

Eksplorasi Toksisitas Ekstrak N-Hexan dan Aseton Telur Keong Mas (*Pomacea canaliculata*) Secara In Vitro dan In Silico

Eva Kholifah^{1*}, Mohammad Alifia A.T², Afifah Nur S.³

¹Prodi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Salsabila Serang, email: evakholifah.apt@gmail.com

²Prodi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Salsabila Serang, email: alifiaat@gmail.com

³Prodi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Salsabila Serang, email: afifahnurshobah665@gmail.com

*Corresponding author email: evakholifah.apt@gmail.com

ABSTRAK

Telur keong mas merupakan salah satu hama pada tanaman padi. Namun, saat ini penanggulangan hama padi tersebut diarahkan pada pengembangan obat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis potensi toksik yang ditimbulkan oleh ekstrak telur keong mas secara *in silico*. Kemudian dilakukan analisis secara in vitro untuk melihat potensi toksik pada larva *Artemia salina* dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Selain itu, dilakukan skrining fitokimia dan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak telur keong mas. Hasil penelitian telur keong mas mengandung senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, flavonoid, steroid, saponin. Pengujian secara komputasi menunjukkan senyawa yang terkandung dalam telur keong mas berpotensi menyebabkan toksik pada alga, daphnia. Namun senyawa tersebut tidak menyebabkan mutasi atau non mutagen. Namun hal ini berbanding terbalik dengan pengujian secara in vitro menggunakan *artemia salina*. Pengujian BSLT menggunakan pelarut aseton memiliki nilai LC50 1161,408 µg/ml dan n-heksana 1303,497 µg/ml. Berdasarkan nilai tersebut ekstrak telur keong mas (*Pomacea canaliculata*) dinyatakan bersifat tidak toksik terhadap *Artemia salina* Leach karna nilai LC50 >1000 µg/ml.

Kata Kunci: *Pomacea canaliculata*, Toksisitas, Ekstrak telur keong mas.

PENDAHULUAN

Telur keong mas merupakan hama padi karna sering merusak persawahan. Perkembangbiakan keong mas yang sangat pesat pada musim penghujan dan musin tanam padi tiba, hal ini banyak menimbulkan keluhan terhadap para petani dimana daun muda pada padi yang ditanami petani dijadikan makanan oleh keong mas sehingga menghambat pertumbuhan padi. Upaya untuk menambah nilai fungsi keong mas salah satunya yaitu dengan memanfaatkan telur keong mas untuk bahan baku produk dalam bidang kesehatan yang bermanfaat bagi masyarakat (Abdullah *et al.*, 2017).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa telur keong mas mengandung

senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid dan saponin (Abdullah *et al.*, 2017). Ekstrak telur keong mas diketahui dapat menstabilkan radikal bebas atau sebagai antioksidan (Abdullah *et al.*, 2020). Penelitian Abdullah *et al.*, (2017) menyebutkan salah satu senyawa aktif ekstrak telur keong mas adalah karotenoid, dimana diketahui karotenoid merupakan senyawa antioksidan yang banyak dikembangkan menjadi vitamin dan sebagai bahan dasar kosmetik.

Secara umum, pengobatan alternatif saat ini telah banyak dikembangkan oleh berbagai negara, termasuk Indonesia. Salah satunya adalah pengobatan dari bahan alam

(Kholifah & Insani, 2023). Penggunaan obat dari bahan alam menjadi pilihan terbaik bagi masyarakat. Obat dari bahan alam dianggap lebih aman di banding obat sintesis. Walaupun demikian bukan berarti obat dari bahan alam tidak memiliki efek toksik jika dikonsumsi berlebihan. Maka dari itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kadar toksisitas senyawa bahan alam (Idris, 2019). Uji toksisitas pada ekstrak bahan alam biasanya dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu ekstrak (Putri, 2017). Selain itu uji toksisitas adalah salah satu prasyarat suatu bahan alam dapat dikembangkan sebagai obat dan produk lainnya. Penelitian ini berfokus pada pengujian toksisitas ekstrak telur keong mas secara *in vitro* dan *in silico*.

