

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencemaran di Perairan

Menurut Peraturan Pemerintah No. 20 Tahun 1990, pencemaran air adalah masuknya atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi dan atau komponen lain ke dalam air oleh kegiatan manusia, sehingga kualitas air turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan air tidak berfungsi lagi sesuai dengan peruntukannya. Berdasarkan pengertian tersebut ketika suatu badan air telah tercemar maka akan berdampak pada penurunan kualitas air, yaitu dengan adanya perubahan kondisi fisika, kimia dan biologi. Kondisi sungai yang tercemar tidak dapat digunakan untuk kegiatan perikanan. Kondisi ini mengakibatkan keseimbangan ekosistem terganggu (Suparja, 2009). Semakin meningkatnya aktivitas pembangunan ekonomi, perubahan tata guna lahan dan meningkatnya pertumbuhan penduduk mengakibatkan tingginya tekanan terhadap lingkungan. Sungai sebagai bagian lingkungan hidup saat ini kondisinya memprihatinkan, terjadi kecenderungan perubahan ekosistem sungai yang ditunjukkan dengan degradasi kuantitas dan kualitas air. Hampir sebagian besar daerah aliran sungai di Indonesia mengalami kerusakan, dari 82 sungai besar di Indonesia 62 diantaranya tergolong dalam sungai yang kritis. Sebagian besar kerusakan sungai diakibatkan oleh aktivitas manusia yang mengibaratkan sungai sebagai tempat pembuangan sampah dan limbah gratis (Widodo *et al.*, 2013).

Banyak penyebab pencemaran air tetapi secara umum dapat dikategorikan sebagai sumber kontaminan langsung dan tidak langsung. Sumber langsung meliputi efluen yang keluar dari industri, TPA (tempat Pembuangan Akhir Sampah), dan sebagainya. Sumber tidak langsung yaitu kontaminan yang memasuki badan air dari tanah, air tanah, atau atmosfer berupa hujan. Tanah

dan air tanah mengandung sisa dari aktivitas pertanian seperti pupuk dan pestisida. Kontaminan dari atmosfer juga berasal dari aktivitas manusia yaitu pencemaran udara yang menghasilkan hujan asam. Air dinyatakan tercemar apabila terdapat gangguan terhadap kualitas air sehingga air tersebut tidak dapat di gunakan untuk tujuan penggunaannya. Yang dimaksud dengan air tercemar adalah air yang telah di masuki makhluk hidup (mikro organisme), zat atau energi akibat kegiatan manusia sehingga kualitas air turun sampai ke tingkat tertentu yang menyebabkan air tidak berfungsi sesuai dengan peruntukannya (Sahabuddin, 2012).

Terjadinya pencemaran pada badan-badan air termasuk sungai, akan mengganggu kehidupan normal ikan-ikan yang hidup di dalamnya. Dengan adanya pencemaran air menyebabkan menurunnya kualitas perairan, sehingga daya dukung perairan tersebut terhadap organisme akuatik yang hidup di dalamnya akan turun. Masalah pencemaran air menimbulkan berbagai akibat, baik yang bersifat biologik, fisik maupun kimia. Akibat biologik yang terlihat jelas di perairan-perairan antara lain berupa kematian ikan atau sekurang-kurangnya berupa kelainan struktural maupun fungsional ke arah abnormal (Pratiwi, 2010).

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas (*free radical*) adalah molekul atau atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas bersifat tidak stabil, sangat reaktif dan dapat merebut elektron dari molekul lain dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya. Molekul yang kehilangan elektron ini dapat bersifat reaktif (Astuti, 2008). Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya atau kehilangan elektron, sehingga apabila dua radikal bebas bertemu, mereka bisa memakai bersama

elektron tidak berpasangan membentuk ikatan kovalen. Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, produksi prostaglandin, dan protein lain seperti enzim yang terdapat dalam tubuh (werdhasari, 2014). Menurut Jurnal (2014), Radikal bebas adalah suatu atom, gugus atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital paling luar. Radikal bebas pada umumnya bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Beberapa bentuk senyawa oksigen radikal bebas diantaranya superoksida, hidroksil, peroksil (RO_2^-), alkoksil (RO^-), hidroperoksil (HO_2^-), nitrit oksida dan nitrogen dioksida (NO_2). Oksigen dan nitrogen radikal bebas dapat dirubah menjadi spesies reaktif non radikal seperti hidrogen peroksida, asam hipoklorat dan peroksinitrit. *Reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) diproduksi oleh hewan dan manusia dibawah kondisi fisiologis dan patologis.

