

Validasi Metode Analisis dan Penetapan Kadar Kolagen serta Total Gugus Sulfidril pada Membran Cangkang Telur Ayam = Validation of Analysis Method and Determination of Collagen Levels and Total Sulfhydryl in Chicken Eggshell Membrans

Yasmin Latifah, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20506568&lokasi=lokal>

Abstrak

Kolagen merupakan suatu protein yang memiliki banyak manfaatnya dalam industri farmasi, kosmetik, makanan, dan biomedis. Tingginya kebutuhan kolagen dalam berbagai bidang kesehatan ini diperlukan sumber kolagen alternatif yang bersifat aman dan terjangkau sebagai pengganti sumber kolagen yang berasal dari sapi, babi, dan ikan. Pada penelitian ini, digunakan membran cangkang telur ayam sebagai sumber kolagen alternatif. Kolagen ini mengandung beberapa asam amino, salah satunya adalah hidroksiprolin, yang merupakan asam amino sekunder turunan prolin yang secara eksklusif terdapat dalam kolagen. Kolagen dapat bertindak sebagai antioksidan, ditandai dengan adanya gugus sulfidril yang terdapat dalam rantai samping asam amino sistein dalam kolagen. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kondisi analisis optimum dan metode analisis tervalidasi terhadap standar hidroksiprolin untuk penetapan kadar kolagen menggunakan metode KCKT, serta standar glutathione dalam penentuan total gugus sulfidril menggunakan metode Spektrofometri UV-Vis dalam kolagen membran cangkang telur ayam. Analisis kolagen dengan standar hidroksiprolin dilakukan menggunakan KCKT detektor fluorosensi dan menggunakan agen derivatisasi FMOC-Cl (9-Fluorenilmetoksikarbonil- klorida). Kondisi analisis optimum didapatkan pada panjang gelombang emisi 320 nm dan eksitasi 255 nm, laju alir 0,8 ml/menit, komposisi fase gerak dapar asetat (pH4,2)-asetonitril (60:40). Metode analisis tervalidasi didapatkan dengan persamaan regresi linear $y = 5698,6x - 30695$, $r = 0,9994$ pada rentang 100-350 ng serta LOD sebesar 10,2529 dan LOQ 34,1746 ng. Penentuan gugus sulfidril dengan standar glutathione dilakukan dengan menggunakan metode pereaksi Ellman (DTNB/ 5,5- dithio-bis- (asam 2-nitrobenzoic)) yang dianalisis menggunakan Spektrofotometri UVVis. Hasil menunjukkan kadar kolagen membran cangkang telur adalah $2,2935 \pm 0,001\%$ dengan total gugus sulfidril bebas $0,1738 \pm 0,0013$ mg/L.

.....Collagen is a protein that has many uses in the pharmaceutical, cosmetic, food, and biomedical industries. The high demand for collagen in various health fields makes needed alternative sources of collagen that are safe and affordable as a substitute for collagen sourced from cattle, pigs, and fish. In this study, a chicken eggshell membran was used as an alternative source of collagen. This collagen contains several amino acids, one of which is hydroxyproline. Hydroxyproline is a secondary amino acid derived from proline that is exclusively present in collagen. Collagen can also act as an antioxidant, characterized by the presence of sulfhydryl groups found in the side chains of the cysteine amino acids in collagen. This study aims to obtain optimum analytical conditions and validated analysis methods for hydroxyproline as a standard for determining collagen levels, and glutathione as a standard in determining total sulfhydryl groups in collagen membranes in chicken eggshells. Collagen analysis with hydroxyproline standard was carried out using a high-performance liquid chromatography fluorescent detector and using an FMOC-Cl (9-Fluorenylmethoxycarbonyl- chloride) derivative agent. The optimum analysis conditions were obtained at an emission wavelength of 320 nm and excitation of 255 nm, a flow rate of 0.8 ml/min, the composition of the

mobile phase of acetate buffer (pH 4.2) - acetonitrile (60:40). The validated analysis method is obtained by linear regression equation $y = 5698,6x - 30695$, $r = 0.9994$ in the range of 100-350 ng and LOD of 10.2529 and LOQ 34.1746 ng. Determination of sulfhydryl groups with glutathione standards was carried out using the Ellman reagent method (DTNB / 5,5'- dithio-bis- (2-nitrobenzoic acid)) which was analyzed using UV-Vis spectrophotometry. The results showed that eggshell membrane collagen levels were $2.2935 \pm 0.001\%$ with a total of free sulfhydryl groups of $0.1738 \pm 0.0013 \text{ mg / L}$.