

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pencemaran Perairan

Menurut UU. 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. Pencemaran air diakibatkan oleh masuknya bahan pencemar (polutan) yang dapat berupa gas, bahan-bahan terlarut dan partikulat (Effendi, 2003).

Proses pencemaran perairan pada umumnya disebabkan oleh berbagai kegiatan yang dapat menjadi sumber bahan pencemar antara lain pemukiman, industri, transportasi dan pertanian serta perikanan. Kegiatan-kegiatan tersebut berpotensi menghasilkan bahan pencemar yang merusak sistem kehidupan di dalam ekosistem (Suryanto, 2011). Semakin tinggi beban pencemar yang masuk ke perairan akan menurunkan kualitas perairan (Fisesa *et al.*, 2014). Banyaknya sumber bahan pencemar di lingkungan inilah yang menyebabkan timbulnya radikal bebas yang memicu timbulnya berbagai penyakit bagi organisme perairan. Bila kondisi air tidak memenuhi syarat, maka disitulah merupakan sumber penyakit bagi organisme perairan (Ghufron dan Kordi, 2004).

2.2 Radikal bebas

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri (Pratama *et al.*, 2015; Sari *et al.*, 2013). Radikal bebas adalah senyawa aktif yang memiliki ion terluar tidak berpasangan. Senyawa ini diketahui sebagai penyebab kerusakan biomolekul dan penyebab penyakit degeneratif (Arouma, 1998 *dalam* Firdaus, 2013). Radikal bebas dapat terbentuk melalui dua cara, yaitu secara endogen

(sebagai respon normal proses biokimia internal maupun eksternal) dan secara eksogen (berasal dari polusi, makanan, serta injeksi ataupun absorpsi melalui injeksi) (Winarsi, 2007 *dalam* Andriyanti, 2009 dan Rohmatusholihat, 2009). 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	
Iskemi/reperfusi	

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

Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Hal ini ditunjukkan oleh sifatnya yang segera menarik atau mengambil elektron di sekelilingnya. Reaktivitas radikal bebas merupakan upaya untuk mencari pasangan elektron. Sebagai dampak dari kerja radikal bebas tersebut, akan terbentuk radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil untuk berpasangan dengan radikal sebelumnya. Namun, bila dua senyawa radikal bertemu, elektron-elektron yang tidak berpasangan dari kedua senyawa tersebut

akan bergabung dan membentuk ikatan kovalen yang stabil. Sebaliknya, bila senyawa radikal bebas bertemu dengan senyawa yang bukan radikal bebas akan terjadi tiga kemungkinan, yaitu (1) radikal bebas akan memberikan elektron yang tidak berpasangan (reduktor) kepada senyawa bukan radikal bebas, (2) radikal bebas menerima elektron (oksidator) dari senyawa bukan radikal bebas, (3) radikal bebas bergabung dengan senyawa bukan radikal bebas (Winarsih, 2007 *dalam* Andriyanti, 2009).

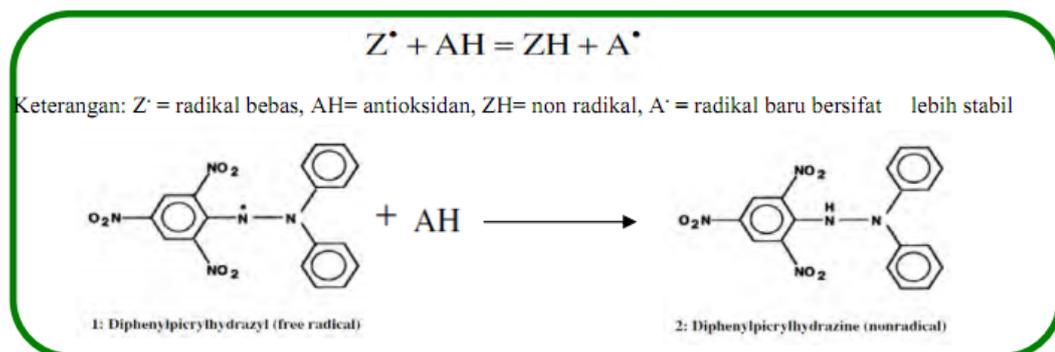
2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan merupakan suatu inhibitor dari proses oksidasi bahkan pada konsentrasi yang relatif kecil, dan memiliki peran fisiologis yang beragam dalam tubuh (Kumar, 2011). Antioksidan berfungsi mencegah kerusakan sel dan jaringan tubuh karena dalam hal ini antioksidan bertindak sebagai pemulung/scavenger (Sen *et al.*, 2010). Menurut Amin (2015), Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang banyak terbentuk dalam tubuh. Keseimbangan oksidan dan antioksidan sangat penting karena berkaitan dengan berfungsinya sistem imunitas tubuh. Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*).