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan (Suwandi, 2010). Radikal bebas adalah setiap molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat reaktif dan dengan mudah menjadi reaksi yang tidak terkontrol, menghasilkan ikatan silang (*crosslink*) pada DNA, protein, lipida atau kerusakan oksidatif pada gugus fungsional yang penting pada biomolekul (Rosiarto, 2014). Radikal bebas di dalam tubuh merupakan bahan yang sangat berbahaya. Bahan radikal bebas tersebut sebenarnya merupakan senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan itulah yang mengakibatkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangannya. Caranya adalah dengan mengikat atau menyerang elektron molekul yang berada disekitarnya, yang diikat radikal bebas pada

umumnya adalah molekul besar seperti lipid, protein, maupun DNA (pembawa sifat). (Sayuti dan Yenrina, 2015). Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas. Sumber-sumber radikal bebas yang berasal dari faktor endogen maupun eksogen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sumber-sumber radikal bebas

Sumber Endogen	Sumber Eksogen
Mitokondria	Rokok
Fagosit	Polutan lingkungan
Xantin oksidase	Radiasi
Reaksi logam transisi	Obat-obat tertentu
Jalur arakhidonat	Pestisida
Peroksisom	Ozon
Olahraga	
Peradangan	
Iskemiat/reperfusi	

Sumber. Tuminah (2000) *dalam* Andriyanti (2009).

2.3 Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk senyawa non-radikal bebas yang tidak reaktif dan relatif stabil. Sementara itu, radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya (Djapiala, 2013). Antioksidan memiliki fungsi untuk menghentikan atau memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas yang terdapat di dalam tubuh, sehingga dapat menyelamatkan sel-sel

tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas (Riadini *et al.*, 2015). Antioksidan merupakan zat yang dapat mencegah atau menghambat terjadinya reaksi oksidasi berantai pada suatu molekul. Zat antioksidan mempunyai kemampuan untuk menstabilkan atau mendeaktivasi radikal bebas sebelum menyerang sel sehingga zat ini sangat penting untuk melindungi sel dari kerusakan (Rosiarto, 2014).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan atau meredam radikal bebas, serta menghambat terjadinya oksidasi pada sel tubuh, sehingga dapat mencegah atau mengurangi terjadinya kerusakan sel. Antioksidan dapat berfungsi untuk melindungi berbagai macam penyakit dan stres (Suryaningrum *et al.*, 2006). Secara umum, antioksidan dikelompokkan menjadi dua, yaitu antioksidan enzimatis dan nonenzimatis. Antioksidan enzimatis merupakan sistem pertahanan utama (primer) terhadap kondisi stres oksidatif. Termasuk kelompok ini adalah enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Sedangkan yang termasuk kelompok antioksidan non-enzimatis adalah vitamin A, C, E, β -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, isokatekin, dan asam lipoat (Djamil dan Amelia, 2009).

Ada dua kelompok sumber antioksidan, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami atau yang terkandung dalam bahan alami). Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan flavonoid. Flavonoid adalah suatu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman (Astuti, 2008).

2.4 *Padina australis*

Padina australis merupakan alga yang hidup di sekitar genangan air di atas batu karang pantai. Morfologinya memiliki *thallus* yang berbentuk seperti

kipas dengan diameter 3 sampai 4 cm. Alga ini berwarna coklat kekuningan atau kadang-kadang memutih disebabkan oleh perkapuran. *Padina* memiliki segmen-segmen lembaran tipis (lobus) dengan garis-garis berambut radial dan perkapuran di bagian permukaan *thallus* yang berbentuk seperti kipas. Tipe garis-garis berambut radial tersebut menjadi dasar pembedaan antar genus *Padina* (Kerans, 2010). *Padina australis* merupakan rumput laut yang berasal dari kelas phaeophyta (rumput laut coklat) dan tersebar melimpah selama bermusim-musim di sekitar genangan air di atas batu karang pantai pada daerah tropis. Terdapat 50 takson dari spesies *Padina* yang tersebar di dunia, namun pada umumnya sulit untuk dibedakan secara morfologi antara satu dengan lainnya (Geraldino *et al.*, 2005). Taksonomi *Padina* sp. menurut Sun *et al.* (2008) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Chromista

Sub-kingdom : Chromobiota

Filum : Heterokontophyta

Kelas : Phaeophyceae

Ordo : Dictyotales

Famili : Dictyotaceae

Genus : *Padina*

Spesies : *Padina australis*



Gambar 1. *Padina australis* (Algaebase, 2018).

