

**PENAPISAN AWAL KOMPONEN BIOAKTIF
DARI KIJING TAIWAN (*Anodonta woodiana* Lea.)
SEBAGAI SENYAWA ANTIOKSIDAN**

*Initial Screening of Fresh Water Mussel Bioactive Components from
(Anodonta woodiana Lea.) from Antioxidant Compounds*

Ella Salamah^{*}, Eka Ayuningrat, Sri Purwaningsih

*Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Institut Pertanian Bogor, Jl. Lingkar Akademik, Kampus IPB, Darmaga, Bogor 16680*

Diterima September 2007/ Disetujui Februari 2008

Abstrak

Kijing Taiwan merupakan kekerangan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk berbagai macam penyakit, membersihkan racun dalam tubuh, memperlancar sirkulasi darah, menambah energi, dan memperkuat daya tahan tubuh. Berbagai khasiat yang terdapat pada kijing Taiwan mendorong penelitian tentang kandungan bioaktif sebagai antioksidan yang terdapat di dalamnya. Penelitian dibagi menjadi dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk menentukan jenis pelarut yang efektif dapat mengekstrak senyawa antioksidan kijing Taiwan. Metode ekstraksi yang dilakukan adalah ekstraksi bertingkat untuk memisahkan ekstrak berdasarkan sifat kepolarannya. Pengujian antioksidan dilakukan dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). Penelitian utama dilakukan untuk menentukan waktu maserasi paling optimal untuk mendapatkan ekstrak dengan sifat antioksidan paling tinggi. Pengujian ini dilanjutkan dengan menghitung bilangan peroksida emulsi minyak dan uji fitokimia. Jenis pelarut terbaik berdasarkan penelitian pendahuluan adalah metanol nilai IC₅₀ sebesar 201,52 ppm. Hasil uji ekstrak dengan pelarut n-heksan dan etil asetat menghasilkan senyawa yang tidak bersifat sebagai antioksidan. Tahap penelitian utama dilakukan maserasi dengan pelarut metanol selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Hasil uji efek antioksidan paling tinggi diperoleh dari maserasi selama 72 jam dengan nilai IC₅₀ sebesar 166,64 ppm. Pengujian penghitungan bilangan peroksida dilakukan menggunakan ekstrak dari hasil terbaik, yaitu maserasi kijing Taiwan dengan metanol selama 72 jam. Bilangan peroksida yang dihasilkan adalah sebesar 2,38 Meq/kg bahan. Bilangan peroksida yang terbentuk masih di bawah ambang batas ketengikan minyak, yaitu 3 Meq/kg bahan. Uji fitokimia terhadap ekstrak kijing Taiwan menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid dan flavonoid, tetapi negatif pada uji steroid.

Kata kunci: antioksidan, ekstraksi bertingkat, kijing Taiwan

PENDAHULUAN

Kijing Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea) merupakan kekerangan yang hidup di danau atau sungai. Kerang jenis ini mempunyai keistimewaan, yaitu dapat mengatur tingkat metabolisme O₂ dengan baik sehingga masih bisa hidup pada keadaan perairan yang berkadar O₂ rendah (Soeseno 1984). Kijing Taiwan juga mampu berkembang biak dengan cepat. Kijing Taiwan mampu menghasilkan telur sebanyak

^{*} telp/fax (0251) 622915

369.227–458.000 butir telur dalam sekali pemijahan sehingga kijing Taiwan sangat potensial untuk dibudidayakan (Suwignyo *et al* 1981).

Kijing Taiwan bukan merupakan kerang asli dari Indonesia. Diduga kijing Taiwan masuk ke Indonesia melalui ikan nila atau ikan mola yang dibawa dari Taiwan sekitar tahun 1960 sampai 1970. Nama kijing Taiwan akhirnya diambil dari daerah asal tersebut (Hasim 2008). Kijing Taiwan mempunyai berbagai manfaat. Kerang ini bersifat *filter feeder* karena hidupnya yang berada di dasar perairan tergenang atau mengalir. Makanannya berupa detritus membuatnya menjadi biofilter perairan yang efektif sehingga dapat membantu dalam usaha penjernihan air (Suwignyo *et al* 1981). Menurut Liu *et al* (2008), Kijing Taiwan sebenarnya telah lama dimanfaatkan oleh bangsa Cina sebagai obat untuk berbagai macam penyakit, seperti lever dan diabetes. Bahkan dalam Kamus Obat-obatan Tradisional Cina (*Zhong Yao Da Ci Dian*), kerang *Anodonta woodiana* mempunyai khasiat untuk membersihkan racun dalam tubuh, memperlancar sirkulasi darah, menambah energi, dan memperkuat daya tahan tubuh.

