

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bekicot (*Achatina fulica*) termasuk Gastropoda yang tergolong dalam famili Achatinidae. Bekicot cenderung menginvasi suatu daerah menjadi hama terutama dalam bidang pertanian dikarenakan preferensi makanannya yang luas dan mampu berkembang biak dengan cepat dalam jumlah besar (Hoffman dkk., 2014). Lendir bekicot (*Achatina fulica*) di kelurahan Dinoyo, Kota Malang, Provinsi Jawa Timur telah dimanfaatkan secara langsung sebagai pengobatan tradisional seperti sesak nafas/asma, obat luka, paru-paru dengan cara dioleskan. Bekicot tergolong dalam pengobatan tradisional (etnozologi) yang sudah sejak lama dilakukan masyarakat walaupun studi detail mengenai hewan ini masih kurang (Zayadi dkk., 2016).

Kandungan lendir bekicot terdiri dari campuran proteoglikan, glikosaminoglikan, enzim glikoprotein, *hyaluronic acid*, peptida antimikrobia, *copper peptides*, ion metal, allantoin, kolagen, elastin, dan asam glikolat (*glycolic acid*) (Cilian dan Filippo, 2018). Lendir dari moluska laut (*Melo broderipii* dan *Lambis lambis*) juga diketahui memiliki fungsi yang hampir sama dengan lendir moluska daratan, yaitu membantu pergerakan hewan hingga proteksi (*chemical barrier*). Metabolit sekunder atau senyawa bioaktif yang terdapat dalam lendir ini dan berguna untuk proteksi memiliki potensi toksik (bakteri, fungi, sekaligus efek penyembuhan luka) sehingga efek sitotoksiknya perlu diketahui (See dkk., 2016). Pengujian senyawa metabolit sekunder dan potensi toksik kandungannya dari lendir moluska darat ini belum pernah dilakukan. Penelitian yang akan dilakukan

menggunakan moluska terestrial untuk dibuktikan potensi kandungan senyawa bioaktif maupun aktivitas sitotoksiknya sehingga dapat lebih dimanfaatkan tanpa memburu moluska laut yang lebih sulit dilakukan.

Pengujian senyawa bioaktif lendir bekicot (*A. fulica*) yang akan dilakukan mengacu pada penelitian See dkk. (2016) yang juga melakukan penapisan senyawa metabolit sekunder dengan metode *test tube*. Hasil yang didapat berupa mucus *Melo broderipii* dan *Lambis lambis* yang diujikan kadungan *deoxysugars*, tanin, alkaloid, sterol, flavonoid, lakton, terpen, saponin, dan turunan gula didapat mengandung alkaloid, protein, dan *terpenes*. Lendir bekicot yang akan diujikan diharap mengandung senyawa bioaktif lainnya selain juga kandungan glikoproteinnya sebagai antikanker dan antimikrobia. Uji kualitatif kandungan kimia lendir dilakukan hanya untuk memastikan kandungan lendir, kemudian pengujian dilanjutkan dengan uji senyawa bioaktif secara kuantitatif dan pengujian toksisitas keseluruhan komponen lendir.

Pengujian senyawa secara kuantitatif dilakukan dengan mengujikan kadar flavonoid total dalam lendir bekicot. Pengujian ini didasarkan pada penelitian Lawal dkk. (2015) bahwa Flavonoid juga terkandung dalam *hemolymph* yang diambil dari *Achatina maginata*. Kadar total flavonoid diujikan dengan metode *aluminium chloride colorimetric Hemolymph Achatina maginata* sebesar $15,20 \pm 0,59$ mg/g *catechin equivalent*. Berdasarkan hal ini bisa diduga bahwa metabolit sekunder paling banyak yang ada dalam lendir juga berupa golongan flavonoid.

Pengujian tingkat toksisitas lendir bekicot perlu dilakukan mengingat kandungan bioaktif dalam lendir yang beragam jenis dan fungsinya. Sitoksisitas

lendir bekicot akan diujikan dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT atau BST). Uji BSLT tidak spesifik untuk uji senyawa antitumor ataupun aksi fisiologi tertentu. Uji BSLT berdasarkan penelitian terdahulu yang sudah dilakukan selalu menunjukkan hasil yang signifikan terhadap kemampuan sitotoksik suatu senyawa (Meyer dkk., 1982).

