

## KARAKTERISASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF EKSTRAK PIGMEN TELUR KEONG MAS

**Asadatun Abdullah\*, Nurjanah, Muhammad Reyhan**

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,

Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat

Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915

\*Korespondensi: [asabdullah@apps.ipb.ac.id](mailto:asabdullah@apps.ipb.ac.id)

Diterima: 3 April 2017/ Disetujui: 2 Agustus 2017

**Cara sitasi:** Abdullah A, Nurjanah, Reyhan M. 2017. Karakterisasi dan identifikasi senyawa aktif ekstrak pigmen telur keong mas. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 286-295.

### Abstrak

Keong mas (*Pomacea canaliculata*) diketahui menjadi hama bagi tanaman padi karena kemampuan adaptasi dan daya reproduksi yang tinggi. Salah satu upaya untuk memberantas hama keong mas dengan memanfaatkan telur keong mas untuk bahan baku produk dalam bidang industri pangan maupun kesehatan. Tujuan penelitian ini yaitu mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak pigmen telur keong mas. Metode penelitian yang digunakan meliputi ekstraksi pigmen menggunakan aseton dan metanol, analisis metabolit sekunder, dan penentuan senyawa aktif secara semi kuantitatif dengan LC-MS/MS. Rendemen ekstrak pigmen telur keong mas yaitu 33,80% pada pelarut aseton dan 36,10% pada pelarut metanol. Hasil identifikasi pada ekstrak metanol pigmen telur keong mas menunjukkan adanya senyawa aktif berupa pigmen yaitu 11 pigmen karotenoid golongan xantofil, 2 pigmen karotenoid golongan karoten, dan 2 senyawa aktif berupa non pigmen, sedangkan pada ekstrak aseton menghasilkan 11 pigmen karotenoid golongan xantofil dan 2 senyawa aktif berupa non pigmen.

Kata kunci: karotenoid, LC-MS/MS, komponen aktif, *Pomacea canaliculata*

### *Identification and Profiling of Active Compounds from Golden Apple Snail's Egg Pigments*

#### Abstract

Golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) has been known as a pest for rice plant due to high adaptability and reproductive power. Utilization of *Pomacea canaliculata*'s eggs as raw materials in the food and health industry is one of the efforts to eradicate the pest snail. This study was aimed to identify the active compounds contained in the extract pigments of *Pomacea canaliculata*'s eggs. The methods of this study were an extraction of pigments using acetone and methanol, analyzing the active compound (secondary metabolite) qualitatively, TLC to determine pigment components and LC-MS/MS to identify active compounds semi quantitatively. The yield of *Pomacea canaliculata*'s eggs pigment extracts is 33,80% in acetone solvent and 36,10% in methanol solvent. The results showed that active compounds in the methanol extract contain 11 carotenoid pigments of a xanthophyl group, two carotenoid pigments of carotene group, and 2 active compounds in non-pigmented form, whereas the acetone extract contains 11 pigment carotenoids of a xanthophyl group and 2 compounds active in non-pigment form.

Keywords: active ingredients, carotenoids, LC-MS/MS, *Pomacea canaliculata*

### PENDAHULUAN

Keong mas (*Pomacea canaliculata*) adalah moluska air tawar yang berasal dari Amerika Selatan. Keong mas di Asia diketahui menjadi hama bagi tanaman padi (Hayes *et al.* 2008). Budiyo (2006) melaporkan bahwa keong mas selama hidupnya mampu menghasilkan

telur sebanyak 15-20 kelompok yang tiap kelompok berjumlah kurang lebih 500 butir dengan persentase penetasan lebih dari 85%. Yusa *et al.* (2006) menyatakan bahwa 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. Telur keong mas selama ini telah dimanfaatkan secara empiris sebagai pupuk ZPT (Zat Perangsang Tumbuh) organik, kerupuk dan minuman sehat (Ameliawati 2013).

Pigmen atau bahan pewarna sekarang ini sangat dibutuhkan di bidang industri pangan sebagai pewarna makanan maupun produk kesehatan. Pigmen di bidang kesehatan dapat dimanfaatkan sebagai antitumor, antiinflamasi, meningkatkan kemampuan otak serta sebagai antioksidan. Jenis pigmen alami yang memiliki potensi besar salah satunya adalah karotenoid (Nugraheni 2010). Karotenoid merupakan kelompok pigmen yang berwarna kuning, jingga, merah, serta larut dalam minyak, dan merupakan senyawa provitamin A (Desiana 2000). Fasset dan Coombes (2011) melaporkan bahwa karotenoid diklasifikasikan berdasarkan struktur kimianya, menjadi karoten dan xantofil. Karoten tersusun atas unsur atom C dan H, contohnya yaitu  $\beta$ -karoten dan lycopene, sedangkan xantofil yang tersusun atas unsur atom C, H, dan O, contohnya yaitu lutein, canthaxanthin, zeaxanthin, violaxanthin, capsorubin dan astaxanthin.