Berbagai penelitian mengenai manfaat kijing Taiwan membuka wawasan yang lebih luas tentang kandungan komponen bioaktif yang terdapat di dalamnya. Kenyataan bahwa kijing Taiwan mampu memberikan efek menyehatkan bila dikonsumsi memberikan dugaan bahwa terdapat suatu komponen yang bersifat antioksidan. Antioksidan sendiri merupakan suatu zat yang dapat menangkal pengaruh radikal bebas yang bila masuk ke dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan. Pengaruh negatif yang diakibatkan oleh radikal bebas diantaranya penuaan dini, jantung koroner, kanker (Muchtadi 2000). Senyawa-senyawa aktif dari kijing Taiwan yang diperoleh dari hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, pangan, industri, dan lain-lain.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain *cool box*, timbangan, aluminium foil, corong kaca, labu erlenmeyer, gelas piala, tabung reaksi, buret, pinggan porselin, oven, desikator, pipet tetes, sudip, bulb, kain blacu, saringan *whatman*, *freezer*, *vaccum evaporator*, *magnetic stirrer*, *hot plate*, spektrofotometer, botol steril, botol uji fitokimia dan lempeng tetes.

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah kijing Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea). Bahan tambahan lain yang digunakan antara lain es curai, pelarut (n-heksan, etil asetat dan metanol), radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil), H₂SO₄ 2 M, HCl 1,57%, KI, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, eter, anhidrida asetat, H₂SO₄ pekat, serbuk magnesium, NaOH 1 N, FeCl₃ 1%, aquades, minyak kelapa, asam asetat glasial, kloroform, dan natrium tiosulfat (Na₂S₂O₃).

Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua bagian, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan meliputi ekstraksi senyawa bioaktif dan penentuan ekstrak terbaik berdasarkan jenis pelarut dengan uji DPPH (Molyneux 2004). Proses ekstraksi kijing Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea) meliputi penghancuran sampel, maserasi, penyaringan dan evaporasi. Maserasi pada dilakukan secara bertingkat dengan tiga macam pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu n-heksan (nonpolar), etil asetat (semi polar), dan metanol (polar) dengan perbandingan daging : pelarut sebesar 1:2 (b/v). Penelitian utama dibagi menjadi beberapa tahap. Tahap pertama berupa penentuan ekstrak terbaik berdasarkan waktu maserasi dengan uji DPPH. Waktu maserasi yang digunakan yaitu 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Tahap kedua adalah evaluasi aktivitas antioksidan kijing Taiwan dalam mencegah proses ketengikan pada emulsi minyak kelapa dengan mengukur bilangan peroksida dengan penambahan ekstrak sebanyak 0 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm, dan 4000 ppm. Emulsi minyak dibuat dengan menghomogenkan 3% minyak kelapa dan 97% air yang mengandung 0,3% Tween 20 (Santoso *et al* 2004). Tahap terakhir adalah analisis fitokimia sampel terpilih (Harborne 1987).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan ini meliputi ekstraksi senyawa bioaktif dan penentuan ekstrak terbaik berdasarkan jenis pelarut dengan uji DPPH yang selanjutnya akan digunakan pada penelitian utama. Hasil ekstraksi dari kijing Taiwan dinyatakan dalam persentase rendemen.

Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Proses ekstraksi kijing Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) meliputi penghancuran sampel, maserasi, penyaringan dan evaporasi. Sampel kijing Taiwan dibuka cangkangnya dengan bantuan pisau, kemudian diambil daging dan seluruh organnya. Tahapan maserasi merupakan perendaman daging kijing Taiwan dalam pelarut tanpa pengadukan. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi bertingkat yang dilakukan secara berturut-turut dimulai dengan pelarut nonpolar (n-heksan), pelarut yang kepolarannya menengah (etil asetat), dan pelarut polar (metanol). Hasil ekstraksi kijing Taiwan yang dinyatakan dalam persen rendemen dapat dilihat pada Tabel 1.

Kijing Taiwan yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Situ Gede, Bogor. Sampel diambil pada awal bulan September 2008. Ukuran kijing Taiwan yang diperoleh bervariasi, antara 7 cm – 12 cm. Kondisi sampel pada saat akan dipreparasi adalah masih hidup, sehingga ekstraksi yang dilakukan adalah terhadap sampel segar.

