

#### 4. PEMBAHASAN

##### 4.1. Hasil Penelitian Pendahuluan

Dari hasil penelitian pendahulu dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1. Hasil Uji Bilangan Iod pada Penelitian Pendahuluan**

Sampel	Iod (g/100g)	Peroksidan (mg/kg)
Minyak murni Ikan lemuru	10,07±0,085	3,2±0,028
Hijau Muda	9.126±0,093 (tb 22)	7.245±0.072 (tb 22)
Orange	9.631±0,090 (tb 31)	4.746±0,074 (tb 31)
Hijau Tua	10.200±0,002(tb11)	3.548±0,071 (tb 11)



**Gambar 6. Grafik Hasil Penelitian Pendahuluan Bilangan Peroksida**

Dari hasil penelitian pendahulu di dapatkan hasil dan grafik bilangan peroksida, dimana fraksi hijau tua memiliki nilai yang bagus, dikarenakan semakin rendah nilai peroksida semakin baik kualitas fraksi tersebut untuk menghambat terjadinya oksidasi pada minyak ikan lemuru. Apabila nilai bilangan angka peroksida meningkat, maka kualitas fraksi tersebut jelek.



**Gambar 7. Grafik Hasil Penelitian Pendahuluan Bilangan Iod**

Dari hasil penelitian pendahulu di dapatkan hasil dan grafik bilangan iod, dimana fraksi hijau tua memiliki nilai yang bagus, dikarenakan semakin tinggi

nilai iod semakin tinggi derajat ketidakuatan minyak ikan lemuru. Apabila nilai bilangan angka peroksida meningkat, maka kualitas fraksi tersebut jelek.

Dari hasil penelitian pendahuluan didapatkan nilai terbaik yaitu pada fraksi warna hijau tua. Dari hasil penelitian pendahuluan dilanjutkan pada penelitian utama.

#### 4.2 Hasil Penelitian Utama

Hasil uji IC50, bilangan peroksida, bilangan iod, UV Vis, dan hasil LCMS senyawa hijau tua terlihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2. Hasil Uji Penelitian Utama**

IC50 (ppm)	Perlakuan		Peroksida mg/kg	Iod g/100g	UV-Vis	LCMS						
	Konsentrasi (ppm)	Masa simpan (hari)										
107,593±0,965	0	H1	3,20±0,02	10,06±0,06	666 nm 610 nm 560 nm 533 nm 504 nm 468 nm 409 nm 269 nm 234 nm	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub>  C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>  C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O						
		H5	4,22±0,06	9,93±0,10								
		H10	4,75±0,10	9,48±0,05								
	100	H1	3,78±0,88	11,14±0,01			666 nm 610 nm 560 nm 533 nm 504 nm 468 nm 409 nm 269 nm 234 nm	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub>  C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>  C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O				
		H5	3,01±0,01	11,02±0,06								
		H10	3,22±0,02	10,74±0,03								
	200	H1	2,8±0,02	11,38±0,02					666 nm 610 nm 560 nm 533 nm 504 nm 468 nm 409 nm 269 nm 234 nm	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub>  C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>  C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O		
		H5	2,87±0,09	11,25±0,06								
		H10	2,67±0,56	10,56±0,49								
	300	H1	2,59±0,01	11,82±0							666 nm 610 nm 560 nm 533 nm 504 nm 468 nm 409 nm 269 nm 234 nm	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub>  C <sub>27</sub> H <sub>30</sub> O <sub>16</sub>  C <sub>19</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O
		H5	2,47±0,44	11,38±0,06								
		H10	2,87±0,09	9,07±0,09								
Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan <b>kuat</b> (IC50 <50 ppm), <b>aktif</b> (IC50 50-100 ppm), <b>sedang</b> (IC50 101-250 ppm), <b>lemah</b> (IC50 250-500 ppm), dan <b>tidak aktif</b> (IC50 >500 ppm)*	Bilangan peroksida 5 meg/kg** < 3,75		Bilangan iod harus mempunyai nilai yang < 140 g/100g***	Pycocyanins, klorofil b, karotenoid, flavonoid****								

- Ket:** \* Jun, 2013  
\*\* BPOM – RI, 2013  
\*\*\* SNI, 2013  
\*\*\*\*Sunarto, 2008