Ciri – ciri umum marga ini adalah: Thallus berbentuk flabellate, dengan tinggi dapat mencapai 7 cm², warna coklat kekuningan ketika kering dan terbagi menjadi beberapa cuping berbentuk flabellate, tiap satu helai tebalnya dua sel dan permukaan atasnya selalu tertutup suatu bahan berwarna putih pucat, garis konsentris berkembang baik pada permukaan yang lebih rendah, tiap helai terbagi menjadi beberapa bagian hampir sama luas sekitar 1-9 – 2.6 mm. *Padina* sp. memiliki distribusi yang sangat luas, dapat ditemukan pada ratahan terumbu karang bagian dalam, tengah maupun pada bagian luar. Kandungan terbanyak pada *Padina* sp. adalah alginat (Zakaria, 2015).

2.5 Sistem Imun Organisme Perairan

Respon imunitas pada hewan merupakan upaya proteksi terhadap infeksi maupun preservasi fisiologik homeostasi. Respon imunitas hewan akuatik terdiri dari respon non spesifik dan spesifik baik pada ikan maupun pada udang. Oleh karena itu memori, spesifitas dan pengenalan zat asing merupakan dasar mekanisme respon imunitas baik pada ikan maupun udang. Untuk meningkatkan sistem imun perlu dilakukan dengan penambahan imunostimulan pada organisme. Imunostimulan merupakan senyawa kimia, obat atau bahan lainnya yang mampu meningkatkan mekanisme respon imunitas ikan, baik seluler maupun humoral. Imunostimulan yang sering dipakai

untuk imunostimulasi adalah dari beberapa vitamin seperti vitamin A, B dan vitamin C (Alifudin, 2002)

Peningkatan sistem imun ikan biasanya ditandai dengan semakin banyaknya jumlah produksi leukosit ketika ikan terkena penyakit. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Arindita *et al.* (2014), ekstrak lidah buaya yang diberikan kepada ikan mas yang terinfeksi *Aeromonas hydrophila* terbukti dapat meningkatkan sistem imun bagi ikan tersebut. Hal ini disebabkan suatu bahan yang memiliki kandungan senyawa aktif alkaloid, saponin, quinon, fenolik, steroid dan flavonoid dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan tidak menimbulkan residu pada ikan. Senyawa alkaloid memiliki kemampuan untuk meningkatkan daya tahan tubuh dan mengaktifkan sel-sel dalam tubuh dan memperbaiki struktur sel. Sedangkan senyawa flavonoid yang terkandung dalam serbuk lidah buaya mampu mengaktifkan sel imun pada ikan. Saponin juga berfungsi sebagai antiseptik selain itu senyawa quinon dapat digunakan sebagai antibakteri. Meningkatkannya total leukosit ini dikarenakan adanya serbuk lidah buaya yang dicampurkan kedalam pakan, berfungsi sebagai imunostimulan bagi tubuh ikan.

2.6 Ekstraksi Senyawa Aktif

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair (Yulianti *et al.*, 2015). Menurut Maulida dan Zulkarnaen (2010), ekstraksi adalah suatu metode operasi yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah massa bahan (solven) sebagai tenaga pemisah. Apabila komponen yang akan dipisahkan (solute) berada dalam fase padat, maka proses tersebut dinamakan pelindihan atau leaching. Proses pemisahan dengan cara ekstraksi terdiri dari tiga langkah dasar yaitu pertama proses pencampuran sejumlah massa

bahan ke dalam larutan yang akan dipisahkan komponen – komponennya. Kedua proses pembentukan fase seimbang (tercampurnya solven dan solute). Ketiga proses pemisahan kedua fase seimbang.

Ekstraksi merupakan langkah awal dalam memisahkan komponen bioaktif. Ekstraksi dengan pelarut sering digunakan untuk mengekstraksi senyawa bioaktif tanaman. Ekstraksi antioksidan tanaman tergantung pada kelarutan komponen antioksidan dari tanaman dalam pelarut. Penambahan pelarut pada suatu bahan didasarkan pada sifat melarutkan dari pelarut yang digunakan dan sifat komponen yang dilarutkan. Senyawa yang bersifat polar, cenderung larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat non-polar cenderung larut pada pelarut non-polar (Taroreh *et al.*, 2015). Ekstraksi merupakan proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan dengan menggunakan penyaring yang sesuai (Febriani *et al.*, 2015). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi karena maserasi merupakan cara ekstraksi paling sederhana yang dilakukan dengan merendam serbuk kasar simplisia dengan cairan pengekstrak selama 24 jam, selain itu metode ini juga dapat digunakan untuk senyawa-senyawa yang tidak tahan panas atau senyawa yang mudah terhidrolisis (Putri dan Hidajati 2015).