Tabel 1. Data rendemen ekstrak kijing Taiwan pada berbagai pelarut

Jenis pelarut	Ulangan	Berat awal (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)	Rata-rata
n-heksan	1	200	0,09	0,05	0,04
	2	200	0,04	0,02	
	3	200	0,10	0,05	
etil asetat	1	200	0,17	0,09	0,10
	2	200	0,16	0,08	
	3	200	0,26	0,13	
metanol	1	200	0,15	0,08	0,12
	2	200	0,27	0,14	
	3	200	0,27	0,14	

Berat awal yang dimaserasi merupakan semua bagian tubuh kijing Taiwan tanpa cangkang yang kemudian dicacah untuk mempermudah proses ekstraksi. Tabel analisis ragam terhadap rendemen ekstrak kijing Taiwan berdasarkan jenis pelarut menunjukkan bahwa maserasi dengan jenis pelarut yang berbeda akan menghasilkan rendemen ekstrak yang jumlahnya berbeda pula. Hasil perhitungan menunjukkan bahwa rendemen terendah berasal dari ekstrak hasil maserasi dengan n-heksan dengan nilai rata-rata sebesar 0,04%, sedangkan rendemen tertinggi yaitu dari ekstrak hasil maserasi metanol dengan nilai rata-rata 0,12%. Perbedaan nilai rendemen ini disebabkan oleh perbedaan jenis pelarut yang digunakan. Pelarut yang berbeda akan melarutkan

senyawa-senyawa yang berbeda tergantung tingkat kepolarannya. Oleh sebab itu, jumlah ekstrak yang dihasilkan pun juga tergantung jenis pelarutnya.

Jumlah rendemen ekstrak bergantung pada kondisi alamiah senyawa, metode ekstraksi, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu ekstraksi, serta perbandingan sampel dengan pelarut (Harborne 1987). Hess *et al* (2005) menyatakan bahwa ekstraksi dari jenis kerang-kerangan akan menghasilkan rendemen ekstrak berkisar antara 0,11% - 0,60% dari berat awal bahan baku.

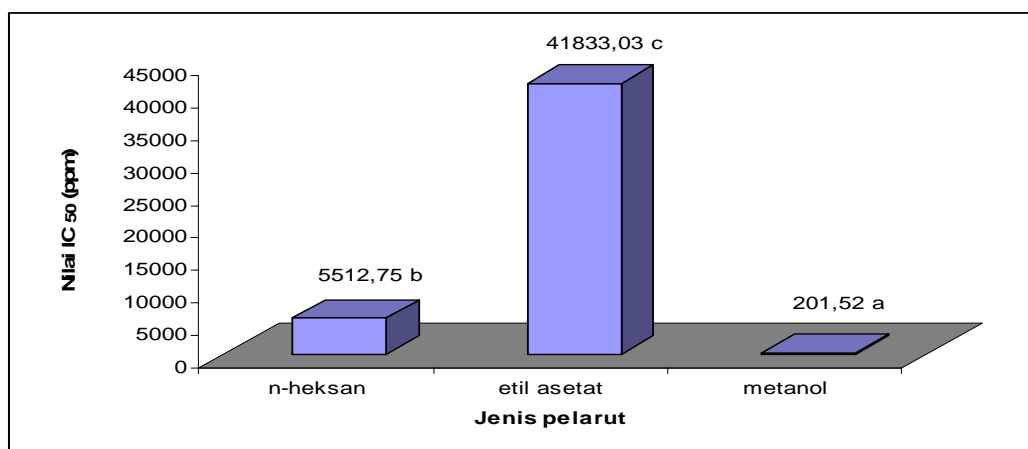
Penentuan Jenis Pelarut dengan Uji Antioksidan Metode DPPH

Pengujian antioksidan dengan DPPH merupakan salah satu metode yang sederhana dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) sebagai senyawa pendeteksi. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang bersifat stabil sehingga dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi (Molyneux 2004). Ekstrak kijing Taiwan yang diperoleh diharapkan mempunyai sifat sebagai antioksidan. Pengujian antioksidan dengan DPPH akan menghasilkan nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration*) yang menyatakan seberapa besar konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas (DPPH) sebanyak 50%. Hasil uji antioksidan dengan metode DPPH terhadap ekstrak kijing Taiwan dapat dilihat pada Gambar 1.

Perhitungan nilai IC_{50} diperoleh dari penghambatan radikal bebas pada berbagai konsentrasi ekstrak. Larutan ekstrak yang diencerkan dengan metanol ditambah dengan DPPH. Warna awal larutan DPPH adalah ungu gelap. Penambahan ekstrak yang mempunyai sifat antioksidan akan menghasilkan perubahan warna menjadi kuning cerah. Larutan tersebut kemudian dilihat intensitas warnanya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm yang akan menghasilkan nilai absorbansi. Nilai absorbansi tersebut diolah untuk menghasilkan persen penghambatan yang dapat ditampilkan dalam bentuk kurva untuk menghasilkan suatu nilai IC_{50} .