METODE DAN PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah airasi, alat gelas laboratorium dan komputer untuk analisis komputasi. Bahan yang digunakan penelitian ini adalah telur keong mas yang didapatkan dari persawahan kabupaten pandeglang, air asin yang bersumber dari pantai kabupaten pandeglang, larva *Artemia salina*, pita Mg, HCl, Aseton, n-Hexan dan pereaksi Liebermann Burchard.

PROSEDUR PENELITIAN

1. EKSTRAKSI

Sampel kering direndam dalam pelarut DMSO 10% sambil diaduk dengan sudip selama 10 menit. Hasil perendaman ditambahkan pelarut aseton dan pelarut n-heksana, kemudian ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring, kemudian dievaporasi menggunakan vakum rotari evaporator dengan suhu 30°C, sehingga didapatkan ekstrak pigmen pekat berupa cairan kental, kemudian cairan tersebut ditimbang. Ekstrak pigmen pekat dimasukkan

dalam botol vial berwarna gelap (dibungkus dengan alumunium foil) dan disimpan pada suhu 4 -10°C (maksimum 48 jam).

2. SKRINING METABOLIT SEKUNDER

Ekstrak telur keong mas (*Pomacea canaliculata*) dianalisis kandungan fitokimianya secara kualitatif untuk mendeteksi keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, tanin, saponin (Kholifah et al., 2023).

a. Uji Alkaloid

Ekstrak telur keong mas 0,5 g ditambahkan 5 mL HCl, kemudian ditambah pereaksi Dragendorff, HCL dan Dragendroff terdapat endapan kuning kejinggaan menandakan adanya kandungan alkaloid.

b. Uji Flavonoid

Ekstrak telur keong mas sebanyak 0,5g ditambahkan 5 mL air, dididihkan kurang lebih 5 menit lalu disaring. Filtrat sebanyak 2 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok hingga homogen jika terbentuk warna kuning dan jingga menandakan adanya kandungan flavonoid

c. Uji Steroid – Triterpenoid

Ekstrak telur keong mas sebanyak 0,5g ditambahkan kloroform. Ekstrak yang larut dalam kloroform ditambahkan pereaksi Liebermann Burchard. Jika terbentuknya warna merah kecoklatan menandakan adanya steroid dan coklat ungu menandakan triterpenoid.

d. Uji Tanin

Ekstrak telur keong mas sebanyak 0,5g ditambahkan larutan gelatin jika terdapat endapan putih menandakan adanya kandungan tannin.

e. Uji Saponin

Ekstrak telur keong mas sebanyak 0,5 g, ditambahkan 5 mL air panas dikocok kuat selama kurang lebih 10 detik. Apabila

terbentuk busa stabil selama kurang lebih 10 menit dan setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2N, busa tersebut tidak hilang.

3. BRINE SHRIMP LETHAL TEST (BSLT)

a. Pembuatan Larutan Uji

Larutan induk dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. Setelah itu dibuat dengan larutan dengan seri konsentrasi 1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 60 ppm, 30 ppm, 15 ppm.

b. Pengujian BSLT

Larva *artemia salina* ditetaskan dengan menggunakan air laut. Sebanyak setengah sendok teh telur *artemia salina* ditambahkan dalam air laut dan diinkubasi selama 24 jam dengan bantuan aerator dan lampu lampu neon 40Watt agar suhu penetasan 25-30°C. Pada uji toksisitas dengan metode BSLT digunakan larva *Artemia salina* yang berumur 48 jam. Jumlah larva yang digunakan sebanyak 420 ekor larva terbagi dalam 7 kelompok yang masing-masing terdiri dari 10 ekor larva dengan replikasi atau pengulangan sebanyak 3 kali. Dengan ekstrak dari pelarut yang berbeda (aseton dan n-heksana) (Kholifah & Insani, 2023).

