.1 Karakteristik

Gracilaria verrucosa merupakan salah satu spesies yang memiliki talus yang berbentuk silindris, memiliki cabang dengan tipe subdikotomis dengan cabang lateral. Talusnya dapat tumbuh hingga 25 cm (Reyes *et al.*, 1991). Spesies ini dapat ditemukan di wilayah Indonesia, beberapa diantaranya dibudidayakan di kawasan pesisir pantai utara (Basith dkk., 2014). *Gracilaria verrucosa* merupakan organisme golongan agarofit yang dapat memproduksi hidrokoloid pada dinding selnya (Nurrahmawan *et al.*, 2021). *Gracilaria verrucosa* memiliki talus seperti semak, berwarna kehijauan hingga kemerah-merahan, berdaging, dan memiliki panjang 10 cm hingga 60 cm. Spesies ini memiliki *holdfast* yang berbentuk seperti cakram. *Gracilaria verrucosa* memiliki cabang yang tidak beraturan. Spesies ini memiliki cabang berbentuk silindris, dengan diameter 0,5 hingga 1,5 mm (Trono & Corrales., 1983).



Gambar 2. 1 *Gracilaria verrucosa* (Kurniasari *et al.*, 2018)

Alga genus *Gracilaria* dapat bertahan dalam salinitas dengan rentang cukup luas, yakni mulai kurang dari 15 gram per liter sampai 50 gram per liter. Salah satu faktor lingkungan ini dapat berpengaruh pada pertumbuhan, kekuatan gel, berat, diameter talus, Panjang talus utama dan Panjang talus sekunder. Selain itu salinitas yang berbeda dapat mempengaruhi warna talus dari *Gracilaria* sp., hal ini dikarenakan kandungan pycoerithrin yang berbeda karena respon adaptasi rumput laut. Akumulasi kandungan pycobily juga berfungsi pada mekanisme aklimatisasi yakni sebagai cadangan protein untuk biosintesis saat mengalami cekaman atau stress lingkungan yang diakibatkan oleh salinitas (Soelistyowati *et al.*, 2014).

Alga merah merupakan salah satu jenis tumbuhan yang diciptakan Allah SWT. Allah berfirman dalam Al-qur'an surat Al-An'am ayat 99 yang berbunyi sebagai berikut:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا
تُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ
وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَلِكُمْ لَآيَاتٍ
لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya: “Dialah yang menurunkan air dari langit lalu dengannya Kami menumbuhkan segala macam tumbuhan. Maka, darinya Kami mengeluarkan tanaman yang menghijau. Darinya Kami mengeluarkan butir yang bertumpuk (banyak). Dari mayang kurma (mengurai) tangkai-tangkai yang menjuntai. (Kami menumbuhkan) kebun-kebun anggur. (Kami menumbuhkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya pada waktu berbuah dan menjadi masak. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang beriman”.

Menurut tafsir Kementerian Agama, ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menunjukkan kekuasaan-Nya dengan bukti-bukti yang nyata. Diturunkannya air

hujan dari langit, kemudian dapat tumbuh segala macam tumbuhan, salah satunya adalah makroalga, yang biasa disebut dengan rumput laut. Menurut Shihab (2002) ayat tersebut merupakan ayat lanjutan dari bukti-bukti kekuasaan Allah SWT dengan menguraikan dan menegaskan bahwa Allah yang telah menurunkan air hujan dari langit dan dengan itu dapat menumbuhkan tumbuhan yang bermacam-macam.

Alga merah merupakan jenis tumbuhan laut yang memiliki pigmen fikoeitritin (pigmen dominan), fikobilin, fikosianin, xantofil, klorofil dan karoten yang dapat memunculkan berbagai macam warna pada penampakannya berdasarkan spektrum cahaya yang ditangkap (Sinaga *et al.*, 2019). Hal ini telah dijelaskan oleh Allah dalam Al-Qur'an surat Az-Zumar ayat 21 yang berbunyi sebagai berikut:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعٌ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُّخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهِيَجُ فَتَرَاهُ مُّصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَامًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَلْبَابِ

Artinya: “Tidakkah engkau memperhatikan bahwa Allah menurunkan air (hujan) dari langit, lalu Dia mengalirkannya menjadi sumber-sumber air di bumi. Kemudian, dengan air itu Dia tumbuhkan tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, kemudian ia menjadi kering, engkau melihatnya kekuning-kuningan, kemudian Dia menjadikannya hancur berderai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi ulul albab”.

Menurut Abdullah (2004) firman Allah SWT (ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُّخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ)

“Kemudian, ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanaman-tanaman yang bermacam-macam warnanya”. Pernyataan tersebut menjelaskan bahwa air yang turun dari langit dan turun ke bumi dapat menumbuhkan tanaman-tanaman yang bermacam-macam, yaitu warna, rasa, bentuk, bau dan manfaatnya.

2.1.2 Klasifikasi

Klasifikasi *Gracilaria verrucosa* menurut Papenfuss (1950) adalah sebagai berikut.

Kingdom	: Plantae
Division	: Rhodophyta
Class	: Florideophyceae
Ordo	: Gracilariales
Family	: Gracilariaceae
Genus	: Gracilaria
Species	: <i>Gracilaria verrucosa</i> (Hudson) Papenfuss

2.1.3 Kandungan Alga Merah *Gracilaria verrucosa*

Gracilaria verrucosa dilaporkan memiliki kandungan alkaloid, saponin, fenol, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida (Rudi *et al.*, 2019). Menurut Rusli *et al.*, (2016) jumlah kandungan total fenol pada *Gracilaria verrucosa* sebesar $96,35 \pm 4,87$ mg/g sampel dengan pelarut etanol, dan $150,37 \pm 8,07$ dengan pelarut metanol. Selain itu, *Gracilaria verrucosa* memiliki kandungan pigmen klorofil a sebesar 0,536 mg/g sampel, klorofil b sebanyak 0,739 mg/g sampel. Kemudian *Gracilaria verrucosa* juga memiliki kandungan karotenoid sebesar 1,244 mg/g sampel (Setiabudi dkk., 2020).

2.1.4 Hasil Riset *Gracilaria verrucosa*

Gracilaria verrucosa dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 188,53 ppm (Febrianto dkk., 2019). Penelitian yang sama dilaporkan oleh Widowati *et al.*, (2014) bahwa *Gracilaria verrucosa* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai EC_{50} sebesar 173,67 ppm. Penelitian lainnya juga melaporkan bahwa *Gracilaria verrucosa* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 8,29 ppm (Ibrahim dkk., 2020). Menurut Febrianto dkk., (2019) perbedaan aktivitas antioksidan pada *Gracilaria verrucosa* dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu jenis pelarut yang digunakan, kandungan bioaktif yang terdapat pada sampel, dan faktor lingkungan yang berhubungan dengan suhu, pH dan kedalaman air laut yang digunakan untuk budidaya *Gracilaria verrucosa*.

Penelitian tentang aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase pada nanopartikel *Gracilaria verrucosa* belum pernah dilaporkan. Namun *Green synthesis silver nanoparticles* pada genus *Gracilaria* pernah dilaporkan Rajivgandhi *et al.* (2020) dengan spesies *Gracilaria corticata*. Silver Nanopartikel menggunakan alga merah *Gracilaria corticata* memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada ekstrak, dengan presentase penghambatan 72%, sedangkan pada ekstrak biasa hanya memiliki presentase 66%.

2.2 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu memperlambat proses oksidasi dari suatu material yang dapat teroksidasi, meskipun ketika digunakan dalam jumlah yang sangat sedikit (kurang dari 1 %, biasanya 1-1000mg/L)(Amorati *et al.*, 2013).

Secara sederhana antioksidan dapat diartikan sebagai sesuatu yang dapat memperlambat, menjaga, atau menghilangkan proses oksidasi yang menyebabkan kerusakan pada target (López-Alarcón & Denicola, 2013). Antioksidan berperan penting dalam sistem tubuh manusia, yakni dapat mengurangi reaksi oksidasi dan pengaruh yang berbahaya dari ROS (*reactive oxygen species*). Antioksidan dapat didefinisikan sebagai senyawa yang secara langsung dapat mengangkut ROS atau secara tidak langsung dengan menghambat produksi ROS. Antioksidan dapat melindungi tubuh manusia dari penyakit kronis dengan menghambat radikal bebas dan ROS (Gulcin, 2020).

Antioksidan merupakan molekul yang dapat menjaga sel dari kerusakan yang diakibatkan karena proses oksidasi dari molekul lainnya. Oksidasi sendiri merupakan suatu reaksi kimia yang mentransfer elektron dari satu molekul ke suatu agen oksidasi. Reaksi oksidasi dapat memproduksi radikal bebas. Radikal bebas sendiri merupakan *reactive oxygen species* yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas dan mengakhiri rantai dari reaksi ini dengan melepas perantara radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi yang lain dengan mengoksidasi rantainya sendiri (Brar *et al.*, 2014).

2.2.1 Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan secara garis besar dibagi menjadi 2 kategori (Brar *et al.*, 2014), yakni antioksidan alami, dan antioksidan sintetis.

2.2.1.1 Antioksidan Alami

Antioksidan alami merupakan senyawa yang disintesis oleh tubuh melalui proses metabolisme atau didapatkan dari bahan alam, dan aktivitasnya sangat tergantung pada sifat fisika, kimia dan mekanisme reaksinya, antioksidan alami dibagi menjadi 2 kategori, yakni antioksidan enzimatis dan antioksidan nonenzimatis (Brar *et al.*, 2014). Antioksidan enzimatis merupakan senyawa yang diproduksi oleh tubuh, terdiri dari antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer terdiri dari *superoxide dismutase* (SOD), enzim katalase (CAT), glutathione peroksidase (GPx). SOD ditemukan pada lapisan dermis dan epidermis (Brar *et al.*, 2014). Antioksidan nonenzimatis merupakan senyawa antioksidan yang tidak ditemukan pada tubuh, dibutuhkan untuk tambahan reaksi tertentu, terdiri dari mineral, vitamin, karotenoid, polifenol (Brar *et al.*, 2014). Antioksidan nonenzimatis bekerja dengan mengganggu ikatan dari reaksi radikal bebas (Nimse & Pal, 2015).

Vitamin merupakan sebuah grup dari senyawa organik yang ditemukan pada bahan alam. Vitamin terdiri dari campuran grup dari senyawa kimia yang tidak berhubungan satu sama lain layaknya protein, karbohidrat dan lipid. Klasifikasinya tidak tergantung pada karakteristik kimianya, tetapi pada fungsinya (Combs, 2012). Vitamin membentuk kelas mikronutrien yang diperlukan untuk fungsinya sebagai sistem antioksidan enzimatis pada tubuh, seperti vitamin A, vitamin B, vitamin C, dan vitamin E. (Olubukola Sinbad *et al.*, 2019). Menurut Petruk *et al.* (2018) vitamin C dilaporkan memiliki kemampuan untuk melindungi keratinosit manusia dari stress oksidatif yang disebabkan oleh sinar UV. Selain itu *pretreatment* sel oleh vitamin C

dapat menjaga tingkat ROS, GSH, dan peroksidasi lipid dan tidak menimbulkan apoptosis ataupun inflamasi.

Karotenoid merupakan kelompok senyawa yang terdiri dari β -caroten, likopen, lutein dan zeaxanthin, yang mana merupakan senyawa yang larut dalam lemak dan senyawa yang memiliki warna yang ditemukan pada buah dan sayuran (Brar *et al.*, 2014). Lebih dari 600 jenis karotenoid yang telah diidentifikasi dan dikarakterisasi, dewasa ini karotenoid telah banyak diperhatikan khususnya pada potensinya sebagai antioksidan. Inti dari struktur karotenoid adalah polyene yang mana memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan radikal bebas dan *singlet oxygen*, karena itu karotenoid dapat bertindak sebagai antioksidan yang efektif (Young & Lowe, 2018).

Polifenol merupakan bagian dari kelas fitokimia yang memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan dari grup ini tergantung dari sifat kimia dan fisika yang bertanggung jawab dalam mengatur metabolisme, tergantung dari struktur molekulernya (Brar *et al.*, 2014). Struktur dari polifenol terdiri dari rantai aromatik, memiliki lebih dari satu substitusi hidroksil. (Vuolo *et al.*, 2018). Polifenol terdiri dari asam fenol, flavonoid, gingerol curcumin dan lain-lain (Brar *et al.*, 2014). Senyawa fenol memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena berkaitan dengan sifatnya yang dapat mereduksi hidrogen atau agen pendonor elektron, yang diprediksi dapat berpotensi untuk berperan sebagai penambat radikal bebas (Vuolo *et al.*, 2018).

Flavonoid merupakan senyawa dari kelompok polifenol yang banyak ditemukan di berbagai tumbuhan (Brar *et al.*, 2014). Flavonoid memiliki beberapa sifat biokimia, tetapi yang paling baik dan hampir semua grup dari flavonoid berperan

sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan pada flavonoid tergantung pada pengaturan gugus fungsi di struktur inti. Mekanisme antioksidan dari flavonoid dapat berupa supresi dari pembentukan ROS dengan menghambat enzim atau dengan pengelatan pada bagian yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas, penambatan ROS, dan peningkatan perlindungan antioksidan (S. & P. A. K. Kumar, 2013). Flavonoid dapat mencegah cedera yang disebabkan oleh radikal bebas pada beberapa jalur dan satu jalur yang langsung menambat radikal bebas. Flavonoid dioksidasi oleh radikal, menghasilkan struktur yang lebih stabil, artinya flavonoid menstabilkan ROS dengan mereaksikan dengan senyawa reaktif pada radikal, karena reaktivitasnya yang tinggi, radikal dibuat inaktif (Panche *et al.*, 2016).

2.2.1.2 Antioksidan Sintetis

Antioksidan sintetis merupakan senyawa kimia yang bukan berasal dari makhluk hidup dan biasa digunakan untuk mencegah oksidasi lipid (Atta *et al.*, 2017). Antioksidan sintetis biasa digunakan untuk industri pangan, khususnya untuk memperlambat dan mencegah oksidasi pada saat penyimpanan. Antioksidan sintetis terdiri dari *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ), *propyl gallate* (PG), dan *octyl gallate* (OG). BHT dan BHA merupakan antioksidan yang digunakan di industri makanan dan farmasi. BHA merupakan senyawa yang efektif digunakan untuk mengontrol oksidasi dari rantai pendek asam lemak. TBHQ memiliki efektivitas sebagai pengawet makanan. PG aman digunakan untuk menjaga lemak dan minyak agar tidak berbau tengik. OG dapat digunakan sebagai pengawet makanan (Gulcin, 2020).

2.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan

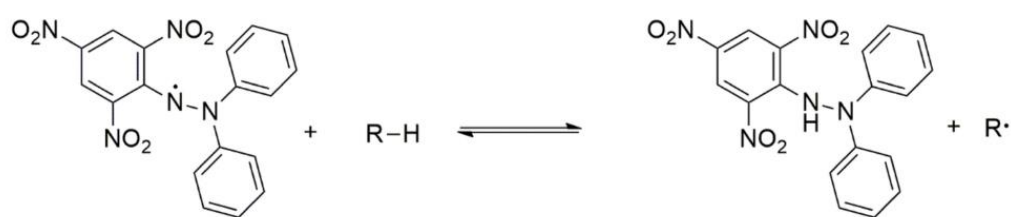
2.3.1 α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH)

α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) merupakan salah satu radikal bebas yang dapat digunakan sebagai salah satu metode untuk menghitung aktivitas *radical scavenging*. Metode ini bermodalkan spektrofotometri yang menghitung perubahan konsentrasi DPPH yang dihasilkan dari reaksinya dengan antioksidan. Selama reaksi berlangsung, DPPH dengan sebuah elektron valensi yang tidak berpasangan pada satu atom nitrogen direduksi oleh sebuah atom hidrogen yang berasal dari antioksidan. Sifat antioksidan dari sampel yang diuji ditentukan oleh energi kinetik dari reaksi tersebut (Dawidowicz *et al.*, 2012).

Metode ini dikembangkan oleh Blois (1958) untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan menggunakan sebuah radikal bebas α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH; $C_{18}H_{12}N_5O_6$, $M=394.33$). Pengujian ini berdasarkan perhitungan dari *scavenging capacity* dari antioksidan terhadap DPPH. Metode DPPH merupakan metode yang cepat, mudah dan murah yang telah banyak digunakan untuk menghitung kekuatan suatu senyawa yang berperan sebagai *free radical scavenging* atau sebagai donor hidrogen dan untuk mengevaluasi dan menginvestigasi aktivitas antioksidan pada makanan, sayuran, dan obat herbal (Kedare & Singh, 2011).

