



FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN GEL KITOSAN HASIL ISOLASI DARI LIMBAH TULANG SOTONG (*Sepia sp.*) DENGAN MENGGUNAKAN METODE DPPH

FORMULATION AND TESTING OF ANTIOXIDANT ACTIVITY CHITOSAN GEL RESULTS OF ISOLATION FROM WASTE BONE STUFF (*Sepia sp.*) USING DPPH METHOD

Ika Julianti Tambunan*, Qalbiah Nurmilad B, Muharni Saputri, Nilsya Febrika Zebua, Siti Muliani Julianty, Kanne Dachi

Fakultas Farmasi, Universitas Tjut Nyak Dhien

ABSTRAK

Pendahuluan: Tulang sotong memiliki kitosan yang berpotensi sebagai antioksidan. Pada kitosan gugus amina mempunyai komponen yang dapat menghambat terbentuknya senyawa radikal bebas yang menyebabkan kerusakan kulit. Kosmetik dengan bahan alam telah banyak berkembang di Indonesia dan lebih menarik oleh karena itu formula kosmetika untuk mengatasi kerusakan pada kulit adalah gel mengandung kitosan. **Tujuan:** Adapun tujuan dari penelitian ini adalah menguji kemampuan antioksidan gel kitosan hasil isolasi dari limbah tulang sotong. **Metode:** secara eksperimental dengan memakai bahan tulang sotong (*Sepia sp.*), kemudian dilakukan determinasi hewan, isolasi kitosan, karakterisasi kandungan kimia pada kitosan dengan uji menggunakan larutan ninhidrine, analisis gugus fungsi dengan Spektrofotometer Fourier Transform Infrared (FTIR), formulasi kitosan dalam sediaan gel dan analisis mutu fisik sediaan serta uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil isolasi tulang sotong menunjukkan terdapat gugus amina merupakan karakteristik utama kitosan. Kitosan dapat diformulasikan kedalam sediaan gel yang homogen serta mempunyai rentang pH sesaat setelah dibuat 6,26-6,9 dan pH setelah pengujian kestabilan 4,91-5,71 serta tidak menyebabkan iritasi pada kulit. Sediaan gel tergolong sebagai antioksidan sedang pembuatan induk dengan panjang gelombang 516 nm menggunakan spektrofotometer UV-vis dengan konsentrasi 40 ppm nilai absorbansi yang diperoleh 0,851 (IC_{50} 138,60 μ g/mL). Sedangkan pada kitosan tulang sotong tergolong sebagai antioksidan sedang (IC_{50} 205,92 μ g/mL). **Kesimpulan:** Kitosan hasil isolasi dapat diformulasikan dalam sediaan gel dan aktivitas antioksidan isolasi kitosan tergolong sebagai antioksidan sedang.

Kata Kunci: Tulang sotong, Kitosan, Gel, Antioksidan, Spektrofotometer Fourier Transform Infrared (FTIR)

ABSTRACT

Introduction: Cuttlefish bone has chitosan which has the potential as an antioxidant. In chitosan, the amine group has components that can inhibit the formation of free radical compounds that cause skin damage. Cosmetics with natural ingredients have developed a lot in Indonesia and are more attractive, therefore the cosmetic formula to treat skin damage is gel containing chitosan. **Objectives:** The purpose of this study was to test the antioxidant ability of chitosan gel isolated from cuttlefish bone waste. **Methods:** experimentally using cuttlefish bone material (*Sepia sp.*), then animal determination, isolation of chitosan, characterization of the chemical content of chitosan by testing using ninhydrine solution, analysis of functional groups with Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR), formulation of chitosan in preparations gel and analysis of the physical quality of the preparation as well as the antioxidant activity test using the DPPH method. **Results:** The results showed that the results of the isolation of cuttlefish bones showed the presence of an amine group which is the main characteristic of chitosan. Chitosan can be formulated into homogeneous gel preparations and has a pH range shortly after being made from 6.26-6.9 and pH after stability testing is 4.91-5.71 and does not cause skin irritation. The gel preparation is classified as an antioxidant while the parent preparation with a wavelength of 516 nm uses a UV-vis spectrometer with a concentration of 40 ppm, the absorbance value obtained is 0.851 (IC_{50} 138,60 μ g/mL). Meanwhile, cuttlefish bone extract is classified as a very strong antioxidant (IC_{50} 205,92 μ g/mL). **Conclusion:** The results of chitosan isolation can be formulated in a gel preparation and the antioxidant activity of chitosan isolation is classified as a very strong antioxidant IC_{50} =205,92 μ g/mL. While the gel preparation is classified as a moderate antioxidant IC_{50} =138,60 μ g/mL.