4. ANALISIS FISIKA KIMIA DAN TOKSISITAS SECARA KOMPUTASI

Spesifikasi komputer yang digunakan pada penelitian ini adalah AMDA Ryzen 5 with Radeon Graphics, system operasi Window 64-bit. Prediksi profil farmakokinetik (ADME) menggunakan Swiss ADME (<http://www.swissadme.ch>) dengan mencantumkan struktur kimia dan kode senyawa kimia SMILES. Parameter yang diprediksi pada analisis ini adalah aturan Lipinski rule dan bioavailabilitas. Pada pengujian Tokisistas menggunakan Pre Adme (Kholifah & Endah, 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. SKRINING FITOKIMIA

Tabel 1. Metabolit sekunder ekstrak telur keong mas

Uji Fitokimia	Aseton	n-Hexan
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Steroid	+	-
Triterpenoid	-	-
Tanin	-	-
Saponin	+	+

Keterangan: (+) senyawa terdeteksi,
(-) senyawa tidak terdeteksi.

Pada penelitian ini digunakan dua pelarut yang berbeda, hasil analisis fitokimia menunjukkan ekstrak n-hexan telur keong mas mengandung alkaloid, flavonoid dan saponin, sedangkan ekstrak aseton telur keong mas mengandung akaloid, flavonoid, saponin dan steroid. Perbedaan metabolit sekunder dari kedua pelarut adalah pada kandungan steroid. Secara umum steroid merupakan jenis hormone yang dapat larut pada pelarut polar – non polar. Namun pada penelitian ini steroid pada telur keong mas hanya terdapat pada pelarut aseton (Abdullah et al., 2017 ; Dyah Saputri & Putri Pertiwi, 2021).

2. ANALISIS FISIKA KIMIA

Berdasarkan penelitian (Abdullah et al., 2020) menunjukkan telur keong mas mengandung senyawa aktif berupa karotenoid yang terdiri dari beberapa senyawa seperti likopen, lutein, beta karoten, astaxantin, dan zeaxantin.

Tabel 2. Sifat fisika kimia senyawa aktif telur keong mas

Karakteristik	Bobot molekul (g/mol)	TPSA	Log S (ESOL)	Log P
Likopen	536,87	0	-11,92	8,53
Lutein	568,87	40,4	-9,64	7,15
Beta Karoten	568,87	0	-11,04	7,79
Astaxantin	596,84	74,60	-9,35	6,63
Zeaxantin	568,87	40,4	-9,58	72

Berdasarkan tabel 2 di atas menunjukkan analisis fisika kimia pada senyawa karotenoid. Pada analisis kelarutan terhadap

lemak menunjukkan nilai XLogP dari kelima senyawa >5.0 yang menandakan senyawa-senyawa tersebut memiliki kelarutan terhadap lemak yang tinggi. Selain itu, dalam analisis polaritas senyawa, salah satu nilai yang dapat dipertimbangkan adalah nilai TPSA (*Topological Polar Surface Area*). Menurut (Prasanna & Doerksen, 2009) Nilai TPSA dengan karakteristik polaritas yang baik adalah antara 20-130 Å, sehingga dalam hal ini menunjukkan senyawa likopen, lutein, beta karoten, astaxantin, dan zeasantin memiliki polaritas yang baik (Kholifah & Endah, 2022).

3. ANALISIS TOKSISITAS SECARA KOMPUTASI

Pada tabel 3 menunjukkan analisis toksisitas secara komputasi, parameter yang dianalisis meliputi toksisitas terhadap alga, minnow, ames, dan daphnia (Hemmerich & Ecker, 2020 ; Han et al., 2019).

Pada hasil analisis komputasi di tabel 4 menunjukkan pada pengujian algae test empat senyawa karotenoid yang terkandung dalam

ekstrak telur keong mas memiliki nilai toksisitas ($CrC50$) yang tinggi < 1 mg/L yang menandakan ke empat senyawa tersebut memiliki potensial toksik dengan kategori akut, namun satu senyawa yaitu likopen, memiliki nilai toksisitas yang rendah yaitu > 1 mg/L yang menandakan senyawa tersebut memiliki kurang toksik (Hofbauer, 2021).