2.7 Maserasi

Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang mudah dilakukan, alat yang digunakan sederhana, dan dapat menghindari kerusakan senyawa aktif yang termolabil terhadap pemanasan (Amora dan Sukesu, 2013). Maserasi yaitu metode ekstraksi dengan cara merendam sampel dengan larutan penyari dengan atau tanpa pengadukan. Maserasi dibedakan menjadi tiga jenis yaitu maserasi sederhana, kinetika maserasi, dan maserasi dengan penggunaan tekanan. Maserasi sederhana didefinisikan sebagai metode ekstraksi dimana

sampel direndam menggunakan pelarut dalam kurun waktu tertentu dengan atau tanpa pengadukan pada suhu ruang. Kinetika maserasi dan maserasi dengan tekanan tidak jauh berbeda dengan maserasi sederhana. Titik perbedaan kinetika maserasi terletak pada dilakukannya pengadukan berkecepatan konstan, sedangkan perbedaan pada maserasi dengan tekanan terletak pada kondisi tekanan yang digunakan dalam ekstraksi (bukan tekanan ruang), sehingga proses tersebut lebih efektif (Fauzana, 2010). Sedangkan menurut Putra (2014), Maserasi adalah proses perendaman sampel untuk menarik komponen yang diinginkan dengan kondisi dingin diskontinyu. Keuntungannya yakni lebih praktis, pelarut yang digunakan lebih sedikit, dan tidak memerlukan pemanasan, tetapi waktu yang dibutuhkan relatif lama. Refluks dikerjakan pada kondisi panas diskontinyu, sedangkan sokletasi dikerjakan pada kondisi panas kontinyu. Keuntungan refluks dibandingkan sokletasi yakni pelarut yang digunakan lebih sedikit dan bila dibandingkan dengan maserasi dibutuhkan waktu ekstraksi yang lebih singkat.

Maserasi adalah teknik yang digunakan untuk menarik atau mengambil senyawa yang diinginkan dari suatu larutan atau padatan dengan teknik perendaman terhadap bahan yang akan diekstraksi. Sampel yang telah dihaluskan direndam dalam suatu pelarut organik selama beberapa waktu. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan

sel akan larut sesuai dengan kelarutannya. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut (Yulianingtyas dan Bambang, 2016).

2.8 Pelarut Etanol

Etanol adalah produk fermentasi yang didapat dari substrat yang mengandung karbohidrat seperti pati, glukosa maupun selulosa. Etanol merupakan cairan tak berwarna dengan bau yang khas. Berat spesifik etanol pada suhu 150°C sebesar 0,7937 gr/ml. Etanol mulai mendidih pada suhu 78,320°C (76 mm air raksa). Bahan ini mudah larut dalam air dan eter. Kandungan kalorinya (*gross value*) sebesar 7.100 kal/gram, dengan panas pembakaran sebesar 328 kkal (cair). Etanol dapat digunakan sebagai bahan minuman, kosmetik, obat obatan, pelarut, antiseptik dan bahan bakar (Rohmatningsih, 2014).

Etanol atau etil alkohol adalah bahan kimia yang terdapat didalam minuman beralkohol atau arak , bahan ini banyak digunakan sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman. Etanol tidak berwarna dan tidak berasa ,namun memiliki bau yang khas dan mudah terbakar. Selain digunakan dalam makanan dan minuman, etanol juga dapat digunakan sebagai bahan bakar kendaraan bermotor, pengganti minyak bumi (biopremium) (Utami, 2009).

2.9 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) adalah metode yang mengkombinasikan kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analisis sampel. GC-MS terdiri dari dua blok bangunan utama : kromatografi gas dan spektromater massa.

Proses GC-MS dilakukan dengan isolat warna orange dan isolat yang warna kuning kehijauan, *dengan* menggunakan alat GC-MS tipe Shimadzu QP2010S. Fungsi dari kromatografi gas adalah untuk melakukan pemisahan dinamis dan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dan juga untuk melakukan analisis kualitatif senyawa dalam suatu campuran (Khotimah *et al.*, 2013).

Kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa, baik satu komponen maupun campuran. Spektrometri massa dapat menentukan fragmentasi dan molekul-molekul serta dapat mengidentifikasi komponen-komponen yang terdapat dalam jumlah kecil. Kromatografi gas memiliki kemampuan yang sangat baik dalam hal pemisahan dan analisis kuantitatif komponen sedangkan spektrometri massa memiliki kemampuan yang tinggi dalam hal identifikasi atau analisis kualitatif. Sistem kerja GC-MS yaitu berdasarkan perbedaan kepolaran dan massa molekul sampel yang dapat diuapkan. Sampel yang berupa cairan atau gas dapat langsung diinjeksikan ke dalam injektor, jika sampel dalam bentuk padatan maka harus dilarutkan pada pelarut yang dapat diuapkan (Hastutik dan Sunarso, 2014).