DPPH memiliki keunggulan dalam pemakaiannya, yakni metode yang sederhana, mudah, ekonomis dan cepat dan efisien untuk menghitung aktivitas antioksidan dan evaluasi aktivitas *radical scavenging* dari antioksidan. Antioksidan dapat menonaktifkan radikal bebas DPPH dengan memberikan atom hidrogen atau

donor elektron. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil berdasarkan delokalisasi elektron cadangan secara keseluruhan, sehingga molekul tidak terdimerisasi, seperti yang akan terjadi pada kebanyakan radikal bebas lainnya, dengan demikian delokalisasi elektron menimbulkan warna ungu tua yang dicirikan dengan pita serapan dalam larutan organik yang berpusat sekitar 517 nm. Ketika larutan DPPH dicampurkan ke molekul antioksidan yang dapat memberikan atom hidrogen. Pengurangan DPPH ditandai dengan hilang atau berkurangnya warna ungu. Perhitungan DPPH dapat dilakukan menggunakan spektrofotometer (Gulcin, 2020).



Gambar 2. 2 Reaksi antara DPPH dengan Hidrogen Donor (Bedlovičová *et al.*, 2020)

Kerusakan lingkungan yang disebabkan oleh ulah manusia merupakan salah satu masalah yang berperan dalam meningkatnya radikal bebas, seperti pemanasan global dan polusi udara. Kerusakan alam sejatinya akan berdampak pada manusia itu sendiri. Allah telah berfirman dalam Al-Qur'an yang berbunyi sebagai berikut.

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا
لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ

Artinya : “Telah tampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan perbuatan tangan manusia. (Melalui hal itu) Allah membuat mereka merasakan sebagian dari (akibat) perbuatan mereka agar mereka kembali (ke jalan yang benar).” (QS: Ar-Rum (30):41).

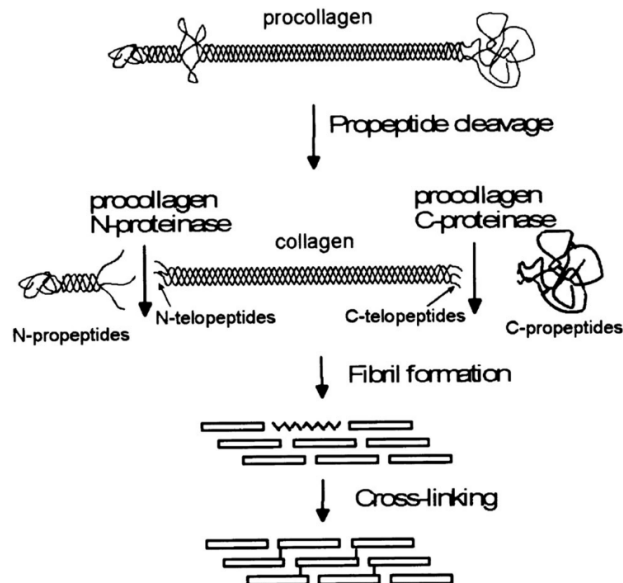
Menurut Tafsir Kementrian agama, ayat ini menjelaskan tentang kerusakan yang terjadi akibat perbuatan manusia. Kata (الفساد) memiliki arti kerusakan, yang dapat dijabarkan menjadi kerusakan lingkungan. Polusi udara dan pemanasan global yang dapat menyebabkan menipisnya lapisan ozon merupakan beberapa bentuk kerusakan alam. Dalam ayat ini, Allah menegaskan tidak semua akibat dari kerusakan alam dirasakan langsung oleh manusia. Allah telah menciptakan sistem yang dapat menetralsir akibat dari kerusakan tersebut. Hal ini dapat dihubungkan dengan mpolusi udara dan radiasi sinar ultraviolet yang disebabkan oleh menipisnya lapisan ozon merupakan komponen penyebab adanya radikal bebas. Allah menciptakan antioksidan untuk menetralsirkannya.

2.4 Kolagen

Kolagen merupakan protein ekstraseluler yang berperan penting dalam membantu beberapa jaringan, salah satunya terdapat pada kulit. Kolagen berfungsi untuk menstabilkan dan memperkuat jaringan tubuh dengan membuat jaring-jaring pendukung di sepanjang struktur seluler (Rodríguez *et al.*, 2018). Kolagen merupakan protein yang terdiri dari tiga ikatan polipeptida yang mengandung setidaknya satu daerah dengan sekuen asam amino yang berulang (Pawelec *et al.*, 2016).

Kolagen dapat dikategorikan berdasarkan substansi struktur *triple helical domains*. Kolagen dikategorikan menjadi beberapa tipe. Tipe kolagen yang dibentuk oleh kolagen fibril diantaranya adalah kolagen tipe I yang merupakan komponen terbanyak, kolagen tipe III yang merupakan kolagen yang berada di daerah permukaan, dan kolagen V yang merupakan kolagen inti (Goldberga *et al.*, 2018).

Kolagen tipe I ditemukan pada kulit, tendon dan tulang. Kolagen tipe II ditemukan pada kartilago. Kolagen tipe IV hampir ditemukan pada semua jaringan dan terlibat dalam integritas jaringan (Pawelec *et al.*, 2016).



Gambar 2. 3 Proses Pembentukan Kolagen Fibril

Pembentukan kolagen fibril diawali dengan translasi protein kolagen pada retikulum endoplasma. Selanjutnya, peptida mengalami modifikasi paska translasi, termasuk glikolisasi, modifikasi residu dan ikatan disulfida. setiap molekul kolagen mengandung kelebihan sekuen peptida yang berada di ujung protein yang dipercaya berperan dalam inisiasi pembentukan *triple helix*. Molekul tersebut disebut dengan prokolagen. Setelah itu ujung dari segmen akan terlepas dan molekul setelahnya disebut dengan tropokolagen. Selanjutnya tropokolagen distabilkan oleh ikatan kovalen yang kemudian membentuk fibril (Gambar 2.3) (Pawelec *et al.*, 2016).

Kolagen merupakan salah satu bentuk sekaligus bukti bahwa Allah benar-benar menciptakan-Nya. Manusia seharusnya merenungkan segala ciptaan Allah. Hal tersebut tertuang dalam Al-Qur'an yang berbunyi sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَتَفَكَّرُوا فِي أَنفُسِهِمْ ۚ مَا خَلَقَ اللَّهُ السَّمٰوٰتِ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا إِلَّا بِالْحَقِّ وَأَجَلٍ مُّسَمًّى ۚ وَإِنَّ كَثِيرًا مِّنَ النَّاسِ بِلِقَآئِ رَبِّهِمْ لَكٰفِرُونَ

Artinya: “Apakah mereka tidak berpikir tentang (kejadian) dirinya? Allah tidak menciptakan langit, bumi, dan apa yang ada di antara keduanya, kecuali dengan benar dan waktu yang ditentukan. Sesungguhnya banyak di antara manusia benar-benar mengingkari pertemuan dengan Tuhannya.” (QS: Ar-Rum [30]: 8).

Menurut tafsir Kementrian Agama (2019) ayat tersebut ditujukan kepada orang-orang kafir, yang tidak menggunakan akalnya untuk berfikir dan melihat apa yang ada disekitarnya, merenungkan apa yang ada pada dirinya sendiri, bagaimana Allah menciptakan semua yang ada pada tubuh dengan segala kerumitannya. Ayat pendukung dari pernyataan tersebut berbunyi sebagai berikut:

وَفِي أَنفُسِكُمْ أَفَلَا تُبْصِرُونَ

Artinya: “(Begitu juga ada tanda-tanda kebesaran-Nya) pada dirimu sendiri. Maka, apakah kamu tidak memperhatikan?” (QS: Az-Zariyat [51]: 21).

Menurut tafsir Kementrian Agama (2019) ayat tersebut menjelaskan bahwa terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah dalam diri manusia. Allah menciptakan kecerdasan, struktur tubuh, anggota dari tubuh yang memiliki fungsi masing-masing. Berdasarkan penjelasan tersebut, kolagen merupakan salah satu bukti tanda-tanda kekuasaan Allah yang dapat berfungsi sebagai jaringan ikat sekaligus memberi bentuk tubuh pada manusia.

2.5 Penghambatan Enzim Kolagenase

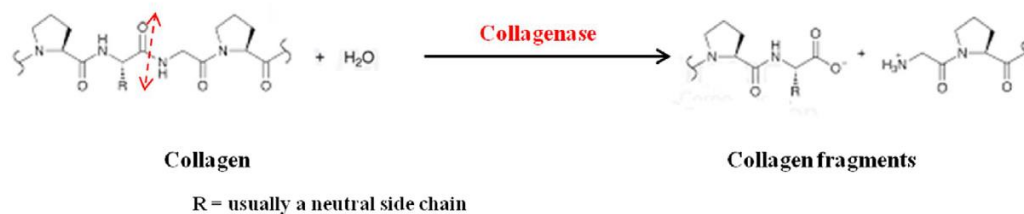
Penuaan dini merupakan proses biologi yang sangat kompleks yang dipengaruhi oleh faktor intrinsik dari dalam tubuh (genetik, metabolisme seluler, hormon, dan proses metabolik) maupun faktor ekstrinsik dari luar tubuh (paparan cahaya, polusi, ionisasi dari radiasi, kimia, dan toksin) (Ganceviciene *et al.*, 2012). Penuaan tipe instrinsik dapat terjadi karena faktor usia, ekspresi gen, turunnya kinerja hormon, dan gangguan kulit yang melibatkan syaraf (Kang *et al.*, 2020). Terjadinya ekspresi *matrix metalloproteinase* (MMPs) yang berperan dalam proses penuaan (Yasin *et al.*, 2017). Faktor ekstrinsik dapat disebabkan oleh radiasi sinar ultraviolet, asap rokok dan polusi udara (Vierkötter & Krutmann, 2012).

Radiasi sinar ultra violet dapat menstimulasi pembentukan ROS di kulit (Masaki, 2010). ROS yang berasal dari sinar UV dapat menyebabkan kerusakan protein seluler, lipid, asam nukleat, membran sel dan organel termasuk mitokondria. Paparan sinar UV dapat menyebabkan gangguan pada rantai transport elektron yang akan menghasilkan energi yang lebih rendah dan dapat mengurangi fungsi mitokondria pada jaringan fibroblas (McDaniel *et al.*, 2018). Fibroblas sendiri merupakan jaringan yang dapat memproduksi matriks ekstraseluler dan kolagen (Maeda, 2018).

Menurut Jang *et al.*, (2018) kolagen merupakan protein yang banyak ditemukan di dalam jaringan tubuh manusia dan merupakan protein struktural dari kulit, tulang, dan tendon. Akibat dari paparan sinar UV jangka panjang, produksi kolagen pada fibroblas dermal akan menurun (Maeda, 2018). Penurunan tersebut

disebabkan oleh aktifnya matriks metalloproteinase (MMPs). Selain itu MMPs dapat mendegradasi kolagen sehingga terjadi ketidak seimbangan pada jaringan ikat hingga terbentuk keriput pada kulit (Li *et al.*, 2019).

Matriks metalloproteinase (MMPs) merupakan enzim yang terdiri dari Zinc yang berperan dalam mendegradasi matriks ekstraseluler dan terlibat dalam *remodeling* jaringan, yang menyertai inflamasi, resorpsi tulang, atherosklerosis dan invasi tumor. Kolagenase merupakan enzim yang bertanggung jawab untuk mendegradasi kolagen dengan memecah ikatan peptida (Fayad *et al.*, 2017) (Gambar 2.3). MMPs merupakan kelompok enzim yang memiliki ion Zinc endogenous protease yang dapat menghidrolisis kolagen. Meskipun katabolisme kolagen penting dilakukan untuk hoemostasis jaringan, aktivitas berlebihan MMPs terhadap kolagen juga terlibat dalam beberapa kondisi patologis, seperti merastasis, neurodegeneratif, osteoporosis, dan penyakit periodental (Junior *et al.*, 2019).



Gambar 2. 4 Mekanisme Pendegradasian Kolagen oleh Kolagenase (Fayad *et al.*, 2017)

MMPs merupakan golongan enzim protease yang mengandung zinc. Golongan enzim MMPs yang berperan dalam degradasi kolagen adalah MMP-1 yang merupakan kolagenase interstitial yang berperan untuk menginisiasi kerusakan dari kolagen tipe I, II dan III. Tipe kolagen tersebut merupakan kolagen interstitial

penting yang terletak pada lapisan dermis. Selain itu terdapat pula jenis kolagenase MMP-2 yang dapat merusak kolagen tipe I, III, IV dan VII yang merupakan salah satu komponen penting yang terletak antara dermis dan epidermis.

Mekanisme *photoaging* bermula karena paparan radiasi sinar UV yang menyebabkan peningkatan ROS. Hal tersebut dapat menyebabkan pengaktifan protein AP-1 yang merupakan faktor transkripsi yang teraktifasi akibat meningkatnya MAPKs. Akibat dari peristiwa tersebut, terjadi pengaktifan MMPs atau enzim kolagenase yang dapat mendegradasi kolagen. Selain itu *suppressor* reseptor TGF- β menurun. Hal tersebut dapat menyebabkan penurunan sintesis prokolagen. Akibatnya kandungan kolagen yang ada pada lapisan dermal berkurang (Andrade *et al.*, 2021; Jadoon *et al.*, 2015).

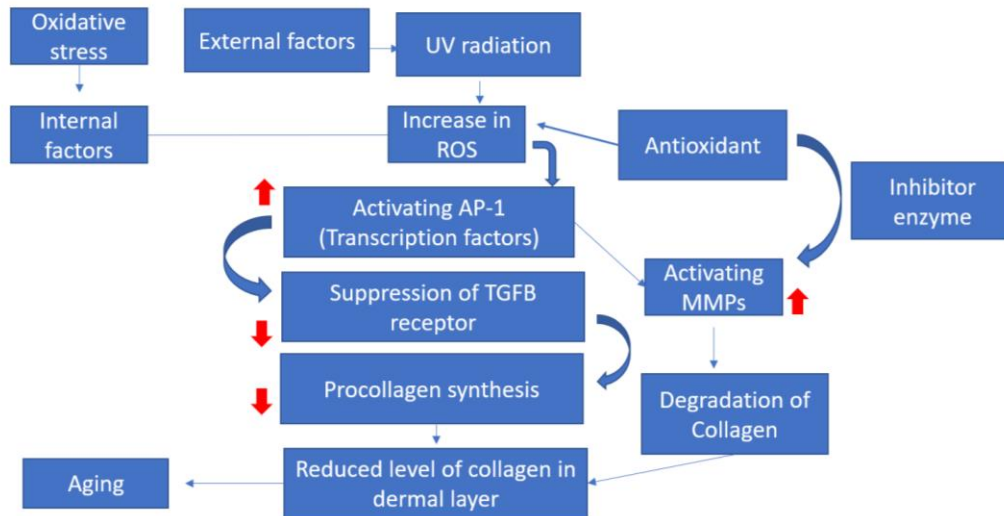
Terbentuknya ekspresi gen yang mengkode MMPs diakibatkan oleh aktifnya AP-1 (*activator protein-1*) yang terdiri dari dua sub unit, yaitu *c fos* dan *c jun*. Keduanya aktif diakibatkan oleh adanya supresi MAPKs (*mitogen activated protein kinase*). MAPKs terdiri dari tiga subunit, yaitu ERK, JNK, dan P38 yang berfungsi untuk proliferasi, diferensiasi dan apoptosis sel. TGF- β merupakan reseptor yang mengatur perkembangan sel, diferensiasi sel, dan hal-hal yang berhubungan dengan homeostasis sel dan dapat mengaktifkan gen pengkode prokolagen tipe I. Prokolagen berfungsi sebagai perkusor terbentuknya kolagen pada kulit. Antioksidan dapat berperan untuk menurunkan sintesis MMPs dengan mengatur AP-1 dan MAPKs. Antioksidan juga dapat membantu mengaktifasi prokolagen dengan menstimulasi terekspresinya reseptor TGF- β (Bang & Choung, 2020). Selain itu antioksidan juga

dapat mengikat sisi katalitik enzim secara reversibel dan menjadi inhibitor dari enzim kolagenase (Andrade *et al.*, 2021).

Tubuh sejatinya memiliki antioksidan (antioksidan endogen) yang menjaga sel agar tidak terjadi kerusakan. Senyawa antioksidan pada tubuh dapat memperlambat terjadinya penuaan dan dapat melindungi sel terhadap radikal bebas (Oresajo *et al.*, 2012). Antioksidan endogen yang terdapat pada lapisan dermis dan epidermis kulit yang terkena sinar matahari dapat berkurang karena paparan sinar UV yang berlebihan dan dapat menyebabkan terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS). Akibat pertambahan usia dan faktor eksternal yang dapat menyebabkan kadar antioksidan endogen berkurang menyebabkan resiko terjadinya reaksi oksidatif, untuk itu perlu adanya bantuan antioksidan dari luar (antioksidan eksogen) (Jadoon *et al.*, 2015). Antioksidan sintetis telah banyak digunakan, seperti *butylatedhydroxytoluene* (BHT), *butylatedhydroxyanisole* (BHA), dan *propyl gallate* (PG). Penelitian terdahulu melaporkan bahwa antioksidan sintetis mempunyai efek samping yang dapat menyebabkan kerusakan liver dan diduga dapat menyebabkan mutasi dan neurotoksik. Penelitian penggunaan antioksidan yang berasal dari bahan alam saat ini Stelah banyak dilakukan (Chan *et al.*, 2014).

