

**TOKSISITAS EKSTRAK FUNGI YANG BERASOSIASI DENGAN SPONGE
Acanthostrongylophora ingens ASAL PERAIRAN PULAU BANTONG
KABUPATEN BOLAANG MONGONDOW TIMUR TERHADAP LARVA
NYAMUK *Aedes aegypti***

(*Toxicity of the extracts of Fungal symbiont Associated With Sponge
Acanthostrongylophora inges From Bantong Island Waters Bolaang Mongondow
East Regency Towards Aedes aegypti larvae*)

**Maya J. Sanger, Robert A. Bara*, Fitje Losung, Frans Lumuindong, Rosita A.J.
Lintang, Kurniati Kemer**

Program Studi Ilmu Kelautan, FPIK, UNSRAT Manado

*Penulis korespondensi: Robert A. Bara; robert.bara@unsrat.ac.id

ABSTRACT

The aim of this study is to isolate fungal symbionts from the sponge *Acanthostrongylophora ingens* that grow in Bantong Island Waters to test their larvicidal activity towards *A. aegypti* larvae. A piece of sponge *A. ingens* were cut and then planted on PDA media until the fungal mycelium starts to grow. The pure isolates are inoculated into a rise medium in the Erlenmeyer flasks for static incubation in room temperature for 14 days. Furthermore, the isolates were soaked with ethyl acetate 3 times, followed by evaporation using a Rotary Vacuum evaporator. The extracts of each fungal isolates were tested on *A. aegypti* larvae. The results showed that the five fungal isolate extracts have anti-larval activity with LC₅₀ values in isolates ranging from 1 to 6 ppm, namely, 1.2 (5.094 ppm), isolates 1.3 (3.388 ppm), isolates 2.2 (1.614 ppm), isolates 2.1B (5.918 ppm), isolates 1.1.2 (6.220 ppm). From the LC50 results of this study, the extracts of the five isolates of the associated mushroom with the sponge *A. ingens* from the waters of Bantong Island, East Bolaang Mongondow Regency were categorized as very toxic according to the Tanamayot and Clarkson categories, so that they could be developed as anti-larval towards *A. aegypti* mosquito.

Keywords: Toxicity, Larvicidal, sponge *Acanthostrongylophora ingens*, fungal symbionts

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi jamur simbiosis dari spons *Acanthostrongylophora ingens* yang tumbuh di Perairan Pulau Bantong dan selanjutnya menguji aktivitas larvasida terhadap larva *A. aegypti*. Spons *A. ingens* dipotong dan kemudian ditanam pada media PDA hingga miselium jamur mulai tumbuh. Isolasi murni diinokulasikan ke dalam media agar dalam labu Erlenmeyer dan diinkubasi secara statis pada suhu ruang selama 14 hari. Selanjutnya isolat direndam dengan etil asetat sebanyak 3 kali, kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak masing-masing isolat jamur diujikan pada larva *A. aegypti*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima ekstrak isolat jamur tersebut memiliki aktivitas anti larva dengan nilai LC₅₀ pada isolat berkisar antara 1 hingga 6 ppm yaitu, 1.2 (5,094 ppm), isolat 1.3 (3,388 ppm), isolat 2.2 (1,614 ppm), isolat 2.1B (5,918 ppm), isolat 1.1.2 (6,220 ppm). Dari hasil LC₅₀ penelitian ini, ekstrak kelima isolat jamur berasosiasi dengan spons *A. ingens* dari perairan Pulau Bantong, Kabupaten Bolaang Mongondow Timur dikategorikan sangat toksik menurut kategori Tanamayot dan Clarkson, sehingga dapat dikembangkan sebagai anti nyamuk *A. aegypti*.

Kata Kunci: Toksisitas, Larvasida, spons *Acanthostrongylophora ingens*, simbiosis jamur

PENDAHULUAN

Toksistas merupakan kemampuan suatu zat kimia dalam memberikan efek toksik (racun) pada jangka waktu tertentu dikarenakan adanya interaksi kimia di dalam tubuh secara fisiologis. Tentunya penentuan ambang toksistas ini penting dilakukan agar menjadi informasi acuan dalam menentukan dosis bahan pangan atau obat tertentu (Niruri & Wirasuta, 2006). Salah satu contoh dalam memberantas larva nyamuk *A. aegypti*, yang menjadi vektor penyakit demam berdarah.

