

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keong mas atau *golden apple snail* (GAS) merupakan moluska air tawar yang berasal dari dataran hujan di sepanjang Sungai Paraguay dan Parana yang memotong Paraguay, Brazil, Bolivia dan Argentina. Di Asia, keong mas pertama kali dikenal sebagai hama padi di Taiwan sejak tahun 1979, dan kini telah menjadi hama padi paling merugikan di negara-negara penyedia beras, seperti Filipina, Vietnam, Thailand dan Indonesia (Joshi, 2005).

Pemanfaatan keong mas saat ini tidak terbatas sebagai bahan pangan dan pakan saja, tetapi juga sebagai obat untuk penyakit liver (Sulistiono, 2007). Nurjanah *et al.* (1996) menambahkan bahwa keong mas juga digunakan sebagai obat untuk penyakit kulit dan penyakit ayan. Kajian ilmiah lebih mendalam mengenai khasiat keong mas bagi kesehatan manusia masih belum banyak dilakukan. Semuanya ini masih merupakan pembuktian empiris dari pengalaman para pengguna, sehingga perlu dilakukan pengujian ilmiah lebih lanjut terhadap keong mas. Pengujian ilmiah yang perlu dilakukan khususnya uji aktivitas antioksidan dan uji kualitatif komponen bioaktifnya, mengingat keong mas berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku produk nutraceutical.

Antioksidan adalah komponen yang dapat menunda atau mencegah oksidasi lipid, asam nukleat, atau molekul-molekul lain, dengan cara menghambat inisiasi atau propagasi reaksi oksidasi berantai (Wang, 2006). Rohman dan Riyanto (2005) mendefinisikan antioksidan sebagai senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh yang dapat menyebabkan penyakit karsinogenesis, kardiovaskuler dan penuaan. Musthafa *et al.* (2000) menyatakan

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian diatas dapat dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

- Bagaimana pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak kasar *Pomacea canaliculata* L yang diberikan terhadap tingkat oksidasi minyak ikan lemuru (*Sardinella sp*) ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah

- Untuk mengetahui pengaruh ekstrak kasar *Pomacea canaliculata* L yang ditambahkan kedalam minyak ikan lemuru dalam menghambat oksidasi minyak ikan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah :

- Diharapkan dapat memberikan informasi baru kepada peneliti – peneliti selanjutnya tentang keong mas (*Pomacea canaliculata* L.) sebagai antioksidan alami.
- Secara umum, diharapkan hasil penelitian ini nantinya dapat digunakan untuk menambah nilai guna dari keong mas.

1.5 Hipotesis

Hipotesi yang dapat diambil dari penelitian ini :

H0 : Konsentrasi ekstrak kasar *Pomacea canaliculata* L dan masa simpan minyak tidak memberikan pengaruh nyata terhadap tingkat oksidasi minyak ikan lemuru (*Sardinella sp*).

H1 : Konsentrasi ekstrak kasar *Pomacea canaliculata* L dan masa simpan minyak memberikan pengaruh nyata terhadap tingkat oksidasi minyak ikan lemuru (*Sardinella sp*).

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian pendahuluan dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan Universitas Brawijaya, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan Universitas Brawijaya, Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA universitas Brawijaya, pada Juni sampai September 2015. Penelitian Utama dilakukan di Fakultas Perikanan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan Universitas Brawijaya, Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA universitas Brawijaya, Laboratorium Kimia LIPI Serpong yang berlangsung pada bulan November – Januari 2016.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diskripsi dan Klasifikasi Keong mas (*Pomacea canaliculata* L)

Keong mas atau *golden apple snail* (GAS) merupakan salah satu jenis moluska air tawar yang berasal dari dataran hujan di sepanjang Sungai Paraguay dan Parana yang memotong Paraguay, Brazil, Bolivia dan Argentina. Di Asia, keong mas pertama kali dikenal di Taiwan pada tahun 1979 dan saat ini telah tersebar luas di seluruh penjuru benua Asia. Seiring dengan proses penyebarannya, keong mas kini telah menjadi salah satu hama padi yang paling berbahaya di negara-negara penghasil beras di Asia, seperti Filipina,

Vietnam, Thailand dan Indonesia (Joshi, 2005).

Klasifikasi keong mas (*Pomacea canaliculata* L) menurut Lamarck (1822) adalah sebagai berikut, bentuk morfologi keong mas dapat di lihat pada Gambar 1.

