

PENAPISAN SENYAWA HEMAGGLUTININ DARI MAKROALGA ASAL PANTAI BINUANGEUN, BANTEN, INDONESIA

Screening of Hemagglutinins of Macroalgae Collected from Binuangeun Coast, Banten, Indonesia

Nurrahmi Dewi Fajarningsih¹, Dhia Fauziah Yamin², Idha Yunita², Anisa Fahriza³, Danar Praseptiangga⁴, Prih Sarnianto², dan Ekowati Chasanah¹

¹ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jl. K.S. Tubun Petamburan VI, Jakarta Pusat, Indonesia

² Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, Indonesia

³ Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia

⁴ Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36 A, Surakarta, Indonesia

* Korespondensi Penulis: nurrahmi.dewi@gmail.com

Diterima: 17 Februari 2015; Disetujui: 26 Mei 2015

ABSTRAK

Sebagai bagian dari penelitian penapisan lektin dari makroalga Indonesia, 17 ekstrak protein makroalga yang dikoleksi dari Pantai Binuangeun, Banten telah diuji aktivitas hemagglutinasinya terhadap eritrosit kelinci dan eritrosit manusia golongan A, B, O, masing-masing dengan perlakuan enzim dan *native*. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan 2 jenis buffer, yaitu *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dan *Tris Buffer Saline* (TBS) pH 7. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada beberapa sampel, ekstrak yang dihasilkan kedua buffer, menunjukkan aktivitas hemagglutinasi yang berbeda walaupun kadar total protein ekstrak makroalga yang diekstraksi dengan PBS dan TBS tidak berbeda. Sebagian besar ekstrak makroalga yang diuji mampu mengagglutinasikan setidaknya satu jenis sel eritrosit yang digunakan. Secara umum, kelompok makroalga hijau memperlihatkan aktivitas hemagglutinasi yang lebih rendah dibandingkan kelompok makroalga merah dan coklat. Meskipun ekstrak *Padina australis* (makroalga coklat) memberikan hasil hemagglutinasi eritrosit kelinci negatif, namun ekstrak tersebut positif menghemagglutinasikan eritrosit golongan darah B dan O. Di antara 8 makroalga hijau yang diuji, hanya dua sampel yang menunjukkan aktivitas hemagglutinasi, yaitu *Chaetomorpha crassa* dan *Halimeda macroloba*. Keempat ekstrak makroalga merah yang diuji menunjukkan aktivitas hemagglutinasi yang kuat terhadap eritrosit kelinci. Ekstrak makroalga merah *Gracilaria lichenoides* dan *Gelidiella acerosa* aktif terhadap semua jenis eritrosit uji. Sementara itu, hanya ekstrak *Laurencia tronoi* yang menunjukkan aktivitas hemagglutinasi terhadap eritrosit golongan darah A.

KATA KUNCI: makroalga, lektin, hemagglutinasi

ABSTRACT

As part of lectins screening project from Indonesia's macroalgae, protein extracts from 17 macroalgae species collected from Binuangeun Coast, Banten were examined for their hemagglutinating activity using native and enzyme-treated rabbit and human erythrocytes (A,B,O). Extraction of the macroalgae hemagglutinins was conducted using 2 buffers, e.g Phosphat buffer saline (PBS) and Tris buffer saline (TBS) pH 7. The result showed that each buffer showed different hemagglutination activity (case by case basis) eventhough the total protein content extracted by PBS and TBS were not difference. Most of marine algae extracts tested capabled of agglutinating at least one type of erythrocytes cells used. It was observed that extracts of green algae gave lower incidence of agglutination among all three groups of marine algae tested. Albeit *Padina australis* extract negatively hemagglutinated rabbit erythrocyte but it showed strong hemagglutination activity toward human B and O erythrocyte. Among 8 green macroalgae tested, only two samples showed medium activity of hemagglutination, e.g. *Chaetomorpha crassa* and *Halimeda macroloba*. All of four red macroalgae tested showed strong hemagglutination activity to rabbit erythrocyte. *Gracilaria lichenoides* and *Gelidiella acerosa* also hemagglutinated on all erythrocyte tested. Meanwhile, among red macroalgae tested, *Laurencia tronoi* is the only extract that hemagglutinated human A erythrocyte.

KEYWORDS: macroalgae, lectins, hemagglutination

PENDAHULUAN

Hemagglutinin, aglutinin atau lektin merupakan protein non imun alami yang mengikat karbohidrat secara *reversible* dan mempunyai kemampuan dalam mengaglutinasi sel atau mengikat polisakarida dan gliko-protein (Goldstein *et al.*, 1980; Le Hung *et al.*, 2012). Penekanan pada non-imun, dimaksudkan untuk membedakan lektin dari antibodi-karbohidrat tertentu, seperti kinase, glicosidase, transferase ataupun transporter (Goldstein *et al.*, 1980).