Pengujian menggunakan *Artemia* dilakukan sebagai uji pendahuluan aktivitas sitotoksitas yang umum, cepat, akurat dibandingkan metode uji sitotoksik lainnya. Hasil uji BSLT ini dapat menjadi panduan dasar pengujian lanjutan yang lebih spesifik dan efektif dalam skrining jumlah dan manfaat sampelnya. Uji Toksisitas (BSLT) berguna sebagai uji sistem bioassai secara general/umum (potensi *mycotoxin*, potensi sitotoksik antikanker, potensi pestisida, potensi antimikrobia, dsb). Larva *A. salina* yang digunakan sebagai media uji diketahui terdapat kesamaan DNA-dependant RNA polimerase pada *Artemia* dengan tipe mamalia (Solis dkk., 1993).

Pengujian lendir bekicot yang akan dilakukan adalah dengan variasi konsentrasi lendir tanpa ekstraksi. Lendir tidak diekstraksi dengan harapan semua kandungan senyawa lendir terujikan. Pertimbangan terpenting adalah ketika sampel diperlakukan (isolasi ataupun ekstraksi) tidak boleh sampai menghilangkan konstituen tertentu (Bhattacharya, 2009). Oleh karena itu penelitian dilakukan dengan mengujikan kesemua konstituen kandungan dalam lendir bekicot (*A. fulica*) yang diujikan senyawa bioaktifnya dan pengujian toksisitas (BSLT).

B. Keaslian Penelitian

Penelitian pada mucus yang pernah dilakukan adalah penelitian Heliokk. (2002), yang menggunakan mucus dari ikan untuk diujikan pada lima bakteri Gram positif, lima bakteri Gram negatif, dan lima macam fungi. Mucus juga diujikan *cytotoxicity* dengan *Neural Red Test* (NR) dan *MTT test*. Ikan yang digunakan berasal dari berbagai spesies berbeda, yaitu: *Conger conger*, *Trisopterus luscus*, *Pollachius pollachius*, *Pollachius virens*, *Gadus morhua*, *Trachurus trachurus*, *Scomber scombrus*, *Labrus bergylta*, *Lophius piscatorius*, *Scophthalmus rhombus*, *Platichthys flesus*, *Pleuronectes platessa*, dan *Solea solea*. Bakteri dan fungi yang diujikan antara lain: *Candida brusei* LC001, *Candida albicans* LC002, *Candida tropicalis* DSM1346, *Saccharomyces cerevisiae* LC003, dan *Issatchenkia orientalis* DSM6128; *Bacillus subtilis* CIP4262, *Bacillus cereus* LC0035, *Bacillus megaterium* CIP 6620T, *Streptococcus sp.* CIP55120, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (bakteri Gram positif); *Escherichia coli* K12 ATCC23176, *Klebsiella pneumoniae* CIP53.153, *Serratia marcescens* CIP67.55, *Proteus vulgaris* LC0006, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 sebagai bakteri Gram negatif. Hasil uji menunjukkan mucus dengan fraksi air tidak menunjukkan aktivitas berarti. Aktivitas penghambatan yang tinggi dengan toksisitas yang minim terlihat jelas pada fibroblas tikus yang diberikan ekstrak *Pollachius virens* (CH₃CH₂OH/epidermis), *labrus bergylta* (CH₂Cl₂/mucus), *Platichthys flesus* (CH₃CH₂OH/mucus), *Solea solea* (CH₂Cl₂/mucus), dan *Scophthalmus rhombus*(CH₂Cl₂/mucus) yang dipastikan berpotensi sebagai agen terapeutik aktif yang baru.