Tumbuhan memproduksi beberapa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai pencegahan teraktifkannya enzim kolagenase. Senyawa antioksidan pada tumbuhan yang berupa vitamin, asam lemak, polifenol dapat digunakan sebagai antioksidan alami. Proses perlindungan dari senyawa aktif tersebut dengan mengabsorpsi radiasi sinar UV, menghambat reaksi radikal bebas yang diinduksi oleh sinar UV pada sel, dan memodulasi antioksidan endogen dan sistem inflamasi (Petruk

et al., 2018). Selain itu, pada alga merah memiliki pigmen fikokseritirin yang memiliki aktivitas antioksidan (Alves *et al.*, 2018)



Gambar 2. 5 Mekanisme penuaan dan peran antioksidan (Andrade *et al.*, 2021).

2.6 Nanopartikel

Nanoteknologi merupakan teknologi yang dapat bekerja pada ukuran nano, dengan ukuran 1-100 nm. Nanoteknologi saat ini banyak digunakan di berbagai industri, seperti elektronik, kesehatan dan makanan. Industri kosmetik merupakan salah satu yang paling banyak menggunakan nanoteknologi, khususnya untuk kulit, rambut dan gigi (Santos *et al.*, 2019). *Food and Drug Administration* (FDA) mengizinkan untuk penggunaan nanopartikel pada oral, lokal, topical dan sistemik, tergantung pada aplikasinya terhadap bagian target (Anselmo & Mitragotri, 2016). Partikel yang berukuran nano menunjukkan keunggulan baik dari optikal, mekanikal, dan elektronikal, dan dapat diaplikasikan dengan sangat luas (Ibm *et al.*, 2016).

Nanopartikel dapat disintesis menggunakan dua cara, yakni *top-down* yang merupakan sintesis nanopartikel dengan material yang berukuran besar dipecah

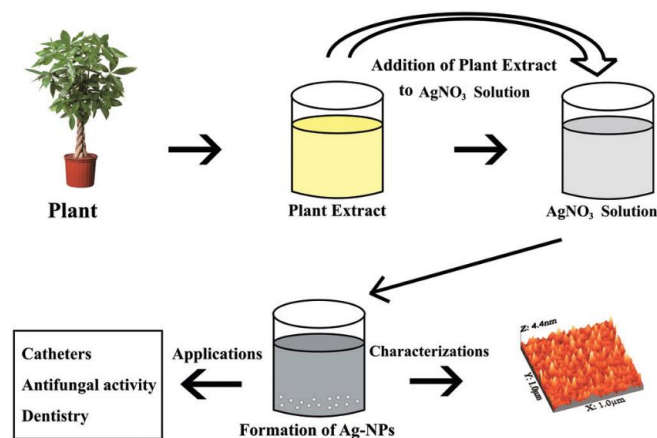
sampai berukuran nano dan *bottom-up* yang merupakan sintesis nanopartikel dengan menggunakan atom atau molekul yang dibentuk menjadi struktur molekuler pada ukuran rentang nanometer (Ibm *et al.*, 2016). Saat ini nanopartikel juga diterapkan pada industri kecantikan (kosmetik), hal ini dikarenakan nanopartikel memiliki kelebihan, yaitu dapat mengoptimalkan pengantaran bahan aktif pada kulit (Montenegro, 2014).

2.6.1 Green Synthesis Silver Nanoparticles (AgNPs)

Green synthesis silver nanoparticles (AgNPs) merupakan salah satu metode sintesis nanopartikel menggunakan agen biologi, seperti bakteri, fungi dan tumbuhan (Shanmuganathan *et al.*, 2019). *Green synthesis* AgNPs dapat dilakukan menggunakan ekstrak tumbuhan. Tumbuhan yang dipakai untuk sintesis AgNPs mulai dari alga sampai tumbuhan tingkat tinggi (Srikar *et al.*, 2016). Penggunaan tumbuhan lebih menguntungkan daripada penggunaan mikroorganisme seperti bakteri, karena lebih murah, tidak membutuhkan media pertumbuhan dan pengelolaan kultur mikroba. Selain itu penggunaan ekstrak tumbuhan memiliki potensi yang lebih besar sebagai bioreduksi daripada yang berasal dari kultur mikroba (Abdelghany *et al.*, 2018). AgNPs memiliki aktivitas antibakteri, antikanker, anti fungi, antiparasit (Shanmuganathan *et al.*, 2019; Srikar *et al.*, 2016), antioksidan (Rajivgandhi *et al.*, 2020) dan antiaging (Radwan *et al.*, 2020).

Proses *green synthesis* AgNPs diawali dengan mengekstrak bagian tanaman, kemudian dilanjutkan penambahan hasil ekstrak ke dalam larutan AgNO₃. Selanjutnya didiamkan selama beberapa waktu hingga berubah warna. Kemudian

hasil pembentukan AgNPs dapat dilanjutkan untuk karakterisasi dan pengaplikasiannya (Rafique *et al.*, 2017). Sintesis AgNPs terdiri dari dua tahap. Mula-mula ion Ag^+ direduksi menjadi Ag^0 , diikuti aglomerasi dari koloid nanopartikel perak membentuk gugus oligomer yang akhirnya stabil (H. Kumar *et al.*, 2020).



Gambar 2. 6 Proses sintesis nanopartikel perak menggunakan bahan alam (Rafique *et al.*, 2017)

Penelitian Singh *et al.*, (2018) menyebutkan bahwa *Green synthesis silver nanoparticles* dapat dimanfaatkan untuk melindungi kulit dari paparan sinar UV. Hal tersebut didukung oleh data hasil penelitian dengan perlakuan nanopartikel perak yang diaplikasikan ke kultur sel HaCaT (*human epidermal keratinocytes*) yang menunjukkan penurunan sekresi MMP-1 sebesar 47% pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$ dan 53% pada konsentrasi AgNPs 100 $\mu\text{g/ml}$. AgNPs dapat menekan produksi MMP-1 dan IL-6, serta dapat meningkatkan produksi prokolagen tipe 1. Penelitian

Rajivgandhi *et al.*, (2020) melaporkan aktivitas antioksidan AgNPs yang lebih baik daripada ekstrak.

2.7 Nilai IC_{50} pada Pengujian Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan enzim Kolagenase

Nilai IC_{50} merupakan parameter yang digunakan secara luas, salah satunya untuk perhitungan aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim. IC_{50} merupakan kalkulasi dari konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% dari konsentrasi antioksidan ataupun enzim. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin besar aktivitas antioksidannya (Rivero-cruz *et al.*, 2020). Penggolongan nilai IC_{50} dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Penggolongan tingkat penghambatan berdasarkan nilai IC_{50}

Kemampuan Penghambatan	Nilai IC_{50}
Sangat Kuat	<50
Kuat	50-100
Sedang	100-150
Lemah	150-200
Sangat Lemah	>200

(Tanur *et al.*, 2020)

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang berjudul “Aktivitas Antioksidan Dan Penghambatan Enzim Kolagenase Nanopartikel Perak menggunakan Alga Merah *Gracilaria verrucosa*” merupakan penelitian dengan jenis eksploratif dan analisis dilakukan secara deskriptif kuantitatif. Sampel yang telah berukuran nanopartikel dianalisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif. Pengujian aktivitas penghambatan enzim kolagenase dilakukan menggunakan enzim kolagenase. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif.

Pengujian karakterisasi nanopartikel perak dilakukan menggunakan *Particle Size Analyzer*. Pembacaan nilai absorbansi pada pengujian aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak alga merah *Gracilaria verrucosa* menggunakan UV-Vis spektrofotometer. Data absorbansi menentukan daya hambat sampel nanopartikel *Gracilaria verrucosa* terhadap DPPH dan enzim kolagenase yang dinyatakan dalam IC₅₀.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga Juli 2021. Tahap persiapan dan pengujian aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pengujian ukuran nanopartikel dilakukan di Laboratorium Farmasi, Program studi

Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain alat tulis, *freezer*, enlenmeyer (Iwaki TE-32 Pyrex), gelas kimia (Iwaki TE-32 Pyrex), kamera, kertas label, kuvet, mikropipet (Bio-Rad), neraca analitik, spatula, *sentrifuge* (Thermo-scientific), *magnetic stirrer*, tabung reaksi, tip, tube, UV-Vis spektrofotometer (Bio-Rad). *Particle Size Analyzer*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain akuades asam askorbat, kolagen, buffer trisin, DPPH, enzim kolagenase (*Clostridium histolyticum*), etanol absolut (96%), folin, sampel nanopartikel *Gracilaria verrucosa*, silver nitrat (AgNO_3), TCA dan tirosin.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Ekstraksi *Gracilaria verrucosa*

Pembuatan ekstrak diawali dengan disiapkannya sampel *Gracilaria verrucosa*. Kemudian sampel dihaluskan menggunakan blender. Selanjutnya hasil blender disaring menggunakan saringan 0,05 mm. Setelah itu ditimbang total sampel yang didapatkan. Selanjutnya sampel dilarutkan ke dalam pelarut akuades dengan

perbandingan sampel:akuades (1:10) g/mL. Kemudian larutan dihomogenkan. Setelah itu larutan dimasukkan ke dalam tube 15 ml. Selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit dengan suhu 4°C. Hasil ekstrak *Gracilaria verrucosa* merupakan supernatan dari hasil sentrifugasi. Kemudian ekstrak disaring menggunakan kertas saring Whatmann No. 1.

3.4.2 Sintetis Nanopartikel perak

Pembuatan nanopartikel perak mangacu pada penelitian Rajivgandhi *et al.* (2020). Pertama dimasukkan 10 mL filtrat *Gracilaria verrucosa* ke dalam labu ukur yang berisi 90 mL silver nitrat (AgNO_3) 1mM rasio (1:9). Kemudian diinkubasi ke ruangan gelap selama 1 jam pada suhu ruang. Terbentuknya AgNPs ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi kuning pucat. Selanjutnya larutan dipindahkan ke dalam tube. Kemudian larutan disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 30 menit pada suhu 20°C. Selanjutnya diambil pelet dan dikeringkan pada suhu 45°C selama 24 jam.

3.4.3 Uji Distribusi Partikel

Pengujian distribusi partikel diawali dengan dilarutkan sampel 1mg/10 ml. Kemudian sampel dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya sampel diambil sebanyak 1 µl kemudian dimasukkan ke dalam alat *Particle Size Analyzer*. Data hasil pengujian distribusi partikel tercatat dalam komputer yang terhubung pada alat.

3.4.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Tahap-tahap pengujian aktivitas antioksidan dilakukan sebagai berikut:

1. Pembuatan Stok Larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 0,1 M. Pembuatan larutan DPPH diawali dengan melarutkan serbuk DPPH sebanyak 1,97 mg ke dalam pelarut etanol absolut sebanyak 50 ml, kemudian dihomogenkan.

2. Pembuatan Larutan Berseri

Larutan berseri dibuat dengan disiapkannya sampel nanopartikel alga merah *Gracilaria verrucosa*. Kemudian dibuat 5 seri konsentrasi (12,5, 25, 50, 100 dan 200)ppm. Perhitungan dilakukan menggunakan rumus $ppm = mg/L$, sehingga didapatkan massa yang dibutuhkan untuk membuat konsentrasi tersebut sebanyak 0,125, 0,25, 0,5, 1 dan 2 mg. Masing-masing dilarutkan dalam akuades dengan volume 10 mL.

Pembuatan larutan berseri pada ekstrak dilakukan dengan variasi konsentrasi yang sama, yaitu 12,5, 25, 50, 100 dan 200 ppm. Ekstrak diambil dari stok. Perhitungan dilakukan menggunakan rumus $M1.V1 = M2.V2$, sehingga didapatkan volume 125, 250, 500, 1000 dan 2000 μL yang dilarutkan dalam akuades dengan volume akhir sebanyak 10 mL.

Pembuatan larutan berseri pada asam askorbat yang digunakan sebagai standar dilakukan dengan membuat larutan stok dengan konsentrasi 50 ppm yang dilarutkan dalam akuades dengan volume 10 mL. Perhitungan dilakukan menggunakan rumus $ppm = mg/L$, sehingga didapatkan massa 0,5 mg. Konsentrasi yang akan diuji adalah 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm dengan volume 10 mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan menggunakan rumus $M1.V1 = M2.V2$, sehingga

didapatkan volume masing-masing 200, 400, 600, 800, dan 1000 μL . Kemudian diambil larutan asam askorbat sesuai dengan volume tersebut dan dilarutkan ke dalam akuades dengan volume akhir 10 mL.

3. Tahap Pengujian Aktivitas Antioksidan

Uji Antioksidan diawali dengan disiapkannya sampel dengan seri konsentrasi yang telah dibuat. Selanjutnya diambil 500 μL masing-masing sampel dan dimasukkan ke dalam tube untuk direaksikan. Kemudian masing masing ditambahkan larutan DPPH sebanyak 500 μL yang diambil dari larutan stok DPPH. Masing-masing sampel dibuat ulangan sebanyak 3 kali. Setelah itu diinkubasi pada tempat gelap pada suhu 37°C selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pembacaan absorbansi menggunakan UV-Vis spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm, kemudian dilakukan pembacaan sebanyak 3 kali pada setiap sampel. Digunakan asam askorbat sebagai standar.

Perhitungan persentase penghambatan DPPH adalah sebagai berikut (molyneux,2004):

$$\% \text{Penghambatan DPPH} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100$$

3.4.5 Uji Penghambatan Enzim Kolagenase

Metode pengujian penghambatan enzim kolagenase pada penelitian ini mengacu pada Nurhayati *et al.*, (2013) dan Baehaki *et al.*, (2012) dengan modifikasi. Pengujian penghambatan enzim kolagenase oleh sampel nanopartikel dan ekstrak

Gracilaria verrucosa dilakukan dengan dilarutkannya 20 µL dengan berbagai konsentrasi (12,5, 25, 50, 100, dan 200 ppm) ke dalam larutan yang terdiri dari 20 µl enzim kolagenase (*Clostridium histolyticum*). Ditambahkan 20 µL buffer trisin pH. 7. Kemudian larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Selanjutnya ditambahkan substrat kolagen sebanyak 100 µl ke dalam larutan yang telah diinkubasi. Kemudian larutan diinkubasi kembali pada suhu 37° C selama 10 menit. Selanjutnya, ditambahkan TCA 5% sebanyak 400 µL dan Folin Ciocalteu sebanyak 200 µL. Setiap sampel dibuat ulangan sebanyak 3 kali.

Larutan blanko dibuat menggunakan buffer sebagai pengganti sampel dan direaksikan sama dengan sampel, kemudian larutan ezim diganti dengan akuades. Selain itu larutan standar tirosin dibuat dengan mereaksikan tirosin sebagai pengganti sampel dan enzim dan direaksikan sama dengan sampel. Kemudian disiapkan juga enzim kolagenase yang direaksikan tanpa inhibitor dengan reaksi yang sama seperti pada sampel. Semua sampel selanjutnya dilihat absorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 578 nm dan dilakukan pembacaan sampel sebanyak 3 kali. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif sekaligus pembanding.