Filum : Molusca

Kelas : Gastropoda

Subkelas : Prosobranchiata

Ordo : Mesogastropoda

Famili : Ampullariidae

Genus : *Pomacea*

Spesies : *Pomacea canaliculata*

2.2 Kandungan Senyawa Bioaktif Keong mas

Keong mas diketahui mengandung berbagai jenis bahan aktif yang berguna bagi manusia. Menurut Susanto (2010), hasil uji fitokimia dari keong mas adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Keong mas

Uji Fitokimia	Jenis Pelarut		
	Kloroform	Etil Asetat	Metanol
Alkaloid	-	-	+
Steroid/triterpenoid	+	+	+
Flavonoid	-	+	+
Saponin	-	-	-

2.2.1 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). Komponen alkaloid ini hanya ditemukan pada ekstrak kasar metanol (polar) keong mas. Alkaloid umumnya larut pada pelarut organik (non polar), sedangkan beberapa kelompok pseudoalkaloid dan protoalkaloid larut dalam air (polar) (Lenny, 2006).

2.2.2 Steroid/triterpenoid

Pengujian yang telah digunakan secara luas untuk mendeteksi triterpenoid adalah dengan pereaksi Liebermann-Burchard, yang memberikan warna biru-hijau pada triterpenoid dan steroid. Triterpenoid merupakan komponen dengan kerangka karbon yang tersusun oleh 6 unit isoprene dan dibuat secara biosintesis dari skualen (C30 hidrokarbon asiklik). Triterpenoid memiliki struktur siklik yang kompleks, sebagian besar terdiri atas alkohol, aldehid, atau asam karboksilat. Triterpenoid tidak berwarna, jernih, memiliki titik lebur tinggi dan merupakan komponen aktif yang sulit dikarakterisasi (Harborne, 1984).

Flavonoid sangat efektif untuk digunakan sebagai antioksidan (Astawan dan Kasih 2008), dan hal ini pun terbukti dari hasil penelitian Bernardi *et al.* (2007) yang menunjukkan bahwa seluruh komponen flavonoid yang diisolasi dari *Hypericum ternum* memiliki aktivitas antioksidan, walaupun kapasitas peredaman radikal bebas DPPH oleh masing-masing komponen flavonoid tersebut berbeda-beda.

2.3 Pelarut

Menurut Susanto (1999), jumlah pelarut berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, tetapi jumlah yang berlebihan tidak akan mengestak lebih banyak, dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja optimal. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat – syarat sebagai berikut murah dan mudah diperoleh, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif, dan tidak memepengaruhi kasiat.

Menurut Purwanti (2009), metanol termasuk dalam menstrum (agen ekstraksi) golongan alkohol. Alkohol yang biasanya digunakan sebagai menstrum dalam ekstraksi adalah golongan alkohol rendah atau yang memiliki rantai atom C pendek seperti metanol, etanol, propanol dan butanol. Metanol lebih polar dibandingkan dengan etanol karena memiliki jumlah atom C yang lebih sedikit, sehingga senyawa yang terikat oleh kedua pelarut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda.

2.3.1 Etil Asetat

Menurut Azzura *et al.*, (2015) etil asetat adalah cairan jernih, tak berwarna, berbau khas yang digunakan sebagai pelarut tinta, perekat dan resin. Jika dibandingkan dengan etanol, etil asetat memiliki koefisien distribusi yang lebih tinggi dibanding etanol termasuk kelarutannya dalam gasoline. Selain dari penggunaannya sebagai pelarut, etil asetat dapat berfungsi sebagai bahan aditif untuk meningkatkan bilangan oktan pada bensin serta dapat berguna sebagai bahan baku kimia serba guna. Pembuatan etil asetat biasanya dilakukan dengan esterifikasi

2.3.2 Kloroform

Menurut HAM (2006), kloroform merupakan salah satu senyawa yang mempunyai rumus kimia CHCl_3 zat cair mudah menguap, sukar terbakar (tetapi uapnya mudah terbakar), tidak larut dalam air tetapi larut dalam alkohol dan eter, uapnya bersifat

membius dan terkena udara dan cahaya dapat membentuk gas fosgen yang beracun. Kloroform digunakan untuk pembuatan senyawa flirokarbon, sebagai pelarut (cat) dan sebagai anestesi.