Kemampuan lektin untuk mengikat karbohidrat secara spesifik pada permukaan sel (glikokonjugat), memungkinkan protein ini dapat dikembangkan untuk berbagai tujuan, termasuk untuk deteksi dan identifikasi kelompok darah dan mikroorganisme, determinasi karbohidrat dalam suatu larutan, juga untuk pemurnian glikoprotein (Van Damme, 2014). Karena kemampuannya untuk mengikat karbohidrat di permukaan sel secara spesifik tersebut, lektin juga mempunyai banyak peran penting dalam interaksi antara host-patogen, komunikasi sel-sel, mengenali dan mengikat karbohidrat yang kemudian menghasilkan efek fungsional untuk menginduksi apoptosis, berperan sebagai antibiotik, *anti-inflammatory*, anti-HIV serta anti agregasi platelet (Liao *et al.*, 2003; Dinh *et al.*, 2011; Sato *et al.*, 2011; Hamid *et al.*, 2013; Takebe *et al.*, 2013).

Secara alami, lektin banyak ditemukan pada hampir semua makhluk hidup: tumbuhan, jamur, bakteri, virus, hewan (vertebrata dan avertebrata). Namun demikian, lektin yang berasal dari alga memiliki beberapa kelebihan dibandingkan lektin dari sumber lain, yaitu: memiliki massa molekul lebih rendah dibandingkan lektin yang berasal dari tumbuhan dan hewan, memiliki afinitas spesifik terhadap oligosakarida kompleks dan glikoprotein, sebagian lektin alga juga tidak memerlukan kation divalen untuk aktivitas biologis mereka, dan tidak mempunyai afinitas terhadap gula sederhana namun lebih spesifik untuk mengikat oligosakarida kompleks dan atau glikoprotein (Rogers & Hori, 1993; Molchanova *et al.*, 2010).

Indonesia memiliki keanekaragaman jenis dan kelimpahan makroalga yang sangat tinggi. Walaupun berbagai penelitian untuk mengungkap potensi pemanfaatan makroalga di bidang farmasetikal di Indonesia telah banyak dilaporkan (Fajarningsih *et al.*, 2008; Wikanta *et al.*, 2011; Nursid *et al.*, 2013a; Nursid *et al.*, 2013b; Setha *et al.*, 2013; Widowati *et al.*, 2014; Ahmad *et al.*, 2014), namun hingga saat ini penelitian untuk mengeksplorasi kandungan lektin pada berbagai jenis makroalga Indonesia masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menapis senyawa hemagglutinin (lektin) dari berbagai

jenis makroalga yang dikoleksi dari Pantai Binuangeun, Banten.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel dan Identifikasi Jenis Makroalga

Tujuh belas jenis makroalga dikoleksi dari zona pasang surut Pantai Binuangeun, Banten. Makroalga yang dikoleksi kemudian dicuci dengan menggunakan air tawar, dibersihkan dari pengotor, kemudian disimpan dalam *cool box* yang berisi es untuk menjaga kesegaran makroalga. Setiap spesimen sampel makroalga difoto untuk keperluan identifikasi jenis makroalganya. Diambil pula contoh spesimen untuk identifikasi jenis makroalga. Sampel-sampel tersebut kemudian disimpan dalam *cold storage* (suhu -20 °C) hingga sampel diekstraksi. Foto dan contoh spesimen setiap jenis rumput kemudian dikirimkan ke Pusat Penelitian Oseanografi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) untuk diidentifikasi jenisnya.

Ekstraksi Lektin

Ekstraksi lektin dilakukan menurut metode Praseptianga *et al.* (2012) yang dimodifikasi. Sebanyak 50 g *thallus* setiap jenis makroalga, dipotong-potong menjadi ukuran kecil, kemudian ditambahkan nitrogen cair hingga *thallus* tersebut menjadi keras untuk kemudian digerus hingga menjadi bubuk. Bubuk makroalga diekstraksi dengan menggunakan dua macam buffer, yaitu: *Tris buffer saline* (TBS) yang mengandung 0,02 M tris HCl, 150 mM NaCl, pH 7,0 dan buffer fosfat 0,02 M pH 7,0 yang mengandung 0,85% NaCl (*phosphat buffer saline* /PBS). Bubuk makroalga dihomogenisasi dengan stirer menggunakan kedua jenis buffer dengan perbandingan 1:2 (b/v), pada suhu 4 °C selama 8 jam, sebanyak dua ulangan untuk setiap buffer. Selanjutnya homogenat makroalga disentrifuse pada 15.302 g (Beckman, rotor JA 14) selama 30 menit pada suhu 4 °C. Supernatan kemudian dikoleksi dan disimpan pada suhu -20 °C hingga digunakan untuk uji.