Penelitian yang berkaitan lainnya adalah penelitian Abarrategui dkk. (2012), yaitu menggunakan *marine snail* untuk diisolasi proteinnya. Protein kemudian diidentifikasi dengan spektrofotometri massa, asam aminonya disekuensi dengan HPLC, disintesis bagian peptidanya (Cm-p1), diperkirakan konsentrasi hasilnya, diujikan pada bakteri dan fungi, dan dilanjutkan dengan beberapa tahapan uji *assay* (*hemolytic assay*, *cytotoxicity assay* dengan MTT *assay*, dan *in silico analyses and molecular modeling*). Hasil pengujian menunjukkan peptida mampu mencegah perkembangan *yeast* dan jamur berfilamen serta tidak toksik pada sel mamalia. Berdasarkan analisis model molekular menunjukkan bahwa peptida ini mungkin membentuk heliks hidrofilik tunggal dan kemungkinan residu kationik yang terlibat dalam aksi aktivitas antijamur.

Penelitian yang berkaitan lainnya adalah penelitian See dkk. (2016), yang membahas efek sitotoksik dan genotoksik mucus Gastropoda yaitu dilakukan pengamatan mikroskopik (*cell arrest*, *cell bursting*, *morphological distortion*) dan *chromosomal aberration*. Hasil yang didapat adalah efek sitotoksik sebesar 70% dan 65% masing-masing pada mucus *Melo broderipii* dan *Lambis lambis* pada 80 % v/v. Penelitian ini juga melakukan penapisan senyawa metabolit sekunder dengan metode *test tube*. Hasil yang didapat berupa mucus *Melo broderipii* dan *Lambis lambis* yang diujikan kandungan *deoxysugars*, tanin, alkaloid, sterol, flavonoid, lakton, terpen, saponin, dan turunan gula didapat mengandung alkaloid, protein, dan *terpenes*.

Penelitian lain yang berkaitan adalah yang dilakukan oleh Ekobon dkk. (2016), yang memprediksi peptida antikanker dari lendir *A. fulica* yang sudah dipisahkan menjadi fraksi dengan bantuan HPLC. Fraksi tertentu lendir (yaitu: F2 dan F5) menunjukkan sitotoksitas *in vitro* terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dan sel epitel normal (Vero) dengan metode *MTT assay*. Fraksi lendir dengan aktivitas sitotoksitas ini menunjukkan adanya 404 dan 402 peptida teridentifikasi berdasarkan analisis spektrofotometri massa.

Penelitian lainnya yang berkaitan adalah penelitian oleh Sumarto dkk. (2011), yaitu daging siput bakau diekstraksi lalu dilakukan uji fitokimia dan KLT. Hasil yang didapat adalah ekstrak daging siput bakau (yang terkenal tinggi kandungan proteinnya) mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan alkaloid yang dapat diterapkan dalam farmasi. Penelitian ini tidak menghitung kadar flavonoid secara kuantitatif.

Sejauh studi literasi yang sudah dilakukan maka pengujian toksisitas lendir bekicot dengan metode BSLT dan penapisan senyawa bioaktifnya belum pernah dilakukan sehingga diharapkan penelitian ini bisa dilakukan serta bermanfaat.

C. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang maka dapat dirumuskan beberapa rumusan masalah, yaitu:

1. Apakah lendir bekicot (*A. fulica*) mengandung senyawa bioaktif alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin?
2. Berapa kadar senyawa flavonoid dalam lendir bekicot?

3. Bagaimana aktivitas sitoksisitas lendir bekicot (*A. fulica*) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)?

D. Tujuan Penelitian

Tujuan yang diharapkan dapat tercapai dalam penelitian ini, yaitu:

1. Mengetahui kandungan senyawa bioaktif alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin dalam lendir bekicot (*A. fulica*).
2. Mengetahui kadar senyawa flavonoid dalam lendir bekicot.
3. Mengetahui aktivitas sitoksisitas lendir bekicot (*A. fulica*) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

E. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai kandungan bioaktif dalam lendir bekicot (*A. fulica*). Hasil penelitian juga diharapkan untuk dapat memberikan informasi aktivitas sitotoksisitas lendir bekicot. Informasi sitotoksisitas dengan metode BSLT ini sebagai pendeteksian potensi lendir sebagai alternatif antikanker.