Antioksidan pada dasarnya dibedakan menjadi dua kategori dasar yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik yang umum digunakan seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA), *propylgallate* (PG) dan *Ter-Butylhydroquinone* yang dikonsumsi manusia karena berbahaya untuk kesehatan karena menimbulkan efek karsinogenik (Sherwin, 1990 *dalam* Bariyyah *et al.* 2013). Oleh karena itu penggunaan antioksidan sintesis cenderung ditinggalkan dan beralih pada penggunaan

antioksidan alami Senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan alami banyak ditemukan pada tumbuhan. Berbagai golongan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang dikenal sebagai sumber radikal *scavenger* adalah golongan senyawa fenol, seperti flavonol, flafonon, flavon, fenil propanoid, antrakuinon, ataupun lignan; senyawa-senyawa alkaloid, saponin, fenol, flavonoid, dan antra kuinon (Lisdawati dan Kardono, 2006). Tamat *et al.* (2007), menjelaskan bahwa antioksidan dapat berbentuk gizi seperti vitamin E dan C, non-gizi (pigmen karoten, likopen, flavonoid, dan klorofil), dan enzim (glutation peroksidase, koenzim Q10 atau ubiquinon). Antioksidan dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu antioksidan preventif (enzim superoksidadismutase, katalase, dan glutation peroksidase), antioksidan primer (vitamin A, fenolat, flavonoid, katekin, kuersetin), dan antioksidan komplementer (vitamin C, β -karoten, retinoid).

Antioksidan berperan dalam menetralkan radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas, sehingga menjadi non radikal. Mekanisme pemberian satu elektron oleh antioksidan ini dapat berlangsung sebagai berikut:



Gambar 2 . Mekanisme kerja antioksidan (Rohmatusholihat, 2009)

Salah satu contoh reaksi penetralan radikal bebas dengan antioksidan yaitu senyawa *Diphenylpicrylhydrazyl* (bersifat radikal bebas) bereaksi dengan antioksidan yang menyumbangkan satu elektronnya sehingga membentuk

senyawa *Diphenylpicrylhydrazine* (non radical) yang lebih stabil (Rohmatusholihat, 2009).

2.4 Deskripsi dan Klasifikasi *Kappaphycus alvarezii*

Klasifikasi *Kappaphycus alvarezii* atau *Eucheuma cottonii* menurut Anggadiredja *et al.* (2010) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisio : Rhodophyta
Clasis : Rhodophyceae
Ordo : Gigartinales
Familia : Solieracea
Genus : Kappaphycus
Species : *Kappaphycus alvarezii*



Gambar 3. Rumput laut *Kappaphycus alvarezii* (Abirami dan Kowsalya, 2011)

Menurut Wresdiati *et al.* (2011), rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* termasuk dalam alga merah yang banyak ditemukan di Indonesia. Komponen penting rumput laut adalah serat pangan yang tinggi. Telah dilaporkan rumput laut merah (*Callophylliss japonica*) juga mengandung antioksidan. *Eucheuma cottonii* merupakan salah satu jenis rumput laut merah (*Rhodophyceae*) dan berubah nama menjadi *Kappaphycus alvarezii* karena karaginan yang dihasilkan termasuk

fraksi kappa-karaginan. Maka jenis ini secara taksonomi disebut *Kappaphycus alvarezii*.