Perhitungan persentase penghambatan enzim dilakukan dengan melihat aktivitas enzim kolagenase yang direaksikan dengan sampel. Rumus yang digunakan dalam perhitungan tersebut adalah sebagai berikut (Baehaki *et al.*, 2012):

$$UA = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi blanko}}{\text{Absorbansi standar} - \text{absorbansi blanko}} \times Px1/T$$

Keterangan:

UA/mL = jumlah tirosin yang dihasilkan per enzim per menit

P = Pengenceran

T = waktu inkubasi (10 menit)

Selanjutnya, persentase penghambatan enzim dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Nurhayati dkk., 2013):

$$\% \text{Penghambatan} = 1 - \frac{\text{Aktivitas Enzim Kolagenase dengan inhibitor}}{\text{Aktivitas Enzim Kolagenase tanpa inhibitor}} \times 100\%$$

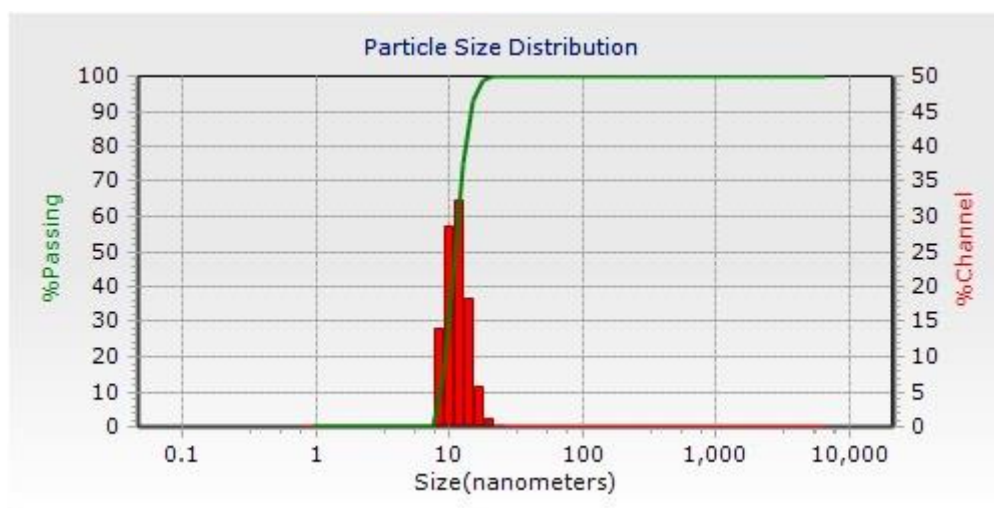
3.5 Analisis Data

Analisis data dipresentasikan dengan Mean $\pm$ SD. Nilai IC₅₀ dianalisis menggunakan regresi linier. Analisis korelasi dilakukan menggunakan analisis korelasi *pearson*. Analisis data dilakukan menggunakan Microsoft Excel 2019.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Karakteristik Nanopartikel perak *Gracilaria verrucosa*

Distribusi ukuran nanopartikel yang terbentuk pada penelitian yang telah dilakukan rata-rata adalah 11 nm, berada di dalam rentang yang sama dengan penelitian Rajivgandhi *et al.*, (2020) yang menggunakan spesies *Gracilaria corticata* menghasilkan ukuran nanopartikel perak dengan rentang 10-100 nm. Selain itu penelitian Aragão *et al.*, (2019) yang telah melakukan sintesis nanopartikel perak menggunakan *Gracilaria birdae* menghasilkan rata-rata ukuran 20-90 nm. Perbedaan ukuran yang dihasilkan dapat disebabkan oleh metode dan perlakuan yang digunakan. Menurut Khodashenas & Ghorbani, (2019) bentuk dan ukuran dari nanopartikel perak tergantung pada perlakuan yang telah dilakukan, seperti pH, suhu, konsentrasi silver nitrat, metode yang digunakan, reduktor dan *capping agent* yang bereaksi dengan silver.



Gambar 4. 1 Distribusi Ukuran Partikel AgNPs *Gracilaria verrucosa*

Sampel Alga merah *Gracilaria verrucosa* bertindak sebagai reduktor dan *capping agent* dalam sintesis nanopartikel perak, hal ini menurut Odeniyi *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa sintesis nanopartikel perak menggunakan tumbuhan memiliki kelebihan dalam menstabilkan nanopartikel karena biomolekul dari tumbuhan memiliki dua peran dalam pembentukan nanopartikel perak, yakni sebagai reduktor dan *capping agents*. Menurut Ravichandran *et al.*, (2019) senyawa fenol dan senyawa bioaktif dalam tumbuhan dapat merubah ion silver dan memberikan kestabilan agar tidak terjadi aglomerasi. Selain itu, kestabilan nanopartikel perak dapat disebabkan oleh adanya enzim atau protein yang terdapat pada ekstrak. Flavonoid dan senyawa fenol merupakan senyawa yang efektif dalam bertindak sebagai *reducing* dan *capping agent*. Senyawa enol yang terdapat pada flavonoid dan fenol dapat membebaskan elektron dengan memecah rantai O-H dan pembebasan elektron tersebut dapat digunakan dalam mereduksi Ag^+ menjadi Ag^0 .

Kestabilan nanopartikel dapat diukur dengan melihat nilai zeta potensial. Nilai Zeta potensial nanopartikel perak *Gracilaria verrucosa* sebesar +200mV. Nilai tersebut berada dalam kategori kestabilan yang sangat baik. Data zeta potensial AgNPs *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada gambar 4.2. Hal tersebut sesuai dengan Kumar & Dixit (2017) yang menyatakan bahwa zeta potensial merupakan teknik yang dapat menentukan muatan permukaan dari nanopartikel. Kategori dengan nilai 0 hingga ± 5 mV memiliki sifat mudah terkoagulasi. Nilai antara ± 10 hingga ± 30 mV menunjukkan bahwa nanopartikel tersebut tidak stabil. Kestabilan dengan kategori sedang ditunjukkan dengan nilai ± 31 hingga ± 40 mV. Kemudian nilai ± 41

hingga ± 60 memiliki kestabilan yang baik. Kestabilan dengan kategori sangat baik ditunjukkan dengan nilai zeta potensial lebih besar dari pada ± 60 .

Particle Shape	Spherical
Zeta Potential	+200mV
MV (<i>Mean Volume Diameter</i>) (nm)	22,72
MN(<i>Mean Number Diameter</i>) (nm)	10,67
MA (<i>Mean Diameter</i>) (nm)	11,54
PDI (<i>Polydispersion Index</i>)	0,135

Gambar 4. 2 Karakteristik AgNPs *Gracilaria verrucosa* menggunakan PSA

Nanopartikel perak yang diuji memiliki bentuk *spherical* atau bulat. Bentuk bulat pada nanopartikel memiliki beberapa keuntungan. Menurut Ankamwar (2012) bentuk nanopartikel merupakan parameter yang dapat berpengaruh pada serapan sel, kecepatan dan penghantaran suatu obat. Interaksi preferensial dari protein spesifik dapat dicapai dengan pemilihan bentuk nanopartikel yang tepat. Bentuk nanopartikel bulat merupakan opsi yang baik untuk sistem penghantaran obat. Menurut Gato0 *et al.*, (2014) bentuk nanopartikel bulat memiliki toksisitas yang lebih rendah meskipun dalam keadaan heterogen maupun homogen. Menurut Truong *et al.*, (2015) bentuk nanopartikel bulat memiliki kekuatan yang lebih tinggi untuk berinteraksi dengan permukaan sel.

Nanopartikel perak yang telah diuji memiliki nilai MV sebesar 27,22. Nilai tersebut merupakan tipe dari rata-rata ukuran partikel yang besar. Implementasi dari nilai MV yaitu untuk melihat berat yang sangat dipengaruhi oleh partikel kasar (Microtax, 2005). Nilai MN dari nanopartikel perak yang telah diuji adalah sebesar 10,67. Nilai tersebut dihitung dari distribusi volume yang menunjukkan partikel yang kecil. Hal tersebut merupakan tipe dari rata-rata ukuran partikel yang berhubungan dengan populasi. Nilai MA pada nanopartikel

perak adalah sebesar 11,54. Nilai tersebut merupakan jenis dari rata-rata yang memiliki nilai lebih kecil dari pada nilai MV dengan adanya partikel kasar. Nilai MA menunjukkan partikel yang lebih kecil. Perhitungan nilai MA menunjukkan pengujian permukaan partikel (Microtax, 2005).

Nilai PDI (*Polydispersion index*) pada AgNPs *Gracilaria verrucosa* sebesar 0,135. Nilai tersebut menunjukkan bahwa partikel yang diuji termasuk ke dalam kategori *monodispers*, artinya sampel yang diuji memiliki tingkat homogenitas yang tinggi. Hal tersebut sesuai dengan Manosalva *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa nilai PDI kurang dari 0,3 mengindikasikan bahwa nanopartikel yang diuji merupakan sampel *monodisperse*, hal tersebut berhubungan dengan nilai zeta potensial, jika sampel memiliki kestabilan yang lebih baik, maka sampel tersebut memiliki morfologi yang homogen.

Nanopartikel telah dibahas dalam Al-Qur'an surat Yunus ayat 61 yang berbunyi sebagai berikut:

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُوا مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ

Artinya: "Dan tidakkah engkau (Muhammad) berada dalam suatu urusan, dan tidak membaca suatu ayat Al-Qur'an serta tidak pula kamu melakukan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi saksi atasmu ketika kamu melakukannya. Tidak lengah sedikit pun dari pengetahuan Tuhanmu biarpun sebesar zarah, baik di bumi ataupun di langit. Tidak ada sesuatu yang lebih kecil dan yang lebih besar daripada itu, melainkan semua tercatat dalam Kitab yang nyata (*Lauh Mahfuzh*)". (QS: Yunus [10]: 61).

Menurut Shihab (2002) Kata (ذَرَّةٌ) *dzarrah* diartikan dalam berbagai makna, salah satunya adalah debu yang berterbangan dan dapat terlihat di celah cahaya

matahari. Dahulu penggunaan kata tersebut diartikan sebagai sesuatu yang kecil. Namun, saat ini kata tersebut dimaknai dengan berbagai arti, seperti semut yang sangat kecil, kepala semut dan diartikan sebagai atom. Sebagai contohnya, ukuran kepala semut genus *Pheidole* menurut Holley *et al.*, (2016) berukuran 1,35 hingga 1,65 mm atau 135 hingga 165 nm. Nanopartikel merupakan partikel yang berukuran kecil dengan rentang ukuran 1-10 nanometer. Hal tersebut sesuai dengan Rechess, (2018) yang menyatakan bahwa ukuran nanopartikel metal berada dibawah 100 nm.

4.2 Aktivitas Antioksidan

Penelitian aktivitas antioksidan pada *Gracilaria verrucosa* yang telah dilakukan menggunakan α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) dengan konsentrasi sampel 12,5, 25, 50, 100 dan 200 ppm didapatkan hasil yang berbeda antara ekstrak dan hasil nanopartikel perak (AgNPs). Hasil aktivitas antioksidan ekstrak dan AgNPs *Gracilaria verrucosa* dapat dilihat pada tabel 4.1. Nilai IC_{50} AgNPs *Gracilaria verrucosa* sebesar $41,73 \pm 2,16$ mg/L , lebih baik dibandingkan dengan nilai IC_{50} ekstrak dengan nilai $83,43 \pm 2,89$ mg/L, namun, lebih rendah dibandingkan dengan Asam askorbat yang bertindak sebagai kontrol positif dengan nilai $5,41 \pm 0,015$ mg/L.

IC_{50} dibagi menjadi beberapa kategori. Kategori IC_{50} sangat kuat jika nilai kurang dari 50. Kategori IC_{50} kuat jika nilai ada direntang 50 hingga 100. Kategori IC_{50} sedang jika nilai ada direntang 100 hingga 150. Kategori IC_{50} lemah ada direntang nilai 150 hingga 200. Nilai IC_{50} lebih dari 200 termasuk ke dalam kategori sangat lemah (Yuniarti et al., 2020).

Tabel 4. 1. Aktivitas Antioksidan AgNPs, Ekstrak *Gracilaria verrucosa*, dan asam askorbat.

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Penghambatan DPPH	IC ₅₀ MEAN± SD (mg/L)	Kategori (Yuniarti <i>et al.</i> , 2020)
AgNPs	12,5	47,39	41,73 ± 2,16	Sangat Kuat
<i>Gracilaria verrucosa</i>	25	49,71		
	50	50,46		
	100	51,32		
	200	52,72		
Ekstrak	12,5	43,67	83,43 ± 2,89	Kuat
<i>Gracilaria verrucosa</i>	25	44,56		
	50	49,05		
	100	51,03		
	200	52,66		
Asam	1	10,81	5,41 ± 0,015	Sangat Kuat
Askorbat	2	13,88		
	4	28,99		
	8	55,32		
	16	86,07		

Peningkatan persentase penghambatan DPPH oleh AgNPs dan Ekstrak pada variasi konsentrasi yang telah ditentukan menunjukkan rata-rata semakin tinggi konsentrasi, semakin tinggi pula persentase penghambatannya. Hal tersebut dapat terjadi karena semakin tinggi konsentrasi, maka semakin banyak senyawa fitokimia yang dapat menambat radikal bebas. Pernyataan tersebut sesuai dengan Küp *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi akan diikuti oleh peningkatan aktivitas eliminasi radikal bebas pada DPPH.

Nilai IC₅₀ dari hasil ekstrak *Gracilaria verrucosa* sebesar 83,43 ± 2,89 mg/L, dengan kategori kuat. Perlakuan ekstraksi *Gracilaria verrucosa* pada penelitian menggunakan pelarut akuades dengan temperatur ruang. Hal tersebut dikarenakan temperatur ruang menghasilkan total kandungan fenol lebih banyak dan memiliki

aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari pada temperatur yang lain, hal ini sesuai dengan Imjongjairak *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa perlakuan suhu ruang menghasilkan kandungan fenol dengan nilai 9,9 mg GAE/g, hal tersebut dapat terjadi karena suhu ruang dapat memudahkan fenol terekstrak dari sulfat polisakarida. Selain itu, perlakuan ekstraksi alga merah *Gracilaria fisheri* pada suhu ruang memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan suhu 35, dan 55°C pada penelitian tersebut, dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,07 mg/L.

Nilai IC₅₀ AgNPs *Gracilaria verrucosa* yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak membuktikan bahwa pembentukan *Green synthesis silver nanoparticles* menggunakan alga merah *Gracilaria verrucosa* berhasil meningkatkan aktivitas antioksidan. Hal tersebut sesuai dengan Rajivgandhi *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa pembentukan nanopartikel perak pada *Gracilaria corticata* dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Penelitian Elemika *et al.*, (2017) juga melaporkan bahwa nanopartikel perak memiliki aktivitas yang lebih baik daripada ekstrak, hal ini dapat terjadi karena adanya senyawa fitokimia yang menjadi *capping agent* pada silver yang bertindak sebagai katalisator dan memiliki aktivitas antioksidan melalui mekanisme *hydrogen atom transfer* (HAT) maupun *single electron tranfer* (SET) secara simultan.

Capping agent pada *Green synthesis silver nanoparticles* berasal dari senyawa bioaktif yang terdapat pada tumbuhan. Senyawa-senyawa yang dapat bertindak sebagai *capping agent* adalah golongan polifenol. Hal ini menurut Handoko & Gulo (2019) senyawa metabolit polifenol dapat bertindak sebagai pereduksi Ag⁺ menjadi Ag⁰ dengan cara pengikatan oleh gugus hidroksil dan karboksil. Reaksi tersebut juga

menyebabkan partikel menjadi stabil. Menurut Kharissova *et al.*, (2013) kandungan senyawa fenolik pada sintesis nanopartikel perak dapat meningkatkan proses reduksi dan menstabilkan nanopartikel agar tidak terjadi agglomerasi. Kalainila *et al.*, (2014) melaporkan bahwa senyawa fenol, flavonoid dan alkaloid ditemukan pada nanopartikel perak *Erythrina indica* yang bertindak sebagai pereduksi, penstabil, dan *capping agent*. Menurut Latif *et al.*, (2019) senyawa fenol bertindak sebagai bioreduktor ion metal melalui mekanisme pengikatan gugus hidroksil dan karboksil. Pigmen fikoeritrin yang terdapat pada sampel *Gracilaria verrucosa* dapat juga berperan sebagai bioreduktor dan *Capping agent*. Hal ini menurut penelitian Xu *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa ekstrak fikoeritrin pada *Porphyra yezoensis* berhasil dilakukan. Fikoeritrin juga tidak hanya menjadi reduktor Ag, melainkan juga menjadi *capping agent*.

Nanopartikel dapat meningkatkan aktivitas antioksidan juga disebabkan oleh ukurannya yang kecil. Semakin kecil ukuran, maka semakin besar luas permukaannya, sehingga senyawa-senyawa antioksidan yang menjadi *capping agent* dapat lebih mudah menambat radikal bebas. Hal ini sesuai dengan Khalil *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa pembentukan nanopartikel dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Peningkatan aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yakni kandungan fitokimia yang menjadi *capping agent* pada permukaan pembentukan AgNPs dan ukuran partikel yang lebih kecil.

Menurut Maciel *et al.*, (2018) senyawa fitokimia dapat menambat radikal bebas melalui mekanisme *hydrogen atom transfer* (HAT). Rantai O-H pada gugus hidroksil dari flavonoid akan berpisah dan masing masing atom H akan secara

langsung berpindah pada radikal bebas. Mekanisme yang lain yang berhubungan dengan aktivitas antioksidan adalah mekanisme *single electron transfer* (SET). Mekanisme tersebut terjadi karena satu elektron yang berpindah dari molekul netral ke radikal bebas.