Grafik hasil uji antioksidan dengan DPPH terhadap ekstrak kijing Taiwan menunjukkan bahwa ekstrak yang berpotensi mempunyai sifat antioksidan adalah ekstrak hasil maserasi dengan metanol yang menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 201,52 ppm. Molyneux (2004) menyatakan bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm. Bila nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai

zat antioksidan. Hasil ini selanjutnya digunakan pada penelitian utama untuk memperoleh ekstrak yang lebih baik dengan pelarut metanol.



Gambar 1. Hasil uji antioksidan dengan metode DPPH terhadap ekstrak kijing Taiwan berdasarkan jenis pelarut

Keterangan: angka-angka pada histogram yang diikuti huruf berbeda pada jenis pelarut yang digunakan menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Ekstrak yang diperoleh dari maserasi n-heksan dan etil asetat tidak menunjukkan sifat antioksidan karena nilai IC_{50} yang ditunjukkan berturut-turut sebesar 5512,75 ppm dan 41833,03 ppm. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap sifat antioksidan ekstrak kijing Taiwan. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap nilai IC_{50} , dimana masing-masing jenis pelarut saling berbeda nyata. Hasil dengan nilai paling rendah adalah ekstrak dari maserasi dengan etil asetat. Hasil terbaik adalah ekstrak kijing Taiwan dari maserasi metanol karena menghasilkan nilai IC_{50} paling kecil. Hal ini sesuai dengan Molyneux (2004) yang menyebutkan bahwa sifat antioksidan lebih baik bila nilai IC_{50} lebih kecil. Suatu zat dikatakan memiliki sifat antioksidan bila nilai IC_{50} yang dihasilkan kurang dari 200 ppm.

Penelitian Utama

Penelitian utama yang dilakukan berupa penentuan ekstrak terbaik dari hasil penelitian pendahuluan, yang dilanjutkan dengan perlakuan waktu maserasi, dengan uji antioksidan dengan metode DPPH dan evaluasi aktivitas antioksidan ekstrak kijing Taiwan dalam mencegah proses ketengikan pada emulsi minyak kelapa dengan mengukur bilangan peroksida.

Penentuan Waktu Maserasi dengan Uji Antioksidan Metode DPPH

Perlakuan yang dilakukan pada tahap penelitian utama adalah waktu maserasi dengan pelarut metanol yang didasarkan pada hasil penelitian pendahuluan. Waktu maserasi yang digunakan pada tahap ini adalah 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Data mengenai rendemen ekstrak yang dihasilkan dari berbagai waktu maserasi dapat dilihat pada Tabel 2.

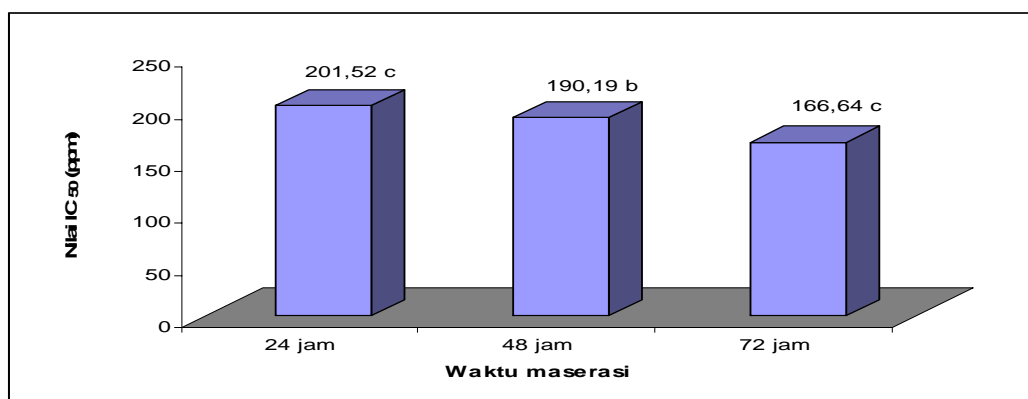
Tabel 2. Data rendemen ekstrak kijing Taiwan pada berbagai waktu maserasi

Waktu maserasi	Ulangan	Berat awal (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)	Rata-rata
24 jam	1	200	0,54	0,27	0,26
	2	200	0,46	0,23	
	3	200	0,53	0,27	
48 jam	1	200	0,62	0,31	0,27
	2	200	0,46	0,23	
	3	200	0,53	0,27	
72 jam	1	200	0,61	0,31	0,28
	2	200	0,57	0,29	
	3	200	0,50	0,25	

Data tentang rendemen ekstrak ini merupakan data pendukung untuk mengetahui seberapa besar ekstrak yang diperoleh dari masing-masing perlakuan. Tabel sidik ragam terhadap rendemen ekstrak kijing Taiwan berdasarkan waktu maserasi menunjukkan bahwa perlakuan waktu maserasi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan. Hasil data rendemen ekstrak kijing Taiwan pada Tabel 2 dianggap relatif sama.