2.4 Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella Longiceps*)

Minyak merupakan trigliserida yang tersusun atas tiga unit asam lemak, berwujud cair pada suhu kamar (25°C) dan lebih banyak mengandung asam lemak tidak jenuh sehingga mudah mengalami oksidasi. Minyak yang berbentuk padat biasa disebut dengan lemak. Minyak dapat bersumber dari tanaman, misalnya minyak zaitun, minyak jagung, minyak kelapa. Minyak juga bersumber dari hewan seperti minyak ikan lemuru, minyak ikan paud dan lain – lain.

2.5 Antioksidan

Antioksidan adalah bahan yang digunakan untuk mencegah oksidasi lemak, misalnya digunakan pada bahan pangan yang akan digoreng, makanan dari biji-bijian, dan makanan-makanan lain yang mengandung banyak lemak dan mudah tengik (Winarno, 1980).

Berdasarkan aktivitasnya, antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan primer dan sekunder. Antioksidan primer adalah suatu zat yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal yang melepaskan hidrogen. Zat - zat yang termasuk golongan ini dapat berasal dari alam dan dapat pula buatan.

2.5.1 Fungsi Antioksidan

Menurut Kunchahyo (2007), fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya lemak dan minyak, memperkecil terjadinya kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi.

2.5.2 Uji aktivitas antioksidan (Uji DPPH)

Adanya senyawa antioksidan dapat diketahui melalui uji aktivitas antioksidan. Prinsipnya adalah evaluasi terhadap adanya aktivitas penghambatan proses oksidasi oleh senyawa-senyawa antioksidan yang terdapat dalam bahan pangan atau contoh ekstrak bahan alam.

Metode yang umum dipakai adalah dengan menggunakan radikal bebas *diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH) yang nantinya akan bereaksi dengan senyawa antioksidan menghasilkan *diphenylpicrylhydrazine* (non radikal) yang diindikasikan dengan perubahan warna ungu menjadi kuning pucat (Molyneux, 2004). DPPH adalah radikal bebas yang bersifat stabil dan beraktivitas dengan cara mendelokalisasi elektron bebas pada suatu molekul, sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas yang lain. Proses delokalisasi ini ditunjukkan dengan adanya warna ungu (violet) pekat yang dapat dikarakterisasi pada pita absorpsi dalam pelarut etanol pada panjang gelombang 520 nm (Molyneux, 2004). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan warna DPPH dari ungu menjadi kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm.

3. METODE PENELITIAN

3.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mendapatkan ekstrak keong mas dan menguji aktivitas antioksidan pada ekstrak keong mas. Penelitian pendahuluan ini dibagi menjadi dua tahap. Pada tahap pertama dilakukan ekstraksi keong mas (*Pomacea canaliculata* L) dan tahap kedua pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak keong mas dengan metode DPPH dan penelitian utama adalah uji Iod, Uji Bilangan Peroksida, Uji angka TBA, Uji LCMS.

3.2 Penelitian Utama

3.2.1 Uji bilangan Peroksida (AOAC, 1990).

Metode uji bilangan peroksida pada minyak ikan menggunakan metode yang digunakan oleh Rasyid (2003). Sampel sebanyak 5 ml dimasukkan kedalam erlenmeyer 250 ml, ditambahkan 30 ml pelarut campuran asam asetat glasial dan kloroform dengan perbandingan 3:2 lalu dihomogenkan. Kemudian ditambahkan 0,5 ml KI jenuh sebagai katalisator reaksi dan didiamkan selama 2 menit pada ruangan gelap dengan sesekali dikocok. Setelah itu larutan ditambahkan 30 ml aquades. Langkah terakhir larutan dititrasi dengan sodium tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,01 N.

3.2.2 Uji Bilangan Iod (Sudarmadji *et al*, 2007).

Uji bilangan iod menggunakan metode yang diacu oleh Parhamitha (2012). Sampel sebanyak 2 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer tertutup kemudian ditambahkan 20 ml kloroform dan 25 ml reagen yodium bromide, setelah itu didiamkan dalam tempat gelap selama 30 menit. Selanjutnya, larutan ditambahkan 10 ml larutan KI 15% dan 100 ml aquades mendidih. Setelah itu larutan segera dititrasi dengan larutan Natrium Thioisulfate ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1 N hingga berwarna kuning pucat. Setelah itu ditambahkan 2 ml larutan pati, dan dilanjutkan dititrasi hingga warna biru hilang.