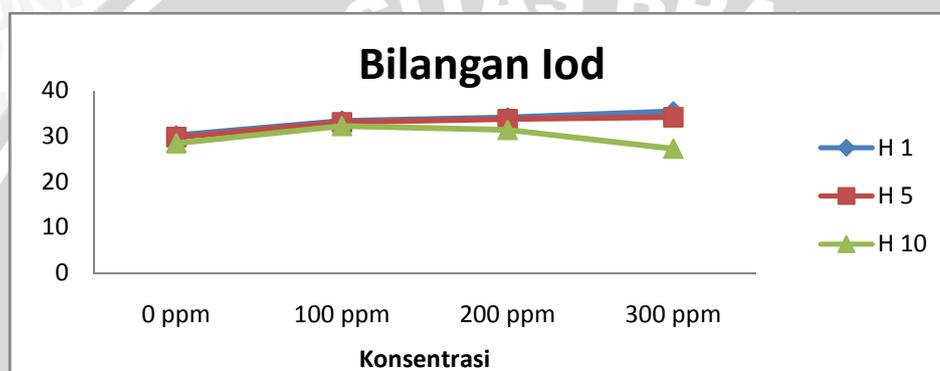
Dari **Tabel 2.** terlihat nilai IC50 ekstrak hijau tua *Sargassum duplicatum* sebesar 107,593 ppm. Nilai ini menurut Jun *et al.*, (2003), memiliki tingkat kekuatan antioksidan tergolong sedang (IC50 101 - 250 ppm). Nilai tersebut sangat jauh lebih besar dibandingkan hasil penelitian Putranti (2014), yang memiliki nilai IC50 sebesar 45,4 ppm. Perbedaan nilai IC50 yang diperoleh dimungkinkan karena perbedaan metode ekstraksi, jenis pelarut, musim, dan lokasi pengambilan. Menurut Budhiyanti *et al.*, (2012), metode ekstraksi, musim, lokasi dan spesies yang digunakan dalam penelitian akan mempengaruhi kandungan fenol dan aktivitas antioksidan dari suatu sampel. Maka dari itu kisaran IC50 untuk jenis rumput laut coklat *S. duplicatum* sekitar 45,4 – 107, 59 ppm.

Hasil uji statistik nilai bilangan iod ekstrak hijau tua *S. duplicatum* bisa dilihat pada **Tabel 3.** Hal selengkapnya bisa dilihat pada **Lampiran 2.** Interaksi yang terbaik adalah perlakuan C2 (konsentrasi 100 ppm, masa simpan 10 hari). Menurut Abdillah (2008), terjadinya peningkatan bilangan iod ini dikarenakan hidrogen perioksida yang terbentuk pada tahap propagansi tidak dapat bereaksi dengan ikatan rangkap asam lemak tak jenuh, karena senyawa aktif pada *Sargassum duplicatum* berperan sebagai antioksidan yang dapat memecah rantai oksidatif dengan cara bereaksi dengan radikal bebas. Hasil yang berbeda dengan penelitian Khotimah (2013), dengan parameter uji yang sama yaitu minyak ikan lemuru, namun menggunakan jenis alga coklat berupa *Sargassum fillipendula*, dimana interaksi terbaik adalah pada perlakuan konsentrasi 0,1 % dengan masa simpan selama 1 hari. Perbedaan nilai bilangan iod yang diperoleh dimungkinkan karena perbedaan jenis spesies alga coklat, metode ekstraksi dan kondisi sampel uji yang berbeda. **Lampiran 3** memperlihatkan hubungan positif

dengan  $r^2$  91,8 dengan persamaan  $Y = 7,663 + 0,000218x$ . Setiap penambahan konsentrasi satu % akan menambah kan bilangan iod 0,0002 kali

**Tabel 3. Hasil Sidik Ragam Penelitian Bilangan Iod**

SK	db	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	11	23.64	2.14	188.88	2,22
M.simpan	2	8.78	4.39	243.8*	3.40
Konsentrasi	3	8.63	2.87	159.4*	3.01
Interaksi	6	6.23	1.03	57.2*	2.51
Galat	24	0.44	0.018		
Total	35	24.08			



