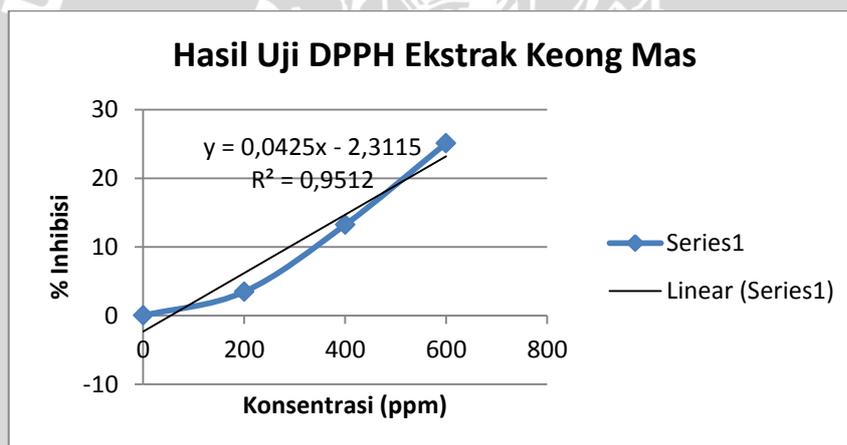


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

Tahap penelitian pendahuluan terdiri dari ekstraksi senyawa yang terdapat pada *Pomacea canaliculata L*, uji aktivitas antioksidan ekstrak *Pomacea canaliculata L* dengan menggunakan metode DPPH. Apabila diketahui pada penelitian pendahuluan sampel *Pomacea canaliculata L* memiliki aktivitas antioksidan, maka penelitian akan dilanjutkan dengan penelitian utama yaitu uji aktivitas antioksidan pada minyak ikan lemuru dengan menggunakan analisa uji bilangan iod, bilangan peroksida, uji TBA, uji Spektrofotometri UV – Vis dan uji LC – MS.



Gambar 6. Grafik Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pomacea canaliculata L*.

Berdasarkan grafik pada Gambar 6, diperoleh persamaan linier $y = 0,0425x - 2,3115$ dengan nilai $R^2 = 0,9512$. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan memasukkan nilai 50 sebagai y sehingga akan diketahui nilai x sebagai konsentrasi. Nilai x yang diperoleh dalam persamaan adalah 1230,8588 ppm. Lebih detail perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 2.

4.2 Penelitian Utama

4.2.1 Uji Kualitas Minyak Ikan Lemuru

Dari perlakuan pada minyak ikan lemuru berupa penambahan ekstrak keong mas (*Pomacea canaliculata L*) dengan perbedaan konsentrasi (0 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm) dan lama penyimpanan (1 hari, 7 hari, 14 hari) diperoleh hasil uji kualitas minyak ikan meliputi analisa kadar TBA, bilangan lod, dan bilangan peroksida.

4.2.1.1 Uji Bilangan lod

Bilangan lod ini menyatakan jumlah gram iod yang digunakan untuk mengadisi 100 gram lemak/minyak ikan. Semakin tinggi bilangan lod maka semakin banyak ikatan rangkap yang diadisi dan semakin tinggi derajat ketidakjenuhan lemak atau minyak ikan. Kelebihan iod dititrasi dengan natrium thiosulfat sehingga iod yang digunakan untuk mengadisi lemak/minyak dapat diketahui jumlahnya. Minyak atau lemak yang memiliki bilangan lod tinggi, berarti tingkat ketidak jenuhannya juga tinggi (Ningsih, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian uji bilangan lod terhadap minyak ikan lemuru dengan perlakuan konsentrasi yang berbeda dan lama penyimpanan yang berbeda didapatkan jumlah rata – rata terkecil 2,21% dan tertinggi rata – ratanya 4,73%. Hasil data analisis rata – rata bilangan lod dapat dilihat pada Tabel 3. Diantara perlakuan yang diberikan terdapat interaksi antara konsentrasi dengan masa simpan perbedaan yang nyata pada nilai F_{hitung} lebih besar dibandingkan dengan $F_{5\%}$ yaitu ($F_{hitung} > F_{tabel\ 5\%}$) $20,03 > 2,51$. Dari data tersebut dilakukan perhitungan ragam ANOVA yang dapat dilihat pada Lampiran 5.

