

Toxicity Study of Saga Tree Extract (*Adenanthera pavonina* L.) Using Brine Shrimp Lethality Bioassay (BSLB)

Uji Toksisitas Ekstrak air saga pohon (*Adenanthera pavonina* L.) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Bioassay* (BSLB)

Quinzheilla Putri Arnanda^{1*}, Shinta Lestari¹, Saqila Alifa Ramadhan¹, Diah Siti Fatimah¹, Shella Widiyastuti¹, Dede Jihan Oktaviani¹, Sandra Megantara¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia, 45363

Email: quinzheilla16001@mail.unpad.ac.id

ABSTRACT

Saga tree extract (*Adenanthera pavonina* L.) has been widely used as antiinflammation and analgetic treatment, but its toxicity is still unknown. Chemical contents that can be found in saga tree are alkaloids, triterpenes, sterols, hydrocarbons, fatty acids, flavonoids, and pavenins. Objective of this research is to determine toxicity of saga tree using the *Brine Shrimp Lethality Bioassay* (BSLB) method. Toxicity determination of saga tree with concentration 15.625; 31.25; 62.5; 125; 250; 500 and 1000 µg/ml carried out on shrimp larvae (*Artemia salina* Leach) using microwell technique. Results obtained that were no shrimp larvae died in any concentration indicated that percent lethality is zero. Based on these result saga tree extract is not toxic and it is safe to use for the treatment of rheumatism and gout.

Keyword: *Adenanthera pavonina* L., BSLB, LC₅₀, toxicity

ABSTRAK

Ekstrak air saga pohon (*Adenanthera pavonina* L.) banyak digunakan dalam pengobatan antiinflamasi dan analgesik, namun masih belum diketahui toksisitasnya. Kandungan kimia dari daun saga pohon adalah alkaloid, triterpen, sterol, asam lemak, flavonoid, dan pavonin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas ekstrak air saga pohon menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Bioassay* (BSLB) dengan konsentrasi ekstrak 15.625; 31.25; 62.5; 125; 250; 500 dan 1000 µg/ml yang dilakukan terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach) menggunakan teknik *microwell*. Diperoleh hasil yaitu tidak ditemukan kematian larva udang di berbagai konsentrasi, sehingga dapat dikatakan ekstrak air saga pohon tidak bersifat toksik dan aman digunakan untuk pengobatan reumatik dan asam urat.

Kata kunci: *Adenanthera pavonina* L., BSLB, LC₅₀, toksisitas

Corresponding Author: Quinzheilla Putri Arnanda

Address: Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia, 45363

Email: quinzheilla16001@mail.unpad.ac.id

PENDAHULUAN

Obat tradisional banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia karena harganya yang murah, mudah didapat, dan khasiatnya yang dipercaya secara turun temurun. Akan tetapi diperlukan penelurusan lebih lanjut karena banyak tanaman yang belum diketahui kadar toksisitasnya. Salah satunya adalah saga pohon (Hyeronimus, 2008).

Kedudukan taksonomi dari saga pohon yaitu (GBIF, 2019):

Domain : Eukaryota

Kingdom : Plantae

Phylum : Tracheophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Fabales

Family : Fabaceae

Genus : *Adenanthera* L.

Species : *Adenanthera pavonina* L.

Tanaman saga pohon juga memiliki nama daerah yang bermacam-macam diantaranya Indonesia (kitoke laut, saga telik, segawe sabrang), Jawa (segawe sabrang), dan Malaysia (saga, saga daun tumpul, saga umpil) dan masih banyak nama daerah lainnya (Husodo *et al.*, 2014).

Bagian kulit batang dan daun saga pohon (*Adenanthera pavonina* L.) digunakan sebagai obat-obatan untuk astringen dan

antelmintik. Saga pohon memiliki kandungan triterpen, sterol, asam lemak, flavonoid, dan pavonin (Mohammed *et al.*, 2013).

Beberapa aktivitas dari *Adenanthera pavonina* L. yang telah dilaporkan diantaranya adalah sebagai analgesik, antioksidan, antiinflamasi, dan antihipertensi (Mujahid *et al.*, 2016).

Brine shrimp lethality bioassay (BSLB) merupakan pengujian yang penting dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik senyawa bioaktif dari ekstrak tumbuhan, yang didasarkan pada kemampuannya membunuh larva udang (*Artemia salina* L) yang sebelumnya telah dikultur di laboratorium. Pengujian ini diperkenalkan pertama kali oleh Michael *et al.* pada tahun 1965 yang kemudian dikembangkan oleh peneliti lain (Sarah *et al.*, 2017).