3.2.3 Uji TBA (*Thiobarbituric Acid*) (Sudarmadji *et al.*, 2007).

Uji TBA digunakan untuk menentukan adanya ketengikan. Lemak atau minyak yang tengik akan bereaksi dengan asam tiobarbiturat menghasilkan warna merah. Intensitas warna yang dihasilkan menunjukkan derajat ketengikan (Kritianingrum, 2005).

Prosedur TBA yaitu 3 g sampel dimasukkan ke dalam tabung destilasi, kemudian dicuci dengan 48,5 ml aquadest dan ditambahkan 1,5 ml HCL 4 N. Setelah itu didestilasi hingga diperoleh destilat sebanyak 50 ml. Sebanyak 5 ml dari destilat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml reagen TBA. Setelah itu dipanaskan selama 30 menit dan didinginkan, kemudian dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 528 nm.

3.3 Pemisahan dengan Kromatografi Kolom

Pertama dilakukan pengisian kolom dengan cara bawah kolom diisi dengan sedikit kapas. Kemudian diisi dengan bubuk *silica gel* sebagai fase diam. Untuk membuat bubuk *silica gel* yaitu *silica gel* sebanyak 40 gram dilarutkan dengan fase gerak. Kemudian dimasukkan bubuk *silica gel* dan ditunggu selama 24 jam dan sesekali kolom diketuk sampai bubuk *silica gel* benar – benar mengendap. Panjang timbunan bubuk *silica gel* dalam kolom \pm 15 cm. Kemudian ditambahkan *sea sand* sebanyak 3 gram. Setelah persiapan dengan pengisian kolom, dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom. Mula – mula kromatografi kolom dialirkan ekstrak kasar *Pomacea canaliculata* L., kemudian kran kromatografi dibuka. Ekstrak akan meresap ke *silica gel* dalam kolom sampai batas atas *silica gel*. Selanjutnya, dimasukkan pereaksi terus menerus sambil kran kolom dibuka. Pereaksi yang digunakan dalam pemisahan ini adalah eluen campuran pelarut non polar berupa

kloroform dan polar berupa metanol teknisi dengan perbandingan 5:5, 6:4, 7:3, 8:2. Fraksi yang terpisah ditampung dalam tabung reaksi sampai seluruh ekstrak terpisahkan.

3.3 Uji Spektrofotometri Ultraviolet Visible (UV – Vis)

Pengujian spektrofotometer UV – Vis dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang. Pengujian ini digunakan untuk mengetahui panjang gelombang dan absorbansi sampel yang diamati, kemudian hasilnya digunakan untuk menganalisa karakteristik bioaktif ekstrak *Pomacea canaliculata* L. Pengujian ini menggunakan alat spektrofotometer UV – Vis. Menurut Fatimah *et al.*, (2009), cara analisa dengan alat spektrofotometer UV – Vis adalah mula – mula alat dinolkan dengan cara larutan blanko dimasukkan ke dalam dua buah kuvet lalu ditekan “back correct” dan “run”. Setelah alat dalam kondisi nol, salah satu blanko dikeluarkan dan diganti dengan ekstrak *Pomacea canaliculata* L.. Kemudian, diatur panjang gelombang antara 200 nm – 700 nm. Maka akan muncul tampilan spektrum panjang gelombang dari ekstrak *Pomacea canaliculata* L.

3.4 Uji Liquid Chromatography – Mass Spectrometry (LC – MS)

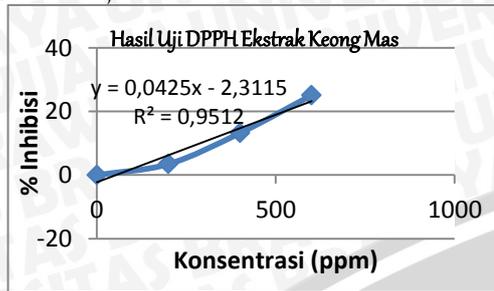
LC – MS adalah teknik di kimia analitik digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan menghitung setiap komponen dalam campuran. Hal ini bergantung pada pompa untuk lulus cairan bertekanan pelarut yang mengandung campuran sampel melalui kolom diisi dengan bahan padat adsorben. Setiap komponen dalam sampel berinteraksi sedikit berbeda dengan bahan adsorben, menyebabkan laju aliran yang berbeda untuk komponen yang berbeda dan mengarah ke pemisahan komponen karena mereka mengalir keluar kolom (Wikipedia, 2015).