Pigmen karotenoid dapat ditemukan dalam tumbuhan, beberapa jenis hewan, alga, bakteri, jamur dan banyak ditemukan pada kulit, cangkang dan kerangka luar hewan air misalnya moluska, krustacea dan ikan (Gupta dan Jha 2006). Telur keong mas memiliki warna merah muda diduga menunjukkan adanya kandungan komponen aktif berupa pigmen alami yaitu karotenoid. Kandungan total pigmen karotenoid telur keong mas tergolong tinggi yaitu  $313,48 \pm 19,73$  ppm (Ameliawati 2013), dibandingkan dengan telur ikan salmon chinok (*Oncorhynchus tshawytscha*) yaitu 17,9 ppm (Garner *et al.* 2010) dan telur ikan terbang yaitu  $245,37 \pm 0,08$  ppm (Azka *et al.* 2015).

Oroian dan Escrache (2015) melaporkan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan antara lain: vitamin C dan E, karotenoid (karoten dan xantofil) dan

polifenol. Perbawani (2017) melaporkan bahwa telur keong mas memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  542 ppm. Aktivitas antioksidan yang berada pada telur keong mas diduga karena adanya kandungan komponen aktif berupa pigmen karotenoid. Karotenoid sebagai pigmen alami dapat digunakan sebagai bahan pewarna alami di berbagai bidang yaitu sebagai bahan baku berbagai produk farmaseutika, nutrasetika, dan pangan fungsional di bidang industri. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini yaitu identifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak pigmen telur keong mas.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah telur keong mas (*Pomacea canaliculata*) yang diperoleh dari area kolam Percobaan Budidaya, Departemen Budidaya Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bahan lain yang digunakan untuk ekstraksi yaitu pelarut aseton p.a, metanol p.a, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) 10%, pereaksi dragendorff, pereaksi wagner, pereaksi Meyer, serbuk magnesium, HCl 37%, etanol 70%, dan  $FeCl_3$  5%, plat KLT silika G60 F254, n-heksana p.a, etil asetat p.a,  $H_2O$  dan asetonitril HPLC grade. Bahan tersebut produksi Merck, Germany.

Alat yang digunakan meliputi timbangan analitik (Sartorius TE64, Jerman), oven (Yamato DV-41), UV 254, *vacuum rotary evaporator*, kulkas (LG MA53LHJG), Orbital shaker (Wisd SHO-1D), *Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS): *Ultrahigh Performnce Liquid Chromatography* (UPLC) (Waters Acquity ACCQ-Tag Ultra C18), *Mass spectrometry* (MS) (Xevo G2-S QToF) dan kolom *Acquity UPLC* (HSS C18 1,8  $\mu m$  (2,1 x 150 mm)).

### Metode Penelitian

Tahap penelitian meliputi preparasi dan karakterisasi telur keong mas, ekstraksi dan preparasi, serta karakterisasi telur keong mas. Preparasi dilakukan dengan cara membersihkan kotoran yang menempel menggunakan air yang mengalir. Telur keong mas yang diperoleh dilakukan pengukuran

morfometrik meliputi panjang, lebar, tinggi, dan bobot perkelompok telur. Telur keong mas kemudian dicacah dan dikeringkan dengan oven selama 24 jam dengan suhu 50 °C. Telur keong mas yang telah kering dihaluskan menggunakan mortar, sehingga diperoleh bentuk serbuk halus. Serbuk telur keong mas dianalisis kadar air mengacu pada 934.01 AOAC (2005). Tahap pertama yang dilakukan untuk menganalisis kadar air adalah mengeringkan cawan porselen dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam. Cawan tersebut diletakkan ke dalam desikator (kurang lebih 15 menit) dan dibiarkan sampai dingin kemudian ditimbang hingga beratnya konstan. Sampel sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam cawan, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 105 °C selama 5 jam, kemudian cawan dimasukkan ke dalam desikator sampai dingin dan selanjutnya ditimbang kembali. Perhitungan kadar air ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Berat contoh (g)} - \text{Berat contoh kering (g)}}{\text{Berat contoh (g)}} \times 100\%$$

