

**Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Telur
Keong Mas (*Pomacea Canaliculata*) Dengan MetodeDpph (2,2-Difenil-1-
Pikrilhidrazil) Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis**

Eva Kholifah*¹, Eva Erviansyah Putri², Endang Safitri³

^{1,2,3} Program studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan
Salsabila Serang, Indonesia.

e-mail: *¹evakholifah.apt@gmail.com.

Article Info

Article history:

Submission Maret 2023

Accepted April 2023

Publish September 2023

Abstrak

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas untuk menghambat reaksi radikal bebas. Salah satu moluska yang berpotensi sebagai antioksidan adalah telur keong mas (*Pomacea canaliculata*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari telur keong mas. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Telur keong mas dimaserasi dengan campuran pelarut aseton:metanol (1:8). Ekstrak yang telah diuapkan pelarutnya kemudian dilakukan skrining fitokimia, hasil skrining fitokimia ekstrak menunjukan positif mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, dan protein. Ekstrak telur keong mas kemudian di uji aktivitasantioksidannya secara kuantitatif untuk memperoleh nilai IC_{50} menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang (λ_{maks}) 515 nm dengan vitaminC sebagai kontrol positif. Hasil pengukuran menggunakan spektrofotometri menunjukkan bahwa ekstrak telur keong mas memiliki nilai IC_{50} sebesar 4,890 mg/L dan vitamin C memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,792 mg/L. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak telur keong mas lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C, namun masih berpotensi sebagai antioksidan.

Kata kunci— *Pomacea canaliculate*, Antioksidan, DPPH

Ucapan terima kasih:

Abstract

Antioxidant are compound that could donate one or more electron to free radical to inhibit free radical reaction. One of the mollusc that has the potential to be an antioxidant is the egg of the gold snail (*Pomacea canaliculata*). The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of gold snail egg. Testing of antioxidant activity was carried out by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl) method. Gold snail egg are macerated with a mixture of solvent acetone:methanol (1:8). The extract which had been vaporized, was tested its phytochemical compound with phytochemical screening test, the results of the phytochemical screening of the extract showed positive contain alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin, and protein. The gold snail egg extract was then tested for its antioxidant activity quantitatively to obtain IC_{50} (Inhibitory Concentration) values from the extract using UV-Vis spectrophotometry at a wavelength (λ_{max}) of 515 nm with vitamin C as a positive control. The results of spectrophotometric measurements show that gold snail egg extract has an IC_{50} value of 4,890 mg/L and vitamin C has an IC_{50} value of 2,792 mg/L. According to the result, it can be concluded that antioxidant activity of golden snail egg extract is lower than vitaminC but still potential as an antioxidant.

Keyword— *Pomacea canaliculate*, Antioxidant, DPPH

Alamat korespondensi:
Prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal
Gedung A Lt.3. Kampus 1
Jl. Mataram No.09 Kota Tegal, Kodepos 52122
Telp. (0283) 352000
E-mail: parapemikir_poltek@yahoo.com

p-ISSN: 2089-5313
e-ISSN: 2549-5062

A. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan senyawa atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan [1]. Adanya elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif untuk mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berbeda disekitarnya. Aktivitas radikal bebas dapat diredam dengan pemberian antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang mendonasikan satu atau lebih elektron kepada senyawa oksidan. Senyawa oksidan atau radikalbebas merupakan molekul-molekul yang sangat reaktif di dalam tubuh dan pada hakekatnya dapat merusak biomolekul penting (misalnya lipid, protein, DNA [2]. Antioksidan dapat mengeliminasi senyawa radikal bebas di dalam tubuh sehingga tidak menginduksi suatu penyakit [2].