Uji Kadar Protein Terlarut

Kadar protein terlarut dalam setiap ekstrak kasar diukur dengan menggunakan *BCA protein assay kit* (Pierce-Thermo Scientific), mengikuti petunjuk yang diberikan.

Uji Aktivitas Hemagglutinas

Uji aktivitas hemagglutinas dilakukan menurut metode Praseptianga *et al.* (2012) yang dimodifikasi. Uji hemagglutinas dilakukan dengan menggunakan

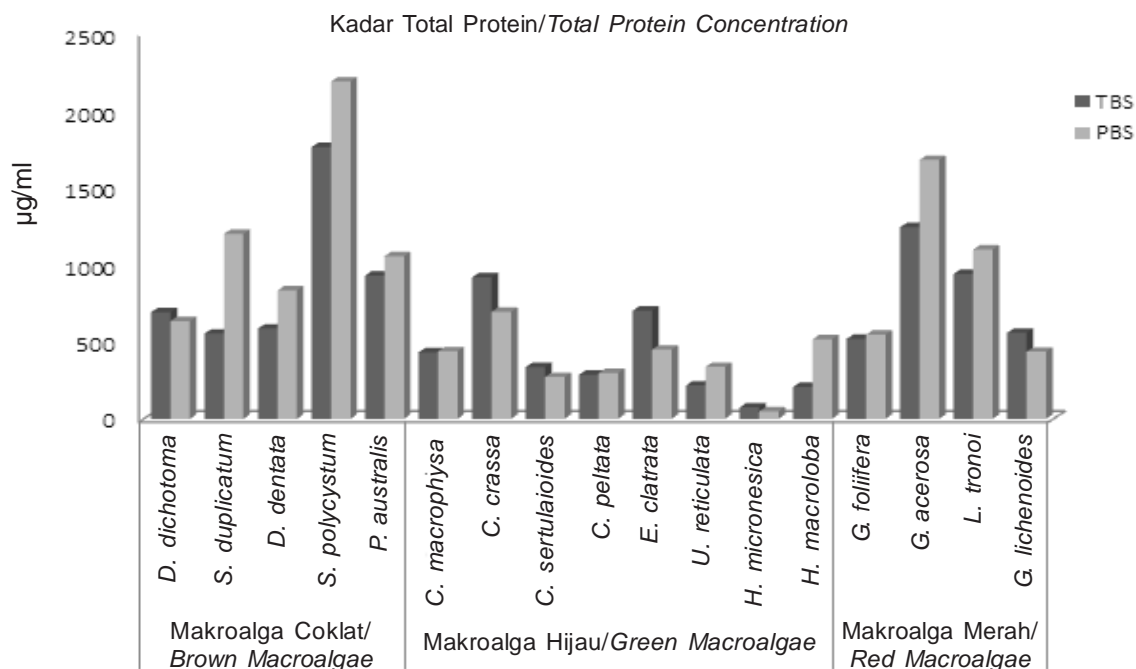
eritrosit manusia golongan A, B, O, dan eritrosit kelinci. Eritrosit manusia diperoleh dari Palang Merah Indonesia (PMI) Jakarta, sementara eritrosit kelinci diambil dari intravena kelinci. Setiap sampel darah dicuci tiga hingga lima kali dengan larutan NaCl 0,85% dengan perbandingan 1/50 (v/v), setiap kali pencucian dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 957 g (*Avanti, Beckman Coulter*), suhu 4 °C selama 5 menit untuk memisahkan eritrosit dari larutan pencuci. Setelah dicuci, disiapkan suspensi 2% eritrosit (v/v) dalam larutan NaCl 0,85%. Suspensi eritrosit tersebut digunakan sebagai eritrosit *native* dalam uji hemagglutinas.

Selain eritrosit *native* disiapkan pula eritrosit yang diberi perlakuan enzim tripsin dan papain. Setiap jenis sampel darah juga disiapkan dengan perlakuan enzim papain (Sigma) atau tripsin (Gibco). Enzim tripsin dan papain (2%) ditambahkan ke dalam suspensi 2% eritrosit setiap sampel darah (eritrosit *native*) dengan perbandingan 1/10 (v/v). Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1,5 jam dan dilakukan resuspensi setiap 30 menit. Setelah diinkubasi, eritrosit kemudian dicuci tiga hingga lima kali dengan menggunakan 0,85% larutan NaCl, setiap kali pencucian dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 957 g (*Avanti, Beckman Coulter*), suhu 4 °C selama 5 menit untuk memisahkan eritrosit dari larutan pencuci. Suspensi 2% eritrosit (v/v) dengan perlakuan enzim kemudian disiapkan dalam 0,85% larutan NaCl.

