

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Kondisi Perairan Ekosistem *Kappaphycus alvarezii* di Pulau Poteran

Pulau Poteran merupakan sebuah pulau yang terletak di sebelah Tenggara Pulau Madura. Pulau Poteran masuk ke dalam wilayah Kecamatan Talango Kabupaten Sumenep. Secara geografis Pulau Poteran terletak pada 113, 920 – 114, 080°LS dan 7, 040 – 7, 120°BT. Pulau Poteran termasuk pulau dengan tingkat kemiringan rata-rata kurang dari 30% dan merupakan pulau yang berada pada ketinggian 500 mdpl yang termasuk dalam kategori dataran rendah dengan luas mencapai 49,8 km<sup>2</sup> (Fajariyah dan Santoso, 2014). Kondisi perairan ekosistem *Kappaphycus alvarezii* di Pulau Poteran dapat dilihat pada Gambar 7.



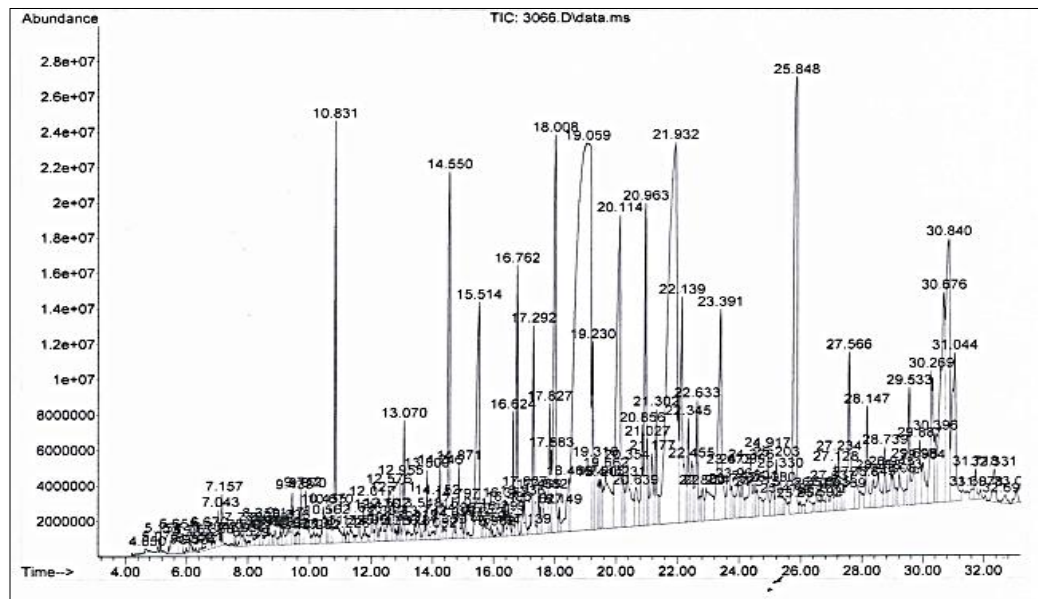
Gambar 7. Kondisi perairan ekosistem *Kappaphycus alvarezii* di Pulau Poteran

Pulau Poteran dari sektor perikanan diarahkan pada pengembangan budidaya perikanan air laut dan budidaya ikan karang. Hal ini didasarkan dari eksisting yang menunjukkan adanya potensi perikanan tangkap, penangkapan ikan laut, budidaya rumput laut, ikan karang dan mangrove. Pulau Poteran termasuk *shallow water* atau perairan dangkal yang cukup luas dengan substrat dominan pasir berlumpur yang memungkinkan *visibility* yang buruk karena mudah teraduk oleh arus, angin maupun gelombang (KKP, 2012). Secara umum sumber

daya lahan dan lingkungan di Kabupaten Sumenep sesuai untuk budidaya rumput laut. Hal ini bisa dilihat dari aspek kualitas perairan yang sangat mendukung. Sesuai dengan penelitian Fatmawati dan Wahyudi (2015), suhu perairan laut di Kabupaten Sumenep berkisar antara 26-30°C, nilai salinitas perairan berkisar antara 25-30 ppt, kisaran pH berkisar 6,9-7,6, kecerahan 1,5 m dan kecepatan arus laut berkisar antara 26-32 cm/s. Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan bahwa kondisi perairan ekosistem *Kappaphycus alvarezii* di Pulau Poteran tergolong baik untuk mendukung kegiatan budidaya rumput laut.