Semua rata-rata rendemen ekstrak yang dihasilkan ternyata mempunyai nilai yang lebih rendah daripada hasil pengujian Liu *et al* (2007) yang menyebutkan bahwa rendemen ekstrak kijing Taiwan dari ekstraksi dengan metanol adalah sekitar 0,5%. Perbedaan ini disebabkan oleh proses ekstraksi lebih lengkap, meliputi maserasi metanol, pengendapan alkohol, pelarutan pada larutan garam, dan ultrafiltrasi. Sumber bahan yang digunakan juga lebih spesifik, yaitu dari liposom kijing Taiwan. Menurut Jufri (2004) liposom atau gelembung minyak merupakan partikel koloid yang terdiri dari molekul-molekul fosfolipid sebagai konstituen utama dalam pembentukan lemak lapis ganda tertutup. Bila bahan yang diekstrak telah diketahui secara spesifik, rendemen ekstrak yang dihasilkan diharapkan lebih banyak.

Ekstrak kijing Taiwan yang diperoleh dari maserasi yang semakin lama diharapkan akan meningkatkan aktivitas antioksidannya. Pengujian dilakukan dengan uji antioksidan menggunakan metode DPPH seperti yang dilakukan pada tahap penelitian pendahuluan. Data yang dihasilkan berupa nilai IC_{50} yang menunjukkan reduksi radikal bebas (DPPH) oleh ekstrak sebesar 50%. Hasil pengujian ekstrak pada berbagai waktu maserasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik hasil uji antioksidan dengan metode DPPH terhadap ekstrak kijing Taiwan berdasarkan waktu maserasi

Keterangan: angka-angka pada histogram yang diikuti huruf berbeda pada waktu maserasi yang digunakan menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Grafik hasil uji antioksidan dengan metode DPPH terhadap ekstrak kijing Taiwan di atas menunjukkan bahwa waktu maserasi dengan metanol selama 24 jam menghasilkan nilai IC_{50} yang paling besar, yaitu 201,52 ppm. Maserasi selama 48 jam menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 190,19 ppm, sedangkan nilai yang paling kecil berasal dari maserasi selama 72 jam dengan nilai sebesar 166,64 ppm. Nilai IC_{50} yang dihasilkan menunjukkan bahwa semakin lama waktu maserasi dengan pelarut metanol, maka sifat antioksidan semakin tinggi. Diduga bahwa pada waktu maserasi yang lebih lama, metanol dapat melarutkan komponen lain yang dapat memberikan efek sinergis dengan senyawa antioksidan yang telah terekstrak sebelumnya sehingga efektivitasnya meningkat. Dapat pula dinyatakan bahwa maserasi selama 72 jam belum optimal untuk mengekstrak komponen bioaktif yang bersifat antioksidan dari kijing Taiwan karena aktivitasnya terus meningkat.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa waktu maserasi memberikan pengaruh nyata terhadap nilai IC_{50} dari ekstrak. Pengujian dilanjutkan dengan uji Duncan terhadap waktu maserasi pelarut metanol. Hasil pengujian menyatakan bahwa maserasi selama 72 jam mampu menghasilkan ekstrak dengan efek antioksidan paling tinggi

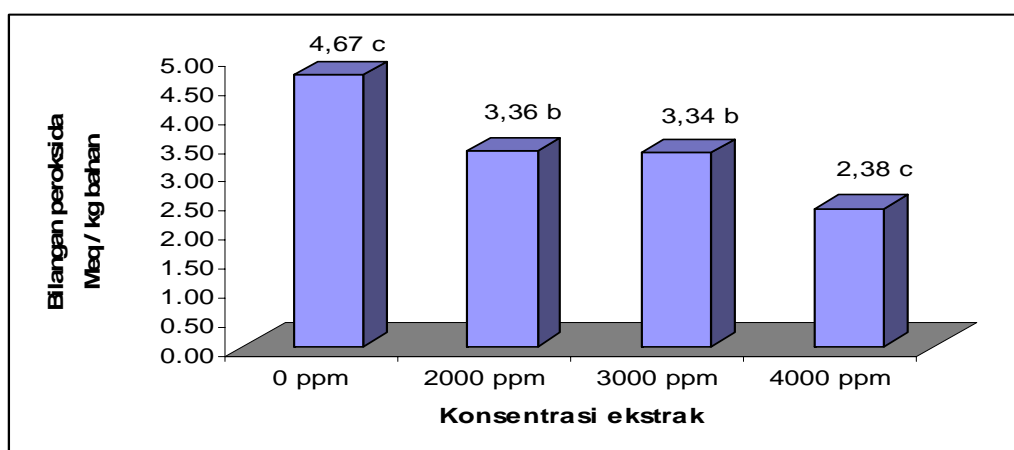
karena nilai IC_{50} -nya rendah. Molyneux (2004) menyebutkan bahwa suatu zat dikatakan memiliki sifat antioksidan bila nilai IC_{50} yang dihasilkan kurang dari 200 ppm. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin tinggi sifat antioksidan dari zat tersebut. Hasil yang menunjukkan nilai IC_{50} yang paling tinggi, yaitu dari proses maserasi selama 72 jam, selanjutnya akan digunakan untuk pengujian bilangan peroksida pada tahapan selanjutnya.