Antioksidan dapat dibedakan menjadi antioksidan alami dan sintetik. Antioksidan alami merupakan jenis antioksidan yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Sedangkan antioksidan sintetik yaitu *Butil Hidroksi Anisol* (BHA) dan *Butil Hidroksi Toluene* (BHT) [4]. Seiring dengan semakin meningkatnya kekhawatiran masyarakat terhadap efek samping antioksidan sintetik yang bersifat karsinogen mengakibatkan terjadinya kecenderungan peningkatan penggunaan antioksidan alami. Salah satu moluska yang menarik untuk diteliti aktivitas antioksidannya adalah telur keong mas (*Pomacea canaliculata*) yang banyak ditemui di persawahan [5].

Keong mas (*Pomacea canaliculata*) merupakan moluska air tawar yang berasal dari Amerika Selatan. Keong mas di Asia diketahui menjadi hama bagi tanaman padi. Kemampuan adaptasi dan daya reproduksi yang tinggi merupakan penyebab sulitnya pemberantasan hama keong mas. Upaya untuk memberantas hama keong mas salah satunya yaitu dengan memanfaatkan telur keong mas untuk bahan baku produk dalam bidang industri pangan maupun bidang kesehatan yang bermanfaat bagi masyarakat [6]. Abdullah (2017) menyatakan bahwa telur keong mas memiliki komponen aktif, pada ekstrak aseton pigmen telur keong mas mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, sedangkan pada ekstrak metanol mengandung alkaloid dan saponin. Dimana dalam hal ini diketahui, flavonoid merupakan salah satu senyawa yang dapat dijadikan sumber antioksidan. Pada penelitian dilakukan

pengujian aktivitas antioksidan dari telur keong mas dengan parameter nilai *Inhibition Concentration* 50 (IC50).

B. Metode

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah spektroskopi UV-Vis, Rotari evaporator dan alat gelas. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah telur keong mas, eter, metanol, DMSO (*Dimethyl Ifoxide*) 10%, aseton, pereaksi Meyer, metanol 96%, serbuk magnesium, HCl 37%, H₂SO₄, asam asetat anhidrat, kloroform, FeCl₃ 5%, larutan DPPH, Aquades dan vitamin C.

2. Ekstraksi

Telur keong mas yang didapatkan dari persawahan kabupaten pandeglang sebanyak 2 kg dikeringkan menggunakan oven selama 24 jam, kemudian dihaluskan dan direndam menggunakan DMSO 10% (1:4). Hasil rendaman kemudian diekstraksi menggunakan pelarut aseton:metanol (1:8) selama 3x24 jam. Kemudian endapan dilakukan proses remaserasi sebanyak 3 kali dan dilakukan pemekatan menggunakan rotary evaporator.

3. Pengujian Fitokimia

a) Identifikasi Alkaloid

Ekstrak 0,5 gram dalam tabung reaksi, ditambahkan HCl, dipanaskan pada penangas air. Setelah dingin, campuran disaring dan filtrat ditambahkan beberapa tetes reagen mayer, jika terbentuk adanya endapan putih hingga kekuningan menunjukkan adanya alkaloid [7].

b) Identifikasi Flavonoid

Ekstrak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 3 tetes HCl pekat dikocok dengan kuat dan ditambahkan serbuk magnesium 0,5 gram, pengocokan dilakukan lagi dengan kuat. Terbentuknya perubahan warna buih-buih dan larutan menjadi jingga sampai merah keunguan sampel memiliki kandungan flavonoid [8].

c) Identifikasi Fenolik

Ekstrak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 3 – 4 tetes larutan FeCl₃ 1 %. Adanya warna biru kehitaman menandakan adanya fenolik [9].

d) Identifikasi Steroid

Ekstrak 0,5 gram dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml kloroform, lalu ditambah pereaksi asetat anhidrat dan asam sulfat pekat sebanyak 2 tetes. Jika terbentuk larutan berwarna biru atau hijau maka menunjukkan reaksi positif (Rumagit et al., 2015).

e) Identifikasi Triterpenoid

Ekstrak 0,5 gram dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml kloroform, lalu ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes asam sulfat pekat. Jika terbentuk larutan berwarna merah maka menunjukkan reaksi positif [10].

f) Identifikasi Tanin

Ekstrak 0,5 gram dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan FeCl₃ 5% sebanyak 3 tetes, jika menghasilkan biru tua, biru kehitaman, atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin [8].