### Ekstraksi pigmen

Ekstraksi pigmen mengacu pada metode Seely *et al.* (1972) yang dimodifikasi. Sampel kering sebanyak 12,5 g dengan kadar air 6,77% direndam dalam pelarut DMSO 10% dengan perbandingan 1:4 (w/v) sambil diaduk dengan sudip selama 10 menit. Hasil perendaman ditambahkan pelarut aseton p.a dan metanol p.a masing-masing dengan perbandingan 1:8 (w/v), kemudian ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan orbital shaker selama 50 menit, 150 rpm. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring, kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 30 °C, sehingga didapatkan ekstrak pigmen pekat berupa cairan kental berwarna jingga yang terlarut, kemudian cairan tersebut ditimbang dan dihitung rendemennya. Ekstrak pigmen pekat dimasukkan dalam botol vial berwarna gelap (dibungkus dengan aluminium foil) dan disimpan pada suhu 4-10 °C (maksimum 48 jam) untuk dilakukan analisis lanjutan yang meliputi: analisis metabolit sekunder, dan identifikasi senyawa bioaktif dengan LC-MS/

MS. Perhitungan rendemen ekstrak pigmen telur keong mas ditentukan dengan rumus:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat botol beserta isi (g)} - \text{Berat botol kosong (g)}}{\text{Berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

### Analisis fitokimia

Sampel ekstrak pigmen telur keong mas pelarut aseton dan metanol dilakukan analisis kualitatif berupa metabolit sekunder dengan analisis fitokimia menurut metode Harborne (1987). Metabolit sekunder yang ditentukan meliputi alkaloid, triterpenoid dan steroid, saponin, fenol, flavanoid, dan tanin.

### Identifikasi komponen pigmen LC-MS/MS

Identifikasi komponen pigmen dengan LC-MS/MS mengacu pada Najafian dan Babji (2014). Ekstrak pigmen telur keong mas dilarutkan dengan asetonitril, kemudian disaring menggunakan milipore filter unit dengan ukuran 0,54 µ. Sebanyak 5 µL filtrat sampel diinjeksikan ke dalam sistem instrumen LC-ESI-QTOF. Analisis LC-MS/MS dilakukan dengan UPLC-MS yang dilengkapi dengan pompa biner. LC dihubungkan spectrometer massa *Quadrupole Time-of-Flight* (QTOF) dilengkapi dengan sumber ionisasi *Electrospray Ionization* (ESI). *Mass spectrometri* (MS) yang digunakan, yaitu sistem QTOF dengan mode ionisasi positif. Parameter ESI yang digunakan meliputi suhu kapiler 120°C dan gas pengabut 500 L/jam, sumber tegangan 3 kV. Modus full scan dari m/z 100-5000 dilakukan dengan suhu sumber 110°C. Kolom UPLC yang digunakan *Acquity UPLC HSS C18 1.8 µm* (2,1×150 mm). Eluen yang digunakan adalah H<sub>2</sub>O (A) dan asetonitril p.a (B). Eluen diatur pada laju aliran total 0.3 mL/menit. Sistem elusi dijalankan isokratik pada menit ke 0-1 perbandingan 95:5, menit ke-0 elusi gradient linier pelarut A dari 95% hingga 5%, menit 6-7 elusi isokratik perbandingan 0:100, menit ke 6-7 elusi gradient linier pelarut A dari 0% hingga 100%, menit 7,5-9 elusi isokratik perbandingan 95:5, menit ke 7,5-9 elusi gradient linier pelarut A dari 95% hingga 5%. Interpretasi data LC-MS/MS mengacu metode Castillo *et al.* (2011). Data kromatogram yang dihasilkan dikonversi menjadi format NetCDF untuk mempermudah dalam mengolah data



Gambar 1 Telur keong mas (*Pomacea canaliculata*)

dengan MZmine. Pemrosesan data MZmine terdiri atas beberapa tahap, yaitu membuat kromatogram sampel, mengurangi noise, identifikasi berdasarkan berat molekul, dan penyusunan data.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Karakteristik dan Preparasi Telur Keong Mas (*Pomacea canaliculata*)

Telur keong mas (*Pomacea canaliculata*) dalam penelitian ini memiliki ciri-ciri bergerombol seperti buah murbei, berwarna merah muda, bertekstur keras cangkangnya namun mudah pecah bila ditekan, dan beraroma tanah sesuai dengan penelitian Ameliawati (2013). Telur keong mas yang digunakan dapat dilihat pada Gambar 1.

Penetasan telur keong mas terjadi pada 15-28 hari pada suhu 20-24°C atau 8-15 hari pada suhu 28-32°C (Min dan Yan 2006). Pengukuran morfometrik telur keong mas dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisik telur keong mas yang digunakan. Hasil pengukuran morfometrik telur keong mas dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil pengamatan menunjukkan kelompok telur keong mas yang digunakan dalam penelitian ini memiliki panjang dan bobot lebih besar dibandingkan dengan kelompok telur keong mas yang dilaporkan

Ameliawati (2013) dengan pengambilan sampel kelompok telur keong mas di tempat yang sama. Perbedaan ukuran morfometrik kelompok telur keong mas diduga dipengaruhi oleh ketersediaan makanan, suhu, iklim dan tingkat kematangan telur keong mas. Estebenet dan Martin (2002) menjelaskan bahwa ukuran induk dan populasi keong mas dalam kolam merupakan faktor yang mempengaruhi ukuran telur keong mas, sedangkan menurut Kurniawati *et al.* (2007) perbedaan ukuran morfometrik telur keong mas lebih dipengaruhi oleh lingkungan.

