

4. PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh penambahan garam dengan konsentrasi tertentu dan metode pengolahan (perebusan, pengukusan, dan *blanching*) terhadap perubahan warna, perubahan kadar senyawa flavonoid, dan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh metode pengolahan dan konsentrasi garam yang ditambahkan terhadap warna, persentase aktivitas antioksidan, kadar flavonoid, kadar polifenol, dan kadar vitamin C.

Pengaruh dari kombinasi metode pengolahan dan konsentrasi garam terhadap parameter yang diamati berbeda-beda. Pada parameter warna yang terdiri dari 3 kategori, pada umumnya kombinasi tertentu meningkatkan kecerahan dan merubah warna dari sampel, sedangkan untuk pengaruh terhadap senyawa antioksidan dan aktivitas antioksidan seluruhnya menurunkan kadar antioksidan.

4.1. Warna Rumput Laut Merah

Warna merupakan parameter visual yang diamati dalam penelitian ini, perubahan terhadap warna termasuk perubahan kecerahan atau tingkat nilai *lightness*, perubahan nilai *a** dan *b**. Rumput laut merah yang digunakan dalam penelitian ini berjenis *euchema spinosum* dengan pigmen utama fikobilin yang memberi warna merah pada rumput laut. Fikobilin terdiri dari fikoeritrin, fikosianin, dan allofikosianin. Fikobilin merupakan protein, mempunyai cincin tetrapirel dan termasuk dalam gugus kromofor. Semua kromofor fikobilin mengikat sistein spesifik pada rantai polipeptida oleh ikatan-ikatan tioeter (Kamila, 2015).

Nilai kecerahan dipengaruhi oleh kadar fikoeritrin, semakin tinggi kadar fikoeritrin maka nilai kecerahan menurun atau semakin gelap dan semakin rendah kadar fikoeritrin maka nilai kecerahan semakin tinggi (Purba *et al.*, 2019). Pada perlakuan kontrol tingkat kecerahan sampel rendah yang menandakan bahwa kandungan fikoeritrin yang masih tinggi kemudian diberi perlakuan suhu dan garam kecerahan sampel meningkat yang menandakan bahwa kandungan fikoeritrin menurun. Hal ini disebabkan penggunaan suhu pengolahan mengakibatkan kerusakan protein atau denaturasi.

Hasil tersebut didukung oleh Kurniati (2009) yang menyatakan terjadinya denaturasi protein tahap awal pada saat protein dikenai suhu pemanasan sekitar 50°C, protein tersebut mengalami perubahan struktur sekunder, tersier, kuartener, fikoeritrin adalah protein kelompok pigmen fikobilin. Hal serupa juga diketahui dari hasil penelitian oleh Karseno *et al.*, (2014) yang menyatakan bahwa suhu yang tinggi merusak protein yang terdapat pada pigmen fikoeritrin, kerusakan protein dikenal sebagai denaturasi. Dari hasil penelitian terhadap kecerahan, metode pengukusan relatif lebih gelap dibanding dengan metode lainnya hal ini disebabkan panas yang berkontak dengan sampel pada perlakuan pengukusan relatif lebih kecil dan juga media penghantar panas berupa uap air yang kepadatan molekulnya lebih renggang.

Keragaman hasil penelitian dapat dipengaruhi oleh masih beragamnya bagian rumput laut yang digunakan sesuai dengan Djapiala *et al.*, (2013) bahwa perbedaan bagian rumput laut seperti batang, akar, dan juga umur rumput laut memiliki kandungan zat penyusun yang berbeda, sehingga kadar fikoeritrin yang terkandung juga dapat berbeda, hal lain yang mempengaruhi hasil adalah ukuran sampel yang beragam dan adanya pembungkus sampel berupa plastik yang tidak diketahui ketebalannya.

Nilai a^* pada pembacaan chromameter menunjukkan tingkat kemerahan, nilai positif menunjukkan warna merah, sedangkan nilai negatif menunjukkan warna hijau, besarnya nilai menunjukkan kepekatan warna tersebut. Dari hasil penelitian seluruh kombinasi perlakuan menunjukkan penurunan tingkat kemerahan hal ini dipengaruhi oleh kadar fikoeritrin, semakin tinggi kadar fikoeritrin maka nilai kemerahan (a^*) semakin tinggi dan semakin rendah kadar fikoeritrin maka nilai kemerahan semakin rendah (Yulianti *et al.*, 2015). Metode pengolahan pengukusan menghasilkan nilai a^* tertinggi dibanding metode pengolahan lainnya. Hal ini disebabkan pada metode pengukusan media penghantar panas adalah uap air yang memiliki kerapatan molekul cenderung lebih renggang daripada metode pengolahan perebusan maupun *blanching*. Data tersebut didukung dengan uji korelasi pada Tabel 8 yang menunjukkan korelasi yang sangat nyata pada tingkat kepercayaan 99% dan memiliki hubungan berbanding terbalik sehingga nilai *lightness* yang tinggi dan nilai kemerahan (a^*) yang rendah menunjukkan kerusakan protein fikoeritrin.