4. Analisis Aktivitas Antioksidan

Aktivitas radikal bebas dari ekstrak telur keong mas diukur secara in vitro dengan uji 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Larutan stok dibuat dengan melarutkan 19,7 mg DPPH dengan 50 ml methanol dan disimpan pada suhu 20°C. Larutan uji diperoleh dengan mengencerkan larutan DPPH dengan metanol hingga mencapai absorbansi sekitar 0,98±0,02 pada 515 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian larutan DPPH dibuat seri konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm. Kemudian ditambahkan sampel uji pada masing-masing seri konsentrasi, dan aktivitas antioksidan dibaca pada Panjang gelombang 515. Aktivitas antioksidan dilihat berdasarkan nilai %inhibisi menggunakan persamaan dibawah ini

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100$$

Keterangan:

Abs: Absorbansi

C. Hasil dan Pembahasan

1. Ekstraksi

Pada penelitian metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan pelarut campuran metano dan aseton. Karakteristik ekstrak telur keong mas dan nilai rendemen terlampir pada tabel 1

Tabel 1. Hasil ekstraksi telur keong mas

Bobot simplisia	Bobot ekstrak	Rendemen	Karakteristik		
			Bentuk	warna	Bau
250 gram	42,6 gram	17,04 %	Cairan kental	Coklat	Khas

Nilai rendemen yang didapatkan lebih dari 10%

menunjukkan proses penyarian dengan menggunakan campuran pelarut sangatlah baik.

2. Skrining Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder yang dilakukan analisis pada penelitian ini adalah flavonoid, alkaloid, fenolik, terpenoid, steroid, triterpenoid, dan tannin. Berdasarkan penelitian Dyah & Putri (2022) metabolit sekunder ekstrak telur keong mas dengan pelarut etanol 70% mengandung tannin dan glikosida, pelarut etil asetat mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, steroid, glikosida. Pelarut kloroform mengandung metabolit sekunder alkaloid, tannin, dan glikosida. Pada penelitian ini digunakan campuran pelarut metanol dan aseton sehingga diketahui dapat menarik metabolit sekunder yang lebih banyak dibandingkan dengan pelarut tunggal [10].

Tabel 2. Metabolit sekunder telur keong mas

Metabolit sekunder	Hasil	Standar Warna
Alkaloid	+	Endapan putih
Flavonoid	+	Warna jingga
Steroid	+	Warna biru kehijauan atau hijau
Triterpenoid	+	Warna Merah
Fenolik	-	Warna biru kehitaman
Tanin	-	Biru tua atau Kehitaman
Saponin	+	Busa stabil

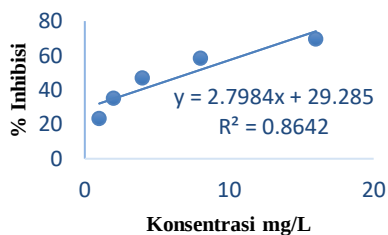
3. Pengujian aktivitas antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menstabilkan aktivitas radikal dengan cara berikatan dengan elektron yang tidak berpasangan. Pada pengujian ini senyawa radikal yang digunakan adalah DPPH. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan spektrofotometri Uv Vis dengan prinsip dasar colorimetri [11].

Tahap pertama pada analisis ini adalah pencarian Panjang gelombang maksimal senyawa DPPH, dimana didapatkan nilai sebesar 515 nm.