Tabel 3. Hasil Analisa Rata – rata Bilangan Iod dari Minyak Ikan Lemuru

Masa simpan	Konsentrasi Ekstrak Kasar Keong Mas			
	0 ppm	200ppm	400ppm	600ppm
1 hari	3,19	4,52	4,58	4,73
7 hari	2,38	4,01	4,24	4,15
14 hari	2,21	3,90	3,71	3,57

Pengaruh penambahan ekstrak kasar keong mas terhadap masa simpan bilangan iod pada minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh Masa Simpan Terhadap Bilangan Iod

Perlakuan	Total	Rata – rata	Notasi
Hari 1	51,08	4,25	c
Hari 7	44,40	3,70	b
Hari 14	39,64	3,30	a

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata
Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Dari Tabel diatas, dapat dilihat bertambahnya masa simpan bilangan iod semakin menurun. Perlakuan 1 hari menunjukkan kualitas minyak ikan masih baik, pada perlakuan masa simpan 7 hari menunjukkan kualitas minyak ikan menurun dan juga perlakuan 14 hari kualitas minyak ikan semakin menurun. Penurunan bilangan iod ini akibat proses oksidasi pada ikatan rangkap asam lemak tak jenuh sehingga proses tersebut menyebabkan ketidak jenuhan minyak berkurang yang menyebabkan penurunan bilangan iod.

Pengaruh penambahan ekstrak kasar keong mas dengan konsentrasi yang berbeda terhadap bilangan iod pada minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kasar Keong Mas Terhadap Bilangan Iod

Perlakuan	Total	Rata – rata	Notasi
0 ppm	23,36	2,56	a
200 ppm	36,76	4,08	b
400 ppm	37,64	4,18	c
600 ppm	37,36	4,15	c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata
Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Dari tabel diatas, menunjukkan pada konsentrasi 200ppm, 400ppm, 600ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm), pada konsentrasi 400ppm dengan 600ppm tidak memberikan pengaruh yang nyata, yang ditunjukkan pada masing-masing notasi. Yang dapat diartikan bahwa penambahan konsentrasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol. Peningkatan bilangan iod ini dikarenakan hydrogen peroksida yang terbentuk pada tahap propagasi dimana minyak yang kontak langsung dengan udara dan radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida.

Berdasarkan Tabel ANOVA terdapat adanya interaksi antara konsentrasi dan masa simpan terhadap bilangan iod sehingga perlu dilakukan dengan uji lanjut BNT_{0,05}. Pengaruh interaksi dan masa simpan terhadap bilangan iod minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Ekstrak dengan Masa Simpan terhadap Bilangan Iod

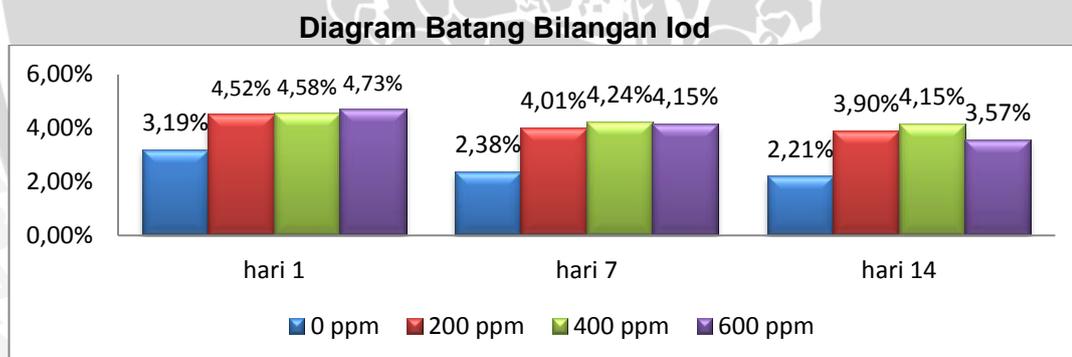
Konsentrasi	Masa simpan		
	1 hari	7 hari	14 hari
0ppm(blanko)	3,19% (c)	2,38% (b)	2,21% (a)
200 ppm	4,52% (i)	4,01% (g)	3,90% (f)
400 ppm	4,58% (i)	4,24% (h)	3,71% (e)
600 ppm	4,73% (j)	4,15% (h)	3,57% (d)

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata
Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Dari data tabel diatas menunjukkan, pada masa simpan 1 hari saat penambahan konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm), pada penambahan konsentrasi 200ppm, dengan 400ppm tidak memberikan pengaruh yang nyata. Pada masa simpan 7 hari 200ppm, 400ppm, 600ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm), tetapi pada penambahan konsentrasi 400ppm dengan 600ppm tidak memberikan pengaruh yang nyata. Selanjutnya pada masa simpan 14 hari penambahan 200ppm, 400ppm, 600ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm). Parameter bilangan Iod semakin tinggi konsentrasi

ekstrak yang ditambahkan, maka bilangan Iod minyak ikan semakin tinggi, yang menunjukkan minyak ikan akan semakin baik. Peningkatan bilangan iod ini dikarenakan hydrogen peroksida yang terbentuk pada tahap propagasi dimana minyak yang kontak langsung dengan udara dan radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida. Hal ini disebabkan karena senyawa bioaktif keong mas yang bertindak sebagai antioksidan dapat menghambat terjadinya proses oksidasi dengan cara memecahkan rantai oksidatif yang bereaksi dengan radikal bebas. Menurut Kurniati (2013), mekanisme alkaloid sebagai antioksidan yaitu dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas.