Evaluasi Aktivitas Antioksidan dengan Pengukuran Bilangan Peroksida

Peroksida yang terbentuk merupakan hasil reaksi antar lemak tidak jenuh dengan oksigen yang dapat dijadikan sebagai indikasi kerusakan minyak atau lemak. Penghitungan bilangan peroksida merupakan salah satu cara untuk menentukan derajat kerusakan minyak atau lemak (Ketaren 1986). Model yang digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak metanol dari kijang taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) dengan waktu maserasi 72 jam adalah menggunakan emulsi minyak.

Aktivitas antioksidan diukur dengan cara menghitung bilangan peroksida emulsi minyak yang telah dicampur dengan ekstrak sebanyak 2000 ppm, 3000 ppm, dan 4000 ppm selama tujuh hari penyimpanan dalam inkubator dengan suhu 36,9 °C. Ekstrak yang dipakai adalah ekstrak kijang Taiwan yang diperoleh melalui maserasi dengan pelarut metanol selama 72 jam yang merupakan hasil terbaik dari tahapan sebelumnya. Hasil dari masing-masing emulsi minyak tersebut dibandingkan dengan emulsi minyak tanpa penambahan ekstrak kijang Taiwan, dalam penelitian disebut dengan emulsi minyak 0 ppm.

Santoso *et al* (2004) menyatakan bahwa penambahan zat antioksidan dalam emulsi minyak akan menghambat pembentukan bilangan peroksida. Perbedaan bilangan peroksida untuk masing-masing sampel setelah penyimpanan selama tujuh hari dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil penghitungan bilangan peroksida terhadap sampel yang ada menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kijang Taiwan dengan konsentrasi yang berbeda menghasilkan perbedaan nyata terhadap bilangan peroksida. Emulsi minyak tanpa penambahan ekstrak kijang Taiwan (0 ppm) mempunyai bilangan peroksida sebesar 4,67 Meq/kg bahan. Nilai tersebut menunjukkan bahwa emulsi minyak tersebut sudah tengik. Menurut SNI 01-3394-1998, batasan untuk minyak yang masih bagus adalah kurang dari 3 Meq/kg bahan.



Gambar 3. Bilangan peroksida pada emulsi minyak dengan penambahan ekstrak kijing taiwan

Keterangan: angka-angka pada histogram yang diikuti huruf berbeda pada bilangan peroksida yang digunakan menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)

Ekstrak kijing Taiwan, berdasarkan pada Gambar 3, terbukti mampu menghambat pembentukan bilangan peroksida. Penambahan ekstrak sebesar 2000 ppm dan 3000 ppm menunjukkan bilangan peroksida sebesar 3,36 Meq/kg bahan dan 3,34 Meq/kg bahan. Emulsi minyak dengan penambahan ekstrak 4000 ppm merupakan penambahan ekstrak dengan konsentrasi terbaik karena mampu menghambat pembentukan peroksida paling tinggi. Bilangan peroksida yang dihasilkan terendah dibandingkan perlakuan yang lainnya, yaitu sebesar 2,38 Meq/kg bahan. Penambahan ekstrak kijing Taiwan hasil maserasi metanol selama 72 jam terbukti memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah bilangan peroksida pada emulsi minyak.

Hasil uji Duncan terhadap bilangan peroksida emulsi minyak dengan penambahan ekstrak, menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 0 ppm berbeda nyata dengan semua sampel yang ditambah dengan ekstrak kijing Taiwan. Sampel yang tidak saling berbeda nyata adalah emulsi minyak 2000 ppm dan 3000 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kijing Taiwan sebesar 2000 ppm dan 3000 ppm terhadap emulsi minyak tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan.

Hasil yang telah diperoleh dari penghitungan bilangan peroksida menunjukkan bahwa ekstrak kijing Taiwan efektif sebagai antioksidan karena mampu menghambat pembentukan peroksida pada emulsi minyak. Penggunaan konsentrasi ekstrak yang dianjurkan adalah sebesar 4000 ppm karena menghasilkan peroksida paling rendah pada emulsi minyak.