Ukuran sampel yang semakin kecil maka luas permukaan sampel semakin besar, sehingga kontak sampel dengan pelarut saat proses ekstraksi semakin cepat. Sampel yang memiliki tingkat kehalusan yang tinggi memungkinkan terjadinya pengambilan senyawa aktif dalam sampel semakin mudah oleh pelarut (Azmir *et al.* 2013). Sampel kering telur keong mas dengan bentuk serbuk halus dapat dilihat pada Gambar 2.

Analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui kandungan air dalam sampel kering telur keong mas, hal ini diduga karena kadar air dalam sampel telur keong mas berpengaruh pada hasil ekstraksi. Septiandari (2016) melaporkan bahwa semakin tinggi kadar air sampel maka konsentrasi pelarut

Tabel 1 Data morfometrik rata-rata kelompok telur keong mas

Parameter	Telur keong mas	Telur keong mas*
Panjang (cm)	5,12±0,95	3,7±0,7
Lebar (cm)	2,26±0,50	2,2±0,3
Tinggi (cm)	1,32±0,29	1,2±0,3
Bobot (gr)	5,56±0,92	4,4±1,4

Keterangan: sampel 10 kelompok telur keong mas, \*Ameliawati (2013)





Gambar 2 Sampel kering telur keong mas

akan semakin rendah karena telah bercampur dengan air sampel dan sebaliknya. Perubahan konsentrasi suatu pelarut akan mengubah kepolaran dari pelarut tersebut sehingga akan berpengaruh pada hasil ekstraksi. Kadar air sampel juga perlu diketahui untuk meningkatkan daya simpan sampel, hal ini berkaitan dengan aktivitas mikrobiologi dalam sampel. Kadar air yang tinggi akan menyebabkan sampel memiliki kelembaban yang lebih tinggi, sehingga sampel mudah terdegradasi oleh mikroorganisme, tumbuh jamur dan penguraian oleh enzim. Puspita (2011) menjelaskan bahwa kestabilan optimum bahan dapat tercapai dan pertumbuhan mikroba dalam sampel dapat berkurang jika suatu sampel memiliki kadar air kurang dari 11%. Hasil analisis kadar air sampel kering telur keong mas yaitu sebesar 6,77%, sehingga diduga pertumbuhan jamur dan degradasi oleh mikroorganise dapat dihambat, serta kestabilan optimum sampel dapat tercapai.

### Ekstrak Pigmen

Proses ekstraksi pigmen pada penelitian ini menggunakan metanol dan aseton. Perendaman dengan DMSO bertujuan untuk mendenaturasi protein, menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa aktif, sehingga adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa aktif di dalam sel dengan di luar sel, larutan yang pekat di dalam sel dapat didesak keluar. Ekstraksi merupakan proses penarikan atau pemisahan senyawa aktif menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi bertujuan untuk mendapatkan senyawa-senyawa aktif suatu bahan. Hasil rendemen ekstrak metanol pigmen telur keong mas yang didapat sebesar 36,10% dan ekstrak aseton 33,80% dengan

karakteristik ekstrak pigmen telur keong mas berwarna jingga dalam bentuk pasta. Metanol diduga dapat mengekstraksi sebanyak mungkin senyawa.

Metanol memiliki kemampuan untuk meningkatkan permeabilitas dinding sel, mempermudah efisiensi ekstraksi dari senyawa yang bersifat polar dan medium ke polaritas rendah (Walker 2006). Aseton dipilih karena karotenoid secara umum memiliki kelarutan yang baik dalam aseton atau campuran aseton:metanol. Karotenoid pada umumnya diekstraksi dari sampel biologis menggunakan pelarut yang bercampur dengan air. Aseton dan metanol selama dapat bercampur dengan air, pelarut ini sering kali digunakan untuk mengekstraksi karotenoid dari sampel biologi yang mengandung air Ryckebosch *et al.* (2014); Heffernan *et al.* (2016).

Maserasi dipilih untuk mencegah kerusakan sampel karena cocok untuk senyawa-senyawa aktif yang tidak tahan panas (Tiwari *et al.* 2011). Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan dalam pelarut tersebut (Indrayani *et al.* 2006). Pelarut yang bersifat polar mampu mengekstraksi senyawa alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Pelarut semi polar mampu mengekstraksi senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Pelarut non polar mudah menguap dan dapat mengekstraksi senyawa kimia yaitu lilin, lipid dan minyak.

