

Antioxidant Activity of Edible Film Made From Catfish (*Pangasius hypophthalmus*) Gelatin Supplemented With Astaxanthin Using DPPH Method

Uji Aktivitas Antioksidan *Edible Film* dari Gelatin Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang Ditambahkan *Astaxanthin* Menggunakan Metode DPPH

Azlaini Yuz Nasution¹, Intan Sri Wahyuni²

^{1,2} Fakultas Farmasi dan Ilmu Kesehatan, Universitas Abdurrab, Pekanbaru, Indonesia
Email: azlaini.yus@univrab.ac.id

Article Info

Article history

Received date: 2023-07-27

Revised date: 2023-09-13

Accepted date: 2024-10-09



Abstract

Edible film is a food packaging material that can be consumed along with the packaged product. In this study, the *edible film* was made from catfish gelatin and supplemented with *astaxanthin*, which possesses antioxidant activity. The objective of this research was to determine the antioxidant activity of catfish gelatin *edible film* supplemented with 0.5% *astaxanthin* and compared with comparative film. The antioxidant activity was measured using the DPPH method with a microplate reader at five concentrations of sample 62.5 mcg/ml, 125 mcg/ml, 250 mcg/ml, 500 mcg/ml, and 1000 mcg/ml. The results of the antioxidant activity test showed that the IC₅₀ value of the *edible film* supplemented with *astaxanthin* was 251.06x10³ mcg/ml, while the comparative *edible film* was 133.12 mcg/ml. In conclusion, the *edible film* supplemented with *astaxanthin* exhibited weaker antioxidant activity compared to the comparative film.

Keywords:

Catfish gelatin (*Pangasius hypophthalmus*); *Edible film*; *Astaxanthin*; Antioxidant

Abstrak

Edible film merupakan bahan pengemas makanan yang sekaligus dapat dimakan bersama dengan produk yang dikemas. Pada pengujian ini *edible film* terbuat dari gelatin ikan patin dan ditambahkan *astaxanthin* yang memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada *edible film* gelatin ikan patin yang ditambahkan *astaxanthin* pada konsentrasi 0,5% dan dibandingkan dengan *edible film* pembanding. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dengan alat *microplate reader* pada lima konsentrasi yaitu 62,5 mcg/ml, 125 mcg/ml, 250 mcg/ml, 500 mcg/ml, dan 1000 mcg/ml. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan nilai IC₅₀ dari *edible film* yang ditambahkan *astaxanthin* yaitu 251,06x10³ mcg/ml sedangkan *edible film* pembanding yaitu 133,12 mcg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa *edible film* yang ditambahkan *astaxanthin* memiliki aktivitas antioksidan lebih lemah dibandingkan dengan pembanding.

Kata Kunci:

Gelatin ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*); *Edible film*; *Astaxanthin*; Antioksidan

PENDAHULUAN

Gelatin merupakan bahan yang diperoleh dengan mengekstrak kolagen dari kulit atau tulang rawan hewan. Saat ini gelatin dapat digunakan dalam pembuatan *edible film*, tidak hanya sebagai *edible coating* (menjaga makanan kehilangan kadar air, oksigen dan cahaya) tetapi juga menambah nutrisi pada bahan makanan yang dilapisi. Alasan utama gelatin sebagai bahan baku pembuatan *edible film* karena tingginya kandungan *proline*, *glycine*, dan *hydroxyproline* pada gelatin ikan sehingga lebih *flexible* dan mudah diaplikasikan dalam bahan pangan. *Edible film* dapat difungsikan sebagai bahan kemasan antimikroba dan antioksidan dengan menambahkan senyawa antimikroba dan antioksidan baik yang bersifat alami maupun sintesis [1], [2].

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menguji antioksidan pada *edible film* seperti penelitian Nuansa [3], dimana nilai aktivitas antioksidan terbaik sebesar 15,12 % pada *edible film* refined karaginan yang ditambahkan minyak atsiri. Penelitian ini menggunakan *edible film* dari gelatin ikan patin yang ditambahkan *astaxanthin*. Penelitian tentang antioksidan dari *astaxanthin* telah diteliti oleh Mauludia *et al* [4], yang menguji aktivitas antioksidan *astaxanthin* dari produk fermentasi udang (cincalok) dan diperoleh IC_{50} sebesar 568,32 mcg/ml. Peneliti lain Sukmaya *et al* [5] menyatakan hasil bahwa aktivitas antioksidan *astaxanthin* memberikan aktivitas yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} 30,46 mcg/ml, dan aktivitas antioksidan sediaan sabun transparan *astaxanthin* mengalami penurunan aktivitas dari sangat kuat menjadi kuat dengan IC_{50} sebesar 70,47 mcg/ml.