Uji aktivitas hemagglutinas dilakukan dengan menggunakan mikroplat 96 sumuran, dengan dasar berbentuk V. Sebanyak 25 µl ekstrak kasar lektin dimasukkan ke dalam sumuran mikroplat, kemudian diencerkan dua kali dengan larutan NaCl 0,85% secara serial dalam sumuran mikroplat hingga 10 kali pengenceran, sehingga pada pengenceran ke sepuluh ekstrak kasar telah terencerkan sebanyak 1024 kali. Ke dalam tiap sumuran ekstrak kemudian ditambahkan suspensi eritrosit 2%, selanjutnya campuran tersebut digoyang perlahan agar tercampur dengan baik, dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam. Uji hemagglutinas dikerjakan dengan dua kali ulangan untuk setiap sampel. Aktivitas hemagglutinas ditandai positif apabila lebih dari 50% eritrosit teragglutinas. Hasil negatif ditandai dengan terbentuknya dot eritrosit (eritrosit mengendap) di dasar sumuran mikroplat karena tidak adanya lektin yang mengikat karbohidrat di permukaan eritrosit. Aktivitas hemagglutinas dinyatakan sebagai titer, yaitu angka pengenceran tertinggi yang masih memberikan hasil positif hemagglutinas.

HASIL DAN BAHASAN

Tujuh belas sampel makroalga asal Pantai Binuangeun, Banten yang terdiri dari lima sampel makroalga coklat, delapan sampel makroalga hijau dan empat sampel makroalga merah telah diekstraksi



Gambar 1. Kadar total protein (µg/ml) ekstrak makroalga coklat, hijau, dan merah asal Pantai Binuangeun, Banten.

Figure 1. Total protein concentration (µg/ml) of brown, green and red macroalgae extracts collected from Binuangeun Coastal, Banten.

kandungan proteinnya untuk kemudian ditapis adanya kandungan lektin pada ekstrak tersebut.

Kadar total protein ekstrak makroalga yang diekstraksi dengan kedua jenis buffer dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan hasil uji t, kadar protein ekstrak makroalga yang diekstraksi dengan buffer TBS dan PBS tidak berbeda nyata ($t(66) = -1,573$ $p \geq 0,05$). Dengan demikian, buffer TBS atau PBS dapat digunakan untuk mengekstraksi protein makroalga dengan hasil rata-rata rendemen yang sama.

Penapisan kandungan lektin ekstrak makroalga pada penelitian ini dilakukan dengan metode uji hemagglutinas. Uji tersebut banyak digunakan karena merupakan uji yang cukup sensitif, relatif murah dan mudah untuk dikerjakan, walaupun sensitivitas uji ini masih lebih rendah dibandingkan uji *enzyme-linked lectin sorbent*, metode lain yang dapat digunakan untuk menapis senyawa lektin (Wang *et al.*, 2009). Aktivitas hemagglutinas terjadi ketika lektin mengikat karbohidrat pada permukaan sel darah merah dan kemudian membentuk jaringan yang secara visual akan terlihat seperti karpet. Sementara jika diperoleh hasil negatif, sel darah merah akan mengendap di dasar sumuran mikropelat membentuk dot (Paiva *et al.*, 2010).

Aktivitas hemagglutinas ekstrak makroalga asal Pantai Binuangen, Banten terhadap eritrosit manusia golongan A, B, dan O (native dan dengan perlakuan enzim) serta terhadap eritrosit kelinci dirangkum pada Tabel 1. Dapat dilihat pada Tabel tersebut, eritrosit kelinci lebih sensitif untuk mendeteksi adanya aktivitas hemagglutinas dibandingkan dengan eritrosit manusia. Berdasarkan penelitian Le Hung *et al.* (2012), eritrosit kelinci memiliki sensitivitas paling tinggi untuk mendeteksi aktivitas hemagglutinas lektin makroalga, kemudian disusul oleh eritrosit domba, ayam, manusia (A,B,O) dan kuda. Hasil tersebut, sedikit berbeda dengan yang dilaporkan oleh Freitas *et al.* (1997) yang menunjukkan bahwa eritrosit domba justru paling sensitif untuk mendeteksi aktivitas hemagglutinas ekstrak alga yang dipelajari.

Aktivitas hemagglutinas lektin kadang-kadang tidak dapat terdeteksi karena adanya halangan sterik (*steric hindrance*) pada interaksi lektin-karbohidrat, sehingga diperlukan perlakuan enzim protease untuk mengatasinya (Paiva *et al.*, 2010). Enzim proteolitik dapat digunakan untuk menghilangkan fragmen glikoprotein pada membran eritrosit sehingga meningkatkan kedekatan antar sel eritrosit dan meningkatkan akses antibodi terhadap antigen (Fernandes *et al.*, 2011). Dengan alasan tersebut, uji aktivitas hemagglutinas lektin dikerjakan tidak hanya terhadap eritrosit *native*, namun juga terhadap eritrosit yang diberi perlakuan enzim tripsin dan papain.