### Komponen Aktif

Hasil uji kualitatif komponen aktif telur keong mas disajikan pada Tabel 2. Analisis kualitatif metabolit sekunder bertujuan untuk

Tabel 2 Komponen aktif ekstrak pigmen telur keong mas

Uji Fitokimia	Metanol	Aseton	Standar Warna
Alkaloid :			
- Meyer	+	+	Endapan putih
- Wegner	+	+	Endapan kuning hingga coklat
- Dragendrof	+	+	Endapan merah hingga jingga
Flavonoid	-	+	Lapis amil alkohol berwarna kuning
Steroid	-	+	Warna biru kehijauan
Triterpenoid	-	+	Warna merah
Fenol	-	-	Warna biru tua atau hijau
Tannin	-	-	Kehitaman
Saponin	+	+	Busa stabil

Keterangan: - : Tidak terkandung komponen aktif, + : Mengandung komponen aktif

memberikan gambaran tentang golongan komponen aktif yang terkandung dalam sampel yang sedang diteliti. Hasil analisis komponen kimia secara kualitatif didapatkan bahwa ekstrak aseton pigmen telur keong mas mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, sedangkan pada ekstrak metanol mengandung alkaloid dan saponin. Senyawa tannin dan fenol tidak terkandung pada ekstrak aseton dan metanol pigmen telur keong.

Alkaloid secara alami disintesis dari berbagai jenis organisme termasuk hewan, tanaman, bakteri dan fungi. Saxena *et al.* (2013) menyatakan bahwa alkaloid mempunyai banyak manfaat untuk industri farmasi yaitu antihipertensi, antiaritmia, antimalaria dan antikanker. Mierziak *et al.* (2014) menjelaskan bahwa beberapa senyawa flavonoid mempunyai ikatan dengan gugus gula sehingga flavonoid mudah larut dalam air atau pelarut yang bersifat polar misalnya etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Flavonoid telah terbukti memiliki berbagai aktivitas biologis dan farmakologis yang berfungsi sebagai antiinflamasi, antialergi (Yamamoto dan Gaynor 2001), antioksidan (Cazarolli *et al.* 2008), dan antimikroba (Cushnie dan Lamb 2011).

Saponin merupakan komponen aktif permukaan dan bersifat seperti sabun dan dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa (Apri 2014). Ruiz *et al.* (2005) melaporkan bahwa saponin bermanfaat

sebagai antimikroba, antiinflamasi serta mempunyai toksisitas rendah.

Triterpenoid adalah kerangka karbon yang tersusun atas 6 unit *isoprene* dan dibuat secara biosintesis dari *squalene* (C<sub>30</sub> hidrokarbon asiklik). Steroid merupakan komponen triterpen yang terdapat dalam bentuk glikosida. Setzer (2008) melaporkan bahwa triterpenoid alami memiliki aktivitas antitumor. Firdiyani *et al.* (2015) melaporkan bahwa steroid memiliki kecenderungan sebagai sumber antibakteri.

### Senyawa Aktif secara Semi Kuantitatif

Hasil penentuan komponen aktif ekstrak metanol dan aseton pigmen telur keong mas disajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4. Dugaan senyawa pada ekstrak metanol pigmen telur keong mas terdapat 13 senyawa dan 2 senyawa aktif non pigmen, sedangkan dugaan senyawa pada ekstrak etanol pigmen telur keong mas terdapat 11 senyawa dan 2 senyawa aktif non pigmen.

Theoridis *et al.* (2008) melaporkan bahwa LC-MS/MS merupakan salah satu teknik analisis dengan resolusi tinggi dan dapat digunakan dalam analisis kuantitatif maupun analisis struktural sehingga dapat memberikan pendekatan yang sangat berguna dalam menentukan profil suatu metabolit. Katajama dan Oresic (2005) menyatakan bahwa MZmine mencakup semua tahapan pada pemrosesan data awal kromatogram LC-MS/MS dan utamanya digunakan dalam tujuan metabolomik misalnya pengidentifikasian