4. 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, angka peroksida, uji TBA, uji Spektrofotometri UV – Vis dan uji analisa LC – MS.



Gambar 2. Grafik Aktivitas Antioksidan Esktrak *Pomacea canaliculata L.*

Berdasarkan grafik pada Gambar 6, diperoleh persamaan linear $y = 0,0425x - 2,3115$ dengan nilai $R^2 = 0,9512$. Nilai IC50 diperoleh dengan memasukan nilai 50 sebagai y sehingga akan diketahui nilai x sebagai konsentrasi. Nilai x yang diperoleh dalam persamaan adalah 1230,8588 ppm.

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 Iod, dan bilangan peroksida.

4.2.1.1 Uji Bilangan Iod

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

Berdasarkan hasil penelitian uji bilangan iod 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 iod 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 ($F_{hitung} > F_{tabel 5\%}$) $20,03 > 2,51$.

Tabel 2. Hasil Analisa Rata – rata Bilangan Iod dari Minyak Ikan Lemuru

Masa simpan	Konsentrasi Ekstrak 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 ketidakjenuhan 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 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 nya

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)

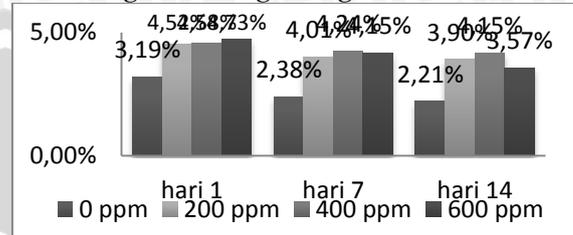
Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata

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.

Diagram Batang Bilangan Iod



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 *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 kroogen 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 hidroperoksida 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 angka TBA minyak ikan lemuru berdasarkan uji lanjut BNT_{0,05} dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Ekstrak dengan Masa Simpan terhadap Bilangan TBA

Konsentrasi	Masa simpan		
	1 hari	7 hari	14 hari
0ppm	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)

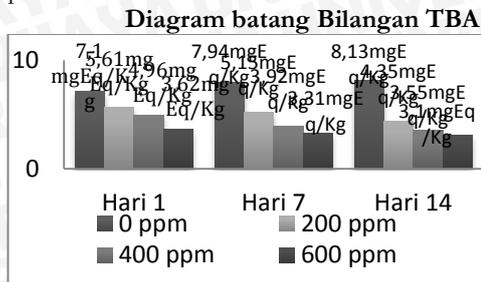
Keterangan : Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan nyata

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.



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 *Pomocoea Canaliculla L* ke 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 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 notasinya

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. Menurut Ketaren (2005), salah satu penyebab meningkatnya bilangan peroksida adalah lama penyimpanan, semakin lama minyak kontak langsung dengan udara atau oksigen maka peroksida semakin aktif dan membentuk senyawa hidroperoksida. Namun pada masa simpan 14 hari minyak ikan masi dalam kondisi baik atau bagus karena bilangan peroksida masi dibawah standart yaitu sebesar 1,96 mEq/Kg. Menurut Badan POM (2014), batas maksimum dari suatu minyak adalah 5 mEq/Kg.

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 dengan Masa Simpan terhadap Bilangan Peroksida

Konsentrasi	Masa simpan		
	1 hari	7 hari	14 hari
0ppm	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 (e)f)	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

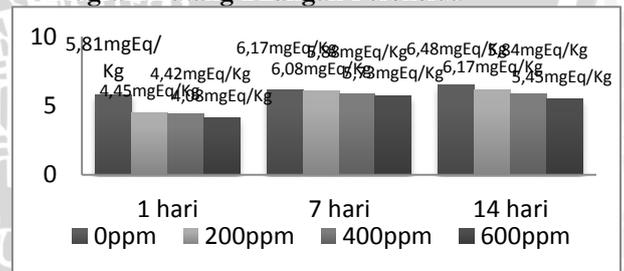
Tabel 14 menunjukkan, bahwa pada hari 1 penambahan konsentrasi pada 200 ppm, 400 ppm, 600ppm memberikan pengaruh yang nyata terhadap kontrol (0 ppm), tetapi pada konsentrasi 200ppm dengan 400ppm tidak memberikan pengaruh yang nyata, dan pada konsentrasi 400ppm dengan 600ppm memberikan pengaruh yang nyata.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

Diagram Batang Bilangan Peroksida



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 indentifikasi kromatografi kolom dari ekstrak *Pomacea canaliculata* L yaitu fraksi 2 dan fraksi 9.