Astaxanthin merupakan antioksidan alami golongan *carotenoid xanthophyll*. Penambahan *astaxanthin* pada *edible film* berfungsi untuk melindungi makanan dari ketengikan oksidatif, degradasi, dan diskolorasi. *Astaxanthin* adalah kelompok xantofil berwarna merah muda yang terdapat pada hewan-hewan perairan. Selain

itu, mikroalga seperti *Phaffia rhodozyma*, *Chlorella vulgaris*, dan *Haematococcus pluvialis* juga menghasilkan *astaxanthin* dalam jumlah yang cukup banyak [6].

Salah satu metode untuk menentukan aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Metode DPPH dapat digunakan untuk menguji kemampuan suatu komponen sebagai penangkap radikal bebas dalam suatu bahan atau ekstrak. Keunggulan metode DPPH adalah dapat dikerjakan dengan cepat dan sederhana [7]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada *edible film* dari gelatin ikan patin yang ditambahkan *astaxanthin* pada konsentrasi 0,5%.

METODE

Penelitian ini menggunakan kulit ikan patin segar (*Pangasius hypophthalmus*) yang diambil dari peternak ikan patin di Desa Pulau Gadang (Kabupaten Kampar, Provinsi Riau), aquades, NaCl 0,8N (Merck), NaOH 0,2N (Merck), asam asetat 0,05N (Merck), *Astaxanthin* (AstaLuxe™ 10% Oleoresin), gliserol (Merck), etanol pro analisa (Merck), reagen DPPH (Sigma Aldrich), Na CMC, asam askorbat (Merck).

Alat yang digunakan terdiri dari *microplate reader*, inkubator, oven, *water bath*, desikator, *hot plate*, blender, timbangan analitik, *stirer*, mikrometer, vortex, kuvet, termometer, cawan porselen, dan alat-alat gelas.

1. Penyiapan Kulit Ikan Patin

Kulit ikan yang diperoleh berasal dari ikan patin dengan berat rata-rata 500 g/ekor. Kulit ini dibersihkan dari sisa daging yang menempel menggunakan pisau dan selanjutnya dipreparasi seperti pada Oktaviani *et al* [8].

2. Ekstraksi Gelatin dari Kulit Ikan Patin

Kulit ikan patin yang telah disiapkan selanjutnya dilakukan proses ekstraksi untuk memperoleh gelatin. Proses ekstraksi gelatin dari kulit tersebut menggunakan metode basa seperti pada Nasution *et al* [9].

3. Pembuatan *Edible Film* dari Gelatin Ikan Patin (F1)

Edible film dari gelatin ikan patin dibuat sesuai prosedur pada Nasution, et al [2] dengan sedikit modifikasi yaitu mengganti gelatin sapi dengan gelatin ikan patin.

4. Pembuatan *Edible Film* dari Gelatin Ikan Patin yang ditambahkan *Astaxanthin* (F2)

Edible film yang dibuat dari gelatin ikan patin dengan penambahan *astaxanthin* 0,5% dilakukan dengan cara yang sama seperti poin 3. Setelah penambahan Na CMC ditambahkan *astaxanthin* 0,5%, lalu ditambahkan air hingga 100 ml. Kemudian larutan tetap dipanaskan sambil diaduk pada suhu 45°C dan dipertahankan selama 10 menit, didinginkan pada suhu ruang. Suspensi kemudian dituangkan ke dalam cetakan. Lalu dilakukan pengeringan pada suhu 25°C.

5. Pembuatan *Edible Film* dari Gelatin Ikan Patin yang ditambahkan Pembanding Asam Askorbat (F3)

Asam askorbat digunakan sebagai pembanding. Pembuatan *edible film* ini seperti pada poin 4, tetapi yang ditambahkan adalah asam askorbat 0,5%.