Perlakuan terbaik dari tabel interaksi konsentrasi ekstrak keong terhadap masa simpan bilangan iod adalah pada konsentrasi 600ppm dengan bilangan peroksida sebesar 4,73% pada hari pertama. Diagram batang perubahan bilangan iod selama masa simpan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram Batang Bilangan Iod

Diagram batang pada Gambar 7 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan pada minyak ikan lemuru, bilangan iod juga semakin tinggi secara signifikan. Hal ini terjadi karena ekstrak kasar *Pomecea Canalicullata L* diduga mampu mengikat radikal bebas sehingga penurunan kualitas minyak ikan lemuru dapat dihambat. Bilangan iod merupakan parameter

banyaknya ikatan rangkap pada minyak atau lemak. Semakin banyak ikatan rangkap maka semakin mudah minyak teroksidasi karena berikatan dengan oksigen membentuk radikal bebas. Adanya antioksidan dalam minyak ikan mampu mencegah terbentuknya radikal bebas (Djarkasi *et al.*, 2011). Oleh karena itu penambahan ekstrak *Pomecea Canalicullata L* yang memiliki aktivitas antioksidan mampu menghambat penurunan bilangan Iod.

4.2.1.2 Uji TBA (*Thiobarbituric Acid*)

Uji asam *Thiobarbituric Acid* (TBA) dipakai untuk menentukan adanya ketengikan dimana lemak yang tengik akan bereaksi dengan asam *Thiobarbituric Acid* menghasilkan warna merah dan intensitas warna ini menunjukkan derajat ketengikan (Winarno, 1984).

Uji TBA merupakan salah satu uji empiris yang juga digunakan untuk mendeteksi oksidasi pada minyak atau lemak. Senyawa asam *thiobarbituric* secara spesifik dapat bereaksi dengan malanaldehid dan membentuk kronogen berwarna merah yang kemudian dapat dibaca menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 528 nm (Alle dan Hamillton, 1994). Senyawa malanaldehid merupakan hasil dekomposisi peroksida yang sangat menentukan minyak. Semakin tinggi jumlah malanaldehid, maka nilai TBA semakin tinggi. Hal ini dapat disimpulkan bahwa kualitas minyak ikan akan semakin menurun (Paramitha, 2012). Hasil Uji TBA pada minyak ikan lemuru dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil rata – rata nilai TBA pada minyak ikan lemuru dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7 . Hasil Analisa Rata – rata nilai TBA dari Minyak Ikan Lemuru

Masa simpan	Konsentrasi Ekstrak Keong Mas			
	0 ppm	200ppm	400ppm	600ppm
1 hari	7,10	5,61	4,96	3,62
7 hari	7,94	5,15	3,92	3,31
14 hari	8,13	4,35	3,55	3,10

Pengaruh penambahan ekstrak kasar keong mas terhadap masa simpan nilai TBA minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Pengaruh Masa Simpan Terhadap Nilai TBA

Perlakuan	Total	Rata – rata	Notasi
Hari 1	63,94	5,32	c
Hari 7	61,01	5,08	b
Hari 14	57,44	4,78	a

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata
Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Dari tabel diatas menunjukkan, pada masa simpan 1 hari dengan masa simpan 7 hari memberikan pengaruh yang berbeda nyata, pada masa simpan 7 hari dengan 14 hari juga memberikan pengaruh yang berbeda nyata, yang ditunjukkan oleh perbedaan notasi masing – masing. Dari tabel diatas menunjukkan bahwa pemberian masa simpan yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai TBA minyak ikan. Nilai TBA dari tabel diatas semakin bertambahnya masa simpan nilai TBA semakin menurun, penurunan nilai TBA ini akibat proses oksidasi pada ikatan rangkap asam lemak tak jenuh sehingga proses tersebut menyebabkan ketidak jenuhan minyak berkurang yang menyebabkan penurunan nilai TBA pada minyak ikan lemuru.

Pengaruh penambahan ekstrak kasar keong mas dengan konsentrasi yang berbeda terhadap nilai TBA minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Pengaruh Konsentrasi Terhadap Nilai TBA

Perlakuan	Total	Rata – rata	Notasi
0 ppm	69,54	7,72	d
200 ppm	45,35	5,03	c
400 ppm	37,35	4,15	b
600 ppm	30,15	3,35	a

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata
Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Dari tabel diatas menunjukkan, pada penambahan konsentrasi 200ppm, 400ppm, 600ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm). Dan pada konsentrasi 200ppm dengan 400ppm memberikan pengaruh yang nyata, selanjutnya pada penambahan konsentrasi 400ppm dengan 600ppm memberikan pengaruh yang nyata, ditunjukkan oleh perbedaan notasi masing – masing. Tabel diatas juga dapat diartikan bahwa penambahan konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai TBA. Hal ini menunjukkan bahwa jumlah melanoldehid yang terbentuk dari reaksi TBA lebih kecil karena terbatasnya jumlah hidropersida yang tersedia. Penurunan nilai TBA ini dikarenakan hydrogen peroksida yang terbentuk pada tahap propagasi dimana minyak yang kontak langsung dengan udara dan radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida. Menurut Kurniati (2013), mekanisme alkaloid sebagai antioksidan adalah dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas. Mekanisme ini menunjukkan bahwa alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer. Antioksidan primer yaitu berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena ia dapat merubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang dapat mengurangi dampak negatifnya karena belum sempat bereaksi Wardanu (2016).