Keywords: *Cuttlefish bone, Chitosan, Gel, Antioxidant, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*

Alamat Korespondensi:

Ika Julianti Tambunan. Universitas Tjut Nyak Dhien, Jalan Gatot Subroto/ Jl. Rasmi No. 28, Medan, Indonesia 20123. 085270236050. ikajulianti2015@gmail.com

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara kaya akan hasil laut salah satunya sotong. Sotong adalah jenis *cephalopoda* yang dikenal dalam dunia, namun masih belum banyak masyarakat yang mengetahui bahwa hewan ini memiliki tulang dalam yang biasanya dibuang pada saat pengolahan daging sotong. Tulang dalam sotong memiliki komponen utama adalah kalsium karbonat (85%). Ini juga merupakan komponen utama dalam kulit telur. Komponen utama berikutnya adalah bahan organik (8,9%), mungkin materi terutama karbohidrat. Kandungan nitrogen dari 8,300 mg/kg menunjukkan bahwa sekitar 20 % dari bahan organik adalah protein. Bahan asam-larut 1,4% adalah silikat (pasir). Beberapa sumber yang telah diuji mengenai isolasi kitosan dari beberapa sumber yaitu cangkang bekicot dengan derajat deasetilasi sebesar 74,78–77,99%, kitosan kulit udang dengan derajat deasetilasi 79,57% serta cangkang kepiting laut dengan derajat deasetilasi sebesar 40,90% (1).

Kitosan merupakan senyawa organik turunan dari kitin, senyawa golongan karbohidrat dari biomaterial kitin yang dihasilkan dari limbah laut, khususnya golongan udang, kepiting, rajungan, lobster, ketam, dan kerang-kerangan. Kitosan adalah poliglukosamin atau biasa disebut juga dengan β -1,4-2 acetamido-2-dioksi- D-glukosa yang dihasilkan dari kitin dengan proses deasetilasi menggunakan suhu tinggi dan alkali berkonsentrasi tinggi (2). Kitosan umumnya tidak larut dalam air tetapi sedikit larut dalam asam klorida dan asam nitrat serta larut baik dalam asam lemah seperti asam formiat dan asam asetat. Aplikasi kitosan dewasa ini telah banyak digunakan dalam bidang industri baik pangan maupun nonpangan. Kitosan dapat diaplikasikan lebih lanjut dengan memanfaatkan beberapa turunannya seperti oligomer kitosan, karboksimetil kitosan, dan glukosamin (3).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas dengan cara kerja menyerahkan satu atau lebih elektronnya

kepada radikal bebas sehingga menjadi bentuk molekul yang normal kembali serta menghentikan berbagai kerusakan yang dapat ditimbulkan (4). Sekarang ini antioksidan menjadi topik penting dalam

Salah satu uji yang dapat dilakukan untuk menentukan potensi antioksidan suatu senyawa adalah dengan menguji kemampuannya dalam meredam senyawa radikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga konsentrasi efisien atau *Efficient Concentration* (EC_{50}) atau *Inhibitory Concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan persen peredaman sebesar 50% (6).

Dengan kemajuan teknologi dan ilmu pengetahuan kosmetik dengan bahan alam telah banyak berkembang di Indonesia dan lebih menarik (7). Salah satu dari bentuk sediaan kosmetik yang berkembang akhir-akhir ini adalah

berbagai disiplin ilmu (5). Hal ini didasari karena semakin diketahui bahwa sebagian besar penyakit diawali oleh reaksi oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh.

sediaan gel (8). Hal tersebut menunjukkan bahwa limbah tulang sotong dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan dan diformulasikan kedalam sediaan gel.