Antioksidan merupakan salah satu bukti bahwa Allah menciptakan sesuatu dengan seimbang. Radiasi sinar UV yang berlebihan dan polusi udara merupakan contoh akibat kerusakan lingkungan yang disebabkan oleh ulah manusia. Hal tersebut merupakan salah satu masalah yang berperan dalam meningkatnya radikal bebas. Kerusakan alam sejatinya akan berdampak pada manusia itu sendiri. Allah telah berfirman dalam Al-Qur'an yang berbunyi sebagai berikut.

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا
لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ

Artinya : “Telah tampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan perbuatan tangan manusia. (Melalui hal itu) Allah membuat mereka merasakan sebagian dari (akibat) perbuatan mereka agar mereka kembali (ke jalan yang benar).” (QS: Ar-Rum (30):41).

Menurut Tafsir Kementrian agama, ayat ini menjelaskan tentang kerusakan yang terjadi akibat perbuatan manusia. Kata (الفساد) memiliki arti kerusakan, yang dapat dijabarkan menjadi kerusakan lingkungan. Polusi udara dan pemanasan global yang dapat menyebabkan menipisnya lapisan ozon merupakan beberapa bentuk kerusakan alam. Dalam ayat ini, Allah menegaskan tidak semua akibat dari kerusakan alam dirasakan langsung oleh manusia. Allah telah menciptakan sistem yang dapat menetralsisir akibat dari kerusakan tersebut. Hal ini dapat dihubungkan dengan polusi udara dan radiasi sinar ultraviolet yang disebabkan oleh menipisnya lapisan ozon

merupakan komponen penyebab adanya radikal bebas. Allah menciptakan antioksidan untuk menetralsirkannya.

4.2 Aktivitas Penghambatan Enzim Kolagenase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim kolagenase oleh sampel nanopartikel, ekstrak, dan asam askorbat memiliki nilai penghambatan yang berbeda. Hasil persentase aktivitas penghambatan enzim kolagenase pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 4.2. Hasil perhitungan aktivitas penghambatan enzim kolagenase oleh sampel nanopartikel memiliki nilai IC_{50} $52,58 \pm 10,38$ mg/L yang termasuk ke dalam kategori kuat, sedangkan persentase aktivitas penghambatan enzim kolagenase oleh sampel ekstrak memiliki nilai IC_{50} $122,35 \pm 3,50$ mg/L yang termasuk dalam kategori sedang. Asam askorbat sebagai kontrol positif memiliki persentase aktivitas penghambatan enzim kolagenase dengan nilai IC_{50} yang termasuk ke dalam kategori sangat kuat, dengan nilai $42,89 \pm 6,421$ mg/L.

Ukuran nanopartikel pada *Gracilaria verrucosa* dapat menjadi salah satu penyebab meningkatnya aktivitas penghambatan enzim kolagenase, hal ini dapat terjadi karena ukuran yang kecil memiliki luas permukaan yang luas, sehingga senyawa-senyawa nanopartikel dapat mudah menempel pada sisi aktif enzim. Hal tersebut sesuai dengan Gajbhiye & Sakharwade, (2016) yang menyatakan bahwa semakin kecil ukuran nanopartikel, semakin besar luas permukaannya, reaktifitasnya akan semakin meningkat. Menurut Bhatia & Kumari, (2021) adanya senyawa fitokimia pada AgNPs dapat menyebabkan adanya interaksi penghambatan kolagenase. menurut Radwan et al., (2020) selama pembentukan AgNPS, senyawa

fitokimia mungkin berinteraksi dengan ion metal sehingga menghasilkan senyawa baru yang menghasilkan aktivitas penghambatan yang berbeda.

Tabel 4. 2. Aktivitas Penghambatan Enzim Kolagenase oleh AgNPS, Ekstrak *Gracilaria verrucosa*, dan Asam Askorbat

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Penghambatan Enzim Kolagenase	IC50 MEAN $\pm$ SD (mg/L)	Kategori (Tanur <i>et al.</i> , 2020)
AgNPs <i>Gracilaria verrucosa</i>	12,5	35,65	52,58 $\pm$ 10,38	Kuat
	25	41,27		
	50	47,85		
	100	59,45		
	200	64,35		
Ekstrak <i>Gracilaria verrucosa</i>	12,5	31,34	122,35 $\pm$ 3,50	Sedang
	25	40,91		
	50	40,79		
	100	47,61		
	200	54,78		
Asam Askorbat	1	17,58	42,89 $\pm$ 6,421	Sangat Kuat
	2	22,13		
	4	24,40		
	8	36,60		
	16	41,87		

Aktivitas penghambatan enzim kolagenase pada sampel *Gracilaria verrucosa* yang telah diteliti dapat dikatakan bahwa pembentukan nanopartikel perak dapat meningkatkan aktivitas penghambatan enzim kolagenase, hal ini dapat terjadi karena senyawa fitokimia yang menempel pada silver dapat bertindak sebagai inhibitor untuk enzim kolagenase. Hal tersebut sesuai dengan Radwan *et al.*, (2020) yang melaporkan perbandingan aktivitas penghambatan enzim kolagenase antara ekstrak dengan AgNPs. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan aktivitas penghambatan enzim kolagenase AgNPs lebih besar dibandingkan dengan ekstrak. Mostafa *et al.*, (2019) juga melaporkan bahwa pembentukan nanopartikel perak memiliki aktivitas

penghambatan enzim kolagenase lebih baik dari pada ekstrak, hal tersebut ditunjukkan dengan nilai IC_{50} yang lebih kecil daripada IC_{50} ekstrak. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas penghambatannya semakin besar.

IC_{50} dengan nilai kurang dari 50 masuk ke dalam kategori sangat kuat. Nilai yang berada pada rentang 50 hingga 100 masuk ke dalam kategori kuat. Nilai yang berada direntang 100 hingga 150 berada pada kategori sedang. Nilai yang berada direntang 150 hingga 200 masuk ke dalam kategori lemah. Nilai yang berada diatas 200 masuk ke dalam kategori sangat lemah (Tanur *et al.*, 2020).

Penghambatan enzim kolagenase dapat terjadi karena adanya senyawa antioksidan seperti flavonoid dan golongan polifenol. Hal ini sesuai dengan Radwan *et al.*, (2020) yang menyatakan bahwa senyawa fitokimia seperti flavonoid dan polifenol dapat digunakan sebagai inhibitor kolagenase. Penghambatan enzim kolagenase ditunjukkan dengan interaksi antara golongan hidroksil atau rantai benzena yang terdapat pada senyawa fenolik dengan gugus fungsional dari kolagenase. Selain itu, pengkelat metal seperti senyawa fenol, flavonoid dan tanin dapat mengikat Zn pada sisi aktif kolagenase, hal tersebut dapat menghambat aktivitasnya. Hal yang sama dikatakan dalam penelitian Pientaweeratch *et al.*, (2016) bahwa enzim kolagenase dapat dihambat oleh adanya interaksi antara golongan hidroksil dari polifenol dengan gugus fungsional dari kolagenase. Selain itu adanya interaksi hidrofobik antara cincin benzena dari polifenol dan kolagenase dapat menyebabkan enzim menjadi inaktif.

Senyawa bioaktif yang terdapat pada nanopartikel perak menjadi inhibitor kompetitif bagi enzim kolagenase. Enzim kolagenase tidak berikatan dengan substrat

melainkan dengan senyawa-senyawa bioaktif. Hal tersebut sesuai dengan Voos *et al.*, (2021) yang menyatakan bahwa senyawa aktif dari tumbuhan dapat menjadi inhibitor kompetitif bagi kolagenase, sehingga dapat menggantikan posisi substrat dan dapat mengikat secara kuat pada sisi aktif ikatan Zinc pada enzim. Hal yang sama dikatakan oleh Junior *et al.*, (2019) bahwa untuk mengontrol kolagenase, diperlukan senyawa-senyawa yang dapat menjadi inhibitor dari enzim tersebut. Beberapa senyawa ditargetkan untuk mengikat sisi aktif Zinc yang merupakan kofaktor enzim kolagenase.

Sudah menjadi tugas manusia untuk selalu merenungkan apa yang telah Allah ciptakan di bumi ini. Manusia diperintah Allah untuk menjaga, merawat, dan menyelesaikan masalah-masalah yang ada di dunia, hal tersebut terkait dengan tugas manusia sebagai khalifah di bumi. Hal tersebut telah dijelaskan dalam firman Allah sebagai berikut:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلٰٓئِكَةِ اِنِّىْ جَاعِلٌ فِى الْاَرْضِ خَلِيْفَةً ۖ قَالُوْۤا اَتَجْعَلُ فِیْهَا مَنْ یُّفْسِدُ فِیْهَا وَیَسْفِكُ الدِّمَآءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ ۗ قَالَ اِنِّىْۤ اَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُوْنَ

Artinya: “(Ingatlah) ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat, “Aku hendak menjadikan khalifah¹³ di bumi.” Mereka berkata, “Apakah Engkau hendak menjadikan orang yang merusak dan menumpahkan darah di sana, sedangkan kami bertasbih memuji-Mu dan menyucikan nama-Mu?” Dia berfirman, “Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui.” (QS: Al-Baqarah[2]:30).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menjadikan manusia sebagai khalifah di bumi. Menurut Watsiqotul dkk., (2018) khalifah berarti wakil, atau orang yang memiliki kekuasaan. Manusia diberikan akal oleh Allah dan diturunkannya agama-agama yang dapat dijadikan petunjuk oleh manusia dalam kehidupan. Menurut

Mashuri & Romadon (2018) tugas khalifah di bumi salah satunya mensejahterahkan manusia. Berdasarkan hal tersebut, manusia dapat memecahkan masalah yang ada di dunia, yang dalam hal ini terkait kesehatan kulit.

Penerapan senyawa polifenol yang berperan dalam penghambatan enzim kolagenase berkaitan dengan pemanfaatan tumbuhan yang dalam islam dikaitkan pada firman Allah dalam surat Thaha ayat 53 sebagai berikut:

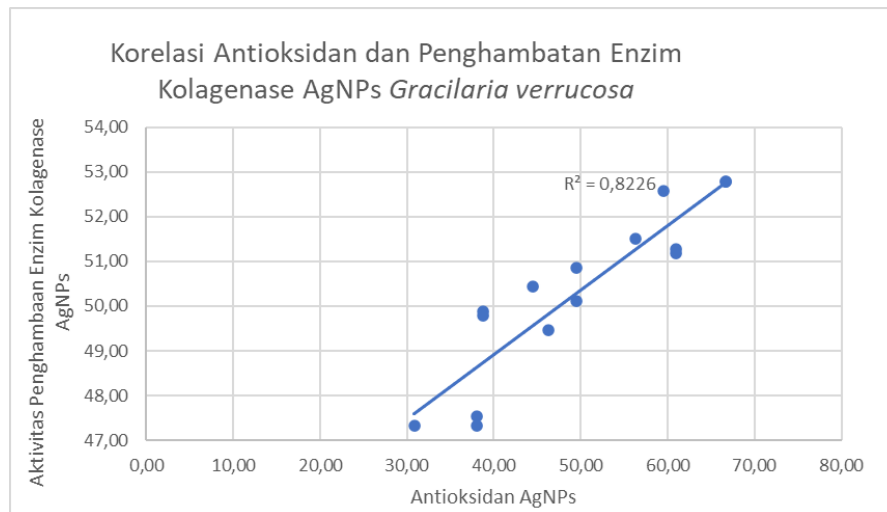
الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَوَسَّلَكَ لَكُمُ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً
فَخَرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى

Artinya: “(Dialah Tuhan) yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan dan meratakan jalan-jalan di atasnya bagimu serta menurunkan air (hujan) dari langit.” Kemudian, Kami menumbuhkan dengannya (air hujan itu) beraneka macam tumbuhan.”

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menciptakan berbagai macam tumbuhan. Menurut Shihab (2002) Kata (ازواج) berarti tumbuhan yang bermacam-macam. Tumbuhan yang dimaksud berkaitan dengan bentuk, warna, rasa dan manfaatnya. Gracilaria merupakan salah satu golongan alga merah yang memiliki karakteristik yang unik, yakni memiliki pigmen berwarna merah yang disebut dengan phycoeritrin. Selain itu alga merah merupakan salah satu golongan tumbuhan yang memiliki banyak manfaat. Hal tersebut berkaitan dengan kandungan di dalam talus. Saat ini alga merah banyak digunakan dalam berbagai aspek keilmuan, salah satunya dibidang obat-obatan (Vicente *et al.*, 2019).

4.3 Korelasi Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Nanopartikel perak *Gracilaria verrucosa*

Korelasi antara aktivitas antioksidan dan aktivitas penghambatan enzim oleh nanopartikel perak yang disintesis oleh alga merah *Gracilaria verrucosa* dihitung menggunakan korelasi Pearson. Nilai korelasi yang didapatkan memiliki nilai 0,906 (Gambar 4.2). Nilai R didapatkan dari hasil akar nilai R^2 linier. Korelasi tersebut termasuk ke dalam korelasi positif. Hal ini sesuai dengan Gogtay & Thatte, (2017) yang menyatakan bahwa analisis korelasi merupakan ketentuan yang digunakan untuk menunjukkan asosiasi atau hubungan antara dua atau lebih variabel. Nilai korelasi merupakan hasil akhir nilai koefisien yang berada direntang -1 sampai +1. Koefisien korelasi yang memiliki nilai plus (+) berarti hubungan antara variabel-variabel yang diteliti bersifat positif. Sebaliknya, koefisien korelasi yang memiliki nilai minus (-) berarti hubungan antara variabel-variabel yang diteliti bersifat negatif. Selain itu, jika nilai koefisien korelasi adalah 0, berarti tidak ada hubungan antara variabel-variabel yang diteliti.



Gambar 4. 3 Korelasi Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase AgNPS

Korelasi berdasarkan kekuatannya dibagi menjadi beberapa kategori. Hasil penelitian menunjukkan bahwa korelasi antara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase berada di kategori kuat. Hal tersebut berdasarkan Xiao *et al.*, (2016) yang menyatakan bahwa nilai koefisien korelasi (R) dengan rentang angka -0,5 sampai -1, atau 0,5 sampai 1 termasuk dalam kategori kuat. Menurut Kumar *et al.*, (2018) jika nilai koefisien korelasi (R) berada pada rentang 0,7 sampai 1, termasuk ke dalam kategori korelasi kuat.

Adanya korelasi antara aktivitas antioksidan dan aktivitas penghambatan enzim nanopartikel perak *Gracilaria verrucosa* dapat disebabkan oleh keberadaan senyawa-senyawa yang tergolong dalam golongan antioksidan yang terkandung dalam *Gracilaria verrucosa* dapat mempengaruhi aktivitas penghambatan enzim kolagenase. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Chatatikun & Chiabchalard, (2017) yang melaporkan bahwa sampel yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi juga memiliki aktivitas penghambatan enzim kolagenase yang tinggi. Hasil yang sama

telah dilaporkan oleh Zemour *et al.*, (2019) aktivitas antioksidan memiliki korelasi dengan aktivitas penghambatan enzim kolagenase. Senyawa yang berpengaruh dalam hubungan antara kedua parameter tersebut salah satunya adalah golongan polifenol.