6. Uji Ketebalan *Edible Film*

Ketebalan *edible film* diukur dengan menggunakan mikrometer pada lima tempat yang berbeda di keempat sisi dan bagian tengah *edible film* (20x20 cm), nilai ketebalan *edible film* yang diukur sama dengan rata-rata hasil lima kali pengukuran tersebut [10].

$$\text{Ketebalan (mm)} = \frac{A+B+C+D+E}{5}$$

7. Uji Aktivitas Antioksidan *Edible Film* dari Gelatin Ikan Patin yang ditambahkan *Astaxanthin*

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan dengan beberapa tahap yaitu:

- Pembuatan larutan DPPH 80 mcg/ml menggunakan pelarut metanol.
- Pembuatan larutan sampel, dengan cara menimbang sampel *edible film* sebanyak 40 mg dilarutkan dengan 40 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi larutan

sampel 1000 mcg/ml. Lalu dilakukan pengenceran hingga diperoleh variasi konsentrasi larutan 500 mcg/ml, 250 mcg/ml, 125 mcg/ml, dan 62,5 mcg/ml.

- Pembuatan larutan pembanding (asam askorbat) dilakukan seperti pada poin b dengan menggunakan *edible film* pembanding.
- Penentuan aktivitas antioksidan *edible film* menggunakan *microplate reader* dengan metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil). Dilakukan pengukuran absorbansi metanol, DPPH, dan sampel pada setiap konsentrasi menggunakan *microplate reader*. Volume larutan yang dipipet sebanyak 50 µl dan waktu diinkubasi selama 30 menit pada panjang gelombang 492 nm. *Edible film* yang ditambahkan asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif dengan perlakuan yang sama seperti perlakuan sampel dengan variasi konsentrasi larutan 500 mcg/ml, 250 mcg/ml, 125 mcg/ml, 62,5 mcg/ml, dan 31,25 mcg/ml [11].

Analisis Data

Data absorbansi yang diperoleh dari *microplate reader* dimasukkan ke rumus di bawah ini, untuk menghitung % inhibisinya:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{serapan kontrol} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan kontrol}} \times 100 \%$$

Setelah itu diplot ke persamaan regresi linier $y = ax + b$, dimana sumbu x adalah konsentrasi sampel dan sumbu y adalah % inhibisi. Dari persamaan ini dapat dihitung nilai IC_{50} dari masing-masing sampel. Nilai IC_{50} adalah konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50% konsentrasi awal. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti nilai y dengan 50.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses pembuatan *edible film* dari gelatin ikan patin ini menggunakan bahan tambahan lain yaitu gliserol dan Na CMC. Gliserol berfungsi untuk meningkatkan fleksibilitas *film*, agar

permukaan *film* lebih halus, dan juga dapat meningkatkan kemampuan *edible film* dalam mengurangi laju transmisi uap air [12]. Adapun fungsi dari Na CMC yaitu untuk membantu dalam pembentukan gel yang baik dan elastis. Na CMC sebagai senyawa polimer dengan berat molekul yang tinggi, sehingga *edible film* yang dihasilkan lebih kuat [13]. Kemudian pelarut yang digunakan dalam pembuatan *edible film* ini adalah air karena gelatin larut dalam air [14]. Penambahan bahan-bahan tersebut di atas sangat mempengaruhi kualitas *edible film* yang dihasilkan.

Edible film yang dibuat diukur ketebalannya menggunakan mikrometer dan diperoleh hasil ketebalan rata-rata *edible film* pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Ketebalan rata-rata *edible film*

No.	Jenis Edible Film	Ketebalan rata-rata (mm)±SD
1.	Edible Film Gelatin Ikan Patin (F1)	0,110±0,020
2.	Edible Film Gelatin Ikan Patin+Astaxanthin (F2)	0,098±0,004
3.	Edible Film Gelatin Ikan Patin+Asam Askorbat (F3)	0,118±0,042