Hasil Uji Fitokimia

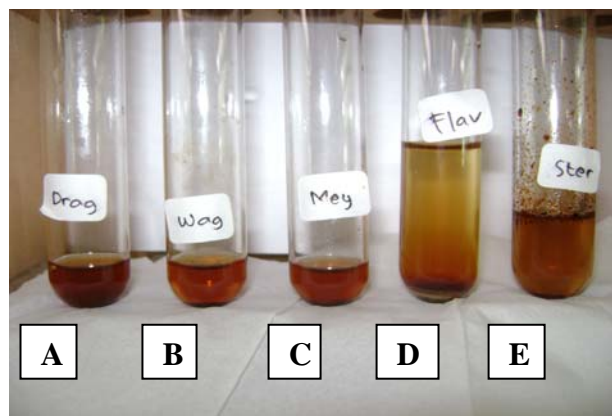
Pengujian fitokimia dimaksudkan untuk mengidentifikasi kandungan kimia dalam ekstrak kijing Taiwan terbaik sebagai langkah awal untuk mengetahui jenis komponen bioaktif yang terkandung sehingga dapat dimanfaatkan lebih lanjut. Pengujian secara kualitatif dilakukan untuk membuktikan keberadaan senyawa kimia tertentu yang dapat dideteksi dalam sampel. Metode uji berdasarkan perubahan warna atau terbentuknya endapan sebagai respon atas pereaksi tertentu (Harborne 1987).

Jenis uji fitokimia umum untuk ekstrak kijing Taiwan adalah uji kandungan alkaloid, terpenoid/steroid, dan flavonoid. Pengujian tidak dilakukan untuk semua jenis senyawa karena komponen bioaktif yang dominan terdapat pada jenis kerang-kerangan adalah alkaloid, terpenoid/steroid, dan flavonoid (Darusman *et al* 1994). Hasil pengujian fitokimia terhadap ekstrak kijing Taiwan dapat dilihat pada Tabel 3, sedangkan gambar hasil pengujian terdapat pada Gambar 4.

Tabel 3. Hasil uji fitokimia ekstrak kijing Taiwan dengan maserasi metanol selama 72 jam

Jenis senyawa	Hasil	Tanda
Alkaloid :		
Wagner	(+)	terbentuk endapan coklat
Meyer	(+)	terdapat endapan kekuningan
Dragendorff	(+)	terdapat endapan jingga
Steroid	(-)	tidak terbentuk warna hijau/biru
Flavonoid	(+)	lapisan amil alkohol berwarna jingga

Pengujian fitokimia menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak kijing Taiwan adalah kelompok alkaloid dan flavonoid. Kelompok alkaloid positif karena menghasilkan endapan ketika direaksikan dengan pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, dan pereaksi Meyer. Flavonoid juga terdapat pada ekstrak kijing Taiwan karena menghasilkan lapisan amil alkohol yang berwarna jingga. Kedua senyawa tersebut bersifat polar karena terlarut dalam pelarut metanol.



Gambar 4. Hasil uji fitokimia (alkaloid, flavonoid, dan steroid) terhadap ekstrak kijing Taiwan dari maserasi dengan metanol selama 72 jam

Keterangan:

- A = hasil reaksi dengan pereaksi Dragendorff
- B = hasil reaksi dengan pereaksi Wagner
- C = hasil reaksi dengan pereaksi Meyer
- D = hasil uji flavonoid
- E = hasil uji steroid

Alkaloid pada umumnya mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid merupakan grup terbesar senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada produk alami dan sering kali memiliki sifat beracun sehingga digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Secara kimia, alkaloid merupakan suatu kelompok yang heterogen. Jenis yang dapat terdeteksi sampai saat ini mencapai lebih dari 5500 struktur yang berbeda (Harborne 1987).

Flavonoid, merupakan turunan senyawa induk flavon yang berupa senyawa yang dapat larut dalam air. Flavonoid juga merupakan senyawa fenol yang warnanya dapat berubah bila ditambah senyawa lain. Sifat ini yang menyebabkan flavonoid mudah dideteksi pada larutan atau dengan kromatografi (Harborne 1987). Kelompok flavonoid mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi yang mempunyai aktivitas antioksidan (Sucipto 2008).. Flavonoid diketahui sebagai antioksidan yang baik karena mempunyai sedikitnya dua gugus hidroksil pada posisi *orto* dan *para* (Winarno 1996).

Senyawa flavonoid pada umumnya bersifat aromatik, sehingga dapat menyerap spektrum ultraviolet (UV) secara intensif. Gugus fungsi pada senyawa flavonoid dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas hidroksi (OH) sehingga tidak mengoksidasi lemak, protein, dan DNA dalam sel. Kemampuan flavonoid dalam menangkap radikal

bebas 100 kali lebih efektif dibandingkan vitamin C dan 25 kali lebih efektif dibandingkan vitamin E. Beberapa flavonoid, seperti morin, fisetin, kuersetin, katekin, dan gosipetin berkhasiat sebagai antioksidan dan dapat menghambat oksidasi LDL (*Low Density Lipoprotein*) (Harborne 1987).