Radiasi sinar UV yang berlebihan dapat menyebabkan penuaan dini pada kulit. Mekanisme kerusakan kulit dikarenakan oleh meningkatnya ROS yang dapat mengaktifkan *matrix metalloproteinase*, salah satunya adalah enzim kolagenase yang dapat merusak kolagen. Peningkatan ROS dapat dicegah dengan bantuan antioksidan yang berasal dari tumbuhan, salah satunya *Gracilaria verrucosa*. Selain itu antioksidan dapat menghambat secara langsung enzim kolagenase melalui pengikatan oleh rantai cincin benzena polifenol pada sisi aktif enzim. Hal tersebut menurut Younis *et al.*, (2021) bahwa radiasi UV yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada kulit, karena meningkatnya ROS dapat mengaktifkan enzim kolagenase yang dapat mendegradasi kolagen. Menurut Radwan *et al.*, (2020) senyawa antioksidan juga dapat menjadi inhibitor untuk kolagenase, dengan keberadaan gugus hidroksil atau cincin benzena yang dapat mengikat sisi aktif enzim kolagenase.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Nanopartikel perak *Gracilaria verrucosa* yang telah disintesis memiliki karakteristik berukuran rata-rata 11 nm. Kestabilan AgNPs tergolong dalam kategori sangat baik dan termasuk ke dalam kategori homogen.
2. Aktivitas antioksidan nanopartikel perak *Gracilaria verrucosa* memiliki penghambatan dengan nilai IC_{50} dengan kategori sangat kuat, dibandingkan dengan ekstrak *Gracilaria verrucosa* dengan kategori kuat.
3. Aktivitas penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak *Gracilaria verrucosa* memiliki penghambatan dengan nilai IC_{50} dalam kategori kuat, sedangkan ekstrak *Gracilaria verrucosa* dalam kategori sedang.
4. Ada korelasi antara aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim kolagenase nanopartikel perak *Gracilaria verrucosa*. Nilai korelasi positif (0,906), yang termasuk dalam kategori kuat.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut terkait senyawa-senyawa yang terdapat pada nanopartikel perak.
2. Perlu dilakukan uji lanjutan apakah fikoeritrin memiliki peran terkait dengan inhibitor enzim kolagenase.
3. Perlu dilakukan uji lanjutan yang dilakukan secara *in-vivo*

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelghany, T. M., Al-Rajhi, A. M. H., Al Abboud, M. A., Alawlaqi, M. M., Ganash Magdah, A., Helmy, E. A. M., & Mabrouk, A. S. (2018). Recent Advances in Green Synthesis Of Silver Nanoparticles And their Applications: About Future Directions. A Review. *Bionanoscience*, 8(1), 5–16.
- Abdullah, (2004). *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 7*. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'i.
- Ahmad, S., Zeb, N., Ali, J., Bilal, M., Omer, M., Alamzeb, M., Salman, S. M., & Ali, S. (2019). Green Nanotechnology: A Review on Green Synthesis Of Silver Nanoparticles- An Ecofriendly Approach. *International Journal Of Nanomedicine*, 14, 5087–5107.
- Al-Qur'anul Karim dan Terjemahannya versi Kemenag RI (2019): <https://quran.kemenag.go.id/>
- Alsammarraie, F. K., Wang, W., Zhou, P., Mustapha, A., & Lin, M. (2018). *Green Synthesis Of Silver Nanoparticles Using Turmeric Extracts And Investigation Of Their Antibacterial Activities*. 573, 1–21.
- Alves, C., Silva, J., Freitas, R., Pinteus, S., Reboleira, J., Pedrosa, R., & Bernardino, S. (2018). Red Algae. In *Nonvitamin And Nonmineral Nutritional Supplements*. Elsevier Inc.
- Amorati, R., Foti, M. C., & Valgimigli, L. (2013). Antioxidant Activity Of Essential Oils. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 61(46), 10835–10847.
- Andrade, J. M., Domínguez-Martín, E. M., Nicolai, M., Faustino, C., Rodrigues, L. M., & Rijo, P. (2021). Screening The Dermatological Potential Of *Plectranthus* Species Components: Antioxidant And Inhibitory Capacities Over Elastase, Collagenase And Tyrosinase. *Journal of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*, 36(1), 257–269.
- Ankanwar. (2012). *Size and Shape Effect on Biomedical Applications of Nanomaterials*. Biomedical Engineering - Technical Applications in Medicine.
- Anselmo, A. C., & Mitragotri, S. (2016). Nanoparticles In The Clinic. *AICHE Bioengineering & Translational Medicine*, 1, 10–29.
- Aryee, A. N., Agyei, D., & Akanbi, T. O. (2018). Recovery And Utilization Of Seaweed Pigments In Food Processing. *Current Opinion In Food Science*, 19, 113–119.
- Atta, E. M., Mohamed, N. H., & Abdelgawad, A. A. M. (2017). Antioxidants: An Overview On The Natural And Synthetic Types. *European Chemical Bulletin*, 6(8), 365.
- Avila Rodríguez, M. I., Rodríguez Barroso, L. G., & Sánchez, M. L. (2018). Collagen: A Review On Its Sources And Potential Cosmetic Applications. *Journal Of Cosmetic Dermatology*, 17(1), 20–26.
- Babu, B., Palanisamy, S., Vinosha, M., Anjali, R., Kumar, P., Pandi, B., Tabarsa, M., You, S. G., & Prabhu, N. M. (2020). Bioengineered Gold Nanoparticles From Marine Seaweed *Acanthophora spicifera* for Pharmaceutical Uses:

- Antioxidant, Antibacterial, And Anticancer Activities. *Bioprocess And Biosystems Engineering*, 43(12), 2231–2242.
- Baehaki, A., Suhartono, M. T., Sukarno, Syah, D., Sitanggang, A. B., Setyahadi, S., & Meinhardt, F. (2012). Purification And Characterization Of Collagenase from *Bacillus licheniformis* F11.4. *African Journal Of Microbiology Research*, 6(10), 2373–2379.
- Bang, J. S., & Choung, S. Y. (2020). Inhibitory Effect of Oyster Hydrolysate On Wrinkle Formation Against UVB Irradiation In Human Dermal Fibroblast Via MAPK/AP-1 And Tgf β /Smad Pathway. *Journal Of Photochemistry And Photobiology B: Biology*, 209, 111946.
- Basith, T. A., Rejeki, S., & Ariyanti, R. W. (2014). Pengaruh Cara Perolehan Bibit Hasil Seleksi, Non Seleksi Dan Kultur Jaringan Terhadap Pertumbuhan, Kandungan Agar Dan Gel Strength Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* Yang Dibudidayakan Dengan Metode Broadcast Di Tambak. *Journal Of Aquaculture Management And Technology*, 3(2), 76–85.
- Bedlovičová, Z., Strapáč, I., Baláž, M., & Salayová, A. (2020). A Brief Overview On Antioxidant Activity Determination Of Silver Nanoparticles. *Molecules*, 25(14), 1–24.
- Bhatia, E., & Kumari, D. (2021). Nanoparticle Platforms For Dermal Antiaging Technologies: Insights In Cellular And Molecular Mechanisms. *Nanomedicine And Nanobiotechnology*, July, 1–31.
- 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*, 1–504.
- Capillo, G., Savoca, S., Costa, R., Sanfilippo, M., Rizzo, C., Giudice, A. Lo, Albergamo, A., Rando, R., Bartolomeo, G., Spanò, N., & Faggio, C. (2018). New Insights Into The Culture Method and Antibacterial Potential Of *Gracilaria gracilis*. *Marine Drugs*, 16(12), 1–21.
- Chatatikun, M., & Chiabchalard, A. (2017). Thai Plants With High Antioxidant Levels, Free Radical Scavenging Activity, Anti-Tyrosinase And Anti-Collagenase Activity. *BMC Complementary And Alternative Medicine*, 17(1), 1–9.
- Chellapandian, C., Ramkumar, B., Puja, P., Shanmuganathan, R., Pugazhendhi, A., & Kumar, P. (2019). Gold Nanoparticles Using Red Seaweed *Gracilaria verrucosa*: Green Synthesis, Characterization And Biocompatibility Studies. *Process Biochemistry*, 80, 58–63.
- Combs, G. (2012). The Vitamins. In *The Vitamins* (3rd Ed.). Elsevier.
- Dawidowicz, A. L., Wianowska, D., & Olszowy, M. (2012). On Practical Problems In Estimation Of Antioxidant Activity Of Compounds By DPPH Method (Problems In Estimation Of Antioxidant Activity). *Food Chemistry*, 131(3), 1037–1043.
- De Almeida, C. L. F., Falcão, H. De S., Lima, G. R. D. M., Montenegro, C. De A., Lira, N. S., De Athayde-Filho, P. F., Rodrigues, L. C., De Souza, M. F. V., Barbosa-Filho, J. M., & Batista, L. M. (2011). Bioactivities From Marine Algae Of The Genus *Gracilaria*. *International Journal Of Molecular Sciences*,

- 12(7), 4550–4573.
- De Aragão, A. P., De Oliveira, T. M., Quelemes, P. V., Perfeito, M. L. G., Araújo, M. C., Santiago, J. De A. S., Cardoso, V. S., Quaresma, P., De Souza De Almeida Leite, J. R., & Da Silva, D. A. (2019). Green Synthesis Of Silver Nanoparticles Using The Seaweed *Gracilaria birdiae* And Their Antibacterial Activity. *Arabian Journal Of Chemistry*, 12(8), 4182–4188.
- Di, T., Chen, G., Sun, Y., Ou, S., Zeng, X., & Ye, H. (2017). Antioxidant And Immunostimulating Activities In Vitro Of Sulfated Polysaccharides Isolated From *Gracilaria rubra*. *Journal Of Functional Foods*, 28, 64–75.
- Eun Lee, K., Bharadwaj, S., Yadava, U., & Gu Kang, S. (2019). Evaluation Of Caffeine As Inhibitor Against Collagenase, Elastase And Tyrosinase Using In Silico And In Vitro Approach. *Journal Of Enzyme Inhibition And Medicinal Chemistry*, 34(1), 927–936.
- Faten., Elalla, M. Abou. Shalaby, Emad A. (2009). Antioxidant Activity of Extract and Semi- Purified Fractions of Marine Red Algae Macroalga, *Gracilaria verrucosa*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 3(4).
- Fayad, S., Morin, P., & Nehmé, R. (2017). Use Of Chromatographic And Electrophoretic Tools For Assaying Elastase, Collagenase, Hyaluronidase, And Tyrosinase Activity. *Journal Of Chromatography A*, 1529, 1–28.
- Febrianto, W., Djunaedi, A., Suryono, S., Santosa, G. W., & Sunaryo, S. (2019). Potensi Antioksidan Rumput Laut *Gracilaria verrucosa* dari Pantai Gunung Kidul, Yogyakarta. *Jurnal Kelautan Tropis*, 22(1), 81.
- Gajbhiye, S., & Sakharwade, S. (2016). Silver Nanoparticles In Cosmetics. *Journal Of Cosmetic, Dermatological Sciences And Application*, 6, 48–53.
- Ganceviciene, R., Liakou, A. I., Theodoridis, A., Makrantonaki, E., & Zouboulis, C. C. (2012). Skin Anti-Aging Strategies. *Dermato-Endocrinology*, 4(3).
- Gatoo, Manzoor Ahmad., Naseem, Sufia., Arfat, Mir Yasir., Dar, Ayaz Mahmood., Qasim, Khusro., Zubair, Swaleha. (2014). Physicochemical Properties of Nanomaterials: Implication in Associated Toxic Manifestations. *Biomed Research International*. Vol. 2014.
- Gracia, Ana Belen., Longo, Eleonora., Murillo, M. Carmen., Bermejo, Ruperto. (2021). Using a B- Phycoerythrin Extract as a Natural Colorant: Application in Milk-Based Products. *Molecules*. 26(297).
- Gogtay, N. J., & Thatte, U. M. (2017). Principles Of Correlation Analysis. *Journal Of Association Of Physicians Of India*, 65, 78–81.
- Goldberga, I., Li, R., & Duer, M. J. (2018). Collagen Structure-Function Relationships From Solid-State NMR Spectroscopy. *Accounts Of Chemical Research*, 51(7), 1621–1629.
- Gouda, Sushanto., Moharana, Reliance Rosalin., Das, Gitishree., Patra, Jayanta Kumar. (2013). Free Radical Scavenging Potential of Extract of *Gracilaria verrucosa* (L) (Harvey): an Economically Important Seaweed from Chilika Lake, India. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(1).
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants And Antioxidant Methods: An Updated Overview. In *Archives Of Toxicology*. Vol. 94, 3.

- Handoko, Chanel Tri., Huda, Adri., Gulo, Fakhili. (2019). Synthesis Pathway and Powerful Antimicrobial Silver Nanoparticle: A Critical Review. *Asian Journal of Scientific Research*. Vol, 12. No. 1.
- Holley, J. A. C., Moreau, C. S., Laird, J. G., & Suarez, A. V. (2016). Subcaste-Specific Evolution Of Head Size In The Ant Genus Pheidole. *Biological Journal Of The Linnean Society*, 118(3), 472–485.
- Ibm, I., Bee, A. E., Wf, S., & Wa, F. (2016). Green Biosynthesis Of Silver Nanoparticles Using Marine Red Algae *Acanthophora specifera* And Its Antimicrobial Activity. *Journal Of Nanomedicine & Nanotechnology*, 7(6), 7–10.
- Ibrahim, F., Fadli, Z., Komunitas, Y. B.-J. K., & 2021, U. (2020). Pengaruh Metode Ekstraksi (Dekotasi, Infudasi, Dan Microwave) Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Rumput Laut *Gracilaria verrucosa*. *Prosiding Knalstech*.
- Imjongjairak, S., Ratanakhanokchai, K., Laohakunjit, N., Tachaapaikoon, C., Pason, P., & Waeonukul, R. (2016). Biochemical Characteristics And Antioxidant Activity Of Crude And Purified Sulfated Polysaccharides From *Gracilaria fisheri*. *Bioscience, Biotechnology And Biochemistry*, 80(3), 524–532.
- Ismail, Mona M., Alotaibi, Badriyah S., El-Sheekh Mostafa M. 2020. Therapeutic Uses of Red Macroalgae. *Molecules*. Vol. 25.
- Jadoon, S., Karim, S., Hassham, M., Bin, H., Akram, M. R., Khan, A. K., Malik, A., Chen, C., & Murtaza, G. (2015). Anti-Aging Potential Of Phytoextract Loaded-Pharmaceutical Creams For Human Skin Cell Longevity. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2015.
- Jang, E. Y., Son, Y. J., Park, S. Y., Yoo, J. Y., Cho, Y. N., Jeong, S. Y., Liu, S., & Son, H. J. (2018). Improved Biosynthesis Of Silver Nanoparticles Using Keratinase From *Stenotrophomonas maltophilia* R13: Reaction Optimization, Structural Characterization, And Biomedical Activity. *Bioprocess And Biosystems Engineering*, 41(3), 381–393.
- Junior, O. B., Bedran-Russo, A., Flor, J. B. S., Borges, A. F. S., Ximenes, V. F., Frem, R. C. G., & Lisboa-Filho, P. N. (2019). Encapsulation Of Collagenase Within Biomimetically Mineralized Metal – Organic Frameworks : Designing Biocomposites To Prevent Collagen Degradation. *Royal Society Of Chemistry*, 43, 1017–1024.
- Kalainila P., Subha, V., Ravindran, R.S. Ernest., Renganathan, Sahadevan, (2014). Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles from *Erythrina indica*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol 7, No. 2.
- Kang, Y. M., Seo, M. G., Lee, K. Y., & An, H. J. (2020). Antiphotaging Potential Of Extracts Of Yin-Tonic Herbal Medicine In Skin Cell And Human Skin Equivalent. *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine*.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis And Development Of DPPH Method Of Antioxidant Assay. *Journal Of Food Science And Technology*, 48(4), 412–422.
- Kementrian Kelautan dan Perikanan. (2015). Marine and Fisheries in Figure, 2015.Centre of Data. Statistic and Information. Ministry of Marine and FisheriesAffairs, Jakarta.