Ketebalan *edible film* merupakan suatu parameter yang penting karena dapat mempengaruhi kualitas dalam mempertahankan produk. Ketebalan *edible film* ini telah memenuhi standar ketebalan *edible film* menurut *Japanese Industrial Standart* [15], yaitu maksimal memiliki ketebalan sebesar 0,25 mm. Faktor-faktor yang mempengaruhi ketebalan film ini antara lain: konsentrasi gelatin yang digunakan, luas wadah pencetak, dan permukaan cetakan yang harus rata [10]. Pada pengujian aktivitas antioksidan *edible film* yang ditambahkan *astaxanthin* dilakukan dengan metode DPPH. DPPH merupakan suatu molekul radikal bebas berwarna ungu yang akan berubah menjadi senyawa yang stabil dengan warna kuning karena adanya reaksi dengan antioksidan, dimana antioksidan

memberikan satu elektronnya pada DPPH sehingga terjadi peredaman pada radikal bebas DPPH. Aktivitas antioksidan dari suatu senyawa ditunjukkan oleh pengukuran serapan DPPH yang bereaksi dengan senyawa antioksidan [16].

Hasil uji aktivitas antioksidan *edible film* gelatin ikan patin terdapat pada tabel 2 di bawah ini:

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan *edible film*

Sampel	konsentrasi (mcg/ml)	% inhibisi	IC ₅₀ (mcg/ml)
<i>edible film</i>	1000	13,64	251,0
+	500	12,43	x10 ³
<i>astaxanthin</i>	250	10,73	
0,5% (F2)	125	6,42	
	62,5	6,61	
<i>edible film</i> +	500	80,38	133,11
Asam askorbat	250	77,56	
	125	47,80	
	62,5	25,08	
0,5% (F3)	31,25	10,43	

Pengujian ini menggunakan *edible film* yang ditambahkan asam askorbat sebagai pembanding, karena asam askorbat merupakan salah satu sumber antioksidan sintesis yang murni, larut dalam air, dan sering digunakan pada berbagai sediaan [17].

Hasil persamaan regresi linier saat penentuan aktivitas antioksidan dari *edible film* gelatin ikan patin yang ditambahkan *astaxanthin* 0,5% adalah $y=2,89629x-6,01778$ dan pada *edible film* pembanding persamaan yang diperoleh $y=27,75528x-85,75822$. Dari persamaan regresi linier ini dapat dihitung nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ adalah nilai yang digunakan dalam penentuan aktivitas penangkal radikal bebas. Nilai tersebut menunjukkan konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi [18], [19]. Nilai IC₅₀ sampel yang didapatkan yaitu 251,06x10³mcg/ml, dan pembanding sebesar 133,11mcg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa *edible film* yang ditambahkan *astaxanthin* memiliki aktivitas antioksidan lebih lemah

dibandingkan dengan pembanding. Nilai IC₅₀ sampel sangat besar, sehingga aktivitas antioksidannya dapat dikategorikan tidak aktif. Hal ini terjadi disebabkan karena struktur rantai yang dimiliki *astaxanthin* terdiri dari rantai tidak jenuh sehingga senyawa ini menjadi sangat sensitif terhadap panas, cahaya, dan kondisi oksidatif serta faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi stabilitas *astaxanthin* [20].

SIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa edible film dari gelatin ikan patin yang ditambahkan *astaxanthin* 0,5% mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar $251,06 \times 10^3$ mcg/ml dan pembanding yaitu 133,11 mcg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa *edible film* yang ditambahkan *astaxanthin* memiliki aktivitas antioksidan lebih lemah dibandingkan dengan pembanding.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini peneliti ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada Pimpinan Pondok Pesantren Ummahatul Mukminin yang telah memberikan izin dalam pelaksanaan penelitian ini. Dan ucapan terima kasih kepada Poltekkes Kemenkes Riau yang telah memfasilitasi peneliti dalam melaksanakan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Santoso, B. *Edible film Teknologi dan aplikasinya*. Palembang: Noer Fikri Offset, 2020.
- [2] Nasution, A. Y., Wardaniati, I., & Lestari, S. A. Antibacterial Activity of Edible Film with the Addition of Betel Leaf Extract (Piper betle) againsts Streptococcus mutans. *JPK: Jurnal Proteksi Kesehatan*, vol. 11, no. 1, pp. 12-16, 2022.
- [3] Nuansa, M.F., T.W. Agustina, dan E.Susanto. Karakteristik dan Aktivitas

Antioksidan Edible Film dari Refined Karaginan dengan Penambahan Minyak Atsiri. <http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/jpbhp>. vol. 6, no. 1, pp. 54-62, 2017.