Rumput laut *Kappaphycus alvarezii* memiliki ciri-ciri fisik seperti thallus silindris, permukaan licin, *cartilagineus* (lunak seperti tulang rawan), warna hijau, hijau kuning, abu-abu dan merah. Penampakan thallus bervariasi mulai dari bentuk sederhana sampai kompleks. Duri-duri pada thallus runcing memanjang agak jarang-jarang dan tidak besusun melingkari thallus, permukaan licin, *cartilagineus*. Percabangan ke berbagai arah dengan batang-batang utama keluar saling berdekatan ke daerah asal atau pangkal (Gambar 3). Umumnya *Kappaphycus alvarezii* tumbuh dengan baik di daerah pantai terumbu (reff). Habitat khususnya adalah daerah yang memperoleh aliran air laut yang tepat, variasi suhu harian yang kecil dan substrat batu karang mati. *Kappaphycus alvarezii* tumbuh melekat ke substrat dengan alat perekat berupa cakram. Cabang-cabang pertama dan kedua tumbuh dengan membentuk rumput yang rimbun dengan ciri khusus mengarah ke arah datangnya sinar matahari (Doty, 2001 *dalam* Dewi, 2013).

2.5 Vitamin C

Menurut Elliot (1999), vitamin C merupakan vitamin alam yang mempunyai peranan penting dalam mencegah oksidasi akibat radikal bebas. Vitamin C merupakan antioksidan larut air dan menjadi bagian dari pertahanan tubuh pertama terhadap oksigen reaktif dalam plasma dan sel. Secara biokimia vitamin C adalah senyawa dengan rumus $C_6H_8O_6$ dengan struktur cincin lakton 6-karbon. Vitamin C dikenal memiliki sifat yang mudah larut dalam air dan mudah rusak dengan pemanasan yang terlalu lama. Vitamin C disebut juga sebagai elektron donor (pemberi elektron) sehingga termasuk dalam senyawa antioksidan (Febrianti *et al.*, 2015).

Vitamin C merupakan antioksidan yang dapat mencegah oksidasi, dan merupakan nutrisi serta vitamin yang larut dalam air dan penting untuk menjaga kesehatan. Vitamin C merupakan satu-satunya vitamin yang memiliki gugus enadiol dengan daya reduksi kuat dan juga memberi sifat asam (Rienoviar dan Nashrianto, 2010). Vitamin C bersifat hidrofilik dan berfungsi paling baik pada lingkungan air sehingga merupakan antioksidan utama dalam plasma terhadap serangan radikal bebas (ROS) dan berperan dalam sel (Frei *et al.*, 1990). Vitamin C juga berperan sebagai pemberi proteksi bagi bagian yang mengandung air dari sel jaringan ataupun organ, dan sebagai antioksidan untuk menangkap beberapa radikal bebas (Rienoviar dan Nashrianto, 2010).

2.6 Isolasi dan Identifikasi Bahan Aktif Rumput Laut

Isolasi senyawa aktif pada bahan alam dapat dilakukan dengan beberapa metode diantaranya ekstraksi dan kromatografi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan zat aktif yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil dari ekstraksi adalah ekstrak yang merupakan berwujud seperti pasta kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani setelah pelarutnya diuapkan (Miryanti *et al.*, 2011). Teknik ekstraksi senyawa organik bahan alam yang biasa digunakan antara lain maserasi, perkolasi, infudasi, dan sokhletasi. Sedangkan teknik kromatografi yang biasanya digunakan antara lain kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom vakum (KVC), kromatografi kolom gravitasi (KKG), dan kromatotron (*Centrifugal Chromatography*) (Atun, 2014). Identifikasi senyawa bahan aktif yang biasa digunakan antara lain fitokimia dan metode GC-MS. Fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif pada tanaman sedangkan GC-MS adalah suatu alat yang dipakai untuk mencari kandungan bahan aktif yang terdapat dari bahan yang akan diteliti.