**Gambar 8. Grafik Masa Simpan Bilangan Iod**

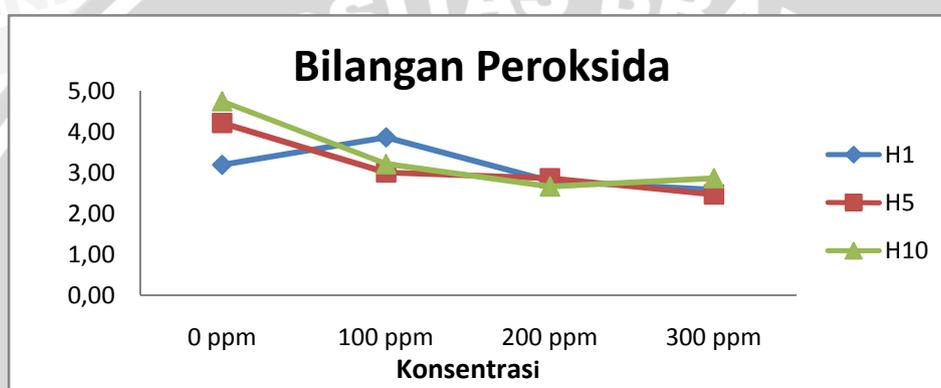
Dilihat dari masa simpan semakin lama masa penyimpanan, akan semakin menurunkan nilai iodin (**Gambar 8**). Lama penyimpanan menyebabkan asam lemak tidak jenuh dapat mengalami reaksi adisi dengan halogen pada ikatan rangkapnya. Gliserida dengan tingkat ketidak jenuhan tinggi akan mengikat iod dalam jumlah yang besar. Makin tinggi angka iod, maka makin tinggi derajat ketidak jenuhan minyak tersebut (Fauziah, 2013).

Nilai bilangan peroksida (**Lampiran 4**) memperlihatkan interaksi konsentrasi dan masa simpan (**Tabel 4**). Hasil analisa lebih lanjut (**Lampiran 5**) memperlihatkan perlakuan A2 (konsentrasi 100 ppm, masa simpan 1 hari) merupakan perlakuan terbaik. Dikatakan oleh Aidos *et al.*, (2001) dan Skara *et al.*, (2004), peningkatan bilangan peroksida signifikan dengan peningkatan suhu penyimpanan. Semakin tinggi suhu menyebabkan terjadinya oksidasi pada

minyak yang dimulai dengan terpisahnya atom hydrogen, kemudian radikal - radikal karbon yang terbentuk bereaksi dengan oksigen membentuk peroksida.

**Tabel 4. Hasil Sidik Ragam Penelitian Bilangan Peroksida**

SK	db	JK	KT	Fhit	F 5%
Perlakuan	11	16.44	1.49	13.54	2.22
M.simpan	2	0.49	0.24	0.21	3.40
Konsentrasi	3	11.21	3.73	33.90*	3.01
Interaksi	6	4.74	0.79	7.18*	2.51
Galat	24	2.65	0.11		
Total	35	35.53			

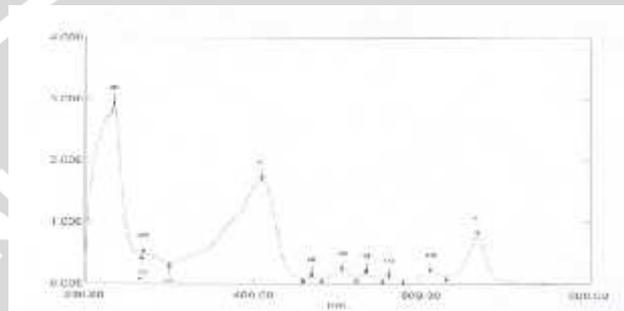


**Gambar 9. Grafik Masa Simpan Bilangan Peroksida**

Dilihat dari masa simpan semakin lama masa penyimpanan akan semakin naik (**Gambar 9**). Lama penyimpanan menyebabkan semakin besar kandungan hidroperoksida pada minyak maka menunjukkan semakin banyak kerusakan yang terjadi pada minyak tersebut dan kecenderungan untuk minyak menjadi tengik. Hidroperoksida adalah produk dari oksidasi pada minyak ikan yang terjadi ketika reaksi ootoksidasi terminasi (Aidos *et al.*, 2001). Menurut Aidos *et al.*, (2002), menyatakan nilai peroksida sangat tergantung pada suhu saat ekstraksi. Hasil regresi **Lampiran 6** memperlihatkan hubungan negatif dengan  $r^2 = 67$  dan persamaan regresi  $Y = 2,953 - 0,0036x$ . Setiap penambahan konsentrasi satu % akan menurunkan bilangan peroksida 0,0036 kali.

Hasil Spektrum UV Vis (**Gambar 10**) memperlihatkan ekstrak *S. duplicatum* hijau tua mengabsorpsi panjang gelombang 666 nm, 610 nm, 560 nm,

533 nm, 504 nm, 468 nm, 409 nm, 269 nm, dan 234 nm, diduga senyawa tersebut teridentifikasi *pycocyansins*, klorofil b, karotenoid, flavonoid. Menurut Sunarto (2008), menyatakan bahwa memiliki absorpsi maksimal pada panjang gelombang klorofil b, yang terjadi pada *Chlorophyta*, puncaknya pada sekitar 450 dan 645 nm untuk karotenoid memuncak pada kisaran 450-400 nm, dan *phycocyansins*, 610 – 630 nm (terdapat pada *Rhodophyta*, *Crytonads* dan *Cyanobacteria*).