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

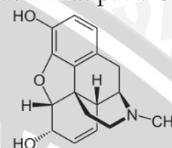
Analisa senyawa antioksidan dengan metode UV – Vis terhadap ekstrak *Pomacea canaliculata* L dari fraksi 2 dan fraksi 9. Pada fraksi 2 memberikan satu pita serapan pada panjang gelombang 252,5 nm dengan absorbansi 3,436.

Sedangkan, hasil analisis spektrofotometri UV – Vis fraksi 9 memberikan satu pita serapan pada panjang gelombang 238,5 nm dengan absorbans 3,263.

Senyawa yang mempunyai panjang gelombang sekitar 200 nm Pada panjang gelombang ini 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 Tengo *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.

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).

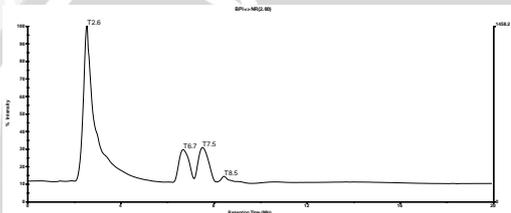
4.3.3 Analisa *Liquid Chromatography – Mass Spectrometry* (LC – MS)

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 C₂₀H₁₇NO₆ adalah senyawa *Bicuculine* merupakan *phtalide-isoquinoline* yang kompetitif peka terhadap cahaya GABA, senyawa ini dapat digunakan untuk sakit epilepsi (Taizhuo, 2016). Pada waktu retensi 6.70 diduga senyawa *Sanguinarine* memiliki berat molekul 339.09 g/mol dengan rumus molekul C₂₀H₁₄NO₄. *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. Sejumlah studi ilmiah telah menunjukkan bahwa *Sanguinarine* memiliki peran yang menjanjikan dalam terapi kanker dan manajemen karena efek *antiproliferatif* yang termasuk mendorong apoptosis dan menghambat angiogenesis.

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*.

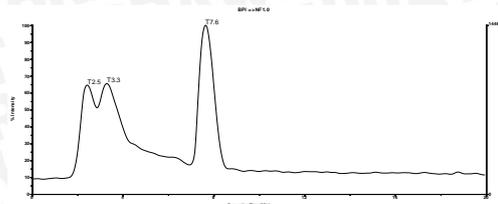
Pada waktu retensi 7.52 menit diduga senyawa *Man5GlcNAc - IV* memiliki rumus kimia $C_{38}H_{63}NO_{31}$ dengan berat molekul 1031.35 g/mol merupakan golongan Oligosakarida. Pada waktu retensi 8.45 menit diduga sebagai senyawa *Bumetanide* memiliki rumus kimia $C_{17}H_{20}N_2S$ dengan berat molekul 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 diduga senyawa *Candesartan* memiliki 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 diduga senyawa *Ouabain* memiliki rumus kimia $C_{29}H_{44}O_{12}$ dengan 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- diotoni) (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

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh berdasarkan penelitian Uji Aktifitas ekstrak kasar daging *Pomacea canaliculata* L Sebagai Antioksidan Pada Minyak Ikan Lemuru antara lain :

- Berdasarkan uji antioksidan dengan metode DPPH ekstrak *Pomacea canaliculata* L mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 sebesar 1230,8588 ppm.
- Penambahan ekstrak kasar *Pomacea canaliculata* L dalam minyak ikan lemuru pada konsentrasi yang berbeda yaitu 0, 200, 400, 600 ppm berbeda nyata, baik pada parameter uji bilangan peroksida, uji bilangan Iod, dan uji TBA. Berdasarkan hasil tersebut, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.
- Nilai bilangan peroksida terendah (1,36 mgEq/Kg) didapatkan pada konsentrasi 600ppm pada penyimpanan hari ke 1.
- Nilai TBA terendah (3,10 mgEq/Kg) didapatkan pada konsentrasi 600ppm pada penyimpanan hari ke 14.
- Nilai bilangan iod tertinggi (4,7%) didapatkan pada konsentrasi 600ppm pada penyimpanan hari ke 1.
- Dalam penelitian ini senyawa yang diduga berperan sebagai antioksidan adalah senyawa *Sanguinarine* dari golongan Alkaloid.