#### **4.2 Identifikasi Senyawa Bioaktif dengan Gas Chromatography-Mass Spektrometer (GC-MS)**

Identifikasi untuk mengetahui jenis-jenis senyawa bioaktif kandidat senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak *Kappaphycus alvarezii* dilakukan dengan menggunakan uji GC-MS. Kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS) adalah metode yang mengkombinasikan kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analisis sampel (Khotimah *et al.*, 2013). Hasil yang diperoleh dari GC-MS berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu grafik dengan beberapa puncak, setiap satu puncak mewakili satu senyawa. Hasil dari uji GC-MS menunjukkan kelimpahan senyawa dominan yang diletakkan pada sumbu (y) dan waktu retensi yang menunjukkan senyawa tersebut mulai terdeteksi oleh alat yang ditunjukkan oleh sumbu (x). Kromatogram ekstrak *Kappaphycus alvarezii* dapat dilihat pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Hasil kromatogram ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan GC-MS.

Berdasarkan puncak-puncak kromatogram ekstrak *Kappaphycus alvarezii* tersebut, menunjukkan sedikitnya 164 puncak senyawa yang teridentifikasi oleh data base. Berdasarkan penelusuran data base nama-nama senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak *Kappaphycus alvarezii* dapat dilihat pada Lampiran 9. Banyak sedikitnya senyawa yang mampu teridentifikasi oleh GCMS ditentukan oleh jenis pelarut yang digunakan. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol, karena etanol merupakan pelarut polar yang memiliki karakteristik mampu mengikat senyawa polar yang terkandung dalam ekstrak. Sesuai dengan pernyataan Arifianti (2014), bahwa jenis pelarut pengekstraksi akan mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, sesuai konsep *like dissolve like*, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar.

Berdasarkan hasil kromatogram terlihat adanya 6 puncak yang paling tertinggi. Puncak pertama muncul dengan waktu retensi 10.831 dan luas area 1,53%. Puncak kedua muncul dengan waktu retensi 14.548 dan luas area sebesar

2.12%, puncak ke-3 pada waktu retensi 18.010 dan luas areanya 2.58 %, puncak ke-4 muncul pada retensi 19.057 dan luas area 17.93%, puncak ke-5 muncul pada waktu retensi 21.929 dan luas area 10.84% serta puncak ke-6 dan merupakan puncak yang paling tertinggi muncul pada waktu retensi 25.848 dengan luas area 4.68%. Interpretasi spektrum massa berdasarkan puncak tertinggi dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Interpretasi spektrum massa berdasarkan puncak tertinggi

Puncak	Waktu Retensi	Luas Area (%)	Nama Senyawa	Rumus Molekul	Similaritas (%)	Fungsi
1	10.834	1.53	<i>Eugenol</i>	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	99	Antioksidan
			<i>Phenol, 4-allyl-2-methoxy</i>	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	98	Antioksidan
2	14.548	2.12	<i>Heptadecane</i>	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	98	Antioksidan Antibakteri
3	18.010	2.58	<i>Palmitic acid</i>	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	99	Antioksidan Antibakteri
4	19.057	17.93	<i>Palmitic acid</i>	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	99	Antioksidan Antibakteri
5	21.929	10.84	<i>Oleic acid</i>	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	99	Antioksidan
6	25.848	4.68	<i>Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester</i>	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	99	Antioksidan Antibakteri