Mekanisme antioksidan oleh alkaloid maupun flavonoid sendiri sebelumnya masih belum terlalu jelas. Namun secara umum, antioksidan mempunyai struktur inti yang sama, yaitu cincin benzen tidak jenuh disertai gugus hidroksil (-OH), asam amino (-NH₂), ataupun hidrogen (-H). Gugus-gugus inilah yang bertugas untuk berikatan dengan radikal bebas sehingga menghasilkan komponen yang tidak reaktif lagi (Winarno 1996).

KESIMPULAN

Hasil ekstraksi dari kijing Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) dengan ekstraksi bertingkat menggunakan pelarut non-polar (n-heksan), pelarut semi polar (etil asetat), dan pelarut polar (metanol) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata pada rendemen ekstrak yang dihasilkan. Ekstrak terbanyak diperoleh dari maserasi dengan metanol, menghasilkan rendemen ekstrak sebanyak 0,12%. Hasil pengujian dengan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) sebagai radikal bebas menunjukkan bahwa pelarut yang dapat menghasilkan ekstrak terbaik adalah metanol yang menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 201,52 ppm.

Penentuan waktu maserasi terbaik dengan uji antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa waktu maserasi selama 72 jam dengan pelarut metanol memberikan efek antioksidan paling tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 166,64 ppm. Penambahan ekstrak kijing Taiwan terpilih sebanyak 4000 ppm terhadap emulsi minyak kelapa ternyata memberikan hasil terbaik karena bilangan peroksidanya terendah, yaitu 2,38 Meq/kg bahan..

Ekstrak yang diperoleh diuji fitokimia untuk menentukan jenis komponen bioaktifnya. Berdasarkan uji yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa komponen yang terdapat dalam ekstrak kijing Taiwan tersebut adalah kelompok alkaloid dan flavonoid. Kedua jenis komponen tersebut bersifat polar karena terdapat pada ekstrak yang telah dimaserasi dengan metanol selama 72 jam.

SARAN

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah perlu dilakukan modifikasi metode ekstraksi untuk menghasilkan ekstrak kijing Taiwan dengan aktivitas antioksidan lebih tinggi. Alternatif metode yang dapat dilakukan adalah maserasi dengan pengadukan, sonikasi, ekstraksi tunggal, ataupun metode yang lebih kompleks lainnya. Selain itu perlu dilakukan pemisahan dan pemurnian untuk mengetahui jenis bioaktif yang terkandung secara lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Darusman LK, Sajuthi D, Sutriah K, Pamungkas D. 1995. *Ekstraksi Komponen Bioaktif sebagai bahan Obat dari Karang-karangan, Bunga Karang, dan Ganggang di Perairan K. Pari Kepulauan Seribu*. Bogor: Jurusan Kimia, Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi ke-2. Kosasih Padmawinata, penerjemah. Bandung: ITB-Press.
- Hasim. 2008. Kerang sebagai biofilter logam berat. <http://www.kompas.com/kompas-cetak.htm>. [23 Juli 2008].
- Hess P, Nguyen L, Aasen J, Keogh M, Kilcoyne, McCarron P, Aune T. 2005. Tissue distribution, effects of cooking and parameters affecting the extraction of azaspiracids from mussels, *Mytilus edulis*, prior to analysis by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Toxicol* 2005;46:62-71.
- Ketaren S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia (UI) Press.
- Liu J, Gu B, Bian J, Hu S, Cheng X, Ke, Q, Yan H. 2008. Antitumor activities of liposome-incorporated aqueous extracts of *Anodonta woodiana* (Lea, 1834). *Eur Food Res Technol* 2008;227:919-924.
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radicals diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol* 2004;26(2);211-219.
- Muchtadi D. 2000. *Sayur-sayuran Sumber Serat dan Antioksidan: Mencegah Penyakit Degeneratif*. Bogor: Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Santoso J, Yoshie Y, Suzuki T. 2004. Antioxidant activity of methanol extracts from Indonesian seaweeds in an oil emulsion model. *Fish.Sci.* 70:183-188.

SNI 01-3394-1998. 1998. *Minyak Jagung sebagai Minyak Makan*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.

Soeseno S. 1984. *Dasar-Dasar Perikanan Umum*. Jakarta: Yasaguna.

Suwignyo P, Basmi J, Batu DTF, Affandi R. 1981. *Studi Biologi Kijing Taiwan (Anodonta woodiana Lea)*. Bogor: Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor.

Winarno FG. 1996. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.