METODE

Metode yang dilakukan pada penelitian ini dilakukan di laboratorium penelitian Fakultas Farmasi Universitas Tjut Nyak Dhien dengan metode eksperimental dengan memakai bahan tulang sotong (*Sepia* sp.), kemudian dilakukan determinasi hewan, isolasi kitosan, karakterisasi kandungan kimia pada kitosan dengan uji kualitatif menggunakan larutan ninhidrine dan analisis gugus fungsi menggunakan spektroskopi FTIR dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum infra merah menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding, hasil isolasi kitosan diformulasikan dalam sediaan gel, kemudian dilakukan analisis mutu fisik sediaan gel meliputi: pH, viskositas,

stabilitas, uji iritasi pada kulit dalam penyimpanan, serta uji antioksidan menggunakan metode DPPH yang dilakukan di laboratorium penelitian Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas laboratorium, *blender* (Philips®), *hot plate* (Nuova®), *magnetic stirrer*, termometer, kertas saring, pH meter (ATC®), *spektrofotometer fourier transform infrared* (FTIR), Spektrofotometer UV-Vis (Shimazu).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tulang sotong akuades, metanol pa., Na-CMC, gliserin, propilenglikol, nipagin ninhidrine, standar baku kitosan, standar baku DPPH.

Pengolahan Sampel

Tulang sotong yang diperoleh dari tempat penampungan ikan ulee lheu Aceh Besar ditimbang, dibersihkan dan dikeringkan. Tulang sotong kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk dan ditimbang kembali.

Isolasi Kitosan dari Tulang Sotong

Proses isolasi kitosan dilakukan berdasarkan peneliti Gaikwad B, *et al.*

(2015) (9). Isolasi kitosan meliputi 3 tahap dasar yaitu deproteinisasi, demineralisasi dan deasetilasi. Sampel tulang sotong yang telah dihaluskan direndam dengan pelarut NaOH 3,5% selama 2 jam pada suhu 65°C dengan pengadukan konstan pada rasio 1:10 (w/v). Hasil dari yang diperoleh dilakukan perendaman dengan pelarut HCl 1N selama 30 menit pada suhu ruangan dengan rasio 1:15 (w/v). Kemudian kitosan dipanaskan pada suhu 121°C menggunakan larutan natrium hidroksida 50% selama 15 menit dengan rasio 1:10 (w/v). Setelah ini sampel disaring, dicuci dengan akuades sampai pH netral dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C selama 24 jam.

Formulasi Sediaan Gel

Formulasi sediaan gel kitosan hasil isolasi dari tulang ikan sotong dilakukan dengan menambahkan bahan basis gel seperti: CMC, propilen glikol, nipagin, gliserin dan akuades. Kitosan yang diperoleh kemudian ditambahkan ke dalam basis gel kemudian dipanaskan dengan suhu 50 °C selama 1-2 jam dan terus diaduk dengan pengadukan 400 rpm hingga terbentuk gel yang homogen.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pada aktivitas antioksidan pada sediaan meliputi : pembuatan larutan

induk baku DPPH (*1,1-diphenyl-2-picillyhydrazil*), penentuan panjang gelombang serapan maksimum, pengukuran *operating time*, pengukuran absorbansi DPPH tanpa sampel (blanko) dan penentuan nilai *inhibition concentration* (IC₅₀).