2.10 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun (Tristantini *et al.*, 2016). Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm. Metode uji DPPH biasanya digunakan untuk menguji aktivitas senyawa antioksidan pada sampel uji.

Semakin tinggi konsentrasi pada ekstrak suatu sampel uji menunjukkan nilai inhibisi nya yang semakin tinggi pula (Ulfa, 2014).

Parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas senyawa antioksidan adalah IC_{50} . IC_{50} adalah konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50% aktifitas DPPH (Purwaningsih, 2012). Menurut Tristantini *et al.* (2016), Nilai konsentrasi efektif merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (mikrogram/mililiter) yang mampu menghambat 50% oksidasi. Larutan DPPH yang awalnya berwarna ungu setelah bereaksi dengan antioksidan alami akan membentuk warna kuning. Semakin tinggi kandungan antioksidan maka warna ungu pada larutan DPPH akan semakin berkurang dan membentuk warna kuning (Purwaningsih, 2012). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100-150), dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan (Tristantini *et al.*, 2016).

2.11 Vitamin C

Vitamin C (L-asam askorbat) merupakan antioksidan non enzimatis yang larut dalam air. Senyawa ini merupakan bagian dari sistem pertahanan tubuh terhadap senyawa oksigen reaktif dalam plasma dan sel yang pertama kali diisolasi oleh Szent-Györgyi pada tahun 1928.5 Asam askorbat berperan sebagai reduktor untuk berbagai radikal bebas. Selain itu juga meminimalkan terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif.6,7 Tiga fungsi utama vitamin C pada kulit yaitu sebagai antioksidan kuat yang melindungi kulit terhadap pengaruh negatif faktor luar (Kembuan *et al.*, 2012). Vitamin C berperan sebagai kofaktor reaksi hidrosilase asam-asam amino, sehingga dengan adanya vitamin C pada pakan, ikan mampu memanfaatkan protein lebih efisien untuk pertumbuhan. Keterkaitan vitamin C dalam efisiensi transpor asam lemak untuk

dioksidasi menjadi energi akan turut mendukung pertumbuhan. Selain itu vitamin C juga berperan sebagai antioksidan dalam mengurangi peroksidasi dari lemak. Peran vitamin C dalam meningkatkan daya tahan tubuh pada benih ikan terhadap stres akan dapat meningkatkan kelulushidupan. Kekurangan vitamin C pada pakan dapat menyebabkan perubahan bentuk dan deformasi rangka, yang ditunjukkan dengan nafsu makan hilang, pertumbuhan menurun dan terjadi kematian (Gunawan *et al.*, 2014).

Vitamin C merupakan antioksidan yang tangguh. Vitamin C membantu menjaga kesehatan sel, meningkatkan penyerapan asupan zat besi, dan memperbaiki sistem kekebalan tubuh. Vitamin C sudah mengalami perkembangan, sampai sekarang ada 3 generasi vitamin C. Generasi vitamin C pertama adalah asam ascorbat, generasi kedua adalah vitamin C penyangga atau buffer, dan generasi ketiga adalah Ester -C (Kumalaningsih, 2006). Bentuk aktif vitamin C adalah asam askorbat itu sendiri dimana fungsinya sebagai donor ekuivalen pereduksi dalam sejumlah reaksi penting tertentu. Asam askorbat dioksidasi menjadi asam dehidroaskorbat, yang dengan sendirinya dapat bertindak sebagai sumber vitamin tersebut. Asam askorbat merupakan zat pereduksi dengan potensial hydrogen sebesar +0,008 V, sehingga membuatnya mampu untuk mereduksi senyawa-senyawa seperti oksigen molekuler, nitrat, dan sitokrom a serta c (Triana, 2006).

2.12 Inhibition Concentration 50 (IC₅₀)

IC₅₀ adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/mL}$) atau ppm yang mampu menghambat 50% oksidasi. Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin tinggi aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat (50 ppm-100

ppm), sedang (100 ppm-150 ppm), dan lemah (151 ppm- 200 ppm) (Izzati *et al.*, 2012).

IC50 adalah konsentrasi yang mampu menghambat 50% DPPH (Wahdaningsih *et al.*, 2011). Nilai IC50 yang merupakan konsentrasi antioksidan yang menghambat 50% reaksi DPPH melalui plotting persen penghambatan terhadap beberapa konsentrasi ekstrak. Nilai yang rendah menandakan aktivitas penangkapan radikal yang tinggi (Lukmandaru *et al.*, 2011).