Tabel 2. Nilai absorbansi ekstrak telur keong mas

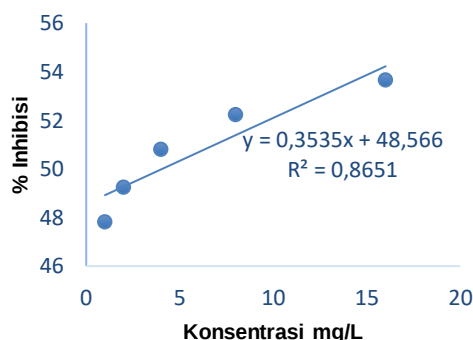
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	% Inhibisi (%)
1	0.258	47.826
2	0.265	49.255
4	0.274	50.807
8	0.281	52.236
16	0.289	53.665
Blanko DPPH	0.538	0.0



Gambar 2. Kurva regresi linier aktivitas antioksidan ekstrak telur keong mas

Tabel 4. Nilai absorbansi asam askorbat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Rata-rata	% Inhibisi
1	0.258	47.826
2	0.265	49.255
4	0.274	50.807
8	0.281	52.236
16	0.289	53.665
Blanko DPPH	0.538	0.0



Gambar 3. Kurva regresi linier aktivitas antioksidan asam askorbat

Tabel 5. IC50 ekstrak telur keong mas dan asam askorbat

Senyawa	IC50	Klasifikasi
Ekstrak telur keong mas	4,890 mg/L	Antioksidan sangat kuat
Asam askorbat (Kontrol)	2,792 mg/L	Antioksidan sangat kuat

positif)

Berdasarkan tabel 5 di atas menunjukkan ekstrak telur keong mas memiliki nilai IC 50 sebesar 4,890 µg/ml, artinya pada konsentrasi tersebut ekstrak telur keong mas dapat menstabilkan radikal bebas sebanyak 50%, semakin kecil konsentrasi IC50 maka aktivitas antioksidan semakin poten. Aktivitas antioksidan ekstrak telur keong mas dimungkinkan berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder (Tabel 2) seperti flavonoid. Beberapa penelitian menyebutkan senyawa flavonoid yang memiliki kelimpahan tertinggi pada telur keong mas adalah golongan karotenoid [12]. Sehingga dalam hal ini aktivitas antioksidan ekstrak telur keong mas berkaitan dengan senyawa karotenoid yang terkandung dalam ekstrak tersebut [13].

Bedasarkan penelitian sebelumnya diketahui telur keong mas mengandung beberapa senyawa aktif seperti beta karoten, likopen, leutein zeaxantin dan astaxantin [14], dimana diketahui senyawa tersebut memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Penelitian Chintong (2019) menyebutkan bahwa astaxantin memiliki antioxdan yang tinggi dengan nilai IC50 17,5 µg/ml [15]. Aktivitas antioksidan astaxantin lebih besar dibandingkan telur keong mas dikarenakan astaxantin merupakan senyawa murni, sedangkan telur keong mas masih berupa ekstrak yang memiliki banyak kandungan senyawa namun dengan kadar kecil.

Pada penelitian ini digunakan asam askorba sebagai senyawa pembanding. Diketahui niali IC50 asam askorbat sebesar 2,792 µg/ml. lebih poten dibandingkan ekstrak telur keong mas, namun berdasarkan analisis *oneway Anova* dengan membandingkan nilai IC50 ekstrak telur keong mas dan asam askorbat didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.234 menunjukkan tidak terdapat perbedaan (>0.05) sehingga berdasarkan analisis statistik menunjukkan aktivitas antioksidan setara atau tidak terdapat perbedaan dengan asam askorbat.

D. Simpulan

Ekstrak telur keong mas memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 4,890 mg/L dan tidak memiliki perbedaan bermakna dengan senyawa kontrol asam askorbat dengan IC50 2,792 mg/L. Aktivitas antioksidan tersebut dimungkinkan berkaitan dengan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak telur keong mas seperti flavonoid, alkaloid, steroid, dan saponin.