Tabel 3 Dugaan senyawa pada ekstrak metanol pigmen telur keong mas

No.	Nama Senyawa	Formula	Waktu retensi (Rt (min))	Massa molekul (m/z) [M+H] <sup>+</sup>	Massa molekul* (m/z)
1	<i>Fucoxanthin</i>	C <sub>42</sub> H <sub>58</sub> O <sub>6</sub>	9,65	659,4343	658,4233
2	<i>Zeaxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O <sub>2</sub>	11,85	569,3419	568,4280
3	<i>2-Ketospirilloxanthin</i>	C <sub>42</sub> H <sub>58</sub> O <sub>3</sub>	13,71	611,3563	610,4386
4	<i>Eschscholtzaxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O <sub>2</sub>	13,79	567,3290	566,4124
5	<i>Lycopene</i>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub>	13,97	537,3748	536,4382
6	<i>meso-Astaxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>52</sub> O <sub>4</sub>	13,97	597,3835	536,2866
7	<i>Astaxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>52</sub> O <sub>4</sub>	14,12	597,3885	596,3866
8	<i>Chlorobactene</i>	C <sub>40</sub> H <sub>52</sub>	14,44	533,3461	532,4069
9	<i>Lycoxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O	14,77	553,3955	552,4331
10	<i>Canthaxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	14,77	565,3653	564,3967
11	<i>Caloxanthin sulfat</i>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O <sub>6</sub> S	14,77	665,4588	664,3798
12	<i>Echinenone</i>	C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O	14,81	551,3905	550,4175
13	<i>Rhodoxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>	14,99	563,3489	562,3811
Senyawa aktif non pigmen					
14	<i>Taurine</i>	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub> S	0,99	125,9866	125,0147
15	<i>Emodepside</i>	C <sub>60</sub> H <sub>90</sub> N <sub>6</sub> O <sub>14</sub>	7,21	1119,5857	1118,6515

Keterangan: \*sumber online database ([www.kegg.jp/http://www.lipidmaps.org](http://www.kegg.jp/http://www.lipidmaps.org))

Tabel 4 Dugaan senyawa ekstrak aseton pigmen telur keong mas

No.	Nama Senyawa	Formula	Waktu retensi (Rt (min))	Massa molekul (m/z) [M+H] <sup>+</sup>	Massa molekul* (m/z)
1	<i>Capsorubin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O <sub>4</sub>	12,73	601,3676	600,4179
2	<i>Violaxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O <sub>4</sub>	12,76	601,3724	600,4179
3	<i>meso-Astaxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>52</sub> O <sub>4</sub>	13,31	597,3942	596,3866
4	<i>Astaxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>52</sub> O <sub>4</sub>	13,46	597,3945	596,3866
5	<i>Spirilloxanthin</i>	C <sub>42</sub> H <sub>60</sub> O <sub>2</sub>	13,61	597,3924	596,3866
6	<i>Bixindial</i>	C <sub>24</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	13,71	349,2738	348,2089
7	<i>Echinenone</i>	C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O	14,74	551,3917	550,4175
8	<i>Caloxanthin sulfat</i>	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O <sub>6</sub> S	14,74	665,4598	664,3798
9	<i>Phoenicopterone</i>	C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O	14,81	551,3877	550,4175
10	<i>Canthaxanthin</i>	C <sub>40</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	14,89	565,3665	564,3967
11	<i>Hydroxychlorobactene</i>	C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O	14,99	551,3894	550,4175
Senyawa aktif non pigmen					
14	<i>Taurine</i>	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub> S	0,95	125,9862	125,0147
15	<i>Ethionamide</i>	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> S	0,95	167,0126	166,0565

Keterangan: \*sumber online database ([www.kegg.jp/http://www.lipidmaps.org](http://www.kegg.jp/http://www.lipidmaps.org))

suatu senyawa dalam suatu sampel. MZmine mengolah kromatogram LC-MS/MS menjadi bentuk *mass array*. *Mass array* adalah matriks data tiga dimensi yang mengandung informasi massa akurat dari puncak terdeteksi, waktu retensi, dan intensitas puncak (Tanaka *et al.* 2011). Pendugaan identifikasi metabolit dilakukan dengan membandingkan nilai massa akurat puncak terdeteksi hasil *mass array* dengan nilai massa akurat senyawa pigmen yang terdapat pada *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) ([www.kegg.jp/http://www.lipidmaps.org](http://www.kegg.jp/http://www.lipidmaps.org)). Halket (2005) melaporkan bahwa analisis LC-MS/MS dengan teknik ionisasi umumnya menghasilkan ion molekuler ( $[M+H]^+$  atau  $[M+H]^-$ ) bergantung pada beberapa faktor seperti sifat kimia analat, polaritas tegangan ESI, sifat matriks, dan komposisi pelarut sehingga tidak mudah untuk memprediksi muatan ion yang dihasilkan dalam perlakuan.