Berdasarkan analisa sidik ragam ANOVA pada Lampiran 3 terdapat adanya interaksi antara konsentrasi dan masa simpan terhadap angka TBA sehingga perlu dilakukan uji lanjut yaitu uji BNT_{0,05}. Pengaruh interaksi konsentrasi dan masa simpan terhadap nilai TBA minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 10.

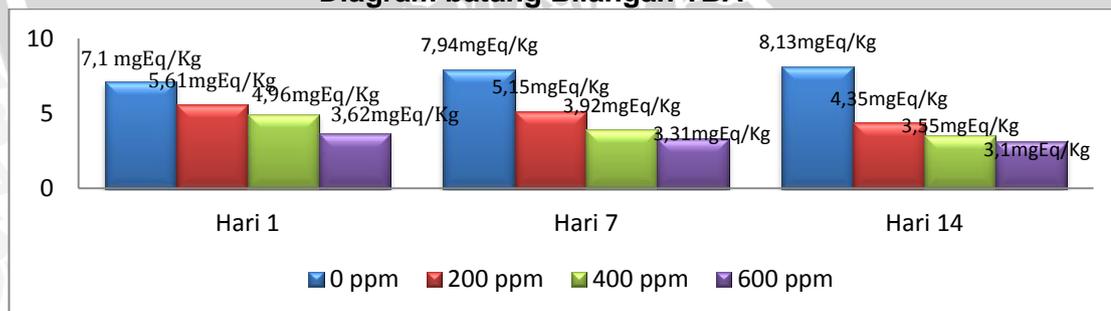
Tabel 10. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Ekstrak Kasar Keong Mas dengan Masa Simpan terhadap Nilai TBA

Konsentrasi	Masa simpan					
	1 hari		7 hari		14 hari	
Oppm(blanko)	7,10 mgEq/Kg	(i)	7,94 mgEq/Kg	(j)	8,13 mgEq/Kg	(k)
200 ppm	5,61 mgEq/Kg	(h)	5,15 mgEq/Kg	(g)	4,35 mgEq/Kg	(e)
400 ppm	4,96 mgEq/Kg	(f)	3,92 mgEq/Kg	(d)	3,55 mgEq/Kg	(c)
600 ppm	3,62 mgEq/Kg	(c)	3,31 mgEq/Kg	(b)	3,10 mgEq/Kg	(a)

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata
Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Data dari Tabel 10 menunjukkan, baik pada masa simpan 1 hari, 7 hari dan 14 hari, setiap penambahan konsentrasi ekstrak 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm menghasilkan nilai TBA yang berbeda nyata terhadap kontrol (0 ppm), yang ditunjukkan oleh perbedaan masing – masing notasi. Parameter bilangan TBA semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan, maka akan menurunkan nilai TBA minyak ikan, maka kualitas minyak ikan akan semakin baik. Perlakuan terbaik dari tabel interaksi konsentrasi ekstrak keong terhadap masa simpan bilangan TBA adalah pada konsentrasi 600ppm, dengan bilangan TBA sebesar 3,10 mgEq/Kg pada masa simpan 14 hari. Diagram batang perubahan Nilai TBA selama masa simpan dapat dilihat pada Gambar 8.

Diagram batang Bilangan TBA



Gambar 8. Diagram Batang Bilangan TBA

Diagram batang diatas menunjukkan bahwa selama proses penyimpanan terjadi peningkatan nilai TBA pada minyak ikan lemuru. Gambar 8 juga menunjukkan bahwa setiap penambahan ekstrak *Pomocea Canaliculla L* dalam minyak ikan lemuru mampu menurunkan nilai TBA pada minyak ikan,

sehingga selama proses penyimpanan sampai hari ke 14 nilai TBA yang merupakan parameter ketengikan dapat dihambat. Kerusakan minyak ikan diawali dari reaksi oksidasi dan asam - asam lemak dalam minyak, yang kemudian terbentuk peroksida dan hidroperoksida dan pada tahap selanjutnya terbentuk aldehid (malanaldehid) dan keton (Ketaren, 1986). Mekanisme Oksida dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya temperatur, tipe asam lemak, katalis, dan bentuk ikatan ganda serta jumlah oksigen (Gordon, 1990).