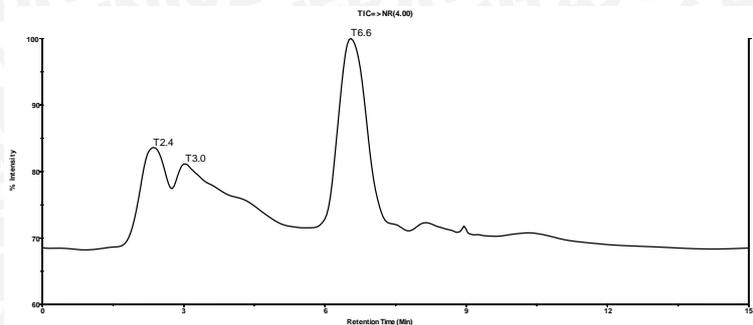


**Gambar 10. Spektrum UV Vis**

Hasil identifikasi ekstrak hijau tua *S. duplicatum* dengan LC MS memperlihatkan 3 puncak serapan (**Gambar 11**) dan spektrum puncak 1,2,3 terlihat pada **Gambar 10, 11, 12**. Berdasarkan waktu retensi intensitas 3 puncak tersebut diduga senyawa  $C_{30}H_{46}O_4$ ,  $C_{20}H_{19}NO_5$ ,  $C_{27}H_{30}O_{16}$ ,  $C_{19}H_{22}N_2O$  dapat dilihat pada **Tabel 5**.

**Tabel 5. Senyawa Dugaan Analisa LCMS Isolat Hijau dari *Sargassum duplicatum***

Retention	Berat Molekul	Rumus Molekul
2.3	353.12632	$C_{20}H_{19}NO_5$
3.0	610.15339	$C_{27}H_{30}O_{16}$
	294.17321	$C_{19}H_{22}N_2O$
6.6	Plastisizer	Plastisizer



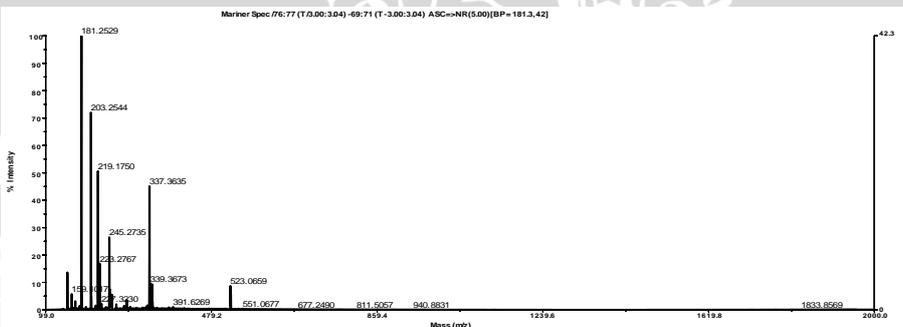
Gambar 11. Spektrum LCMS

Rt 2.35



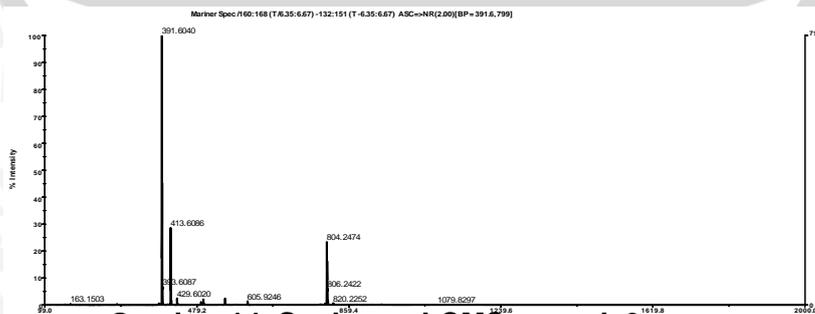
Gambar 12. Spektrum LCMS puncak 1

Rt 3.03



Gambar 13. Spektrum LCMS puncak 2

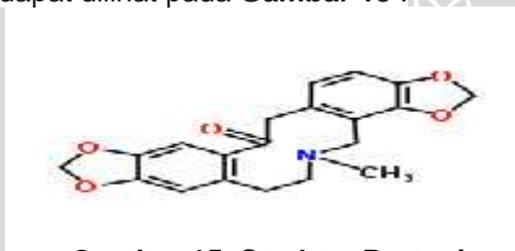
Rt 6.55 (Plastisizer ?)