Pustaka

- [1] Setiawan, F., Yunita, O., & Kurniawan, A. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang dan FRAP. Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Surabaya. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82–89.
- [2] Murwanti, R., Kholifah, E., Sudarmanto, B. S. A., & Hermawan, A. (2020). Curcumin and its Analogue Targeting β -Catenin and GSK-3 β in Wnt Signalling Pathways : In Vitro and In Silico Study. Departement of Pharmacology and Clinic, Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada. *Jurnal Farmasi Dan Teknologi*, 13(April), 11–15.
- [3] 3. Pridatama, Y., & Ilza, M. (2021). *Studi Komparatif Metode DPPH Dan Frap Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Telur Keong Mas (Pomacea canaliculata). Fakultas Perikanan Dan Kelautan Universitas Riau Pekanbaru*. 4–11.
- [4] Muthia, R., Saputri, R., & Verawati, S. A. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Mundar (*Garcinia forbesii* King .)Menggunakan Metode DPPH (2 , 2-Diphenyl-1- Picrylhydrazil). Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Lestari, Indonesia. *Jurnal Pharmascience*, 06(01), 74–82.
- [5] Wahdaningsih, S., Budilaksono, W., & Fahrurroji, A. (2015). Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksana Kulit Buah Naga Merah menggunakan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura. *Jurnal Kesehatan Khatulistiwa*, 1(April), 115–136.
- [6] Abdullah, A. (2017). Karakterisasi Dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Pigmen Telur Keong Mas. Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Kampus IPB Darmaga, Bogor. *IPB Bogor*, 20(2006), 286–295.
- [7] Maryam, F., Taebe, B., & Toding, D. P. (2020). Pengukuran Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R & G.Forst). Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar. *Jurnal MandalaPharmacon Indonesia*, 6(1), 1–12.
- [8] Saputri, D. D., & Pertiwi, M. P. (2021). *Identifikasi Metabolit Sekunder dan Uji Proksimat Ekstrak Daging Keong Mas (Pomacea canaliculata L .). Prodi Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Pakuan, Bogor*. 22(2), 101–110.
- [9] Harahap, I. S., Halimatussakdiah, & Amna, U. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Lemon (*Citrus limon* L .) dari Kota Langsa , Aceh. 1Program Studi Kimia Fakultas Teknik Universitas Samudra. *Jurnal Kimia Sains Dan Terapan*, 3(April), 19–23.
- [10] Dyah Saputri D, Putri Pertiwi M. Identifikasi Metabolit Sekunder dan Uji Proksimat Ekstrak Daging Keong Mas (*Pomacea canaliculata* L.). *Jurnal ILMU DASAR*. 2021;22(2):101–10.
- [11] Abdullah A, Nurjanah, Seulalae AV. Antioxidant activity of biopigment fractions from golden apple snail eggs (*Pomacea canaliculata*). *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci*. 2020 Jan 1;404(1):012003.
- [12] Boonyapakdee A, Pootangon Y, Laudadio V, Tufarelli V. Astaxanthin extraction from golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) eggs to enhance colours in fancy carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Applied Animal Research*. 2015 Jul 3;43(3):291–4.
- [13] Heras H, Dreon MS, Ituarte S, Pollero RJ. Egg carotenoproteins in neotropical Ampullariidae (Gastropoda: Arquitaenioglossa). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2007 Jul 1;146(1):158–67.
- [14] Kholifah E, A.t MA, S AN. Eksplorasi Toksisitas Ekstrak N-Hexan dan Aseton Telur Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) Secara In Vitro dan In Silico. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi [Internet]*. 2022 [cited 2023 Sep 9];7(1).
- [15] Chintong S, Phatvej W, Rerk-Am U, Waiprib Y, Klaypradit W. In Vitro Antioxidant, Antityrosinase, and Cytotoxic Activities of Astaxanthin from Shrimp Waste. *Antioxidants (Basel)*. 2019 May 13;8(5):128.