Berdasarkan tabel 3 diketahui terdapat 6 senyawa dominan yang teridentifikasi. Senyawa pertama yang teridentifikasi adalah senyawa *eugenol* dengan luas area 1,53% dengan similaritas 99%, rumus molekul C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub> dan berat molekul 164. *Eugenol* merupakan cairan tidak berwarna atau berwarna kuning pucat, dapat larut dalam alkohol, eter dan kloroform. *Eugenol* merupakan turunan guaiakol yang mendapat tambahan rantai alil dan dikenal dengan nama IUPAC *2-metoksi-4-(2-propenil) fenol*. Menurut Restina (2011), *isoeugenol* dan *eugenol* merupakan senyawa antioksidan. Senyawa tersebut dapat menghambat atau memperlambat pembentukan peroksida dari senyawa asam lemak. *Eugenol* termasuk senyawa alam yang menarik karena mengandung beberapa gugus

fungsional olefin dan allil, fenol dan eter. Eugenol juga berfungsi sebagai antibakteri, *eugenol* yang tergolong turunan senyawa fenol mempunyai efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel bakteri (Rarassari *et al.*, 2016).

Senyawa kedua adalah senyawa *Phenol, 4-allyl-2-methoxy* dengan similaritas 98%. Senyawa *Phenol, 4-allyl-2-methoxy* disebut juga eugenol yang merupakan senyawa aromatis yang masuk kedalam gugus fenol. Senyawa fenol telah dikenal sebagai antioksidan terhadap material organik yang telah teroksidasi (Khotimah *et al.*, 2013). Senyawa dominan yang ke-3 adalah *Heptadecane*, rumus kimia  $C_{17}H_{36}$  dengan similaritas 99%. *Heptadecane* merupakan salah satu senyawa yang dapat dikatakan sebagai antioksidan kuat. Sesuai dengan pernyataan Kim *et al.* (2013), bahwa senyawa *heptadecane* merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas antikanker, antioksidan dan antibakteri yang sangat kuat.

Senyawa dominan ke-4 adalah senyawa *Palmitic acid* dengan rumus kimia  $C_{17}H_{34}O_2$  dan nilai similaritas 99%. *Palmitic acid* juga dikenal dengan sebutan *Hexadecanoid acid*, senyawa ini merupakan senyawa turunan asam karboksilat. *Hexadecanoid acid* adalah asam lemak jenuh yang tersusun dari 16 atom karbon ( $CH_3(CH_2)_{14}COOH$ ). Pada suhu ruang, *hexadecanoid acid* berwujud padat berwarna putih. Titik leburnya  $63,1^{\circ}C$ . *Hexadecanoid acid* adalah produk awal dalam proses biosintesis asam lemak. Dari *hexadecanoid acid*, pemanjangan atau penggandaan ikatan berlangsung lebih lanjut (Wiyanto, 2010). *Palmitic acid* merupakan komponen asam lemak. Senyawa tersebut diketahui mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Selain itu senyawa *palmitic acid* juga memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *E. coli*, *B. subtilis* dan *S. auerus* (Kumalasari, 2014). Senyawa dominan selanjutnya adalah senyawa *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester*

atau *Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) adipate* dengan rumus kimia  $C_{22}H_{42}O_4$  yang teridentifikasi dengan waktu retensi 25.849, luas area 4.68% dan similaritas 99%. Senyawa tersebut termasuk dalam golongan asam lemak yang diketahui mempunyai aktivitas antioksidan (Haryoto *et al.*, 2009). *Hexanedioic acid* merupakan senyawa organik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus*, *K. pneumoniae*, dan *Shigella dysenteriae* (Saputri, 2015).