Daphnia test secara komputasi menunjukkan kelima senyawa memiliki potensi toksisitas yang tinggi dengan nilai < 1 mg/L, dalam hal ini pada pengujian ini menunjukkan kelima senyawa yang terkandung dalam ekstrak telur keong mas memiliki potensial toksik kategori akut (Tkaczyk et al., 2021).

Secara umum pengujian ames tes digunakan untuk melihat potensi senyawa dalam merusak dan menyebabkan mutasi DNA pada organisme lain. Pada ames tes menunjukkan kelima senyawa memberikan hasil non-mutagen, hal tersebut menunjukkan bahwa secara komputasi kelima senyawa tersebut tidak dapat menyebabkan mutasi DNA (Raies & Bajic, 2016).

Tabel 3. Kadar asam lemak bebas sampel kontrol dan hasil pemanasan

Parameter Uji	Beta karoten	Likopen	Leutein	Zeaxantin	Astaxantin
algae_at	0.000224	7.46604e-005	0.000222	0.000427	0.000829
Ames_test	non-mutagen	non-mutagen	non-mutagen	non-mutagen	non-mutagen
Daphnia_at	0.000291422	3.47025e-005	0.000560892	0.000660248	0.00255167
Minnow_at	1.55131e-007	4.4631e-009	1.04355e-006	4.22494e-006	5.45998e-006

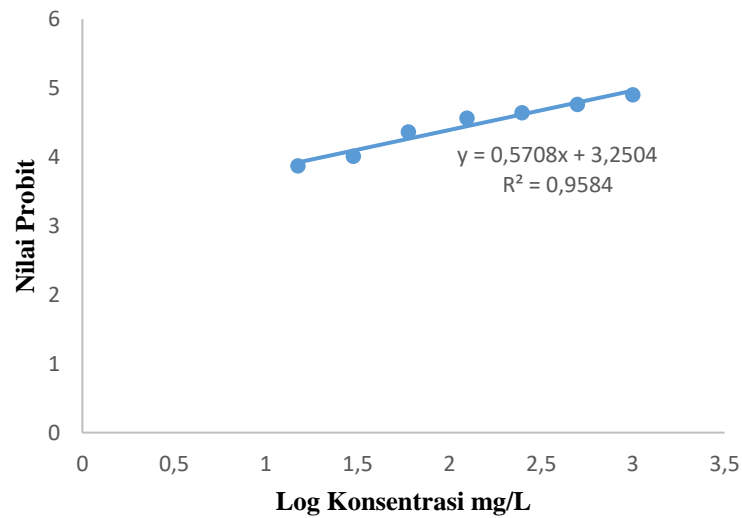
4. Analisis BSLT

Brine shrimp lethal test (BSLT) merupakan pengujian toksisitas secara in vitro dengan menggunakan larva artemia salina sebagai hewan uji. Pemilihan larva artemia salina didasarkan pada tingkat kepekaan yang

tinggi pada senyawa toksik. Parameter toksisitas pada metode BSLT adalah nilai *letal concentration* (LC 50), dimana nilai ini menggambarkan konsentrasi senyawa uji yang mampu membunuh larva artemia sebanyak 50%.