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini memperlihatkan hasil bervariasi. Beberapa ekstrak makroalga meningkat kemampuannya dalam menghemagglutinas eritrosit dengan perlakuan enzim (ekstrak *S. duplicatum*, *C. crassa*, *H. macroloba*), namun beberapa sampel justru mampu menghemagglutinas eritrosit *native* lebih baik dibandingkan eritrosit dengan perlakuan enzim. Sebagai contoh, keempat sampel ekstrak makroalga merah *G. foliifera*, *G. acerosa*, *L. tronoi* dan *G. lichenoides* memperlihatkan kemampuan menghemagglutinas eritrosit golongan O *native* lebih baik dibandingkan eritrosit O yang diberi perlakuan enzim tripsin dan papain. Sebagian besar penelitian melaporkan aktivitas hemagglutinas lektin makroalga terhadap eritrosit dengan perlakuan enzim lebih tinggi dibandingkan darah *native* (Ainouz *et al.*, 1995; Freitas *et al.*, 1997; Le Hung *et al.*, 2012) namun (Tsivileva & Nikitina, 2013; Mangaiyarkarasi *et al.*, 2014) melaporkan lektin yang mereka uji justru tidak dapat mengagglutinas eritrosit yang diberi perlakuan enzim tripsin. Hal tersebut kemungkinan disebabkan karena perlakuan enzim tripsin maupun papain pada eritrosit menyebabkan berubahnya struktur normal permukaan sel yang kemudian menyebabkan berubahnya *binding site* lektin pada sel darah merah tersebut. Akibatnya, seperti pada beberapa kasus di atas, kemampuan lektin untuk mengenali *binding site* dan mengikat gula ataupun glikoprotein pada permukaan sel darah merah yang diberi perlakuan enzim protease justru menurun.

Makroalga Coklat (*Phaeophyceae*)

Kelima sampel makroalga yang diuji memperlihatkan aktivitas hemagglutinas pada salah satu darah yang diujikan. Di antara lima sampel makroalga coklat yang diekstraksi dan diuji aktivitas hemagglutinasnya, hanya ekstrak *Padina australis* yang memberikan hasil negatif dalam menghemagglutinas eritrosit kelinci. Namun ekstrak *P. australis* justru memperlihatkan aktivitas hemagglutinas yang tinggi (titer hemagglutinas 1024) terhadap eritrosit manusia golongan darah B dan O *native*. Neeta & Srisudha (2012) melaporkan ekstrak *Padina gymnospora* menunjukkan aktivitas hemagglutinas yang tinggi terhadap eritrosit manusia golongan A, B, dan O. Dilaporkan pula bahwa ekstrak tersebut mempunyai aktivitas antitumor terhadap sel tumor hepar (HepG2). Sementara itu, ekstrak makroalga *S. polycystum* selain mampu menghemagglutinas eritrosit kelinci juga menunjukkan aktivitas hemagglutinas yang tinggi terhadap eritrosit manusia golongan O *native*.

Menurut Teixeira *et al.* (2012), hingga saat ini terdapat 31 lektin yang diisolasi dari makroalga merah dan 17 lektin yang diisolasi dari makroalga hijau, namun

Tabel 1. Aktivitas hemagglutinasinya ekstrak makroalga terhadap berbagai tipe eritrosit
 Table 1. Hemagglutination activity of macroalgae extracts against different types of erythrocytes