4.2.1.3 Uji Bilangan Peroksida

Pengukuran angka peroksida pada dasarnya adalah pengukuran kadar peroksida dan hidroperoksida yang terbentuk pada tahap awal reaksi oksidasi lemak. Bilangan peroksida yang tinggi mengindikasikan lemak atau minyak sudah mengalami oksidasi, namun pada angka yang lebih rendah bukan selalu berarti menunjukkan kondisi oksidasi yang masih dini. Angka peroksida rendah bisa disebabkan laju pembentukan peroksida baru lebih kecil dibandingkan dengan laju degradasinya menjadi senyawa lain, mengikat kadar peroksida cepat mengalami degradasi dan bereaksi dengan zat lain (Raharjo, 2006).

Uji peroksida digunakan untuk mengetahui tingkat kerusakan struktur suatu minyak (lemak). Asam lemak tak jenuh pada minyak ikan dapat mengikat oksigen pada ikatan rangkapnya dan membentuk peroksida. Semakin kecil angka peroksida, kualitas minyak ikan akan semakin bagus (Isnaini, 2013). Hasil uji Peroksida minyak ikan lemuru dapat dilihat pada Lampiran 4. Hasil analisa rata – rata bilangan peroksida dari minyak ikan lemuru dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil Analisa Rata – rata Bilangan Peroksida dari Minyak Ikan Lemuru

Masa simpan	Konsentrasi Ekstrak Kasar Keong Mas			
	0 ppm	200ppm	400ppm	600ppm
1 hari	1,93	1,48	1,47	1,36
7 hari	2,07	2,04	1,96	1,91
14 hari	2,16	2,05	1,84	1,79

Pengaruh penambahan ekstrak kasar keong mas terhadap masa simpan bilangan peroksida pada minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Pengaruh Masa Simpan Terhadap Bilangan Peroksida

Perlakuan	Total	Rata – rata	Notasi
Hari 1	18,76	1,56	a
Hari 7	23,96	1,99	b
Hari 14	23,55	1,96	c

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata
Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Dari tabel diatas menunjukkan pada masa simpan 1 hari dengan 7 hari memberikan pengaruh yang berbeda nyata, dan masa simpan pada 7 hari dengan 14 memberikan pengaruh yang berbeda nyata, yang ditunjukkan oleh perbedaan pada masing – masing notasi. Dari tabel diatas juga dapat dilihat bahwa semakin bertambahnya masa simpan maka bilangan peroksida semakin meningkat.

Pengaruh penambahan ekstrak kasar keong mas terhadap konsentrasi bilangan peroksida minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Pengaruh Konsentrasi Terhadap Bilangan Peroksida

Perlakuan	Total	Rata – rata	Notasi
0 ppm	18,51	2,05	d
200 ppm	16,75	1,86	c
400 ppm	15,83	1,75	b
600 ppm	15,18	1,68	a

Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata
Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Dari tabel diatas menunjukkan, pada penambahan konsentrasi 200ppm, 400ppm, 600ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm). Dan pada konsentrasi 200ppm dengan 400ppm meberikan pengaruh yang nyata, selanjutnya pada konsentrasi 400ppm dengan 600ppm juga memberikan pengaruh yang nyata, yang ditunjukkan oleh perbedaan notasi masing – masing. Dapat diartikan dari tabel diatas, bahwa penambahan konsentrasi memberikan pengaruh yang nyata terhadap bilangan peroksida. Penurunan bilangan peroksida ini dikarenakan hydrogen peroksida yang terbentuk pada tahap propagasi dimana minyak yang kontak langsung dengan udara dan radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida.

Berdasarkan tabel ANOVA terdapat adanya interaksi antara konsentrasi dan masa simpan terhadap bilangan peroksida sehingga perlu dilakukan dengan uji lanjut BNT_{0,05}. Pengaruh interaksi dan masa simpan terhadap bilangan peroksida minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Ekstrak Kasar Keong Mas dengan Masa Simpan terhadap Bilangan Peroksida

Konsentrasi	Masa simpan		
	1 hari	7 hari	14 hari
Oppm(blanko)	1,93 mEq/Kg (e)	2,07 mEq/Kg (g)	2,16 mEq/Kg (h)
200 ppm	1,48 mEq/Kg (b)	2,04 mEq/Kg (g)	2,05 mEq/Kg (g)
400 ppm	1,47 mEq/Kg (b)	1,96 mEq/Kg (ef)	1,84 mEq/Kg (d)
600 ppm	1,36 mEq/Kg (a)	1,91 mEq/Kg (e)	1,79 mEq/Kg (c)