Tabel 4. Persen kematian artemia salina oleh ekstrak aseton telur keong mas

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi	Rata-rata larva yang mati	Persen kematian (%)	Nilai probit
1000	3	4,6	46	4,9
500	2,698	4	40	4,75
250	2,397	3,6	36	4,64
125	2,096	3,3	33	4,56
60	1,778	2,6	26	4,36
30	1,477	1,6	16	4,01
15	1,176	1,3	13	3,87



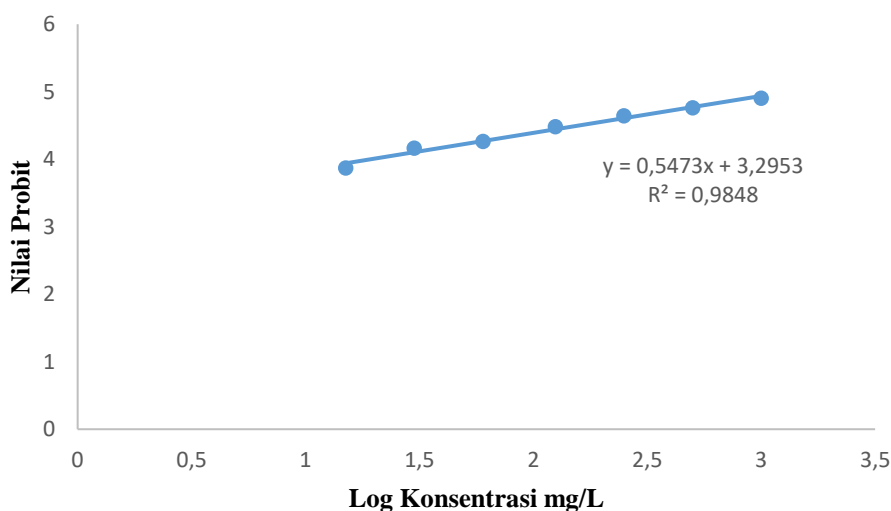
Gambar 1. Kurva regresi linier hubungan log konsentrasi dan nilai probit ekstrak aseton telur keong mas

Berdasarkan persamaan regresi linier pada gambar 1 dan Tabel 4 didapatkan nilai LC 50 sebesar 1161,408 mg/L. Menurut klasifikasi toksisitas meyer (Hamidi et al., 2014) nilai LC50 >1000 mg/ml dikategorikan tidak toksik, LC50 500-1000 µg/ml dikategorikan toksik rendah, LC50 100- 500 µg/ml

dikategorikan toksik sedang, dan LC50 0-100 µg/ml dikategorikan sangat toksik. Dalam hal ini ekstrak aseton telur keong mas tergolong dalam kategori tidak toksik karena memiliki nilai LC50 >1000 µg/ml (Kholifah & Insani, 2023).

Tabel 5. Persen kematian artemia salina oleh ekstrak aseton telur keong mas

Konsentrasi (ppm)	Log konsentrasi	Rata-rata larva yang mati	Persen kematian (%)	Nilai probit
1000	3	4,6	46	4,90
500	2,698	4	40	4,75
250	2,397	3,6	36	4,64
125	2,096	3	30	4,48
60	1,778	2,3	23	4,26
30	1,477	2	20	4,16
15	1,176	1,3	13	3,87



Gambar 2. Kurva regresi linier hubungan log konsentrasi dan nilai probit ekstrak aseton telur keong mas

Ekstrak n-hexan telur keong mas diketahui memiliki nilai LC50 sebesar 1303,497 $\mu\text{g/ml}$, dikategorikan tidak toksik. Dalam hal ini baik ekstrak dengan pelarut aseton ataupun n-hexan memiliki nilai LC50 dengan kategori tidak toksik (Muaja et al., 2013).

Pada pengujian toksisitas secara komputasi menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam telur keong mas, seperti beta karoten, likopen, leutein, zeaxantin, dan astaxantin memiliki nilai toksitas yang rendah, dimana menunjukkan senyawa tersebut

KESIMPULAN

Pada penelitian ini menunjukkan ekstrak telur keong mas memiliki senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid dan steroid.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A., Nurjanah, N., & Reyhan, M. (2017). Identification and Profiling of Active Compounds from Golden Apple Snail's Egg Pigments. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20, 286. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.17909>
- Abdullah, A., Nurjanah, & Seulalae, A. V. (2020). Antioxidant activity of

memiliki potensial toksik yang tinggi. Namun pada pengujian toksisitas secara in vitro menggunakan larva artemia salina menunjukkan nilai toksisitas yang rendah, dimana diketahui kadar toksisitas pada range konsentrasi <1000 $\mu\text{g/ml}$ menunjukan senyawa tersebut tidak berpotensi menimbulkan efek toksik. Sehingga hal tersebut membuat ekstrak telur keong mas dapat dikembangkan menjadi agen terapi yang potensial untuk senyawa obat di masa depan (Niksic et al., 2021).