Dari hasil uji GC-MS sebagian besar senyawa yang terkandung dalam ekstrak *Kappaphycus alvarezii* terdiri atas senyawa hidrokarbon, senyawa fenol dan asam lemak. Senyawa hidrokarbon adalah senyawa karbon yang paling sederhana yang hanya tersusun dari atom hidrogen dan atom karbon. Berdasarkan data senyawa yang diperoleh tersebut ekstrak *Kappaphycus alvarezii* mengandung senyawa antioksidan berupa senyawa hidrokarbon aromatis, fenol dan asam lemak. Menurut Oke dan Hamburger (2002), senyawa aromatik mengandung gugus hidroksil, khususnya ortho-di atau trihidroksi yang membentuk radikal cukup stabil. Adanya gugus hidroksi juga menjadi salah satu syarat agar suatu senyawa dapat memiliki aktivitas antioksidan. Selain senyawa hidrokarbon aromatik, senyawa fenol beserta turunannya serta asam lemak merupakan senyawa yang dapat dijadikan sebagai antioksidan.

Senyawa fenol dengan gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik merupakan senyawa yang efektif sebagai antioksidan karena senyawa tersebut mampu meredam radikal bebas dengan cara memberikan atom hidrogen (donor proton) dari gugus hidroksil kepada radikal bebas (Tamat *et al.*, 2007). Berdasarkan penelitian Fasya (2011) asam lemak merupakan salah satu senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Sehingga pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa ekstrak *Kappaphycus alvarezii* dapat berfungsi sebagai antioksidan alami yang dapat digunakan untuk meredam efek radikal bebas pada organisme

perairan sehingga sistem pertahanan tubuh organisme perairan menjadi stabil dan dapat kembali sehat dan normal .

#### **4.3 Aktivitas Antioksidan Metode 1,1 Diphenyl-2-picrylhidraziyl (DPPH)**

Uji aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1 Diphenyl-2-picrylhidraziyl). Dipilihnya metode ini dikarenakan metode ini sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Hanani *et al.*, 2005). Uji aktivitas antioksidan dibedakan menjadi 2 macam yaitu uji aktivitas antioksidan secara kualitatif dan uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif. Uji kualitatif aktivitas antioksidan didasarkan pada perubahan warna yang terjadi pada sampel, sedangkan uji kuantitatif aktivitas antioksidan didasarkan pada hasil prosentase inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub>.

##### **4.3.1 Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan**

Uji aktivitas antioksidan secara kualitatif dilakukan dengan indikator perubahan warna yang terjadi pada sampel setelah direaksikan dengan larutan DPPH. Pada metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas yang kemudian diredam radikal bebasnya oleh antioksidan yang terdapat dalam larutan sampel membentuk 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin. Reaksi ini akan menyebabkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Artinya senyawa tersebut yang direaksikan bersifat aktif atau dapat dikatakan sebagai antioksidan. Sebaliknya jika larutan DPPH yang direaksikan dengan senyawa namun tidak mengalami perubahan warna maka senyawa tersebut dinyatakan tidak aktif sebagai antioksidan. Uji aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dilakukan dengan beberapa deret konsentrasi yaitu 0 ppm sebagai blanko, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm dan 800 ppm. Vitamin C diuji aktivitas antioksidannya sebagai kontrol positif dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm. Reaksi

penghambatan radikal bebas oleh sampel ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Reaksi Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Perubahan Warna

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Perubahan Warna		Indikator
		Warna Awal	Warna Akhir	
Ekstrak <i>Kappaphycus alvarezii</i>	0	Ungu	Purple no.2	-
	100	Ungu	Passy Violet no.1	Kurang Aktif
	200	Ungu	Ultra marine Violet no.1	Kurang Aktif
	400	Ungu	Rowney Yellow no.3	Aktif
	800	Ungu	Lemon Yellow no.2	Aktif
Vitamin C	5	Ungu	Lemon Yellow no.1	Aktif
	10	Ungu	Yellow ocre no.1	Aktif
	15	Ungu	Yellow raw siena no.1	Aktif
	20	Ungu	Cadmium yellow no.1	Aktif