Makroalga/Macroalgae	Buffer	Titer Hemagglutinasinya Ekstrak Makroalga/ Hemagglutination titer of Macroalgae Extracts										
		Eritrosit Manusia-A/ Human Erythrocyte-A			Eritrosit Manusia-B/ Human Erythrocyte-B			Eritrosit Manusia-O/ Human Erythrocyte-O			Kelinci/Rabbit	
		N	P	T	N	P	T	N	P	T	N	T
Makroalga Coklat (<i>Phaeophyceae</i>) / Brown Macroalgae (<i>Phaeophyceae</i>)												
<i>Dictyota dichotoma</i> (BIN 1)	TBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1024	0
	PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1024	0
<i>Sargassum duplicatum</i> (BIN 3)	TBS	2	16	16	2	16	8	4	8	16	1024	516
	PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1024	68
<i>Dictyota dentata</i> (BIN 4)	TBS	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1024	0
	PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1024	0
<i>Sargassum polycystum</i> (BIN 11)	TBS	0	2	2	0	2	2	1024	0	0	1024	192
	PBS	0	0	2	0	2	2	1024	0	0	1024	80
<i>Padina Australis</i> (BIN 19)	TBS	4	16	64	1024	16	32	1024	16	32	2	48
	PBS	0	8	16	1024	16	8	1024	8	4	0	12
Makroalga Hijau (<i>Chlorophyceae</i>) / Green Macroalgae (<i>Chlorophyceae</i>)												
<i>Caulerpa macrophysa</i> (BIN 02)	TBS	0	0	0	0	0	0	16	0	0	512	0
	PBS	0	0	0	0	0	0	8	0	0	512	2
<i>Chaetomorpha crassa</i> (BIN 05)	TBS	0	4	4	0	0	2	0	0	4	512	2
	PBS	0	32	32	0	0	32	0	0	16	512	0
<i>Caulerpa sertulaoides</i> (BIN 06)	TBS	0	0	0	0	0	0	2	0	0	512	0
	PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	512	0
<i>Caulerpa peltata</i> (BIN 07)	TBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	4
	PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	4
<i>Enteromorpha clatrata</i> (BIN 13)	TBS	0	0	0	16	0	0	0	0	0	512	128
	PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	512	64
<i>Ulva reticulata</i> (BIN 17)	TBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	128	0
	PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	128	0
<i>Halimeda micronesica</i> (BIN 21)	TBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	64	8
	PBS	2	2	0	0	0	0	0	0	0	64	4
<i>Halimeda macroloba</i> (BIN 23)	TBS	0	3	32	0	0	0	8	4	4	256	128
	PBS	0	32	4	0	0	0	8	16	32	256	32
Makroalga Merah (<i>Rhodophyceae</i>) / Red Macroalgae (<i>Rhodophyceae</i>)												
<i>Gracilaria foliifera</i> (BIN 08)	TBS	0	0	0	0	0	0	1024	0	0	1024	0
	PBS	0	0	0	0	0	0	1024	0	0	1024	0
<i>Gelidiella acerosa</i> (BIN 12)	TBS	16	32	64	32	32	32	1024	32	32	1024	16
	PBS	32	32	64	16	32	64	1024	32	64	1024	16
<i>Laurencia tranoi</i> (BIN 16)	TBS	128	0	0	0	0	0	1024	0	0	1024	4
	PBS	32	0	0	0	0	0	1024	0	0	1024	4
<i>Gracilaria lichenoides</i> (BIN 20)	TBS	8	128	64	1024	64	32	1024	64	64	1024	16
	PBS	0	8	4	1024	4	2	1024	8	2	1024	8

Keterangan/Note : Aktivitas hemagglutinasinya diekspresikan sebagai titer, yaitu angka pengenceran terkecil yang masih memperlihatkan hemagglutinasinya positif/Hemagglutination activity was expressed as a titer, the highest dilution showing positive hemagglutination. TBS: Tris Buffer Saline; PBS: Phosphat Buffer Saline

N: eritrosit native/native erythrocyte; P: eritrosit dengan perlakuan enzim papain/papain-treated erythrocyte; T: eritrosit dengan perlakuan enzim tripsin/trypsin-treated erythrocyte

belum ada lektin yang berhasil diisolasi dari makroalga coklat. Hal tersebut dikarenakan makroalga coklat kaya akan polifenol yang dapat ikut terekstrak. Sebagai contoh, quinones merupakan salah satu produk oksidasi polifenol yang dapat mengikat glikoprotein secara kuat sehingga menyebabkan hasil uji hemagglutinasinya yang salah (*false positive*).

Makroalga Hijau (*Chlorophyceae*)

Dari delapan ekstrak makroalga hijau yang diujikan, hanya satu sampel yang tidak dapat menghemagglutinasinya eritrosit kelinci (*Caulerpa peltata*). Namun demikian, hanya dua sampel makroalga hijau yang juga mampu mengagglutinasinya eritrosit manusia,

yaitu *Chaetomorpha crassa* dan *H. maculosa*. Ekstrak PBS *C. crassa* dapat menghemagglutinasikan eritrosit golongan A (papain-trypsin) dan B (trypsin) dengan titer hemagglutinasikan sedang, di mana pada titer pengenceran 32, ekstrak tersebut dapat menghemagglutinasikan eritrosit yang diujikan. Namun demikian, ekstrak TBS *C. crassa* tidak menunjukkan aktivitas yang sama. Walaupun kedua buffer (PBS dan TBS) mampu mengekstraksi protein makroalga dengan hasil rata-rata rendemen yang sama, namun pada beberapa sampel menghasilkan aktivitas hemagglutinasikan yang berbeda. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kadar lektin yang terekstrak dengan kedua jenis buffer berbeda.