Penggunaan Larvasida merupakan usaha yang dilakukan untuk mengendalikan penyebaran hewan yang dianggap merugikan dengan cara membunuh larvanya. Lingkungan laut merupakan sumber produk alam yang besar dan memiliki struktur yang unik umumnya terkonsentrasi pada sponge, tunicata, bryozoa, dan moluska yang merupakan organisme yang hidup dalam kolom air. Sejumlah besar dari senyawa-

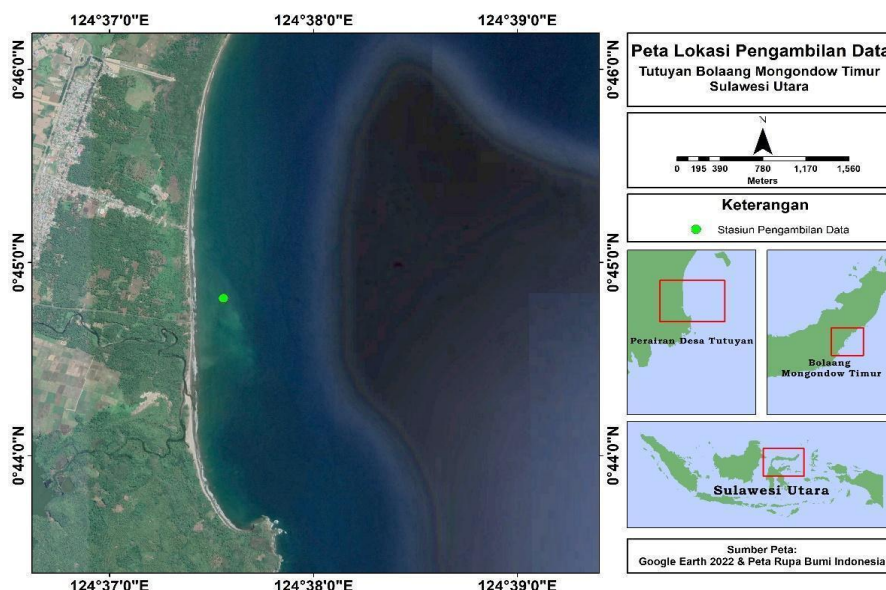
senyawa ini menunjukkan aktivitas farmakologi yang kuat dan merupakan kandidat yang menarik untuk bahan obat-obatan baru terutama pada area penelitian antikanker dan antimikroba.

Organisme laut yang dapat dikembangkan menjadi bahan sediaan obat antara lain sponge, dan merupakan salah satu organisme laut yang banyak diteliti. Beberapa aktivitas biologis penting yang diharapkan dari ekstrak isolat jamur asal sponge salah satunya adalah aktivitas larvasida.

METODOLOGI PENELITIAN

Pengambilan dan Penanganan Sampel

Pengambilan sampel spons dilakukan pada kedalaman 5 – 10 meter di perairan pulau Bantong, Bolaang Mongondow Timur, sampel spons dipindahkan ke Laboratorium Biologi Molekuler dan Farmasetika Laut, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi untuk isolasi jamur simbiosis.

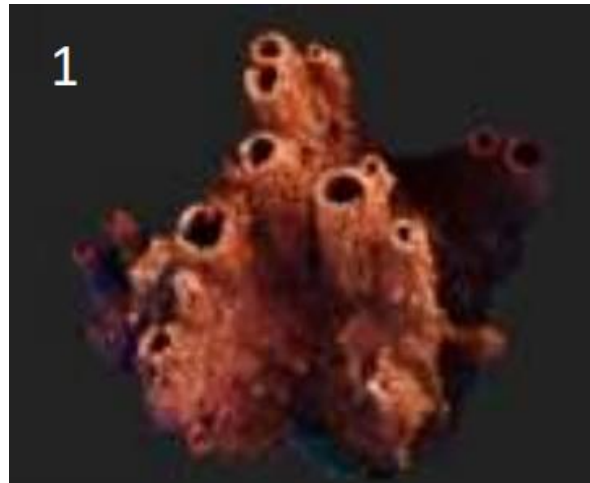


Gambar 1. Peta Lokasi Pengambilan Sampel
Sumber: Losung dkk, (2022)

Identifikasi

Identifikasi sampel spons dilakukan secara makroskopis, yaitu dengan mengamati bentuk luar, konsistensi tubuh (tekstur) dan warna spons (Amir dan

Budiyanto, 1996). Jenis sampel kemudian ditentukan dengan melihat dan membandingkan morfologi spons yang didapat dengan literatur dalam basis data WoRMS (<https://www.marinespecies.org/>)



Gambar 2. Spons *Acanthostrongylophora ingens*
Sumber: Losung dkk, (2022)