Reaksi penghambatan radikal bebas DPPH oleh ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan pelarut etanol diindikasikan dengan berubahnya warna ungu menjadi warna kuning atau kekuning-kuningan. Berdasarkan hasil yang diperoleh tersebut, konsentrasi 100 ppm dan 200 ppm ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* menunjukkan warna ungu muda dan konsentrasi 400 ppm dan 800 ppm menunjukkan warna kuning. Sedangkan pada sampel vitamin C keseluruhan konsentrasi yang digunakan menunjukkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna ini membuktikan bahwa ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* memiliki aktivitas antioksidan. Perubahan warna ini disebabkan karena adanya reaksi antara radikal bebas DPPH dengan satu atom hidrogen yang dilepaskan oleh salah satu senyawa yang terkandung dalam ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* untuk membentuk senyawa warna kuning. Hal ini sesuai dengan pernyataan Molyneux (2004), bahwa suatu senyawa



dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogen yang ditandai dengan semakin hilangnya warna ungu.

#### 4.3.2 Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan untuk mengetahui prosentase inhibisi (penghambatan) dan mengetahui nilai IC<sub>50</sub>. Persen inhibisi adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas, yang berhubungan dengan konsentrasi suatu bahan. Sedangkan IC<sub>50</sub> merupakan besarnya konsentrasi larutan uji untuk meredam 50% aktivitas radikal bebas. Untuk mengetahui nilai tersebut dilakukan pengukuran sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

##### a. Persentase Inhibisi atau penghambatan

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan absorbansi radikal bebas DPPH melalui perhitungan tingkat inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus tingkat inhibisi. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Inhibisi (%)			Rata-rata Inhibisi (%) ± SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
<i>Kappaphycus alvarezii</i>				
0				
100	9,707	9,228	9,919	9,618 ± 0,354
200	20,829	25,276	23,279	23,128 ± 2,227
400	40,445	40,421	38,563	39,810 ± 1,080
800	53,994	56,169	56,883	55,682 ± 1,505
Vitamin C				
5	59,151	60,080	57,895	59,042 ± 1,097
10	63,195	62,688	63,360	63,081 ± 0,350
15	79,676	80,140	84,008	81,275 ± 2,378
20	94,742	93,882	91,498	93,374 ± 1,681

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa konsentrasi 800 ppm ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut mempunyai persen inhibisi paling besar yaitu senilai 55,682%, dan persen inhibisi yang terendah untuk ekstrak terdapat pada konsentrasi 100 ppm sebesar 9,618%. Sedangkan pada vitamin C sebagai kontrol positif, persen inhibisi tertinggi diperoleh pada konsentrasi 20 ppm sebesar 93,374% dan yang terendah pada konsentrasi 5 ppm sebesar 59,042%. Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh persen inhibisi dengan konsentrasi ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang berbeda, maka dilakukan uji sidik ragam yang dapat dilihat pada Tabel 6 berikut:

**Tabel 6.** Sidik ragam pengaruh konsentrasi ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang berbeda terhadap persentase inhibisi

SK	DB	JK	KT	Fhit	Ftab 5%	Ftab 1%
Perlakuan	3	3604,44	1201,48	564,3005**	4,07	7,01
Galat	8	17,0332	2,12915			
Total	11	3621,47				