Nilai b^* pada pembacaan *chromameter* menunjukkan tingkat kekuningan. Nilai positif menunjukkan warna kuning dan nilai negatif menunjukkan warna biru, besarnya nilai menunjukkan kepekatan warna tersebut. Dari seluruh kombinasi perlakuan diketahui bahwa terjadi penurunan nilai b^* . Hal ini dapat terjadi akibat dari seluruh metode pengolahan menggunakan suhu panas pada rumput laut merah sehingga terjadi denaturasi pada pigmen yang diketahui juga menjadi pigmen dalam *Euchema spinosum*, fikosianin diketahui berwarna biru namun kadarnya lebih kecil dibandingkan dengan fikoeitrin (Iqna Kamila et al., 2015).

4.2. Persentase Aktivitas Antioksidan

Persentase aktivitas antioksidan dapat digunakan untuk mengetahui pengaruh metode pengolahan dan konsentrasi garam terhadap kerusakan senyawa aktif antioksidan. Hal ini disebabkan antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Dampak aktivitas senyawa radikal bebas mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker.

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini diawali dengan mengekstrak senyawa antioksidan dengan menggunakan pelarut etanol dan metode ultrasonikasi untuk mempercepat waktu ekstraksi. Penggunaan etanol dipilih karena etanol merupakan senyawa pelarut polar yang dapat larut dalam air dan juga memiliki kemampuan melarutkan alkaloida basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, anrakinon, flavanoid, steroid, dammar dan klorofil.

Dari hasil pengamatan dapat diketahui bahwa perlakuan pengukusan dengan penambahan garam 10% memiliki hasil tertinggi dalam mengurangi kerusakan yang ditimbulkan, namun pengukusan tidak stabil dalam mengurangi kerusakan yang ditimbulkan, metode perebusan menghasilkan kadar aktivitas antioksidan terendah dibanding metode lainnya, hal ini disebabkan sayuran yang direbus lebih cepat masak daripada sayuran yang dikukus, dikarenakan kontak langsung antara sayuran dengan medium air panas yang membuat kerusakan aktivitas antioksidan, air memiliki kerapatan molekul tinggi,

akibatnya degradasi dinding sel dan kehilangan sifat turgor sel lebih cepat sehingga air dapat berdifusi ke dalam sel (Yuliani, 2014) didukung oleh Farasat *et al.* (2014) yang menjelaskan bahwa proses pemanasan dapat menyebabkan hilangnya sebagian senyawa bioaktif dan kerusakan struktur senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan, sehingga menyebabkan bahan tersebut kehilangan kemampuannya sebagai antioksidan.

Penambahan garam menunjukkan bentuk pola pada Gambar 8, semakin tinggi kadar garam maka semakin rendah nilai aktivitas antioksidan, kecuali pada perlakuan pengukusan kadar garam 30% aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding kadar 20%. Pengaruh garam terhadap antioksidan disebabkan karena pengaruh suhu yang semakin tinggi akibat konsentrasi larutan. Konsentrasi larutan adalah komposisi yang menunjukkan dengan jelas perbandingan jumlah zat terlarut terhadap pelarut, semakin banyak jenis zat terlarut yang dicampurkan maka semakin tinggi pula titik didih larutannya (Putri, 2015). Pada penelitian ini bagian sampel yang digunakan masih tidak dipisahkan sesuai bagian tumbuhan, sehingga dapat berpengaruh terhadap hasil seperti yang terjadi pada pengukusan dengan kadar garam 30%.

4.3. Kadar Polifenol

Komponen fenolik atau disebut juga polifenol merupakan hasil dari metabolisme sekunder tanaman. Polifenol merupakan senyawa yang dihasilkan oleh rumput laut yang digunakan untuk melindungi diri dari sinar matahari. Fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksi dan berkemampuan mendonorkan hidrogennya sehingga terstabilkan oleh resonansi yang terdapat pada struktur fenolik sehingga senyawa ini dapat berfungsi sebagai antioksidan (Cahyaningrum *et al.*, 2016).

Walaupun kandungan polifenol bukan satu-satunya indikator antioksidan namun karena fungsi tersebut maka polifenol dapat dikategorikan sebagai indikator antioksidan dalam penelitian ini. Kandungan fenol berbeda-beda pada tiap bagian tumbuhan hal lain yang mempengaruhi adalah, umur tanaman yang bervariasi, kedalaman tempat tumbuh, iklim, dan suhu tumbuh (Djapiala *et al.*, 2013)

Dari hasil penelitian diketahui bahwa keseluruhan kombinasi perlakuan menurunkan kadar polifenol, kadar polifenol terendah terdapat pada perlakuan *blanching* dengan penambahan garam 30%. Hal ini sesuai dengan trend pada persentase aktivitas antioksidan. Persamaan hasil tersebut sesuai dengan hasil uji korelasi antara aktivitas antioksidan dengan polifenol yang terdapat pada Tabel 8 dengan hasil adanya korelasi kuat pada tingkat kepercayaan 95% antara kadar polifenol dengan kadar antioksidan dengan hubungan berbanding lurus.