- Khalil, I., Yehye, W. A., Etxeberria, A. E., Alhadi, A. A., Dezfooli, S. M., Julkapli, N. B. M., Basirun, W. J., & Seyfoddin, A. (2020). Nanoantioxidants: Recent Trends In Antioxidant Delivery Applications. *Antioxidants*, 9(1).
- Kharissova, Oxana V., Dias, H.V Rasika., Kharisov, Boris I., Perez, Betsabee Olvera., Perez, Victor M. Jimenez. (2013). The Greener Synthesis of Nanoparticles. *Trends in Biology*. 31(4).
- Khodashenas, B., & Ghorbani, H. R. (2019). Synthesis Of Silver Nanoparticles with Different Shapes. *Arabian Journal Of Chemistry*, 12(8), 1823–1838.
- Kumar, A., & Dixit, C. K. (2017). *Methods for characterization of nanoparticles. Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*, 43–58
- Kumar, H., Bhardwaj, K., Nepovimova, E., Bhardwaj, S., Bhatia, S. K., Verma, R., Dhanjal, D. S., & Kumar, D. (2020). Antioxidant Functionalized Nanoparticles : A Combat Against Oxidative Stress. *Nanomaterials*, 10, 1–26.
- Kumar, N., Kumar, P., Badagabettu, S. N., Lewis, M. G., Adiga, M., & Padur, A. A. (2018). Determination Of Spearman Correlation Coefficient To Evaluate The Linear Association Of Dermal Collagen And Elastic Fibers In The Perspectives Of Skin Injury. *Dermatology Research And Practice*, 2018(I).
- Kumar, S. & P. A. K. (2013). Chemistry And Biological Activities Of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 145–148.
- Kumari, R., Joshi, S., Upasani, V. N., & Student, B. S. (2018). Engineering And Technology (A High Impact Factor. *International Journal of Innovative Research In Science*, 7(2).
- 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.
- Kurniasari, K. D. W. I., Arsianti, A., Nugrahayning Aziza, Y. A., Dyahningrum Mandasari, B. K., Masita, R., Ruhama Zulfa, F., Kusumaning Dewi, M., Zahira Zagloel, C. R., Azizah, N. N. U. R., & Putrianingsih, R. (2018). Phytochemical Analysis And Anticancer Activity Of Seaweed *Gracilaria verrucosa* Against Colorectal HCT-116 Cells. *Oriental Journal Of Chemistry*, 34(3), 1257–1262.
- Latif., Abbas., Kormin., Mustafa. (2019). Green Synthesis of Plant- Mediated Metal Nanoparticle: The Role of Polyphenol. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 12 (7).
- Li, Y., Hou, X., Yang, C., Pang, Y., Li, X., Jiang, G., & Liu, Y. (2019). Photoprotection Of Cerium Oxide Nanoparticles Against UVA Radiation-Induced Senescence Of Human Skin Fibroblasts Due To Their Antioxidant Properties. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10.
- López-Alarcón, C., & Denicola, A. (2013). Evaluating The Antioxidant Capacity Of Natural Products: A Review On Chemical And Cellular-Based Assays. *Analytica Chimica Acta*, 763, 1–10.
- Maciel, E. N., Almeida, S. K. C., Da Silva, S. C., & De Souza, G. L. C. (2018). Examining The Reaction Between Antioxidant Compounds And 2,2-

- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) Through A Computational Investigation. *Journal Of Molecular Modeling*, 24(8).
- Maeda, K. (2018). Analysis Of Ultraviolet Radiation Wavelengths Causing Hardening And Reduced Elasticity Of Collagen Gels In Vitro. *Cosmetics*, 5(1).
- Manosalva, Nixson., Tortella, Gonzalo., Diez, Maria Cristina., Schalchi. Heidi., Seabra, Amaeda B. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles: effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 35(88).
- Masaki, H. (2010). Role Of Antioxidants In The Skin: Anti-Aging Effects. *Journal Of Dermatological Science*, 58(2), 85–90.
- Mashuri, M. Mukhid., Romadon, Ibnu. (2019). Khalifah di Bumi sebelum Nabi Adam A S. *Jurnal Ilmiah al-Qur'an dan Tafsir Program Studi Ilmu Al-Qur'an dan Tafsir*. Vol 4, No.1 .
- Mcdaniel, D., Farris, P., & Valacchi, G. (2018). Atmospheric Skin Aging—Contributors And Inhibitors. *Journal Of Cosmetic Dermatology*, 17(2), 124–137.
- Microtrac. (2005). *Microtrac FLEX Software Operation Manual*. USA: Microtrac Inc
- Montenegro, L. (2014). Nanocarriers For Skin Delivery Of Cosmetic Antioxidants. *Journal Of Pharmacy And Pharmacognosy Research*, 2(4), 73–92.
- Mostafa, E., Fayed, M. A. A., Radwan, R. A., & Bakr, R. O. (2019). Centaurea Pumilio L. Extract And Nanoparticles: A Candidate For Healthy Skin. *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces*, 182(July), 110350.
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free Radicals, Natural Antioxidants, And Their Reaction Mechanisms. *RSC Advances*, 5(35), 27986–28006.
- Nurhayati, T., Chasanah, E., & Bahri, S. (2013). Potensi Inhibitor Katepsin Dari Dua Spesies Dan Satu Hibrid Kulit Ikan Patin dalam Menghambat Aktivitas Katepsin Ikan Patin Siam. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 8(2), 93.
- Nurrahmawan, M. E., Oktafitria, D., Purnobasuki, H., Ermavitalini, D., & Jadid, N. (2021). In Vitro Shoot Micropropagation Of *Gracilaria verrucosa* using Plant Growth Dual Regulators. *AACL Bioflux*, 14(2), 655–663.
- Nurrochmad, A., Wirasti, Dirman, A., Lukitaningsih, E., Rahmawati, A., & Fakhrudin, N. (2018). Effects Of Antioxidant, Anti-Collagenase, Anti-Elastase, Anti-Tyrosinase Of The Extract And Fraction From *Turbinaria decurrens* Bory. *Indonesian Journal Of Pharmacy*, 29(4), 188–199.
- Odeniyi, M. A., Okumah, V. C., Adebayo-Tayo, B. C., & Odeniyi, O. A. (2020). Green Synthesis And Cream Formulations Of Silver Nanoparticles Of Nauclea Latifolia (African Peach) Fruit Extracts And Evaluation Of Antimicrobial And Antioxidant Activities. *Sustainable Chemistry And Pharmacy*, 15.
- Olubukola Sinbad, O., Folorunsho, A. A., Olabisi, O. L., Abimbola Ayoola, O., & Johnson Temitope, E. (2019). Vitamins As Antioxidants. *Journal Of Food Science And Nutrition Research*, 02(03).
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An Overview.

- Journal Of Nutritional Science*, 5.
- Papenfuss.(1950). Review of the Genera of Algae Described by Stackhouse. *Hydrobiologia* 2: 181-208.
- Parveen, K., Banse, V., & Ledwani, L. (2016). Green Synthesis Of Nanoparticles: Their Advantages And Disadvantages. *AIP Conference Proceedings*, 1724.
- Pawelec, K. M., Best, S. M., & Cameron, R. E. (2016). Collagen: A Network For Regenerative Medicine. *Journal Of Materials Chemistry B*, 4(40), 6484–6496.
- Pereira, T., Barroso, S., Mendes, S., & Gil, M. M. (2020). Stability, Kinetics, And Application Study Of Phycobiliprotein Pigments Extracted From Red Algae *Gracilaria gracilis*. *Journal Of Food Science*, 85(10), 3400–3405.
- Petruck, G., Giudice, R. Del, Rigano, M. M., & Monti, D. M. (2018). Review Article Antioxidants From Plants Protect Against Skin Photoaging. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*.
- Pientaweeratch, S., Panapisal, V., & Tansirikongkol, A. (2016). Antioxidant, Anti-Collagenase And Anti-Elastase Activities Of *Phyllanthus Emblica*, *Manilkara Zapota* And *Silymarin*: An In Vitro Comparative Study For Anti-Aging Applications. *Pharmaceutical Biology*, 54(9), 1865–1872.
- Poljsak, B., Šuput, D., & Milisav, I. (2013). Achieving The Balance Between ROS And Antioxidants: When To Use The Synthetic Antioxidants. *Oxidative Medicine And Cellular Longevity*, 2013.
- Punampalam, Rajalakshmi., Khoo, Kong Soo., Sit, Nam Weng. (2018). Evaluation of Antioxidant Properties of Phycobiliproteins and Phenolic Compounds Extracted from *Bangia atropurea*. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*. Vol. 14, No. 2.
- Radwan, R. A., El-Sherif, Y. A., & Salama, M. M. (2020). A Novel Biochemical Study Of Anti-Ageing Potential Of *Eucalyptus camaldulensis* Bark Waste Standardized Extract And Silver Nanoparticles. *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces*, 191.
- Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M. S., & Tahir, M. B. (2017). A Review On Green Synthesis Of Silver Nanoparticles And Their Applications. *Artificial Cells, Nanomedicine And Biotechnology*, 45(7), 1272–1291.
- Rajivgandhi, G. N., Ramachandran, G., Maruthupandy, M., Manoharan, N., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., Khaled, J. M., Almanaa, T. N., & Li, W. J. (2020). Anti-Oxidant, Anti-Bacterial And Anti-Biofilm Activity Of Biosynthesized Silver Nanoparticles Using *Gracilaria corticata* Against Biofilm Producing *K. Pneumoniae*. *Colloids And Surfaces A: Physicochemical And Engineering Aspects*, 600(May), 124830.
- Ramdani, M., Elasri, O., Saidi, N., Elkhiaati, N., Taybi, F. A., Mostareh, M., Zaaali, O., Haloui, B., & Ramdani, M. (2017). Evaluation Of Antioxidant Activity And Total Phenol Content Of *Gracilaria bursa-pastoris* Harvested In Nador Lagoon For An Enhanced Economic Valorization. *Chemical And Biological Technologies In Agriculture*, 4(1), 1–7.
- Ravichandran, V., Vasanthi, S., Shalini, S., Shah, S. A. A., Tripathy, M., & Paliwal, N. (2019). Green Synthesis, Characterization, Antibacterial, Antioxidant And Photocatalytic Activity Of *Parkia speciosa* Leaves Extract Mediated Silver

- Nanoparticles. *Results In Physics*, 15(August), 102565.
- Reches, Y. (2018). Nanoparticles As Concrete Additives: Review And Perspectives. *Construction And Building Materials*, 175, 483–495.
- Rejeki, S., Ariyati, R. W., Widowati, L. L., & Bosma, R. H. (2018). The effect of three cultivation methods and two seedling types on growth, agar content and gel strength of *Gracilaria verrucosa*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 44(1), 65–70.
- Reyes, G Jovita, Agravante, Marie Denise, Santiago Florenda I., Contreras, Lourdes, Espafia, R. Nueve. 1991. *Alternative Food Sources*. Philippines: Rex Book Store.
- Rivero-Cruz, J. F., Granados-Pineda, J., Pedraza-Chaverri, J., & Rivero-Cruz, B. E. (2020). And Antimicrobial Activities Of The Ethanolic Extract Of Mexican Brown Propolis. *Antioxidants*, 9(70), 1–11.
- Rudi, M., Sukenda, S., Pasaribu, W., & Hidayatullah, D. (2019). Seaweed Extract Of *Gracilaria verrucosa* As An Antibacterial And Treatment Against *Vibrio Harveyi* Infection Of *Litopenaeus vannamei*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 18(2), 120–129.
- Rusli, A., Metusalach, Tahir, M. M., Salengke, & Syamsuar. (2016). Analysis Of Bioactive Compounds Of *Caulerpa Recemosa*, *Sargassum Sp.* And *Gracillaria verrucosa* Using Different Solvents. *Jurnal Teknologi*, 78(4–2), 15–19.
- Sanaeimehr, Z., Javadi, I., & Namvar, F. (2018). Antiangiogenic And Antiapoptotic Effects Of Green - Synthesized Zinc Oxide Nanoparticles Using *Sargassum muticum* Algae Extraction. *Cancer Nanotechnology*, 9(3).
- Santos, A. C., Morais, F., Simões, A., Pereira, I., Sequeira, J. A. D., Pereira-Silva, M., Veiga, F., & Ribeiro, A. (2019). Nanotechnology For The Development Of New Cosmetic Formulations. *Expert Opinion On Drug Delivery*, 16(4), 313–330.
- Senthilkumar, P. Surendran, L., Sudhagar, B., Kumar, D.S. Ranjith Santhosh. (2019). Facile green synthesis of gold nanoparticles from marine algae *Gelidiella acerosa* and evaluation of its biological Potential. *SN Applied Sciences*. 1(284).
- Setiabudi, A., Pringgenies, D., & Ridlo, A. (2020). Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas DPPH Dan Daya Reduksi Ekstrak *Gracilaria verrucosa*. *JRST (Jurnal Riset Sains Dan Teknologi)*, 4(2), 47.
- Shanmuganathan, R., Karuppusamy, I., Saravanan, M., Muthukumar, H., Ponnuchamy, K., Ramkumar, V. S., & Pugazhendhi, A. (2019). Synthesis Of Silver Nanoparticles And Their Biomedical Applications - A Comprehensive Review. *Current Pharmaceutical Design*, 25(24), 2650–2660.
- Sheath, R. G., & Vis, M. L. (2015). Red Algae. In *Freshwater Algae Of North America: Ecology And Classification*. Elsevier Inc.
- Shen, Y., Zhu, D., Lu, W., Liu, B., Li, Y., & Cao, S. (2018). The Characteristics Of Intrinsic Fluorescence Of Type I Collagen Influenced By Collagenase I. *Applied Sciences (Switzerland)*, 8(10).
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah. Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'an*.

Jakarta: Lentera Hati.

- Sinaga, E. P., Suhendra, L., & Ganda Putra, G. P. (2019). Pengaruh Variasi Larutan Ph Buffer Terhadap Karakteristik Ekstrak Alga Merah (*Gracilaria* sp.) Sebagai Pewarna. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(3), 407.
- Singh, H., Du, J., Singh, P., & Yi, T. H. (2018). Role Of Green Silver Nanoparticles Synthesized From *Symphytum Officinale* Leaf Extract In Protection Against UVB-Induced Photoaging. *Journal Of Nanostructure In Chemistry*, 8(3), 359–368.
- Soelistyowati, D. T., Murni, I. A. A. D., & Wiyoto. (2014). Morfologi *Gracilaria* spp . yang dibudidaya di Tambak Desa Pantai Sederhana , Muara Gembong. *Jurnal Akuakultur Indonesai*, 13(1), 94–104.
- Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Teixeira, J. A., Coimbra, M. A., & Vicente, A. A. (2012). Chemical Characterization And Antioxidant Activity Of Sulfated Polysaccharide From The Red Seaweed *Gracilaria birdiae*. *Food Hydrocolloids*, 27(2), 287–292.
- Srikar, S. K., Giri, D. D., Pal, D. B., Mishra, P. K., & Upadhyay, S. N. (2016). Green Synthesis Of Silver Nanoparticles: A Review. *Green And Sustainable Chemistry*, 6(February), 34–56.
- Tanur, E., Ehrice, I. N., Fachrial, E., & Girsang, E. (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.
- Trono, Gavino C., Corrales, R. Azanza. (1983). The Genus *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) in the Philippines. *Philippines Journal of Biology*. Vol 12. No 2.
- Truong, Nghia P., Whittaker, Michael R., Mak, Catherine W., Davis, Thomas P. (2015). The Importance of Nanoparticle Shape in Cancer Drug Delivery. *Expert Opinoin*. 12(1).
- Thiruchelvi, R., Jayashree, P., & Mirunaalini, K. (2020). Synthesis Of Silver Nanoparticle Using Marine Red Seaweed *Gelidiella acerosa* -A Complete Study On Its Biological Activity And Its Characterisation. *Materials Today: Proceedings*, 37(Part 2), 1693–1698.
- Usov, A. I. (2011). Polysaccharides Of The Red Algae. In *Advances In Carbohydrate Chemistry And Biochemistry* (1st Ed., Vol. 65). Elsevier Inc.
- Vicente, F. A., Cardoso, I. S., Martins, M., Gonçalves, C. V. M., Dias, A. C. R. V., Domingues, P., Coutinho, J. A. P., & Ventura, S. P. M. (2019). R-Phycoerythrin Extraction And Purification From Fresh: *Gracilaria* sp. Using Thermo-Responsive Systems. *Green Chemistry*, 21(14), 3816–3826.
- Vierkötter, A., & Krutmann, J. (2012). Environmental Influences On Skin Aging And Ethnic-Specific Manifestations. *Dermato-Endocrinology*, 4(3), 227–231.
- Voos, K., Schönauer, E., Alhayek, A., Hauptenthal, J., Andreas, A., & Ducho, C. (2021). Phosphonate As A Stable Zinc-Binding Group For “ Pathoblocker ” Inhibitors Of Clostridial Collagenase H (Colh). *Chemmedchem*, 16, 1257–1267.
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2018). Phenolic Compounds:

- Structure, Classification, And Antioxidant Power. In *Bioactive Compounds: Health Benefits And Potential Applications*. Elsevier Inc.
- Watsiqotul., Sunardi., Agung, Leo. (2018). Peran Manusia sebagai Khalifah Allah di Muka Bumi Perspektif Ekologis dalam Ajaran Islam. *Jurnal Penelitian*, Vol 12. No. 2.
- Widowati, I., Lubac, D., Puspita, M., & Bourgougnon, N. (2014). Antibacterial And Antioxidant Properties Of The Red Alga *Gracilaria verrucosa* From The North Coast Of Java, Semarang, Indonesia. *International Journal Of Latest Research In Science And Technology*, 3(3), 179–185.
- Xiao, C., Ye, J., Esteves, R. M., & Rong, C. (2016). Using Spearman ' S Correlation Coef Fi Cients For Exploratory Data Analysis On Big Dataset. *Concurrency And Computation: Practice And Experience*, 28, 3866–3878.
- Xu, Yifeng., Hou, Yanhua., Wang, Yatong., Wang, Yifan., Li, Tong., Song, Chi., Wei, Nana. (2019). Sensitive and selective detection of Cu²⁺ ions based on fluorescent Ag nanoparticles synthesized by R-phycoerythrin from marine algae *Porphyra yezoensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol 168.
- Young, A. J., & Lowe, G. L. (2018). Carotenoids—Antioxidant Properties. *Antioxidants*, 7(2), 10–13.
- Younis, I. Y., El-Hawary, S. S., Eldahshan, O. A., Abdel-Aziz, M. M., & Ali, Z. Y. (2021). Green Synthesis Of Magnesium Nanoparticles Mediated From *Rosa floribunda* charisma Extract And Its Antioxidant, Antiaging And Antibiofilm Activities. *Scientific Reports*, 11(1), 1–15.
- Yuniarti, R., Nadia, S., Alamanda, A., Zubir, M., Syahputra, R. A., & Nizam, M. (2020). Characterization, Phytochemical Screenings And Antioxidant Activity Test Of Kratom Leaf Ethanol Extract (*Mitragyna speciosa* Korth) Using DPPH Method. *Journal Of Physics: Conference Series*, 1462(1), 0–7.
- 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.