Gambar 14. Spektrum LCMS puncak 3

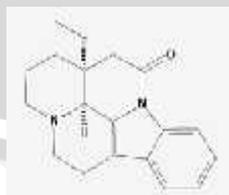


Dari hasil LCMS isolat hijau tua didapatkan 3 *peak* (**Gambar 11**). Pada *peak* pertama terlihat pada **Gambar 12** diduga terdapat senyawa yang termasuk golongan **alkaloid**. Pada **Tabel 5** memperlihatkan hasil *peak* pertama yaitu merupakan senyawa golongan alkaloid jenis *protopine* dengan berat molekul 353.12632 dan rumus molekul  $C_{20}H_{19}NO_5$  yang didapatkan dari *massbank.co.uk*. *Protopine* merupakan benzyloisoquinoline alkaloid yang terdapat di *Opium poppy* yang mengandung gugus O-H, N-H, C-N, C=C, C-O alkohol, C=O karboksilat dan  $CH_2$  (Harborne, 1987), dan umumnya hanya larut dalam pelarut organik, beberapa pseudoalkaloida dan protoalkaloida yang larut dalam air. Garam alkaloida kuarterner sangat larut dalam air (Sastrohamidjojo, 1996). Struktur molekul *protopine* dapat dilihat pada **Gambar 15**.



**Gambar 15. Struktur Protopine.**

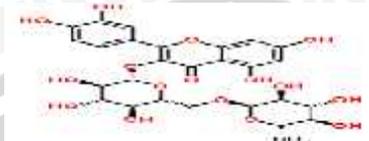
Pada *peak* kedua terdapat senyawa golongan **flavonoid** dan **alkaloid** yang dapat dilihat pada **Gambar 13**. Pada **Tabel 5** memperlihatkan hasil *peak* kedua yaitu merupakan senyawa golongan alkaloid jenis *vincamone* dengan berat molekul 294.17321 dan rumus molekul  $C_{19}H_{22}N_2O$ , yang didapatkan dari *massbank.co.uk*.



**Gambar 17. Struktur Vincamone**

Untuk golongan senyawa flavonoid diduga merupakan rutin dengan jumlah massa 610.15339 dan rumus molekul  $C_{27}H_{30}O_{16}$ , yang didapatkan dari

massbank.co.uk. Menurut Gusrav (2007), Senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang dapat melepaskan proton dalam bentuk ion 42 ydrogen. Ion 42 ydrogen hanya memiliki satu buah proton dan tidak memiliki electron.



**Gambar 18. Struktur Rutin**

Pada *peak* ketiga terlihat pada **Gambar 14** diduga terdapat senyawa yang termasuk golongan Plastisizer. Pada **Gambar 11** memperlihatkan hasil *peak* ketiga tidak terdapat senyawa. Pada *peak* ketiga hanya ada Plastisizer. Plasticizer adalah material yang ditambahkan untuk meningkatkan beberapa sifat / properties dari *polymer*, misalnya kemampuan kerja (*workability*), ketahanan terhadap panas (*heat resistance*), ketahanan terhadap temperature rendah (*low-temperature resistance*), ketahanan terhadap cuaca (*weathering resistance*), sifat insulasi (*insulation properties*), ketahanan terhadap minyak (*oil resistance*).

## 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai ekstrak senyawa aktif *Sargassum duplicatum* sebagai antioksidan dan pada minyak ikan lemuru *Sardinella longiceps* didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

- Ekstrak senyawa aktif *Sargassum duplicatum* diperoleh rata-rata aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH sebesar 107.59 µg/mL.
- Penambahan senyawa aktif dari *Sargassum duplicatum* dapat mencegah terjadinya kerusakan pada proses netralisasi minyak ikan lemuru dengan perlakuan terbaik atau konsentrasi optimum, yaitu pada penambahan konsentrasi ekstrak *Sargassum duplicatum* pada uji bilangan peroksida konsentrasi 100 ppm H1 sebesar 3.78 mg/kg, sedangkan pada uji bilangan iod terbaik pada konsentrasi 100 ppm H10 sebesar 10,74 g/100g.

### 5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang terkandung pada *Sargassum duplicatum* dengan mengaplikasikan yang berbeda namun isolasi dari *Sargassum duplicatum* tersebut.