5.2 Saran

Dalam penelitian lebih lanjut perlu juga dilakukan simulasi waktu penyimpanan yang lebih lama yaitu 1 – 2 bulan. Dan perlu kehati-hatian dan ketelitian pada saat melakukan penelitian agar hasil dari penelitian lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adyani, R., I. Setyaningsih, R. Suwandi dan J. Anggadireja. 1997. Ekstraksi Antioksidan dari Alga Laut *Laurencia sp* dan Efektifitas dalam Menghambat Kerusakan Awal

- pada Minyak Ikan. Buletin Teknologi Hasil Perikanan 3 (1).
- Aditya G, Raut SK. 2005. Feeding of the leech *Glossiphonia weberi* on the introduced snail *Pomacea bridgesii* in India. *Aquatic Ecology* (39):465-471.
- Adnan, M. (1997). Teknik Kromatografi Untuk Analisis Bahan Makanan. Yogyakarta : Penerbit Andi. Halaman 10, 15-16.
- Al-Meshal IA, Tariq M, Parmar NS, Ageel AM. 1985. Anti-inflammatory activity of the flavonoid fraction of khat (*Catha edulis* Forsk). *Agents and Actions* 17:3-4.
- Ardhi Y. 2008. Keong mas, Aman dan Berkualitas. <http://suaramerdeka.com/v1/index.php/read/cetak/2008/03/10/4147/Keong.Mas.Aman.dan.Berkualitas/>. [12s mei 2015].
- Astawan M, Kasih AL. 2008. Khasiat Warna-Warni Makanan. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Azzura S. Liza Nst, Iriany R.Sutri. 2015. Pembuatan Etil Asetat Dari Hasil Hidrolisis, Fermentasi Dan Esterifikasi Kulit Pisang Raja (*Musa Paradisiaca* L.) Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sumatera Utara.
- Bernardi APM, Lopez-Alarcon C, Aspee A, Rech S, Poser GLV, Bride R, Lissp E. 2007. Antioxidant activity of flavonoids isolated from *Hypericum ternum*. *J Chil Chem Soc* 52(4):1326-1329.
- Chromacademy, 2010. *Fundamental LC – MS*. Crawford Scientific.
- Capelli, B. G. Cysewski. 2007. Natural Axstasantin : Kingdom Of Carotenoid. *Nature*: 78 ; 7.
- Colgout. 2011. Name Of The Drug. NZ Datasheet. New Zealand.
- DA-PhilRice Department of Agricultural-The Philippine Rice Research Institute. 2001. Management Option for The Golden Apple Snail. Maligaya: Department of Agriculture-The Philippine Rice Research Institute.
- Dawn B, Allan D, Collen M Smith. 1996. Dasar Biokimia Kedokteran. Jakarta. Hlm 138.
- Djarkasi, G.S.S., E. J. N. Nurlaili, M. F. Sumual., L. Luluhan. 2011. Analysis Of Bioactive Compound in *Canarium Nut* (*Canarium indicium* L). Universitas Sam Ratulangi. Tropical Plant Curilicullum Project.
- Essense of life. 2016. <http://www.essense-of-life.com/healthtopics/A-513/sanguinarine.html> . Diakses pada tanggal 1 Desember 2016 pukul 21.05 WIB
- Gordon, M. H. 1990. The Mechanism of Antioxidants Action in Vitro. Didalam B. J. F. Hudson. Editor. Food Antioxsidants. Elsevier Applied Science, London.
- Hanani E, Mun'im A, Sekarini R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Calyspongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2(3):127-133.
- Harbone, J.B. 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi 4, terjemahan Kosasih P dan Soediro L. Bandung: Institut Teknologi Bandung
- Harborne, JB. 1984. Phytochemical methods. Ed ke-2. New York: Chapman and Hall.
- Harborne, JB. 1999. Classes and Functions of Secondary Products from Plants. Di dalam: Walton NJ, Brown DE, editor. *Chemical from Plants: Perspectives on Plant Secondary Products*. London: Imperial College Press. hlm 1-25.
- Hariyatmi. 2004. Kemampuan vitamin E sebagai antioksidan terhadap radikal bebas pada lanjut usia. *MIPA* 14(1):52-60.
- Hao da cheng, Xiao jie, Pei gen xiao. 2015. Medical Plants. Chemistry Biology and Omics. Oxford. Amerika serikat. Hlm 197.