memiliki nilai toksisitas yang rendah. Analisis toksisitas secara in vitro menunjukkan ekstrak telur keong mas memiliki toksisitas yang rendah dan tidak menyebabkan efek toksik.

biopigment fractions from golden apple snail eggs (*Pomacea canaliculata*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 404(1), 012003. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/404/1/012003>

Dyah Saputri, D., & Putri Pertiwi, M. (2021). Identifikasi Metabolit Sekunder dan Uji Proksimat Ekstrak Daging Keong

- Mas (Pomacea canaliculata L.). *Jurnal ILMU DASAR*, 22(2), 101–110.
- Hamidi, M., Jovanova, B., & Kadifkova Panovska, T. (2014). Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 60, 9–18. <https://doi.org/10.33320/maced.pharm.bull.2014.60.01.002>
- Han, Y., Zhang, J., Hu, C. Q., Zhang, X., Ma, B., & Zhang, P. (2019). In silico ADME and Toxicity Prediction of Ceftazidime and Its Impurities. *Frontiers in Pharmacology*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2019.00434>
- Hemmerich, J., & Ecker, G. F. (2020). In silico toxicology: From structure–activity relationships towards deep learning and adverse outcome pathways. *WIREs Computational Molecular Science*, 10(4), e1475. <https://doi.org/10.1002/wcms.1475>
- Hofbauer, W. K. (2021). Toxic or Otherwise Harmful Algae and the Built Environment. *Toxins*, 13(7), 465. <https://doi.org/10.3390/toxins13070465>
- Kholifah, E., & Endah, E. (2022). ANALISIS PROFIL FISIKA KIMIA DAN FARMAKOKINETIK SENYAWA PENTAGAMAVUNON-1 SECARA KOMPUTASI. *Duta Pharma Journal*, 2(1), Article 1. <https://doi.org/10.47701/djp.v2i1.1679>
- Kholifah, E., & Insani, N. (2023). Anticancer activity of *Acmella uliginosa* against WiDr colon cancer cell line and T47D breast cancer cell line. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 16(2), 640–644. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2023.00109>
- Kholifah, E., Nurazizah, D., & Noviyanto, F. (2023). Antioxidant Activity and Vitamin C Concentration Analysis of *Gandaria* (*Bouae macrophylla* Griff) Ethanol Extract Using Spectrophotometry UV Vis. *Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science*, 3(2), Article 2. <https://doi.org/10.18196/jfaps.v3i2.15992>
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., & Runtuwene, M. R. J. (2013). Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA*, 2(2), Article 2. <https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3000>
- Niksic, H., Becic, F., Koric, E., Gusic, I., Omeragic, E., Muratovic, S., Miladinovic, B., & Duric, K. (2021). Cytotoxicity screening of *Thymus vulgaris* L. essential oil in brine shrimp nauplii and cancer cell lines. *Scientific Reports*, 11, 13178. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92679-x>
- Prasanna, S., & Doerksen, R. J. (2009). Topological Polar Surface Area: A Useful Descriptor in 2D-QSAR. *Current Medicinal Chemistry*, 16(1), 21–41. <https://doi.org/10.2174/092986709787002817>
- Raies, A. B., & Bajic, V. B. (2016). In silico toxicology: Computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Computational Molecular Science*, 6(2), 147–172. <https://doi.org/10.1002/wcms.1240>
- Tkaczyk, A., Bownik, A., Dudka, J., Kowal, K., & Ślaska, B. (2021). *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. *The Science of the Total Environment*, 763, 143038. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143038>