Metode isolasi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi senyawa rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan teknik maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan kedalam pelarut (Damayanti dan Fitriana, 2012). Proses perendaman bertujuan untuk mengikat semua bahan aktif yang terkandung dalam bahan uji dalam hal ini rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Maserasi ini digunakan karena prosesnya mudah, sederhana, dan tidak menggunakan suhu tinggi yang dimungkinkan dapat merusak senyawa aktif (Bariyyah *et al.*, 2013). Metode ekstraksi maserasi menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman simplisia tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan berlangsung dengan sempurna karena waktu perendaman dapat diatur (Assagraf *et al.*, 2012).

2.7 Pelarut Etanol

Etanol disebut juga etil alkohol yang di pasaran lebih dikenal sebagai alkohol merupakan senyawa organik dengan rumus kimia C_2H_5OH . Dalam kondisi kamar, etanol berwujud cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna (Handayani, 2010; Wiratmaja *et al.*, 2011). Secara garis besar penggunaan etanol adalah sebagai pelarut untuk zat organik maupun anorganik, bahan dasar industri asam cuka, ester, spirtus, asetaldehid, antiseptik dan sebagai bahan baku pembuatan eter dan etil ester. Etanol juga untuk campuran minuman dan dapat digunakan sebagai bahan bakar (gasohol) (Wiratmaja *et al.*, 2011). Susanti *et al.* (2014) juga berpendapat bahwa, etanol merupakan salah satu pelarut yang umum dan banyak digunakan oleh industri, memiliki titik didih rendah dan cenderung aman digunakan. Etanol mempunyai titik didih $70^{\circ}C$ sehingga suhu ekstraksi yang digunakan dapat menarik seluruh komponen dalam bahan baku. Sifat fisika dan kimia dari pelarut etanol dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat fisika dan kimia etanol

Karakteristik	Syarat
Rumus Molekul	C ₂ H ₅ OH
Massa molekul relative	46,07 g/mol
Titik leleh	-114,3°C
Titik didih	78,32°C
Densitas pada 20°C	0,7893 g/cm ³
Kelarutan dalam air 20°C	Sangat larut
Viskositas pada 20°C	1,17 cP
Kalor spesifik pada 20°C	0,579 kal/g°C

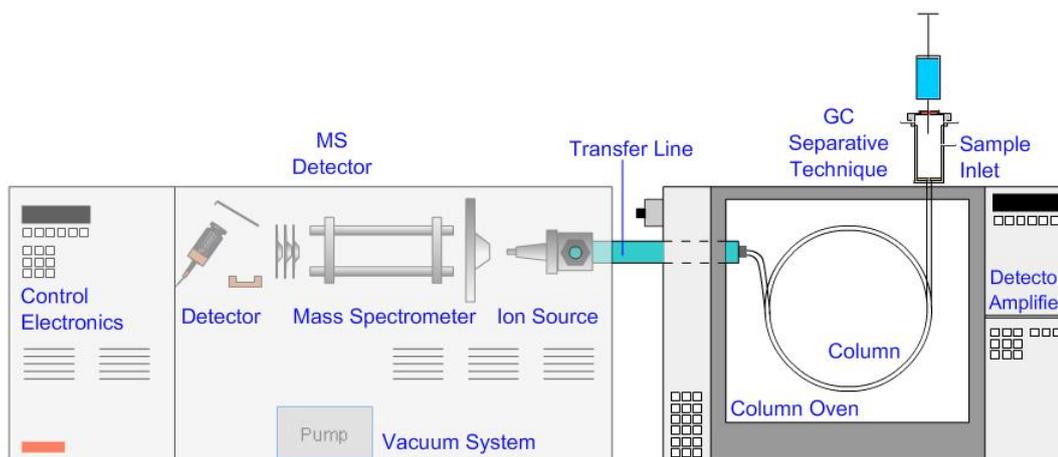
Sumber: Rizani, 2000 *dalam* Munawaroh dan Handayani, 2010

Dipilihnya etanol sebagai pelarut ekstraksi dikarenakan etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman. Etanol juga tidak beracun dan berbahaya, selain itu etanol juga mempunyai kepolaran tinggi sehingga mudah untuk melarutkan senyawa resin, lemak, minyak, asam lemak, karbohidrat, dan senyawa organik lainnya (Pratiwi *et al.*, 2016).