Keterangan: \*\* = Berbeda sangat nyata

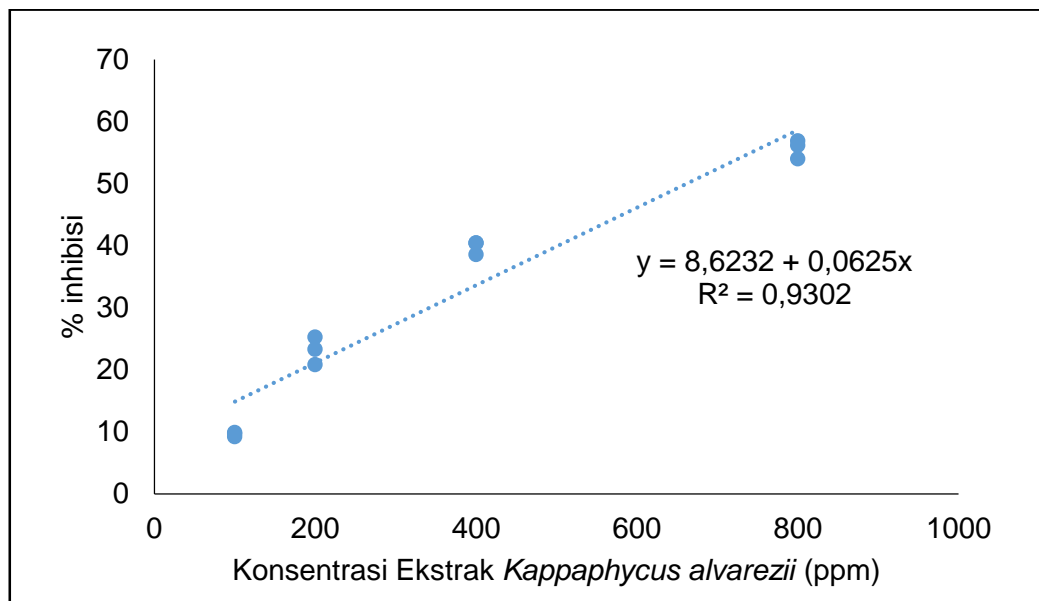
Tabel analisa sidik ragam diatas menunjukkan bahwa nilai F hitung > F 5% dan F1% yaitu sebesar 564,3005, maka H0 ditolak dan H1 diterima sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian konsentrasi ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang berbeda sebagai kandidat antioksidan memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap persentase inhibisi atau peredaman radikal bebas. Perhitungan lengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti pada tabel 7 berikut:

**Tabel 7.** Uji BNT pengaruh konsentrasi ekstrak yang berbeda terhadap persentase inhibisi

Perlakuan		100	200	400	800	Notasi
		9,618	23,128	39,81	55,682	
100	9,618	-				a
200	23,128	13,51**	-			b
400	39,81	30,192**	16,682**	-		c
800	55,682	46,064**	32,554**	15,872**	-	d

Keterangan: \*\* = Berbeda sangat nyata

Berdasarkan tabel 7 diatas dapat terlihat perbedaan rerata pengaruh konsentrasi ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang berbeda terhadap persentase inhibisi. Hal tersebut dapat diartikan bahwa perlakuan konsentrasi 800 ppm berbeda sangat nyata dengan konsentrasi 400 ppm, 200 ppm dan 100 ppm. Selanjutnya untuk mengetahui regresi pengaruh konsentrasi ekstrak yang berbeda terhadap persentase inhibisi dilakukan uji polynomial orthogonal (Gambar 9).



**Gambar 9.** Hubungan pengaruh ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan konsentrasi yang berbeda terhadap persentase inhibisi

Grafik linier hubungan pengaruh konsentrasi ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* yang berbeda terhadap persentase inhibisi (penghambatan) diatas didapatkan persamaan linier  $y = 8,6232 + 0,0625x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9302. Nilai koefisien

determinasi ini menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh sebesar 93,02% terhadap penghambatan radikal bebas dalam hal ini DPPH.

Begitu pula dengan vitamin C yang dalam hal ini sebagai kontrol positif, untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi yang digunakan terhadap persentase inhibisi maka dilakukan juga uji sidik ragam seperti yang tertera pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Sidik ragam pengaruh konsentrasi vitamin C yang berbeda terhadap persentase inhibisi

SK	DB	JK	KT	Fhit	Ftab 5%	Ftab 1%
Perlakuan	3	2313,27	771,09	314,5157**	4,07	7,01
Galat	8	19,6134	2,45168			
Total	11	2332,88				

Keterangan: \*\* = Berbeda sangat nyata

Berdasarkan tabel analisa sidik ragam vitamin C di atas menunjukkan bahwa F hitung > F 5% dan F 1% yakni sebesar 314,5157 maka H0 ditolak dan H1 diterima, sehingga dapat dikatakan bahwa pemberian vitamin C dengan konsentrasi yang berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap persentase inhibisi peredaman radikal bebas. Perhitungan selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 6. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan konsentrasi, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) seperti pada Tabel 9.