Data yang diperoleh dari studi toksisitas bahan alami ditujukan untuk meningkatkan kepercayaan penggunaan obat tersebut berdasarkan keamanannya pada manusia, khususnya dalam pengembangan obat (Naidu *et al.*, 2014).

Teknik ini memiliki beberapa keuntungan yaitu murah dan hanya membutuhkan sampel yang sedikit. Sejak pertama kali dikenalkan, uji *in vivo* ini

telah berhasil untuk pengujian aktivitas sitotoksik dan antitumor. Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan adanya korelasi yang baik antara hasil dari konsentrasi letal yang dapat membunuh 50% dari populasi (LC50) hasil BSLB dengan *Artemia salina* dengan hasil uji toksisitas akut pada mencit (Hamidi *et al.*, 2014).

Sehingga penelitian ini dilakukan untuk penerapan konsep dosis-respon terhadap daun saga pohon berdasarkan hasil uji bioassay sederhana sehingga dapat menentukan toksisitas dari daun saga pohon.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan tahapan kerja sebagai berikut:

1. Preparasi Sampel

Simplisia daun saga dirajang kemudian diekstraksi dengan metode infusa. Sebanyak 10 g simplisia ditimbang dan dilarutkan dalam 250 ml akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit dengan sesekali pengadukan, waktu dihitung ketika suhu mencapai suhu 90°C.

Selanjutnya ekstrak disaring menggunakan kertas saring dan hasil

saringan ditampung dalam botol coklat. Kemudian sebanyak 20 mL ekstrak dimasukkan ke dalam cawan penguap dan diuapkan hingga bobot konstan. Residu digunakan untuk menghitung konsentrasi ekstrak terhadap bahan yang dikeringkan. Selanjutnya, ekstrak dibuat dengan berbagai variasi konsentrasi larutan uji, yaitu 2000 µg/mL, 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL dan 31,25 µg/mL.

2. Pembuatan Medium Penetasan

Sebanyak 40 g garam laut ditimbang dan dilarutkan dalam 1 L akuades. Larutan disaring dan ditambahkan 9 mg ragi lalu di homogenkan (Zuhrotun, 2018).

3. Penetasan Larva Udang *A. salina*

Sebanyak 1 L medium penetasan ditempatkan dalam wadah bersekat yang terbagi menjadi dua bagian (bagian gelap yang ditutupi dengan kertas karbon dan bagian terang yang terbuka). Sebanyak 150 mg telur larva udang dimasukkan ke dalam wadah bagian gelap. Telur dibiarkan menetas pada suhu kamar selama 2x24 jam dengan aerasi menggunakan pompa aquarium dan cahaya dari lampu pijar (Zuhrotun, 2018).

4. Pengujian BSLB

Pengujian dilakukan dengan metode *microwell* yaitu sebanyak 100 µL larutan

uji dari masing – masing konsentrasi dimasukkan ke dalam *well* berbeda pada *microwell*. Kemudian, ditambahkan suspensi larva udang sebanyak 100 µL (mengandung 10-15 larva) ke setiap *well*. Larva dalam *well* didiamkan pada suhu kamar di bawah cahaya lampu selama 24 jam. Perhitungan kematian larva udang *A.salina* dihitung sesuai dengan rumus :

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva yang mati}}{\text{Jumlah populasi}} \times 100\%$$

Nilai LC_{50} , didefinisikan sebagai konsentrasi optimum ekstrak yang mampu membunuh 50% dari total populasi larva *Artemia salina* Leach. Nilai LC_{50} yang semakin rendah menunjukkan efek toksisitas yang semakin tinggi. Nilai LC_{50} ditentukan dengan menggunakan kurva korelasi antara log konsentrasi ekstrak (sumbu x)

dan nilai probit (sumbu y). (Zhang *et al.*, 2017)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil determinasi, simplisia yang digunakan dalam penelitian adalah tumbuhan saga pohon (*Adenanthera pavonina* L.). Bagian simplisia yang digunakan adalah daunnya. Proses ekstraksi daun saga pohon (*Adenanthera pavonina* L.) dengan cara infusa menggunakan pelarut air menghasilkan rendemen 27,46%. Hasil penetapan konsentrasi ekstrak awal diperoleh ekstrak sebanyak 0,2367 g dalam 20 mL (atau setara dengan konsentrasi 11.835 µg/mL). Hasil pengamatan kematian larva setelah terpapar ekstrak selama 24 jam dengan metode *Brine Shrimp Lethality Bioassay* (BSLB) terlampir pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan kematian larva setelah terpapar ekstrak air daun saga pohon (*Adenanthera pavonina* L.) selama 24 jam