Alat dan Bahan

Beberapa peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: rotary vacuum evaporator, autoclave, freeze dryer, erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, mikropipet, timbangan analitik dan laminar air flow. Bahan-bahan yang digunakan, yaitu: spons, larva nyamuk *A.aegypti* etil asetat, akuades, agar, nasi, air laut saring, alkohol

Ekstraksi

Sampel spons dipotong ditanam pada media PDA yang telah disiapkan sebelumnya, Kemudian sampel disimpan selama 1x24 jam di dalam lemari sampel dengan suhu ruangan 20-25°C. Kegiatan isolasi hingga kultur jamur pada penelitian ini dilakukan di ruangan yang sudah disterilisasi. Setelah jamur simbiosis tumbuh pindahkan isolat jamur pada media PDA yang baru dan diinkubasi.

Ketika jamur yang dikultur pada media PDA sudah memadat, jamur dipotong dan dipindahkan ke dalam labu Erlenmeyer yang di isi media nasi kemudian ditutup dengan kapas lalu dibungkus dengan Aluminium foil, media nasi diinkubasi statik pada suhu ruangan selama 14 hari. Isolat jamur yang telah tumbuh di media nasi selanjutnya maserasi dengan pelarut etil asetat sebanyak 3 kali.

Setelah itu filtrat yang diperoleh ditampung lalu disaring dan di evaporasi menggunakan rotary vacuum evaporator sehingga diperoleh ekstrak masing-masing

isolat jamur. Selanjutnya larva nyamuk *A. aegypti* dikumpulkan dengan cara mengisi beberapa ember dengan air kemudian taruh ember ke tempat yang terbuka dan biarkan selama 3-4 hari. Setelah itu kumpulkan larva dan isi ke dalam botol plastik untuk di bawa ke laboratorium.

Langkah terakhir larva nyamuk *A. aegypti* instar-3 sebanyak 10 ekor yang telah siap uji dipindahkan dari wadah penampung ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak isolat jamur (sesuai konsentrasi). Setiap tabung berisi 10 ml campuran air dan ekstrak. Konsentrasi uji yang dilakukan dalam penelitian ini 1, 5, 10, 100, 500 ppm setiap ekstrak uji.

Aktivitas Larvasida diamati selama 24 jam. Perhitungan waktu dimulai setelah pemasukan larva ke dalam tabung reaksi. 1 jam pertama setelah larva dimasukkan dilakukan pengamatan kematian, setelah itu pada pengamatan berikutnya dilakukan 2 jam sekali sampai batas waktu 24 jam pengamatan.

Analisis Data

Efek toksik diperoleh dari pengamatan dengan menghitung persen kematian (mortalitas) larva nyamuk *A. aegypti*. pada tiap konsentrasi. Jumlah larva *A. aegypti* yang mati dalam tiap tabung selama 24 jam dihitung. Persentase kematian larva kematian diperoleh dengan rumus:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{jumlah mortalitas larva } A. \text{ aegypti}}{\text{jumlah larva uji}}$$

Kemudian dibandingkan dengan kontrol dan dilakukan analisis hasil sehingga diperoleh harga LC_{50} . Dari persen kematian, ditetapkan nilai probit tiap kelompok hewan uji dengan mengacu pada Tabel Probit (<https://www.westgard.com/probit-part-one.htm>).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi

Sampel sponge yang diperoleh dari Perairan Pulau Bantong, Kabupaten Bolaang Mongondow Timur. pengamatan, sampel memperlihatkan ciri-ciri serupa dengan spons *Acanthostrongylophora ingens*. Proses identifikasi spons dilakukan oleh Losung dkk, (2022).

Isolasi dan Kultur Jamur Sponge

Setelah diisolasi dan diinkubasi selama 3x24 jam, Pada bagian sekitar sampel terlihat munculnya miselium putih. Hal ini menandakan adanya pertumbuhan dari jamur yang bersimbiosis dengan sponge. Jamur yang tumbuh tersebut kemudian dimurnikan. Isolat jamur dikultivasi sebanyak dua kali sehingga didapatkan isolat jamur yang murni.

Nilai LC_{50} pada pengamatan mortalitas larva selama 24 jam

Tabel di bawah menunjukkan mortalitas larva uji *A. aegypti* pada pengamatan selama 24 jam.