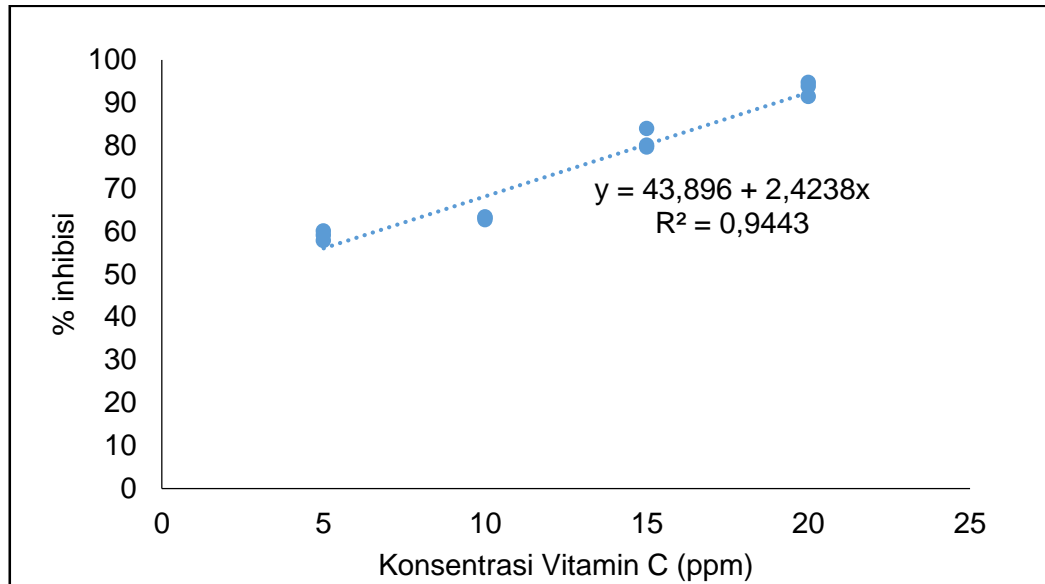
**Tabel 9.** Uji BNT pengaruh konsentrasi vitamin C yang berbeda terhadap persentase inhibisi

Perlakuan		5	10	15	20	Notasi
		59,042	63,081	81,275	93,374	
5	59,042	-				a
10	63,081	4,039**	-			b
15	81,275	22,233**	18,194**	-		c
20	93,374	34,332**	30,293**	12,099**	-	d

Keterangan: \*\* = Berbeda sangat nyata

Dari Tabel 9 diatas dapat terlihat bahwa terdapat perbedaan rerata pengaruh konsentrasi vitamin C yang berbeda terhadap persentase inhibisi. Hal

ini dapat diartikan bahwa perlakuan pemberian konsentrasi 20 ppm berbeda sangat nyata dengan konsentrasi 15 ppm, 10 ppm dan 5 ppm. Selanjutnya untuk mengetahui regresi pengaruh konsentrasi vitamin C yang berbeda terhadap persentase inhibisi dilakukan uji polynomial orthogonal (Gambar 10).