Hasil identifikasi LC-MS/MS secara semi kuantitatif ekstrak metanol dan aseton pigmen telur keong mas menunjukkan adanya senyawa-senyawa aktif berupa pigmen dan non pigmen. Komponen pigmen pada ekstrak metanol meliputi pigmen karotenoid golongan karoten yaitu lycopene dan chlorobactene, karotenoid golongan xantofil yaitu *fucoxanthin*, *zeaxanthin*, *2-ketospirilloxanthin*, *eschsoltzanthin*, *meso-astaxanthin*, *astaxanthin*, *canthaxanthin*, *lycoxanthin*, *caloxanthin sulfat*, *echinenone*, dan *rhodoxanthin*, sedangkan pada ekstrak aseton komponen pigmen yang terdeteksi dan teridentifikasi merupakan karotenoid golongan xantofil yaitu capsorubin, violaxanthin, meso-astaxanthin, astaxanthin, spirilloxanthin, *bixindial*, *echinenone*, *caloxanthin sulfat*, *phoenicopterone*, *canthaxanthin*, dan *hydroxychlorobactene*. Komponen pigmen yang terdeteksi dan teridentifikasi pada ekstrak metanol pigmen telur keong mas lebih banyak dibandingkan pada ekstrak aseton. Komponen pigmen karotenoid golongan xantofil lebih dominan dibandingkan dengan golongan karoten (Tabel 4 dan Tabel 5). Pasquevich *et al.* (2014) melaporkan bahwa karotenoid pada telur keong mas telah diidentifikasi yaitu astaxanthin dalam bentuk bebas, astaxanthin

monoester (ASX-Me) dan astaxanthin diester (ASX-De) yang termasuk kedalam golongan xantofil. Senyawa aktif non pigmen yang terdeteksi dan teridentifikasi pada ekstrak metanol dan aseton pigmen telur keong mas yaitu taurin dan ethionamide. Taurin memiliki banyak peran biologis fundamental salah satunya sebagai antioksidan (Gurer *et al.* 2001).

## KESIMPULAN

Komponen aktif pada ekstrak aseton pigmen telur keong mas mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, sedangkan pada ekstrak metanol mengandung alkaloid dan saponin. Senyawa aktif ekstrak metanol pigmen telur keong mas terdapat 11 pigmen karotenoid golongan xantofil, 2 pigmen karotenoid golongan karoten, dan 2 senyawa aktif berupa non pigmen, sedangkan pada ekstrak aseton terdapat 11 pigmen karotenoid golongan xantofil dan 2 senyawa aktif berupa non pigmen.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ameliawati MA. 2013. Kandungan mineral makro-mikro dan total karotenoid telur keong mas (*Pomacea canaliculata*) dari kolam budidaya FPIK IPB [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Arlington (US): The Association of Official Analytical Chemist Inc.
- Apri R. 2014. Kandungan senyawa aktif dan uji fitokimia *sinularia sp.* dan *lobophytum sp.* dari perairan Pulau Pongok Bangka Selatan [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Azka A, Nurjanah, Jacob AM. 2015. Profil asam lemak, asam amino, total karotenoid, dan  $\alpha$ -tokoferol telur ikan terbang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(3): 250-261.
- Azmir J, Zaidul ISM, Rahman M M, Sharif, K M, Mohamed A, Sahena F & Omar AKM. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food*



- Engineering*. 117(4): 426-436.
- Budiyono S. 2006. Teknik mengendalikan keong mas pada tanaman padi. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. 2(2):128-133.
- Castillo S, Gopalacharyulu P, Yetukuri L, Oresic M. 2011. Algorithms and tools for the preprocessing of LC-MS metabolomics data. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 108:23-32.
- Cazarolli LH, Zanatta L, Alberton EH, Figueiredo MS, Folador P, Damazio RG, Pizzolatti MG, Silva FR. 2008. Flavonoids: prospective drug candidates. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 8(13):1429-1440.
- Cushnie TP, Lamb AJ. 2011. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 38(2): 99-107.
- Desiana. 2000. Ekstraksi pigmen karotenoid dari limbah kulit udang windu (*Penaeus monodon* Fabricus) dengan bantuan enzim papain. [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Estebenet AL, Martin PR. 2002. *Pomacea canaliculata* (gastropoda: ampullariidae): life-history traits and their plasticity. *Biocell*. 26(1): 83-89.
- Fasset RG, Coombes JS. 2011. Astaxanthin: a potential therapeutic agent in cardiovascular disease. *Marine Drugs*. 9: 447-465.
- Firdiyani F, Agustini TW, Ma'ruf WF. 2015. Extraction of bioactive compounds as natural antioxidants from fresh spirulina platensis using different solvents. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(1): 23-37.
- Garner SR, Neff BD, Bernards MA. 2010. Dietary carotenoid levels affect carotenoid and retinoid allocation in female chinook salmon *Onchorhynchus tshawytscha*. *Fish Biology Journal*. 76: 1474-1490.
- Gupta SK, Jha AK. 2006. Use of Natural Carotenoids for Pigmentation in Fishes. 7-Bunglows (IN): Central Institute of Fisheries Education.
- Gurer H, Ozgunes H, Saygin E, Ercal N. 2001. Antioxidant effect of taurine against lead-induced oxidative stress. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 41(4):397-402.
- Halket JM, Waterman D, Przyborowska AM, Patel RK. 2005. Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS. *Journal of Experimental Bot*. 56:410.
- Harborne JB. 1987. Metode Fitokimia Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung (ID): ITB Pr. Terjemahan dari: Phytochemical Methods.
- Hayes KA, Joshi RC, Thiengo SC, Cowie RH. 2008. Out of South America: multiple origins of non-native apple snails in Asia. *Diversity and Distributions*. 14:701-712.
- Heffernan N, Smyth TJ, FitzGerald RJ, Vila-Soler A, Mendiola J, Ibáñez E, Brunton NP. 2016. Comparison of extraction methods for selected carotenoids from macroalgae and the assessment of their seasonal/spatial variation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 37: 221-228.
- Indrayani L, Soetjipto H, Sihasale L. 2006. Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Berk. Hayati*. 12:57-61.
- Katajama M, Oresic M. 2005. Processing method for differential analysis of LC/MS profile data. *BioMed Center Bioinformatics*. 6: 179.
- Kurniawati N, Hidayat W, Suharto H. 2007. Daya tetas telur dan daya hidup keong mas pada perlakuan pestisida nabati dan insektisida. Prosiding Seminar Apresiasi Hasil Penelitian Padi Menunjang P2BN. Bogor (ID): BB Padi.
- Mierziak J, Kostyn K, Kulima A. 2014. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. *Molecules*. 19: 16240-16265.
- Min W, Yan X. 2006. The golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) in China. Di dalam: Joshi RC & Sebastian LS, editor. Global advances in ecology and management of golden apple snails. Ingeneria (PH): Phil Rice.
- Najafian L, Babji AS. 2014. Production of