2.8 Gas Chromatografi-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. 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). Dalam metode GC-MS, spektrometri massa digabungkan dengan metode kromatografi

gas yang selanjutnya setiap komponen dianalisis menggunakan spektrometri massa. Kromatografi dari *Gas Chromatography* (GC) dari senyawa hasil isolasi akan ditunjukkan oleh gambar yang terdiri dari beberapa puncak. Tiap puncak hasil GC, dianalisis dengan *Mass Spectrometry* (MS) yang selanjutnya dibandingkan dengan data base atau pustaka yang ada (Lailatul *et al.*, 2010).



Gambar 4. Diagram GC-MS

Menurut Fitriana (2014), *Gas Chromatography* (GC) merupakan jenis kromatografi yang digunakan dalam kimia organik untuk memisahkan dan menganalisis. GC dapat digunakan untuk menguji kemurnian dari bahan tertentu atau memisahkan berbagai komponen dari campuran. Dalam beberapa situasi, GC dapat membantu dalam mengidentifikasi sebuah senyawa yang kompleks. Dalam kromatografi gas, fase yang bergerak (*mobile phase*) adalah sebuah operator gas yang biasanya gas murni seperti helium. Fasa diam (*stationary*) merupakan tahap mikroskopis lapisan cair atau polimer yang mendukung gas murni di dalam bagian dari sistem pipa-pipa kaca atau logam yang disebut kolom. Berikut adalah bagian bagian dari *Gas Chromatography* beserta penjelasan:

1. *Carrier Gas Supplay*

Gas pembawa (*carrier gas*) pada kromatografi gas sangatlah penting. Gas yang dapat digunakan pada dasarnya haruslah inert, kering dan bebas

oksigen. Kondisi seperti ini dibutuhkan karena gas pembawa ini dapat saja bereaksi dan dapat mempengaruhi gas yang dipelajari atau diidentifikasi.

2. *Interface*

Setelah pemisahan pada sistem GC, analit dialirkan ke spektrometer massa untuk diionisasikan, kemudian massa disaring dan dideteksi

3. Pengontrol angin

Aliran gas diregulasi ke tekanan yang tepat untuk kemudian dialirkan ke bagian instrument.

4. Oven

Kromatografi gas memiliki oven dengan pengaturan suhu. Rentang pengaturan dari 5°C hingga 400°C.

5. Kolom

Kromatografi gas menggunakan fase gerak berupa gas yang dimana komponen sampel melewati kolom dan kolom tersebut terdiri dari partikel silika. Panjang kapiler kolom GC biasanya sekitar 10-20 m dengan diameter internal 0,10-0,50 mm.

6. Injektor

Pada injektor sampel yang volatil dan menjadi gas akan terbawa ke kolom GC.

Sedangkan spektrum masa diperoleh dengan mengubah senyawa suatu sampel menjadi ion-ion yang bergerak cepat yang dipisahkan berdasarkan perbandingan masa terhadap muatan. Spektroskopi massa mampu menghasilkan berkas ion dari suatu zat uji, memilah ion tersebut menjadi spektrum yang sesuai dengan perbandingan massa terhadap muatan dan merekam kelimpahan relatif tiap jenis ion yang ada.

Berikut adalah komponen penyusun spektroskopi massa beserta penjelasan:

1. Kontrol elektronik

Partikel MS bisa diseleksi dan dikontrol pada panel ini.

2. Detektor

Terdapat beberapa detektor yang biasa digunakan salah satunya detektor ionisasi nyala. Dalam mekanisme reaksi, pembakaran senyawa organik merupakan hal yang kompleks. Selama proses, sejumlah ion-ion dan elektron dihasilkan dalam nyala. Kehadiran ion dan elektron dapat dideteksi. Seluruh detektor ditutup dalam oven yang lebih panas dibanding temperatur kolom. Hal inilah yang menghentikan kondensasi dalam detektor. Hasil detektor akan direkam sebagai urutan puncak-puncak. Setiap puncak mewakili satu senyawa dalam campuran yang melalui detektor.

3. Sistem vakum

Sistem analisa massa membutuhkan level tinggi pemvakuman agar pengoperasian dapat berjalan dengan baik dan efisien.