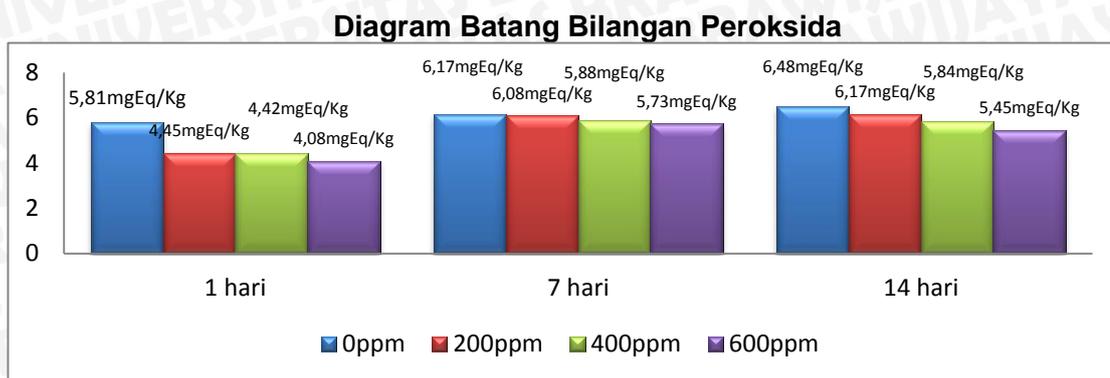
Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata
Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan nyata

Tabel 14 menunjukkan, pada hari 1 penambahan konsentrasi pada 200 ppm, 400 ppm, 600ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm), tetapi pada konsentrasi 200ppm dengan 400ppm tidak memberikan pengaruh yang nyata, dan pada konsentrasi 400ppm dengan 600ppm memberikan pengaruh yang nyata. Dan pada masa simpan 7 hari konsentrasi 200ppm tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm), tetapi

pada konsentrasi 400ppm, 600ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm). Pada masa simpan 14 hari konsentrasi 200ppm, 400ppm, 600ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol, selanjutnya pada konsentrasi 200ppm dengan 400ppm memberikan pengaruh yang nyata, pada konsentrasi 400ppm dengan 600ppm memberikan pengaruh yang nyata, yang ditunjukkan oleh perbedaan notasi masing – masing.

Parameter bilangan peroksida semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan, maka akan menurunkan bilangan peroksida pada minyak ikan maka kualitas minyak ikan akan semakin baik. Sesuai dengan pernyataan Isnaini (2013), semakin kecil bilangan peroksida, maka kualitas minyak ikan semakin bagus. Terjadinya penurunan bilangan peroksida diduga karena senyawa bioaktif ekstrak keong mas yang bertindak sebagai antioksidan yaitu senyawa golongan alkaloid dapat menghambat laju oksidasi dari minyak ikan lemuru. Menurut Kurniati (2013), mekanisme alkaloid sebagai antioksidan yaitu dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas.

Oleh karena itu konsentarsi yang terbaik adalah konsentrasi 600ppm, perlakuan terbaik dari tabel interaksi konsentrasi ekstrak keong terhadap masa simpan bilangan peroksida adalah pada konsentrasi 600ppm, dengan bilangan peroksida sebesar 1,36 mEq/Kg pada hari pertama. Diagram batang perubahan bilangan peroksida selama masa penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram Batang Bilangan Peroksida

Berdasarkan diagram batang diatas dapat diketahui bahwa seiring masa penyimpanan terjadi peningkatan bilangan peroksida. Terjadinya peningkatan bilangan peroksida menunjukkan bahwa terjadi penurunan kualitas minyak ikan selama proses penyimpanan. Menurut Ketaren (1986), proses pembentukan peroksida dipengaruhi oleh beberapa faktor antar lain cahaya, suasana asam, kelembapan udara, katalis, kandungan asam lemak tidak jenuh dan jumlah radikal bebas pada minyak. Gambar 9 menunjukkan bahwa setiap penambahan konsentrasi ekstrak kasar keong mas dalam minyak ikan terbukti mampu menghambat peningkatan bilangan peroksida, pada masa simpan 1 hari, 7 hari, 14 hari. Hal ini ekstrak yang ditambahkan mampu menghambat proses oksidasi pada minyak ikan pada masa penyimpanan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Adyani *et al.*, (1997), yakni semakin besar konsentrasi ekstrak yang ditambahkan maka semakin besar pula daya hambat terhadap laju peningkatan bilangan peroksida minyak ikan. Hasil penghambatan oksidasi menurut Santoso *et al.*,(2004) yang menyebutkan bahwa oksidasi yang terjadi pada emulsi minyak ikan selama proses penyimpanan dapat ditekan oleh aktivitas antioksidan.

4.3 Identifikasi Senyawa Bioaktif

Untuk mengetahui komponen – komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak keong mas maka dilakukan indentifikasi bioaktif melalui analisis

LCMS, yang tahap analisisnya melalui pemisahan ekstrak dengan kromatografi kolom, analisis spektrofotometri *Ultraviolet visible* (UV-Vis).