Makroalga Merah (*Rhodophyceae*)

Pada kegiatan penapisan ini, hanya terdapat empat sampel makroalga merah yang berhasil dikoleksi dari Pantai Binuangeun, Banten. Keempat makroalga tersebut mampu menghemagglutinasikan eritrosit kelinci dan eritrosit golongan darah O (native). Sementara itu, di antara keempat ekstrak makroalga merah yang diuji pada penelitian ini, hanya ekstrak *L. tranoi* yang mampu menghemagglutinasikan golongan darah A (native). Hasil ini sedikit berbeda dengan yang dilaporkan Le Hung *et al.* (2012), di mana beberapa sampel makroalga dari genus *Laurencia* hanya aktif menghemagglutinasikan eritrosit kelinci. Ekstrak TBS *Gracilaria lichenoides* dan ekstrak TBS & PBS *Gelidiella acerosa* dapat menghemagglutinasikan semua eritrosit yang diujikan. Dalam penapisan lektin asal India yang dilaporkan oleh Mangaiyarkarasi *et al.* (2014), beberapa genus *Gracilaria* (*G. crassa*, *G. edulis* dan *G. corticata*) positif menghemagglutinasikan beberapa jenis eritrosit yang diujikan.

Lektin merupakan protein non imun alami yang mengikat karbohidrat secara *reversible* dan mempunyai kemampuan dalam mengagglutinasikan sel atau mengikat polisakarida dan gliko-protein secara spesifik. Ekstrak lektin makroalga yang dapat menghemagglutinasikan golongan darah tertentu pada tahap penapisan ini dapat digunakan sebagai petunjuk awal sifat spesifitasnya terhadap karbohidrat pada permukaan sel darah merah. Setiap golongan darah memiliki jenis karbohidrat (oligosakarida) yang berbeda di membrannya (Daniels & Bromilow, 2010). Pada golongan darah O, terdapat antigen–lipid–glukosa–galaktosa–N acetylglucosamin–galaktos–fukosa. Sementara pada golongan darah A, terdapat penambahan antigen A pada antigen O dengan ikatan glikosidik, yaitu N-acetylgalactosamin (GalNAc).

Pengikatan lektin terhadap residu gula bersifat spesifik seperti halnya pengenalan antigen oleh antibodi. Interaksi antara lektin dan karbohidrat pada

eritrosit yang bersifat spesifik tersebut salah satunya kemudian dimanfaatkan sebagai marker untuk pengelompokan darah (Khan *et al.*, 2002; Teixeira *et al.*, 2012). Kelompok darah H (kelompok darah ABH) yang memiliki antigen Fuc α -(1,2)—Gal β -(1,3)-GlcNAc β (1,3) β (1,4)—Gal – Fuc α -(1,2) secara spesifik dikenali oleh lektin dari *Sambucus nigra* (pohon elderberry), *Ulex europeus*, dan *Anguilla anguilla* (Khan *et al.*, 2002). Lektin *S. nigra* yang secara spesifik mengenali galaktosa, N-acetylgalaktosamin (GalNAc) tersebut dilaporkan juga mampu mengenali antigen Tn carcinoma (Maveyraud *et al.*, 2009). Lebih lanjut, Shang *et al.* (2015) melaporkan bahwa lektin dari *S. nigra* mampu memicu kematian sel HeLa melalui jalur tambahan *ribosom inactivating proteins* (RIPs), protein yang menghambat translasi pada ribosom.

Berdasarkan hasil penapisan hemagglutinasikan ini, beberapa sampel makroalga asal Pantai Binuangeun, Banten menunjukkan potensi sebagai sumber lektin. Data yang diperoleh pada penelitian ini selain sebagai informasi mengenai bioaktivitas lektin rumput laut asal perairan Indonesia yang belum pernah dilaporkan sebelumnya, juga dapat dimanfaatkan sebagai data awal untuk mengisolasi senyawa lektin baru dari makroalga. Saat ini, isolasi dan studi karakterisasi lektin dari makroalga yang tergolong aktif pada penelitian ini sedang dikerjakan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penapisan hemagglutinin, beberapa sampel makroalga asal Pantai Binuangeun, Banten menunjukkan potensi sebagai sumber lektin. Sebagian besar ekstrak makroalga yang diuji mampu mengagglutinasikan setidaknya satu jenis sel eritrosit yang diujikan. Secara umum, kelompok makroalga hijau memperlihatkan aktivitas hemagglutinasikan yang lebih rendah dibandingkan kelompok makroalga merah dan coklat. Beberapa sampel yang menunjukkan aktivitas hemagglutinasikan yang kuat di antaranya makroalga coklat *P. australis*, makroalga hijau *C. crassa*, *H. Maculosa* dan makroalga merah *G. lichenoides*, *G. acerosa*, dan *L. tranoi*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., Usman, H., Natsir, H., & Karim, A. (2014). Isolation and characterization of bioactive protein from green algae *Halimeda macroboba* acting as antioxidant and anticancer agent. *American Journal of Biomedical and Life Sciences*, 2(5), 134–140.
- Ainouz, I., Sampaio, A., Freitas, A., Benevides, N.M.B., & Mapurunga, S. (1995). Comparative study on hemagglutinins from the red marine algae *Bryothamnion triquertrum* and *B. seaforthii*. *Rev Bras Fisiol Vegetal.*, 7(1): 15–19.