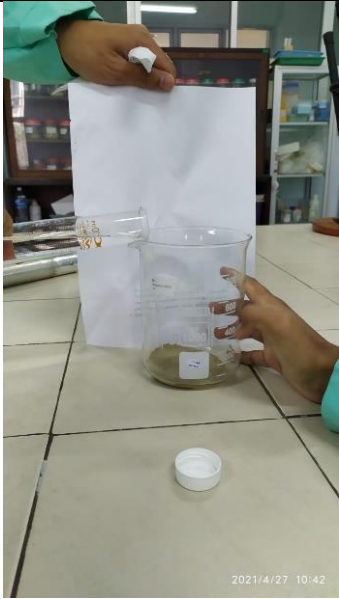
LAMPIRAN

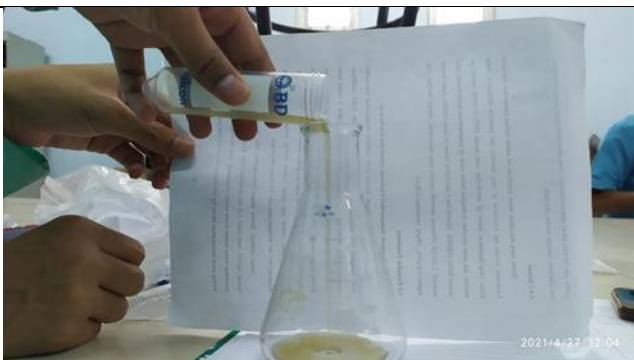
Lampiran 1. Kegiatan Penelitian

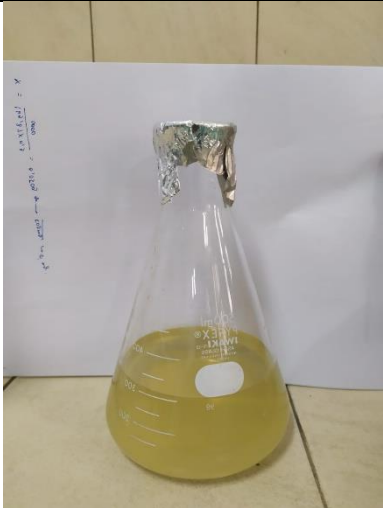
GAMBAR	KETERANGAN
	Penyortiran Sampel
	Pengeringan Sampel (Dioven Dengan Suhu 80 Derajat Selama 15 Menit

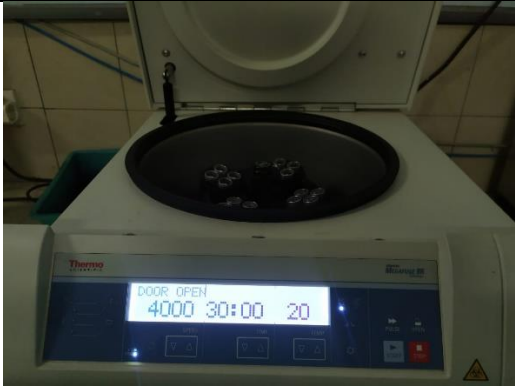
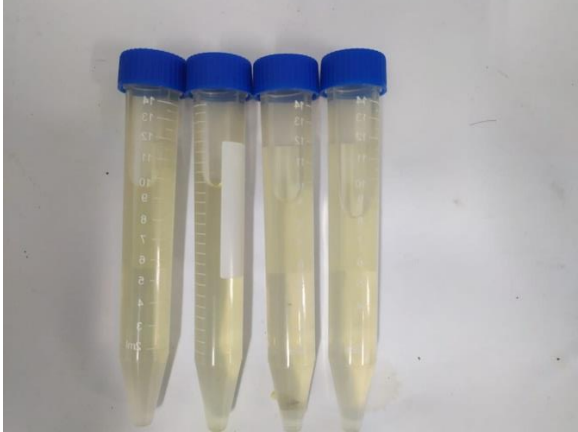
	Sampel Diblender
	Penyaringan Sampel
	Hasil Penyaringan

		
		Penimbangan Bahan

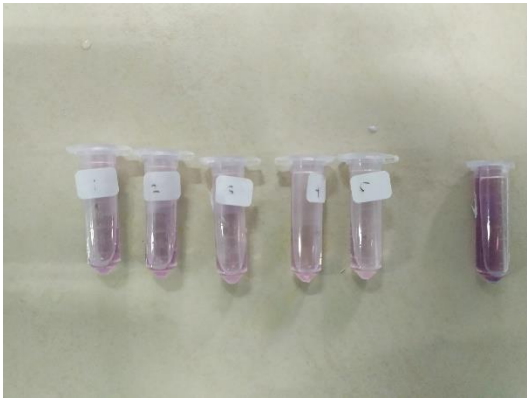
	Pelarutan Akuades Dan Sampel
	Homogenisasi Suhu Ruang Selama 30 Menit. Dilakukan Stirrer Dengan Kecepatan 600 Rpm

	Dilakukan Sentrifugasi Selama 15 Menit Di Suhu 4 Derajat Dengan Kecepatan 4000 Rpm
	Diambil Supernatan
	Sampel Diicampurkan Ke Dalam Larutan AgNO₃ 1 Mm
	

 A photograph of an Erlenmeyer flask containing a yellow liquid. The flask is sealed with a piece of aluminum foil. It is placed on a light-colored surface against a white background. To the left of the flask, there is a small piece of paper with handwritten text.		Diinkubasi Selama 1 Jam Di Ruang Gelap (Gambar Sebelum Diinkubasi)
 A photograph of the same Erlenmeyer flask after incubation. The liquid inside has changed color to a brownish-yellow. The flask is still sealed with aluminum foil and is in the same position as in the previous image.		Hasil Setelah Diinkubasi (Ada Perubahan Warna Menjadi Kecoklatan)

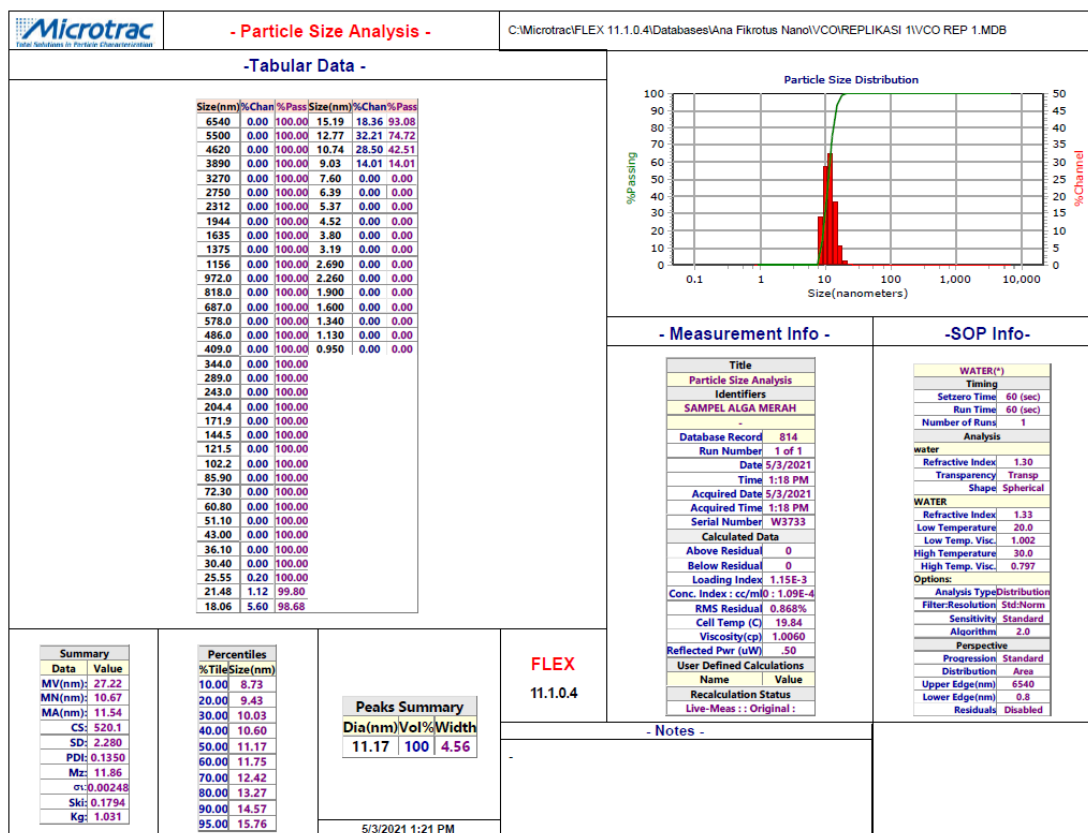
	Disentrifugasi Dengan Kecepatan 4000 Rpm Selama 30 Menit Dengan Suhu 20 C
	Hasil Sentrifugasi, Supernatan Dibuang

 A digital oven thermometer with a red display showing '045' is placed on top of a stainless steel oven. The oven door is open, revealing a yellow object inside on a perforated tray.		Dikeringkan Dengan Oven Dengan Suhu 45 C Selama 24 Jam
 A hand is holding a graduated glass tube. Inside the tube, there is a white, solid substance. The tube has black graduation marks. A timestamp '2021/4/28 15:48' is visible at the bottom right of the image.		Hasil Setelah Dikeringkan

		Dilakukan Penggerusan
		Pengujian Aktivitas Antioksidan
		

		
		
		Pengujian Aktivitas Penghambatan Enzim

Lampiran 2. Hasil Uji PSA



[illegible]

SAMPEL	KONSENTRASI	ULANGAN			RATA-RATA	% PENGHAMBATAN			PERSAMAAN REGRESI			IC50			RATA-RATA	SD	NILAI AKHIR	KATEGORI
		1	2	3		1	2	3	1	2	3	1	2	3				
NANOPARTIKEL	12,5	0,189	0,207	0,187	0,194	38,04	30,86	38,04	$y = 11,493x + 5,8516$	$y = 9,733x + 9,4362$	$y = 11,493x + 5,8516$	46,587	64,563	46,587	52,579	10,378448	52,579 ± 10,38	KUAT
	25	0,159	0,164	0,185	0,169	38,76	46,29	38,76										
	50	0,165	0,169	0,155	0,163	49,52	44,50	49,52										
	100	0,172	0,136	0,123	0,144	61,00	56,34	61,00										
	200	0,117	0,127	0,107	0,117	66,75	59,57	66,75										
EKSTRAK	12,5	0,218	0,211	0,203	0,211	32,30	29,43	32,30	$y = 7,8175x + 12,552$	$y = 7,5586x + 13,421$	$y = 7,8175x + 12,552$	120,334	126,392	120,334	122,3533333	3,4975879	122,35 ±3,50	SEDANG
	25	0,178	0,173	0,182	0,178	39,83	43,06	39,83										
	50	0,168	0,18	0,179	0,176	40,91	40,55	40,91										
	100	0,156	0,155	0,163	0,158	46,65	49,52	46,65										
	200	0,147	0,147	0,137	0,144	55,98	52,39	55,98										
ASAM ASKORBAT	1	0,240	0,244	0,244	0,243	17,58	17,58	17,58	$y = 9,2671x + 16,005$	$y = 8,7494 + 15,718$	$y = 14,467x + 49,45$	39,187336	50,310386	39,18733619	42,89501942	6,4218957	42,89 ± 6,421	SANGAT KUAT
	2	0,247	0,236	0,229	0,237	22,97	20,45	22,97										
	4	0,222	0,221	0,227	0,223	23,68	25,84	23,68										
	8	0,190	0,197	0,188	0,192	37,68	34,45	37,68										
	16	0,178	0,179	0,175	0,177	42,34	40,91	42,34										

Lampiran 5. 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 Alga Merah *Gracilaria verrucosa*

1) pembuatan 12,5 ppm dalam 20 mL

Rumus: $ppm = mg/L$

$$mg = ppm \times L = 12,5 \times 0,02 = 0,25 \text{ mg}$$

2) Pembuatan 25 ppm dalam 10 mL

Rumus: $ppm = mg/L$

$$mg = ppm \times L = 25 \times 0,01 = 0,25 \text{ mg}$$

3) Pembuatan 50 ppm dalam 10 mL

Rumus: $ppm = mg/L$

$$mg = ppm \times L = 50 \times 0,01 = 0,5 \text{ mg}$$

4) Pembuatan 100 ppm dalam 10 mL

Rumus: $ppm = mg/L$

$$\text{mg} = \text{ppm} \times L = 100 \times 0,01 = 1 \text{ mg}$$

5) Pembuatan 200 ppm dalam 10 mL

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

$$\text{mg} = \text{ppm} \times L = 200 \times 0,01 = 2 \text{ mg}$$

3. Pembuatan Konsentrasi Larutan Asam Askorbat Sebagai Standar

Larutan stok asam askorbat dibuat menjadi 50 ppm

Pembuatan 50 ppm dalam 10 mL

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

1) Pengenceran menjadi 1 ppm dalam 10 mL

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

$$50.V1 = 1. 0,01 = V1 = 0,2 \text{ mL} = 200 \text{ uL}$$

2) Pembuatan 2 ppm dalam 10 mL

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

$$50.V1 = 2. 0,01 = V1 = 0,4 \text{ mL} = 400 \text{ }\mu\text{l}$$

3) Pembuatan 4 ppm dalam 10 mL

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

$$50.V1 = 4. 0,01 = V1 = 0,8 \text{ mL} = 800 \text{ }\mu\text{l}$$

4) Pembuatan 8 ppm dalam 10 mL

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

$$50.V1 = 8.0,01 = V1 = 1,6 \text{ mL} = 1600 \mu\text{l}$$

5) Pembuatan 16 ppm dalam 10 mL

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

$$50.V1 = 16.0,01 = V1 = 3,2 \text{ mL} = 3200 \mu\text{l}$$

4. Pembuatan Konsentrasi Larutan Ekstrak

Ekstrak yang telah didapatkan encerkan menjadi beberapa konsentrasi sebagai berikut:

1) pembuatan 12,5 ppm dalam 20 mL

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

$$1000.V1 = 12,5.0,02 = V1 = 0,25 \text{ mL} = 250 \mu\text{l}$$

2) Pembuatan 25 ppm dalam 10 mL

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

$$1000.V1 = 25.0,01 = V1 = 0,25 \text{ mL} = 250 \mu\text{l}$$

3) Pembuatan 50 ppm dalam 10 mL

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

$$1000.V1 = 50.0,01 = V1 = 0,5 \text{ mL} = 500 \mu\text{l}$$

4) Pembuatan 100 ppm dalam 10 mL

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

$$1000.V1 = 100.0,01 = V1 = 1 \text{ mL} = 1000 \mu\text{l}$$

5) Pembuatan 200 ppm dalam 10 mL

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

$$1000.V1 = 200.0,01 = V1 = 2 \text{ mL} = 2000 \mu\text{l}$$

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

Berat Molekul (BM) senyawa = 394,32

Volume (V) Larutan = 50 mL

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

Lampiran 6. Kartu Bimbingan Skripsi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ahmad Efendi
NIM : 17620075
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil
Pembimbing : Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
Judul Skripsi : Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase Silver Nanopartikel Alga Merah *Gracilaria verrucosa*.

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	23-02-2021	Kerangka Penelitian	
2.	09-03-2021	Konsultasi Proposal BAB I, II dan III	
3.	12-03-2021	ACC Seminar Proposal	
4.	23-03-2021	Konsultasi Revisi BAB I, II, dan III	
5.	24-08-2021	Konsultasi BAB IV dan V	
6.	02-09-2021	ACC Sidang Skripsi	
7.			
8.			
9.			
10.			
11.			
12.			

Pembimbing Skripsi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 197410182003122002

Malang, 03 September 2021
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.197410182003122002

Lampiran 7. Kartu Bimbingan Skripsi Integrasi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Ahmad Efendi
NIM : 17620075
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil
Pembimbing : M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
Judul Skripsi : Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase Silver Nanopartikel Alga Merah *Gracilaria verrucosa*.

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	09-03-2021	Konsultasi Integrasi Sains dan Islam BAB I dan BAB II	
2.	12-03-2021	ACC Seminar Proposal	
3.	18-08-2021	Revisi BAB I, II dan III	
4.	18-08-2021	Konsultasi Integrasi Sains dan Islam BAB IV	
5.	21-08-2021	Revisi Integrasi Sains dan Islam BAB IV	
6.	01-09-2021	ACC Sidang Skripsi	
7.			
8.			
9.			
10.			
11.			
12.			

Pembimbing Skripsi,

M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIP. 201402011409

Malang, 03 September 2021
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.1974101820031220

Lampiran 8. Lembar Bukti Cek Plagiasi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Ahmad Efendi
NIM : 17620075
Judul : Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Enzim Kolagenase
Silver Nanopartikel Alga Merah *Gracilaria verrucosa*

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
5	Maharani Retna Duhita., M. Sc, Med. Sc, PhD	6%	

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

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