- bioactive peptides using enzymatic hydrolysis and identification antioxidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) sarcoplasmic protein hydrolysate. *Journal of Functional Food*. 9: 280-289.
- Nugraheni SA, Khoeri MM, Kusmita L, Widyastuti Y, Radjasa OK. 2010. Characterization of carotenoid pigments from bacterial symbionts of seagrass *Thalassia hemprichii*. *Coastal zone Journals*. 14(1): 51-60.
- Oroian M, Escriche I. 2015. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International*. 74: 10-36.
- Pasquevich MY, Dreon MS, Heras H. 2014. The major egg reserve protein from the invasive apple snail *Pomacea maculata* is a complex carotenoprotein related to those of *Pomacea canaliculata* and *Pomacea scalaris*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Part B 169: 63-71.
- Perbawani BR. 2017. Aktivitas antioksidan ekstrak telur keong mas (*Pomacea canaliculata*) menggunakan metode DPPH [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Puspita M. 2011. Pengoptimuman fase gerak KLT menggunakan desain campuran untuk pemisahan komponen ekstrak meniran (*Phyllanthus niruri*) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Ryckebosch E, Bermúdez SPC, Termote-Verhalle R, Bruneel C, Muylaert K, Parra-Saldivar R, Foubert I. 2011. Influence of extraction solvent system on the extractability of lipid components from the biomass of *Nannochloropsis gaditana*. *Journal of Applied Phycology*. 26(3): 1501-1510.
- Ruiz N, Falcone B, Kahne D, Silhavy TJ. 2005. Chemical conditionality: a genetic strategy to probe organelle assembly. *Cell*. 12(2):307-17.
- Saxena M, Saxena J, Nema R, Singh D, Gupta A. 2013. Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(6): 168-182.
- Seely GR, Duncan MJ, Vidaver WE. 1972. Preparative and analytical extraction of brown algae with dimethyl sulfoxide. *Marine Biology*. 12: 184-188.
- Septiandari N. 2016. Isolasi senyawa triterpenoid fraksi petroleum eter hasil hidrolisis ekstrak metanol alga merah (*Eucheuma spinosum*) menggunakan kromatografi kolom cara kering dang basah [skripsi]. Malang (ID): Universitas Islam Negeri Malang.
- Setzer WN. 2008. Non-intercalative triterpenoid inhibitors of topoisomerase ii: a molecular docking study. *Compounds Journal*. 1: 13-17.
- Tanaka K, Li F, Morikawa K, Nobukawa T, Kadota S. 2011. Analysis of biosynthetic fluctuations of cultured *Taxus* seedling using a metabolomic approach. *Phytochemistry*. 72: 1760-1766.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kau H. 2011. Phytochemical screening and extraction: Review. *International Pharmaceutika Scientia*. 1(1): 98-106.
- Walker MI. 2006. Natural Products Isolation. Sarker SD, Latif Z, Gray AI, Penerjemah. New Jersey (US): Humana Press.
- Yamamoto Y, Gaynor RB. 2001. Therapeutic potential of inhibition of the NF- $\kappa$ B pathway in the treatment of inflammation and cancer. *Journal of Clinical Investigation*. 107(2): 135-42.
- Yusa Y, Sugiura N, Wada T. 2006. Predatory potential of freshwater animals on an invasive agricultural pest, the apple snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae), in Southern Japan. *Biological Invasions*. 8: 137-147.