- [4] Mauludia, T. Usman., W.Rahmalia., D.I. Prayitno., dan S.N. Nurbaeti. 2021. Ekstrak, Karakteristik dan Uji Aktivitas Antioksidan Astaxanthin dari Produk Fermentasi Udang (Cincalok). *Jurnal kelautan tropis*. Vol. 24, no. 3, pp. 311-322, 2021.
- [5] Sukmaya, R. S., Indra, R. Yulianti & L. Nurdianti. Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sabun Transparan Astaxanthin. *Prosiding seminar nasional desiminasi penelitian*. STIKes BTH Tasikmalaya. Tasikmalaya, 2021.
- [6] Syukri, D. *Pengetahuan Dasar Tentang Senyawa Karotenoid sebagai Bahan Baku Produksi Produk Olahan Hasil Pertanian*. Padang: Andalas University Press, 2021.
- [7] Rorong, J. A. Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun Cengkeh (*Eugenia carryophyllus*) dengan Metode DPPH. *Chem. Prog*, vol. 1, no. 2, pp. 11-116, 2008.
- [8] Oktaviani, I., Perdana, F., & Nasution, A. Y. Perbandingan sifat gelatin yang berasal dari kulit ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) dan gelatin yang berasal dari kulit ikan komersil. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, vol. 1, no. 1, pp. 1-8, 2017.
- [9] Nasution, A.Y., Harmita, dan Y. Harahap. Karakterisasi Gelatin Hasil Ekstraksi dari Kulit Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) dengan Proses Asam dan Basa. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, vol. 5, no. 3, pp. 142 – 151, 2018.
- [10] Chae, S. dan T.R. Heo. Production and properties of edible film using whey protein. Departemen of Biological Engineering Inha University, Inchon. Korea. *Biotechnol Bioprocess. Eng*, vol. 2, 122-125, 1997.

- [11] Cristine, J., Hilwan, Y.D. Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Akar Tanaman *Amaranthus spinosus*. *J.Ind Che, Acta*, vol. 1, 2013.
- [12] Luthana, Y. Review Lengkap Tentang Edible Film, Pembuatannya Dari Bubuk Pektin Cincou, dan Aplikasinya. Online. (<https://Yisluth.Wordpress.Com/2010/12/17/Review-Lengkap-Tentang-Edible-Film-Pembuatannya-Dari-Bubuk-Pektin-Cincou-Dan-Aplikasinya/>). 2013. Diakses tanggal: 8 maret 2017.
- [13] Tongdeesoontorn, W. LJ Mauer, S. Wongruong, P. Sriburi, & P. Rachtanapun. Effect of Carboxymethyl Cellulose Concentration on Physical Properties of Biodegradable Cassava Starch-Based Film. *Chemistry Central Journal*, vol. 5, no. 6, pp. 3-8, 2011.
- [14] Haris, M. A. Pemanfaatan Limbah Tulang Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*) sebagai Gelatin dan Pengaruh Lama Penyimpanan pada Suhu Ruang. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, 2008.
- [15] JIS. *Japanese Industrial Standart 2 1707*. Japanese standards association. Japan, 1975.
- [16] Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B.T., dan Jonathan, J.G. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH Pada Daun Tanjung (*mimusops elengi L*). *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*. Universitas Pembangunan Nasional Veteran. Yogyakarta, 2016.
- [17] Weng, W., Osako, K., & Tanaka, M. Oxygen permeability and antioxidative properties of edible surimi films. *Fisheries Science*, vol. 75, no. 1, pp. 233-240, 2009.
- [18] Pratiwi, D., & Wardaniati, I. Pengaruh Variasi Perlakuan (Segar Dan Simplisia) Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Fenol Total. *Jurnal Farmasi Higea*, vol. 11, no. 2, pp. 159-165, 2019.
- [19] Devitria, R., Juariah, S., & Putri, L. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Jambu Bol (*Syzygium malaccense L*) Dengan Metode DPPH (2, 2-Diphenyl-1-picrylhidrazil). *Klinikal Sains: Jurnal Analisis Kesehatan*, vol. 10, no. 1, pp. 45-52, 2022.
- [20] Franco, Z. M. E., P. R. Jimenez, C. A. Tomasini, dan L. I. Guerrero. 2010. Astaxanthin Extraction from Shrimp Wastes and Its Stability in 2 Model Systems. *Journal of Food Science*. Vol. 75 no. 5, pp. 394 – 399, 2010.