HASIL DAN PEMBAHASAN

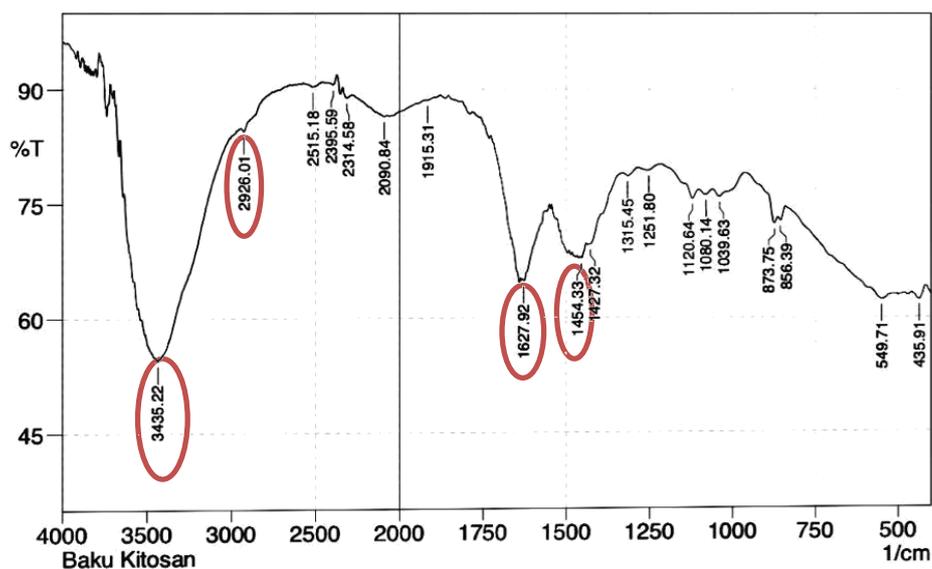
Hasil Karakteristik Isolasi Kitosan dari Tulang Sotong

Hasil analisis gugus fungsi pada kitosan tulang sotong menunjukkan adanya serapan daerah bilangan

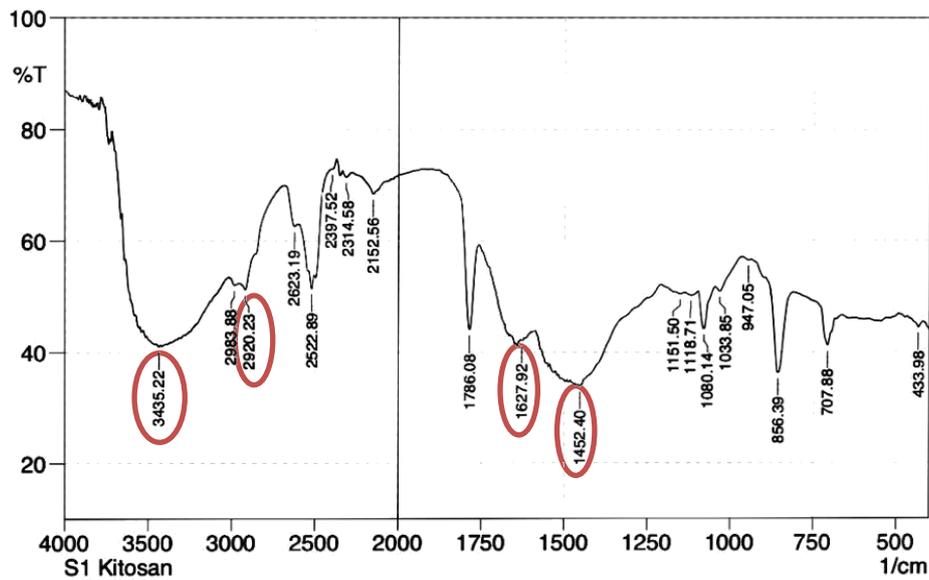
gerlombang 3435.22 nm dinyatakan sebagai gugus ulur N-H dan O-H. Dengan adanya serapan N-H, dimana struktur kitosan merupakan karakteristik utama. Pada puncak serapan bilangan 2926.01 nm menunjukkan adanya ikatan C-H ulur. Pada puncak serapan 1627,92 nm menunjukkan adanya ikatan C-O ulur. Pada puncak serapan 1454,33 nm menunjukkan adanya ikatan CH₃. Serapan pada bilangan gelombang 1627.92 nm masih muncul disebabkan kitosan yang dihasilkan belum terdeasetilisasi secara keseluruhan.