Konsentrasi (ppm)	Sampe l	Jumlah Kematian	Total Populasi	% Kematian	Rata-rata % Kematian
31.25	I	0	14	0	0
	II	0	15	0	
62.5	I	0	13	0	0
	II	0	12	0	
125	I	0	14	0	0
	II	0	15	0	
250	I	0	14	0	0

	II	0	13	0	
500	I	0	10	0	0
	II	0	13	0	
1000	I	0	13	0	0
	II	0	14	0	

Berdasarkan Tabel 1 tidak ada larva yang mati walaupun dengan konsentrasi ekstrak yang tinggi yaitu 1000 µg/mL, sehingga dapat dikatakan *Lethal Concentration* 50 (LC₅₀) untuk ekstrak air daun saga pohon sebesar >1000 µg/mL dan hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak air daun saga pohon (*Adenanthera pavonina* L.) tidak toksik pada larva *Artemia salina* Leach. Karena, senyawa uji dikatakan tidak toksik atau aman jika harga LC₅₀ > 1000 µg/ml (Zuhrotun *et al.*, 2018).

Penelitian mengenai uji toksisitas dari daun saga dengan metode BSLB ditemukan pada ekstrak metanol dan etanol dari daun saga dan didapatkan masing-masing LC₅₀ sebesar 901 dan 1387 µg yang masih tergolong aman dan tidak toksik (Renilda *et al.*, 2016). Penelitian lainnya menunjukkan pengujian toksisitas akut ekstrak metanol daun saga pohon pada dosis 150 mg/kg i.p ke mencit masih masuk kategori aman dibandingkan ekstrak metanol daun-daun lain dalam *subfamily* Mimosoaceae (Ahmed *et al.*,

2012). Ekstrak metanol daun saga pohon memiliki aktivitas hepatoprotektor pada jaringan hati (Mujahid *et al.*, 2013), anti inflamasi pada tikus yang diinduksi bengkak dengan formalin pada dosis 200 dan 400 mg/kg, serta sebagai antioksidan (Jayakumari *et al.*, 2012).

Sementara itu bagian tumbuhan lain dari saga pohon yaitu biji saga pohon dilaporkan memiliki aktivitas antifungi, anti-inflamasi, anti kanker, antidiabetes, dan aktivitas hipolipidemia (Krishnaveni *et al.*, 2011; Mujahid *et al.*, 2016). Ekstrak etanol biji saga pohon menunjukkan efek anti-proliferasi (inhibisi sel 78,54% pada 160 µg/mL hasil dekoktasi dengan menginduksi apoptosis pada sel kanker serviks HEP-2 (Lindamulage and Soysa, 2016). Selain itu, ekstrak etanol biji saga pohon dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon HCT-8 dan sel leukemia HL-60 (Ferreira *et al.*, 2011).

Perbedaan nilai LC₅₀ pada tiap bagian tumbuhan disebabkan oleh adanya

perbedaan kandungan metabolit sekunder sehingga mempengaruhi aktivitas farmakologi bagian tumbuhan tersebut (Sari *et al.*, 2011). Selain itu, faktor ekstraksi dan pelarut yang berbeda juga mempengaruhi komponen aktif yang tertarik sehingga dapat menyebabkan bioaktivitas yang berbeda pula (Azmir *et al.* 2013). Oleh karena itu, daun saga pohon *Adenanthera pavonina* L. relatif aman dan tidak bersifat toksik dibandingkan dengan bagian lainnya untuk digunakan oleh masyarakat dalam pengobatan antiinflamasi dan analgesik (Moniruzzaman *et al.*, 2015) karena memiliki kandungan alkaloid yang berkhasiat untuk pengobatan reumatik dan asam urat (Lim, 2012).

KESIMPULAN

Saga pohon (*Adenanthera pavonina* L.) merupakan tanaman yang memiliki aktivitas analgesik, antioksidan, antiinflamasi, dan antihipertensi. Berdasarkan hasil pengujian, ekstrak air daun saga pohon tidak memiliki aktivitas toksik pada larva *Artemia salina* L. dengan nilai $LC_{50} > 1000$ µg/mL sehingga tergolong dalam tumbuhan yang aman digunakan untuk pengobatan reumatik dan asam urat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada ibu Ade Zuhrotun sebagai pembimbing pengujian BSLB dan Muhammad Ariq Al Faruq serta Zirly Yusriani Kamilah yang telah membantu dalam pengumpulan bahan simplisia daun saga pohon.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, S. M., S. Ahmed, F. Tasleem, M. M. U. Hasan, & I. Azhar. 2012. Acute Systemic Toxicity of Four Mimosaceous Plants Leaves on Mice. *IOSR Journal of Pharmacy* 2:291-295.
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M, Sharif, K.M, Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Omar, A.K.M. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* 117:426–436.
- Ferreira, P. M. P., D. F. Farias, M. P. Viana, T. M. Souza, I. M. Vasconcelos, B. M. Soares, *et al.* 2011. Study of the Antiproliferative Potential of Seed Extracts from Northeastern Brazilian Plants. *Ann. Brazilian Acad. Sci* 83:1045-1058.