4.3.1 Kromatografi Kolom

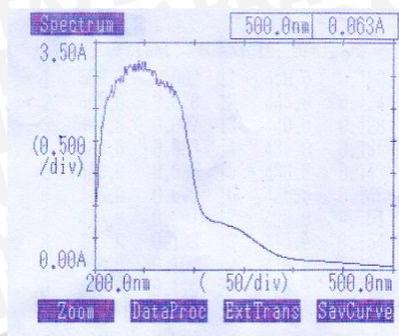
Ekstrak kasar *Pomacea canaliculata* L dipisahkan dengan menggunakan metode kromatografi kolom dengan fase gerak menggunakan campuran pelarut non polar dengan polar yaitu berupa kloroform dan metanol p.a dengan perbandingan 5:5, 6:4, 7:3, 8:2. Setelah itu didapatkan hasil dari identifikasi kromatografi kolom dari ekstrak *Pomacea canaliculata* L yaitu fraksi 2 dan fraksi 9.



Gambar 10. Identifikasi Kromatografi Kolom

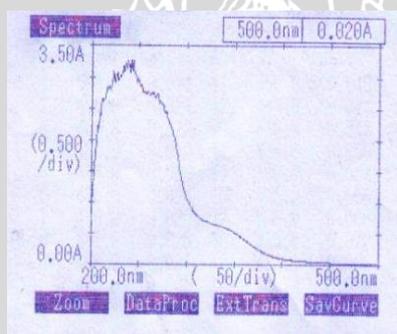
4.3.2 Analisa Spektrofotometri *Ultraviolet Visible* (UV – Vis)

Analisa senyawa antioksidan dengan metode UV – Vis terhadap ekstrak *Pomacea canaliculata* L dari fraksi 2 dan fraksi 9. Pada fraksi 2 memberikan satu pita serapan pada panjang gelombang 252,5 nm dengan absorbansi 3,436. Hasil analisa senyawa antioksidan dengan metode UV – Vis fraksi 2 dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Hasil Spektrofotometri UV – Vis fraksi 2

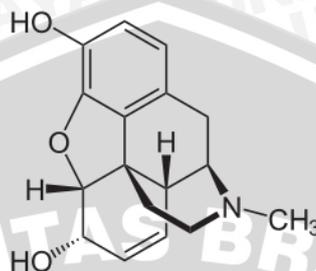
Sedangkan, hasil analisis spektrofotometri UV – Vis fraksi 9 memberikan satu pita serapan pada panjang gelombang 238,5 nm dengan absorbans 3,263. Hasil analisa senyawa antioksidan dengan metode UV – Vis fraksi 9 dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Hasil Spektrofotometri UV – Vis terhadap Fraksi 9

Senyawa yang mempunyai panjang gelombang sekitar 200 nm di duga adalah senyawa alkaloid (Creswell *et al.*, 1982). Hal ini diperkuat oleh Kozlov dan Gusak (2007), yang menyebutkan bahwa senyawa alkaloid mempunyai panjang gelombang antara 224 – 263 nm dan 283 – 291 nm. Menurut Tenco *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa hasil uji spektrofotometer UV-Vis isolate fraksi 7 memberikan serapan panjang gelombang 238,5 nm yang menunjukkan terjadinya transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \sigma^*$ yang mengindikasikan adanya gugus C=O dan N-H diduga adalah senyawa alkaloid.

Komponen alkaloid didefinisikan sebagai substansi dasar yang memiliki satu atau lebih atom nitrogen yang bersifat basa dan tergabung dalam suatu sistem siklis, yaitu cincin heterosiklik (Harborne 1984). Struktur kimia Alkaloid dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Struktur Kimia Dasar Alkaloid

Secara umum alkaloid sering digunakan dalam bidang pengobatan (Harborne, 1996). Alkaloid dapat berfungsi sebagai zat antioksidan hal ini didukung oleh penelitian uji antioksidan (Hanani dkk, 2005). Senyawa alkaloid dapat bersifat sebagai bioaktif penolak (*repellent*) nyamuk (Mustanir dan Rosnani,2008).

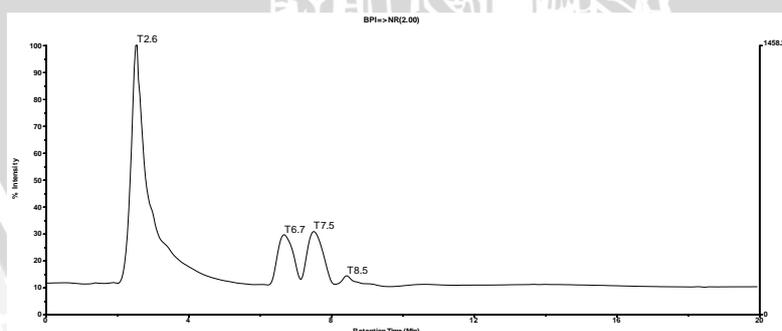
4.3.3 Analisa Liquid Chromatography – Mass Spectrometry (LC – MS)