Tabel 1. Hasil Analisis Gugus Fungsi Kitosan Baku dan Kitosan Tulang Sotong

Gugus Fungsi	Kitosan Baku	Kitosan Tulang Sotong
N-H dan O-H	3435.22	3435.22
C-H ulur	2926.01	2920.23
C-O ulur	1627.92	1627.92
CH ₃	1454.33	1452.40



Gambar 1. Spektrum Hasil Analisis Gugus Fungsi Kitosan Baku Pemanding



Gambar 2. Spektrum Hasil Analisis Gugus Fungsi Kitosan Tulang Sotong

Hasil Evaluasi Kitosan dan Sediaan Gel Kitosan

Tabel 2. Hasil Evaluasi Kitosan dan Sediaan Gel Kitosan

	Parameter			
	Organoleptis	pH	Viskositas	Iritasi Kulit
Kitosan	+	+	+	+
Sediaan Gel	+	+	+	+

Keterangan :

- + : Hasil yang diperoleh baik
- : Hasil yang diperoleh tidak baik

Berdasarkan hasil uji evaluasi kitosan dan sediaan gel kitosan menunjukkan bahwa, gel memiliki warna bening, dengan bau khas tulang sotong dan mempunyai tekstur kental. Hasil uji homogenitas memperlihatkan bahwa sediaan gel yang dibuat dari formula memiliki homogenitas sediaan gel yang baik, hal tersebut ditunjukkan dengan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar.

Uji pH dilakukan untuk melihat tingkat keasaman sediaan gel untuk menjamin sediaan gel tidak menyebabkan iritasi pada kulit. Berdasarkan hasil pengukuran pH yang diperoleh 4,59; 5,19; 6,91. pH sediaan gel formula dari blanko, sediaan gel yang dibuat masih memenuhi batas pH fisiologis kulit, menurut literatur pH kosmetik diusahakan sama atau sedekat mungkin dengan pH fisiologis kulit yaitu 4,5 – 6,5 (10).

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan pembuatan larutan induk DPPH, penetapan panjang gelombang serapan maksimum DPPH, pengukuran *operating time* DPPH untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan suatu senyawa dapat bereaksi dengan senyawa lain sehingga terbentuk produk yang stabil. Setelah diperoleh nilai *operating time*, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi DPPH dengan kitosan tulang sotong (*Sepia* sp.), pengukuran absorbansi DPPH dengan kitosan sediaan gel dari kitosan tulang sotong (*Sepia* sp.) (11).

Aktivitas antioksidan kitosan tulang sotong (*Sepia* sp.) dan gel diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi DPPH dengan adanya

penambahan bahan uji, ini mempunyai arti bahwa telah terjadi penangkapan atau peredaman radikal DPPH oleh sampel uji.

Aktivitas antioksidan dapat dibagi menjadi kategori sangat kuat, kuat, sedang, lemah dan sangat lemah. Antioksidan dikatakan sangat kuat apabila memiliki IC_{50} kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat memiliki IC_{50} kisaran antara 50 ppm hingga 100 ppm, antioksidan sedang memiliki IC_{50} kisaran antara 100 ppm hingga 150 ppm, antioksidan lemah memiliki IC_{50} kisaran antara 150 ppm hingga 200 ppm dan nilai IC_{50} lebih dari 200 merupakan antioksidan dengan katagori sangat lemah.

Tabel 3. Penurunan Absorbansi DPPH Kitosan dan Sediaan Gel

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		% Peredaman	
	Kitosan Tulang Sotong	Sediaan Gel	Kitosan Tulang Sotong	Sediaan Gel
0	0,851	0,851	-	-
50	0,176	0,441	79,32	48,18
75	0,178	0,449	79,08	47,23
100	0,190	0,451	81,60	47,00
125	0,218	0,457	74,38	46,29
150	0,251	0,635	70,50	25,38

Tabel menunjukkan bahwa terjadinya penurunan nilai absorbansi DPPH pada kitosan tulang sotong. Hal ini disebabkan karena adanya aktivitas

antioksidan pada kitosan hasil isolasi tulang sotong. Sedangkan sediaan gel yang mengandung kitosan tidak terjadi penurunan nilai absorbansi yang

signifikan hal ini diduga karena kitosan mengalami degradasi akibat proses pembuatan sediaan gel yang dilakukan dengan pemanasan yang lama. Semakin

kecil nilai absorbansi sampel maka aktivitas antioksidan yang diperoleh semakin besar (12).