- Global Biodiversity Information Facility. 2019. *Adenanthera pavonina* L. Tersedia online di <https://www.gbif.org/species/2951846> [Diakses pada 8 Desember 2019].
- Hamidi, M., Jovanova, B., & Panovska, T. 2014. Toxicological evaluation of the plant products using Brine Shrimp (*Artemia salina* L.) model. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin* 60:9–18.
- Husodo, T., B. Irawan, I. Wulandari, dan W. M. Dasanova. 2014. *Pohon di Taman Kota Bandung*. Bandung: Badan Pengelola Lingkungan Hidup di Kota Bandung.
- Hyeronimus S.B. 2008. *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat. 1st ed.* Jakarta: Agro Media.
- Jayakumari, S., V. Ravichandiran, M. Velraj, A. K. Singh, & A. V. Lakshmi. 2012. Anti-Inflammatory Activity of *Adenanthera pavonina* Linn. Leaves. *Journal of Natural Remedies* 12:56-62.
- Janakiraman, N., & Johnson, M. 2016. Ethanol extracts of selected *cyathea species* decreased cell viability and inhibited growth in MCF 7 cell line cultures. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies* 9:151–155.
- Krishnaveni, A., Selvi, S., & Mohandass, S. 2011. Antidiabetic, hypolipidemic activity of *Adenanthera pavonina* seeds in alloxan induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy Research* 4:1440–1442.
- Lim, T. K. 2012. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants*. New York: Springer.
- Lindamulage, I. K. S & P. Soysa. 2016. Evaluation of Anticancer Properties of a Decoction containing *Adenanthera pavonina* L. and *Thespesia populnea* L BMC Complement. *Alternat. Med* 16:1-8.
- Mohammed, R. S., A. H. Abou Zeid, E. A. El-Kashoury, A. A. Sleem, & D. A. Waly. 2014. A New Flavonol Glycoside and Biological Activities of *Adenanthera pavonina* L. Leaves. *Natural Product Research* 28:282-289.
- Moniruzzaman Md., Ambia Khatun, & M. Z. Imam. 2015. Evaluation of Antinociceptive Activity of Ethanol Extract of Leaves of *Adenanthera pavonina*. *Evidence-*

- Based Complementary and Alternative Medicine* 2015:1-8.
- Mujahid, M., Ansari, V., Sirbaiya, A., Kumar, R., & Usmani, A. 2016. An insight of pharmacognostic and phytopharmacology study of *Adenanthera pavonina*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 8:586–596.
- Mujahid, Md., H. H. Siddiqui, A. Hussain, & M. S. Hussain. 2013. Hepatoprotective Effects of *Adenanthera Pavonina* (Linn.) Against Anti-Tubercular Drugs-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Pharmacognosy Journal* 5:2886-290.
- Naidu, J. R., R. Ismail, & S. Sasidharan. 2014. Acute Oral Toxicity and Brine Shrimp Lethality of Methanol Extract of *Mentha Spicata* L (Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 13:101-107.
- Sarah, Q. S., F. C. Anny, & M. Misbahuddin. 2017. Brine Shrimp Lethality Assay. *Bangladesh J. Pharmacol* 2017:186-189.
- Sari, R., W. Syafii, S. Achmadi, & M. Hanafi. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Etanol Surian (*Toona sinensis*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Hasil Hutan* 4:46– 52.
- Renilda, Sophy A. J., Albin T. Fleming, V. Rajagopal, & K. Gowri Shankar. 2016. Cytotoxicity Assessment of *Adenanthera Pavonina* Extracts in Brine Shrimp Larvae and Cancer Cell Lines. *Inter J Vet Sci Vol* 5:83-86.
- Zhang, Y., J. Mu, J. Han, & X. Gu. 2012. An Improved Brine Shrimp Larvae Lethality Microwell Test Method. *Toxicology Mechanisms and Methods* 22:23-30.
- Zuhrotun, A., A. G. Suganda, K. R. Wirasutisna, & M. S. Wibowo. 2017. Toxicity Of Selected Apocynaceae, Magnoliaceae And Simaroubaceae Of Indonesian Plants Using Brine Shrimp Lethality Bioassay. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 8:10-15.