Hasil ini sesuai dengan penelitian oleh Cahyaningrum *et al.* (2016) yang meneliti tentang aktivitas antioksidan rumput laut, menyatakan bahwa kadar total fenolik berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan sehingga semakin tinggi kadar fenolik maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi.

4.4. Kadar Vitamin C

Kadar vitamin C pada perlakuan kontrol adalah 4 ppm atau 4×10^{-5} mg/100 gram sampel, kadar vitamin C pada sampel sangat rendah jika dibandingkan dengan referensi, menurut Sari & Susanti (2015) kandungan vitamin C pada rumput laut *euchema spinosum* kering mengandung 20,02mg/100g. Pada penelitian ini sampel rumput laut dicuci dan dibersihkan dengan air sebelum disimpan dalam kondisi beku sehingga kemungkinan terdapat kerusakan karena terbentuknya kristal es yang mengakibatkan pecahnya dinding sel yang menyebabkan air keluar (Safaryani *et al.*, 2007), sifat vitamin C yang larut air mengakibatkan vitamin C terlarut dalam air yang keluar dari rumput laut.

Dari hasil pengamatan yang dapat dilihat pada Gambar 11 seluruh kombinasi perlakuan menurunkan kadar vitamin c dibanding dengan kontrol, rata rata kadar vitamin C tertinggi adalah metode pengolahan kukus, sedangkan yang terendah adalah *blanching*. Metode kukus memiliki hasil terbaik dikarenakan minimnya molekul air yang berkontak dengan sampel, sedangkan metode *blanching* menjadi metode dengan hasil vitamin c terendah dapat diakibatkan karena vitamin c yang telah rusak akibat pemberian panas ketika perebusan kemudian terlarut dengan air dingin yang digunakan untuk merendam sampel. Hal ini dapat terjadi karena sifat vitamin C yang merupakan vitamin larut air dan dalam

keadaan alami sensitif terhadap suhu (Almatsier, 2002) pada penelitian ini keseluruhan metode yang digunakan menggunakan air dengan suhu tinggi.

Hasil dari uji korelasi menyatakan tidak adanya hubungan antara vitamin C dan aktivitas antioksidan, hal ini bertentangan dengan teori, didukung oleh Frei (1994) yang menyatakan bahwa vitamin C merupakan salah satu antioksidan, sehingga akan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan hal ini dapat diakibatkan karena kerusakan vitamin c selama penyimpanan sampel.

4.5. Kadar Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang termasuk dalam kelompok besar polifenol. Flavonoid mempunyai kemampuan sebagai penangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid. Senyawa ini terdapat pada bagian tanaman seperti daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, nektar, bunga, buah, dan biji (Zuraida *et al.*, 2017).

Dari hasil penelitian keseluruhan kombinasi perlakuan menurunkan kadar flavonoid. Hal ini diakibatkan oleh pengolahan dengan suhu tinggi, proses pemanasan dapat menyebabkan hilangnya sebagian senyawa bioaktif dan kerusakan struktur senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan, sehingga menyebabkan bahan tersebut kehilangan kemampuannya sebagai antioksidan (Farasat *et al.*, 2014). Keragaman data yang cukup besar yang disebabkan penggunaan bagian dari rumput laut yang beragam Djapiala *et al.*, (2013) menyatakan bahwa perbedaan kandungan zat penyusun dipengaruhi oleh perbedaan bagian yang digunakan.

Pada hasil penelitian terjadi ketidaksesuaian dengan teori, flavonoid adalah salah satu kelompok besar polifenol sehingga grafik pada kedua data seharusnya memiliki kesamaan bentuk. Penyimpangan data dengan teori ini dikarenakan tidak semua kandungan polifenol adalah flavonoid. Hal lain yang menyebabkan perbedaan adalah perbedaan metode ekstraksi, pada ekstraksi flavonoid digunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sedangkan ekstraksi polifenol digunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% menurut J.B.Harborne, & Padmawinata (1987) suatu senyawa akan

larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama. Senyawa flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis, tiap jenis flavonoid mempunyai kepolaran yang berbeda-beda tergantung dari jumlah dan posisi gugus hidroksil tiap jenis flavonoid sehingga hal tersebut akan mempengaruhi kelarutan flavonoid pada pelarut.

Dari Tabel 8 dapat diketahui bahwa kadar flavonoid memiliki korelasi sangat nyata pada tingkat kepercayaan 99% dengan jenis hubungan berbanding lurus dengan aktivitas antioksidan, hal ini sesuai dengan Irawati, (2015) flavonoid termasuk dalam salah satu jenis antioksidan yang bekerja dengan cara bereaksi dengan radikal bebas, termasuk anion superoksida, radikal peroksid dan radikal hidroksil. Mekanisme lainnya dengan cara penstabilan oksigen singlet, pengkelat logam, dan penghambatan kerja enzim lipoksigenase. Flavonoid dengan gugus hidroksil akan berfungsi sebagai penangkap radikal bebas dan semakin banyak gugus hidroksil akan meningkatkan aktivitas antioksidan (Suryanto *et al.*, 2011).