Analisa senyawa antioksidan dengan uji LC – MS menghasilkan beberapa *Retention Time (RT)*. Hasil pengujian LC – MS dilakukan terhadap fraksi 2 dan fraksi 9. Fraksi 2 menghasilkan empat *Retention Time (RT)* diantaranya 2.56; 6.70; 7.52 dan 8.45. Diduga senyawa pada waktu retensi 2.56 memiliki berat molekul 367.352 g/mol dengan rumus kimia $C_{20}H_{17}NO_6$ adalah senyawa *Bicuculine* merupakan *phthalide-isoquinoline* yang kompetitif peka terhadap cahaya GABA, senyawa ini dapat digunakan untuk sakit epilepsi (Taizhuo, 2016). Pada waktu retensi 6.70 didapatkan senyawa yang diduga adalah senyawa *Sanguinarine* memiliki berat molekul 339.09 g/mol dengan rumus molekul $C_{20}H_{14}NO_4$. *Sanguinarine* digunakan oleh suku asli Amerika untuk

mengobati kondisi kulit seperti kutil dan pertumbuhan lainnya, dan juga sebagai pembersih darah. Penelitian telah menunjukkan bahwa alkaloid *Sanguinarine* memiliki anti-oksidan, anti-tumor, anti-bakteri, dan anti-inflamasi.

Menurut Hao *et al.*, (2015) *Sanguinarine* mempunyai fungsi sebagai anti inflamasi dan antioksidan. Diperkuat dengan penelitian Jeng *et al.*, (2007), *sanguinarine* memiliki sifat antimikroba, antioksidan serta anti-inflamasi. *Sanguinarine* juga menunjukkan antitumor dan kegiatan anti-inflamasi pada hewan percobaan dan dapat menghambat fungsi neutrofil, termasuk degranulasi dan fagositosis in vitro.

Pada waktu retensi 7.52 menit didapatkan senyawa yang diduga adalah senyawa *Man5GlcNAc – IV* dengan rumus kimia $C_{38}H_{63}NO_{31}$ dengan berat molekul 1031.35 g/mol merupakan golongan Oligosakarida. Pada waktu retensi 8.45 menit diduga sebagai senyawa *Bumetanide* dengan rumus kimia $C_{17}H_{20}N_2S$ dengan berat molekul 364,417 g/mol merupakan golongan steroid yang dapat digunakan sebagai obat gagal jantung (Wikipedia, 2016). Hasil analisa LC – MS dengan *Retention Time (RT)* fraksi 2 dapat dilihat pada Gambar 14

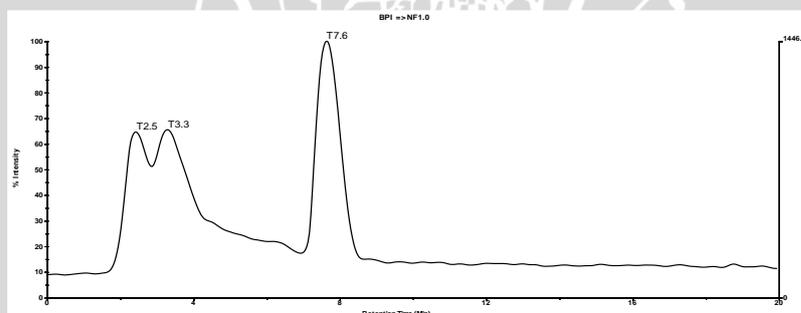


Gambar 14. Liquid Chromatography – Mass Spectrometry (LC – MS) Fraksi 2

Pada fraksi 9 menghasilkan 3 *Retention Time (RT)* yaitu 2.45; 3.31 dan 7.64. Fraksi 9 bisa diidentifikasi beberapa senyawa diantaranya yaitu pada retensi waktu 2.45 menit didapatkan senyawa yang diduga adalah senyawa *Candesartan* dengan rumus kimia $C_{24}H_{20}N_6O_3$ dengan berat molekul 440.15

g/mol. *Candesartan* adalah golongan obat penghambat reseptor angiotensin untuk mengobati penyakit hipertensi atau tekanan darah tinggi. Dengan turunnya tekanan darah, maka masalah-masalah kesehatan lain yang terkait dapat dicegah, seperti serangan jantung, stroke, dan kerusakan pembuluh darah (Drugs, 2016).

Pada retensi waktu 3.31 menit didapatkan senyawa yang diduga adalah senyawa *Ouabain* dengan rumus kimia $C_{29}H_{44}O_{12}$ dan berat molekul 584.28 g/mol. *ouabain* adalah obat yang menghambat pompa Na^+,K^+ melalui persaingan merebut tempat pengikatan K Transpor Glikosida jantung (steroid kar- diotoniik) (Dawn *et al.*, 1996). Pada retensi waktu 7.64 menit diduga senyawa yang didapatkan adalah *Man6GlcNAc-VI* memiliki rumus kimia $C_{44}H_{75}HO_{36}$ dengan berat molekul 1193.40 g/mol merupakan golongan oligosakarida. Hasil analisa LC – MS dengan *Retention Time (RT)* fraksi 9 dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 15. *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry (LC – MS) Fraksi 9*