Tabel 4. Hasil Persamaan Regresi dan Hasil Nilai IC₅₀ pada Kitosan dan Sediaan Gel

No.	Hasil	Persamaan Regresi	IC ₅₀ (µg/ml)	Kategori
1	Kitosan	$Y = 0,08816x + 68,154$	205,92	Sedang
2	Sediaan Gel	$Y = 0,18624x + 24,186$	138,60	Sedang

Dari data persentase aktivitas antioksidan dibuat persamaan garis regresi linear yang menandakan hubungan antara konsentrasi dengan persentase aktivitas antioksidan untuk menentukan nilai IC₅₀ (13). Tabel menunjukkan kitosan dari hasil isolasi tulang sotong dan sediaan gel kitosan tergolong katagori lemah dengan nilai IC₅₀= 205,92 (µg/ml) untuk kitosan dan nilai IC₅₀= 138,60 (µg/ml) untuk sediaan gel kitosan.

KESIMPULAN

Kitosan dapat diisolasi dari limbah tulang sotong dan dapat di formulasikan menjadi sediaan gel sebagai alternatif kosmetik kecantikan. Sediaan gel kitosan tersebut memiliki aktivitas antioksidan kategori sedang yang dapat menunda penuaan dini. Kitosan hasil isolasi tulang sotong dianalisis dengan metode FTIR yang

membandingkan kitosan standar dengan kitosan hasil isolasi tulang sotong pada bilangan gelombang tertentu dan menghasilkan gugus fungsi NH dan OH, CH ulur, CO ulur.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini sehingga penelitian ini berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agustina S, Swantara I, Suartha I. Isolasi Kitin, Karakterisasi, dan Sintesis Kitosan dari Kulit Udang. *J Kim.* 2015;9(2):271–8.
2. Cahyono E. Karakteristik Kitosan dari Limbah Cangkang Udang Windu (*Panaeus monodon*). *Akuatika Indones.* 2018;3(2):96.
3. Cahyono E, Suptijah P,

- Wientarsih I. Development of A Pressurized Hydrolysis Method for Producing Glucosamine. *Asian J Agric Food Sci.* 2014;02(05):390–6.
4. Mahardika RG, Roanisca O. Aktivitas Antioksidan dan Fitokimia dari Ekstrak Etil Asetat Pucuk Idat (*Cratoxylum glaucum*). *Indones J Chem Res.* 2018;5(2):69–74.
 5. Camarena-Tello JC, Martínez-Flores HE, Garnica-Romo MG, Padilla-Ramírez JS, Saavedra-Molina A, Alvarez-Cortes O, et al. Quantification of Phenolic Compounds and in Vitro Radical Scavenging Abilities with Leaf Extracts from Two Varieties of *Psidium guajava* L. *Antioxidants.* 2018;7(3):1–12.
 6. Fadiyah I, Lestari I, Mahardika RG. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Rukam (*Flacourtia rukam*) Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Indones J Chem Res.* 2020;7(2):107–13.
 7. Andry M, Faisal H, Apila NN. Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) dengan Menggunakan Metode DPPH. *J Dunia Farm.* 2022;6(2):96–107.
 8. Mappa T, Edy HJ, Kojong N. Formulasi Gel Ekstrak Daun Sasaladahan (*Peperomia Pellucida* (L.) H.B.K) dan Uji Efektivitasnya terhadap Luka Bakar pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Pharmacon.* 2013;2(2):49–56.
 9. Gaikwad B, Koli JM, Desai SA. Isolation and Characterization of Chitosan from Crab (*Scylla serrata*) Shell Waste. *Int J Sci Appl Res.* 2015;2 (8)(1):78–84.
 10. Maulina L, Sugihartini N. Formulasi Gel Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Variasi Gelling Agent sebagai Sediaan Luka Bakar. *Pharmaciana.* 2015;5(1):43–52.
 11. Hariyanti R, Pamela VY, Kusumasari S. Aktivitas Antioksidan pada Beberapa Produk Berbahan Dasar Kulit Buah Naga Merah. *Jitipari.* 2021;6(1):41–8.
 12. Andry M, Winata HS. Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus Mutans* serta

- Formulasi Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Etanol Buah Okra Hijau (*Abelmoschus esculentus*) dan Tulang Ikan Tuna (*Thunnini*). *J Pharm Sci.* 2022;5(2):170–3.
13. Hasim H, Arifin YY, Andrianto D, Faridah DN. Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *J Apl Teknol Pangan.* 2019;8(3):86.