4. Penganalisa massa

Terdapat beberapa tipe analisa massa yang biasa dipakai pada GC-MS dan semuanya memiliki perbedaan dimana pemisahan berdasarkan berdasarkan jenis massanya.

5. Sumber ion

Setelah melewati rangkaian gas kromatografi, sampel gas akan diuji dan dilanjutkan melalui rangkaian spektroskopi massa. Molekul yang melewati sumber ion ini diserang oleh elektron dan dipecah menjadi ion-ion positifnya. Tahap ini sangatlah penting karena untuk melewati filter maka partikel-partikel sampel haruslah bermuatan.

2.9 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

Metode penentuan aktivitas antioksidan telah banyak dikembangkan salah satunya adalah metode *1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) (Firdaus, 2013). *1,1-difenil-1-pikrilhidrazil* (DPPH) merupakan radikal bebas stabil berwarna ungu yang digunakan secara luas untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal bebas dari beberapa komponen alam seperti komponen fenolik (Miryanti *et al.*, 2011). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning (Hanani *et al.*, 2005).

DPPH berfungsi sebagai senyawa radikal bebas stabil yang ditetapkan secara spektrofotometri melalui persen peredaman absorbansi. Peredaman warna ungu merah pada panjang gelombang 517 nm (Parwata *et al.*, 2009). Metode ini didasarkan pada perubahan warna radikal DPPH. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh reaksi antara radikal bebas DPPH dengan satu atom hidrogen yang dilepaskan senyawa yang terkandung dalam bahan uji untuk membentuk senyawa *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* yang berwarna kuning (Bariyyah *et al.*, 2013). Hasil uji metode DPPH dapat ditampilkan dalam berbagai model, yaitu persentase hambatan, persentase DPPH tersisa, aktivitas antiradikal, dan aktivitas antioksidan setara dengan asam askorbat atau vitamin C, namun di antara metode ini, penyajian hasil uji paling banyak berupa persentase hambatan 50% (Firdaus, 2013). Parameter yang umum digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah nilai IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Salamah *et al.*, 2011).

Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti transfer hidrogen sekaligus juga untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas dengan reaksi : $DPPH\cdot + AH \rightarrow DPPH-H + A$. Campuran reaksi berupa larutan

sampel dan DPPH yang dilarutkan dalam etanol absolut dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan dibaca pada panjang gelombang 517 nm. Metode ini sering digunakan untuk mendeteksi kemampuan antiradikal suatu senyawa sebab hasilnya terbukti akurat, reliabel, relatif cepat dan praktis. Sebagai akibatnya, penambahan senyawa yang bereaksi sebagai antiradikal akan menurunkan konsentrasi DPPH ini. Adanya penurunan konsentrasi DPPH akan menyebabkan penurunan absorbansinya dibandingkan dengan absorbansi kontrol yang tidak diberi dengan senyawa uji yang diduga mempunyai aktivitas antiradikal (Miryanti, *et al.*, 2011).

2.10 Inhibition Concentrasi 50% (IC₅₀)

IC₅₀ merupakan besarnya konsentrasi larutan uji untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas. Nilai IC₅₀ dihitung dari persentase penghambatan atau % inhibisi larutan ekstrak dengan menggunakan persamaan yang diperoleh dari kurva regresi linier (Khotimah *et al.*, 2013). Persen inhibisi adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas, yang berhubungan dengan konsentrasi suatu bahan, semakin tinggi konsentrasi suatu bahan, maka semakin tinggi pula persen inhibisinya. Ini menunjukkan semakin tinggi konsentrasinya maka semakin tinggi pula tingkat penghambatan suatu bahan terhadap aktivitas radikal bebas (Suwandi *et al.*, 2010). Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Salamah *et al.*, 2011).

Inhibition Concentration (IC₅₀) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambatan 50%. Harga IC₅₀ berbanding terbalik dengan kemampuan zat/senyawa yang bersifat sebagai antioksidan. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin kuat daya antioksidannya. Zat

yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai harga IC_{50} yang rendah (Brand-Williams dan Berset, 1995).