Kode Isolat Jamur	Nilai LC_{50}
1.2	5.09
1.3	3.38
2.2	1.61
2.1B	5.91
1.1.2	6.22

Berdasarkan tabel di atas, nilai LC_{50} 24 jam dari isolat-isolat berkisar antara 1 – 6 ppm. Nilai tertinggi ditunjukkan oleh isolat 2.2 dengan nilai 1.61, dan yang terendah ditunjukkan oleh isolat 1.1.2 dengan nilai 6.22. Dibandingkan penelitian dari Handayani dan Aminah (2017) yang menggunakan isolat jamur yang

berasosiasi dengan sponge *A. ingens* yang tumbuh di Perairan Sumatera Barat. Ekstrak dari delapan isolat jamur diperoleh nilai LC_{50} yang bervariasi dari 0,53 ppm sampai dengan 662 ppm. Sedangkan nilai LC_{50} dari lima isolat jamur yang berasosiasi dengan sponge *A. ingens* pada penelitian ini bernilai di bawah 10 ppm. Merujuk pada pernyataan Meyer, dkk., (1982) apabila nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm berarti ekstrak tersebut bersifat toksik dan nilai LC_{50} lebih dari 1000 ppm berarti ekstrak tersebut bersifat tidak toksik. Lebih spesifik Tanamatayarat dan Clarkson (Tanamatayarat, 2016; Meena, dkk., 2020), mengkategorisasi tingkat toksisitas sebagai berikut sangat toksik dengan kisaran LC_{50} kurang dari 10 ppm, toksik sedang dengan kisaran LC_{50} antara 10–100 ppm, toksik lemah dengan kisaran LC_{50} antara 100-1000 ppm, dengan kategori tidak toksik jika LC_{50} bernilai di atas 1000 ppm. Selanjutnya klasifikasi toksisitas menurut Clarkson, nilai LC_{50} berada atas 1000 ppm dikategorikan tidak toksik, nilai LC_{50} berada pada kisaran 500 - 1000 ppm dikategorikan toksik rendah, nilai LC_{50} pada kisaran 100 - 500 g/mL dikategorikan toksik sedang, dan nilai LC_{50} pada kisaran 0 sampai 100 ppm dikategorikan sangat toksik (Meena, dkk., 2020). Dari hasil LC_{50} penelitian ini, maka ekstrak kelima isolat jamur asosiasi dengan sponge *A. ingens* asal Perairan Pulau Bantong Kabupaten Bolaangmongndow Timur dikategorikan sangat toksik menurut kategori Tanamayarat dan Clarkson (Tanamayarat, 2016), sehingga dapat dikembangkan sebagai anti larva terhadap larva nyamuk *A. aegypti*.

KESIMPULAN

1. Telah diisolasi 5 isolat jamur yang berasosiasi dengan spons *A. ingens* yang tumbuh di Perairan Pulau Bantong Kabupaten Bolaangmongondouw Timur
2. Ekstrak kelima isolat jamur tersebut diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap larva nyamuk *A. aegypti*.
3. Kelima ekstrak menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kuat terhadap larva nyamuk.

DAFTAR PUSTAKA

- Amir, I., dan Budiyanto, A. 1996. Mengenal spons laut (Demospongiae) secara umum. *Oseana*, 21(2), 15-31.
- Handayani, D., dan Aminah, I. 2017. Antibacterial and cytotoxic activities of ethyl acetate extract of symbiotic fungi from West Sumatra marine sponge *Acanthoryngylophora ingens*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 7(2), 237-240.
- Losung, G., Losung, F., Lintang, R. A., Wullur, S., & Manoppo, H. 2022. Aktivitas Antibakteri Dari Spons Asal Perairan Pulau Bantong Bolaang Mongondow Timur. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 10(1), 81-88.
- Meena, D. K., Sahoo, A. K., Swain, H. S., Borah, S., Srivastava, P. P., Sahu, N. P., & Das, B. K. 2020. Prospects and Perspectives of Virtual In-vitro Toxicity Studies on Herbal Extracts of Terminalia Arjuna with Enhanced Stratagem in Artemia salina model: A Panacea to Explicit the Credence of the Solvent System in Brine Shrimp Lethality Bioassay. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(1):25–37.
- Meyer, B.N., Ferrigni, N.R, Putnam, J.E, Jacobsen, L.B, Nichols, D.E, dan McLaughlin, J.L, 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*, 45: 31-34.
- Tanamatayarat, P. 2016. Antityrosinase, Antioxidative Activities, and Brine Shrimp Lethality of Ethanolic Extracts from *Protium serratum* (Wall. ex Colebr.) Engl. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(12):1050–1055.
- Wirasuta dan Niruri. 2006. Toksikologi Umum. Bandung: Universitas Udayana.