**Gambar 10.** Hubungan pengaruh konsentrasi vitamin C yang berbeda terhadap persentase inhibisi

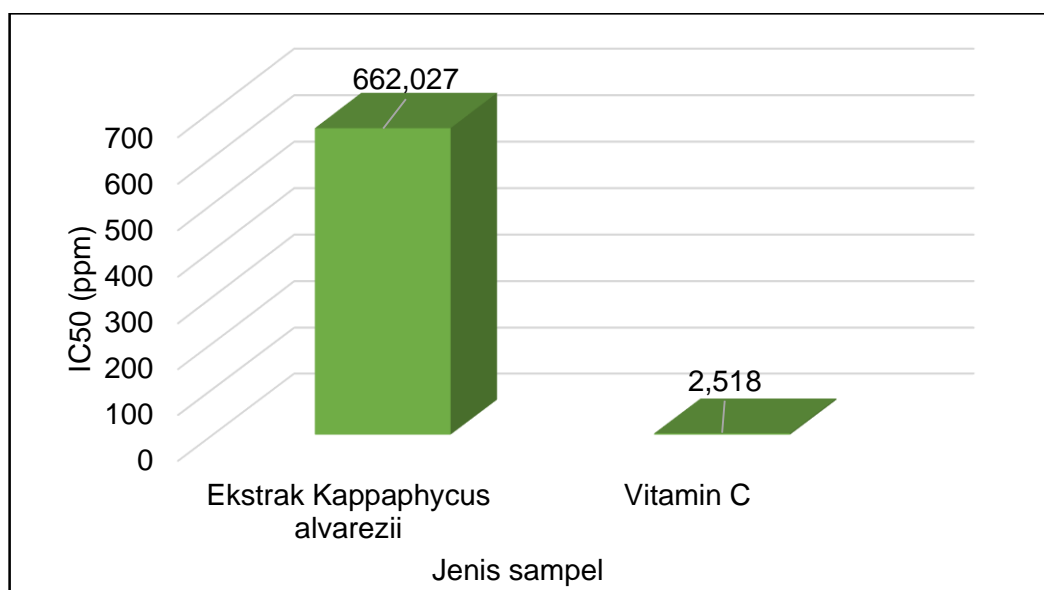
Grafik linier hubungan pengaruh konsentrasi vitamin C yang berbeda terhadap persentase inhibisi atau perdaman radikal bebas di atas didapatkan persamaan linear  $y = 43,896 + 2,4238x$  yang memiliki nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 0,9443. Nilai koefisien determinasi menunjukkan bahwa penggunaan vitamin C sebagai pembanding dengan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh sebesar 94,43% terhadap persentase penghambatan radikal bebas.

Berdasarkan hasil yang diperoleh baik dari ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* maupun vitamin C dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan akan semakin besar persen inhibisi yang didapatkan. 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 (Hanani *et al.*, 2005; Suwandi., 2010; Pramesti, 2013). Selanjutnya untuk mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan maka perlu dilakukan pengujian IC<sub>50</sub>.

#### **b. Inhibition Concentration 50% (IC<sub>50</sub>)**

Kekuatan aktivitas antioksidan suatu zat dilihat dari nilai IC<sub>50</sub>-nya, yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam 50 persen radikal bebas DPPH. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linear yaitu  $y = a+bx$ , dengan nilai y adalah 50 dan x adalah IC<sub>50</sub>. Hasil nilai IC<sub>50</sub> ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan vitamin C berdasarkan persamaan regresi linier yang diperoleh dapat dilihat pada Gambar 11 berikut ini:



**Gambar 11.** Diagram nilai IC<sub>50</sub> ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* dan vitamin C.

Berdasarkan data regresi linier antara log konsentrasi dan persen peredaman, ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* memiliki nilai IC<sub>50</sub> yang jauh lebih besar dibandingkan nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh dari vitamin C. Artinya aktivitas antioksidan vitamin C lebih kuat dibandingkan dengan aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii*. Sesuai dengan

pernyataan Molyneux (2004), bahwa semakin kecil nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh maka semakin kuat pula aktivitas antioksidan suatu senyawa tersebut. Besarnya nilai  $IC_{50}$  ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* ini disebabkan karena ekstrak rumput laut *Kappaphycus alvarezii* masih bersifat belum murni atau masih merupakan ekstrak kasar yang masih mengandung berbagai komponen senyawa lain.

Sesuai dengan pernyataan Ulfa *et al.* (2014), tingginya nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dikarenakan ekstrak yang diuji merupakan ekstrak kasar. Dimana dalam ekstrak belum murni tidak hanya senyawa antioksidan saja. Akan tetapi, ekstrak ini masih terkandung senyawa-senyawa lain seperti garam, mineral, dan nuriennutrien lain yang akan menghambat kerja dari senyawa antioksidan tersebut. seperti garam, mineral, dan nuriennutrien lain yang akan menghambat kerja dari senyawa antioksidan tersebut.