- Daniels, G., & Bromilow, I. (2010). *Essential Guide to Blood Groups* (2nd ed.). Melbourne: Wiley-Blackwell.
- Dinh, L., Sato, Y., & Hori, K. (2011). Phytochemistry High-mannose N-glycan-specific lectin from the red alga *Kappaphycus striatum* (Carrageenophyte). *Phytochemistry*, 72(9), 855–861. doi:10.1016/j.phytochem.2011.03.009.
- Fajarningsih, N.D., Nursid, M., & Wikanta, T. (2008). Bioaktivitas ekstrak *Turbinaria decurrens* sebagai antitumor (HeLa dan T47D) serta efeknya terhadap proliferasi limfosit. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 3(1), 21–28.
- Fernandes, H.P., Cesar, C.L., & Barjas-Castro, M.D.L. (2011). Electrical properties of the red blood cell membrane and immunohematological investigation. *Revista Brasileira de Hematologia E Hemoterapia*, 33(4), 297–301. doi:10.5581/1516-8484.20110080
- Freitas, A. L. P., Teixeira, D. I. A., Costa, F. H. F., Farias, W. R. L., Lobato, A. S. C., Sampaio, A. H., & Benevides, N. M. B. (1997). A new survey of Brazilian marine algae for agglutinins. *Journal of Applied Phycology*, 9, 495–501.
- Goldstein, I.J., Hughes, R.C., Monsigny, M., Osawa, T., & Sharon, N. (1980). What should be called a lectin? *Nature*, 285(66).
- Hamid, R., Masood, A., Wani, I. H., & Rafiq, S. (2013). Lectins: Proteins with diverse applications. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(4), s93–s103. doi:10.7324/JAPS.2013.34.S18.
- Khan, F., Khan, R.H., Sherwani, A., Sameena, M., Azfer, M.A. (2002). Lectins as markers for blood grouping. *Med. Sci. Monit.*, 8(12), RA293–300.
- Le Hung, D., Ly, B. M., Trang, V. T. D., Ngoc, N. T. D., Le Hoa, T., & Trinh, P. T. H. (2012). A new screening for hemagglutinins from Vietnamese marine macroalgae. *Journal of Applied Phycology*, 24(2), 227–235. doi:10.1007/s10811-011-9671-6.
- Liao, W.R., Lin, J.Y., Shieh, W.Y., Jeng, W.L., & Huang, R. (2003). Antibiotic activity of lectins from marine algae against marine vibrios. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30(7), 433–439. doi:10.1007/s10295-003-0068-7.
- Mangaiyarkarasi, R., Kannan, L., Girija, M., & Gnanamurthy, S. (2014). Screening of Indian marine macro algae (seaweeds) for haemagglutinin activity. *International Journal of Advanced Research*, 2(4), 43–52.
- Maveyraud, L., Niwa, H., Guillet, V., Svergun, D.I., Konarev, P.V., Palmer, R.A., Peumans, W.J., Rouge, P., Van Damme, E.J., Reynolds, C.D., Mourey, L. 2009. Structural basis for sugar recognition, including the Tn carcinoma antigen, by the lectin SNA-II from *Sambucus nigra*. *Proteins*, 75(1), 89–103.
- Molchanova, V., Chernikov, O., Chikalovets, I., & Lukyanov, P. (2010). Purification and partial characterization of the lectin from the marine red alga *Tichocarpus crinitus* (Gmelin) Rupr. (Rhodophyta). *Botanica Marina*, 53(1), 69–78. doi:10.1515/BOT.2010.001.
- Neeta, V. & Srisudha, S. (2012). Biochemical characterization, haemagglutinating activity and cytotoxic activity of *Padina gymnospora* (Kützinger) Sonder. *International Journal of Biological & Pharmaceutical Research.*, 3(8), 956–961.
- Nursid, M., Fajarningsih, N. D., & Chasanah, E. (2013a). Cytotoxic activity and apoptosis induction of T47D cell lines by *Turbinaria decurrens* extract. *Squalen*, 8(1), 23–28.
- Nursid, M., Wikanta, T., & Susilowati, R. (2013b). Kandungan fukosantin ekstrak rumput laut coklat dari pantai Binuangeun, Banten. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 8(1), 73–84.
- Paiva, P.M., Gomes, F., Napoleão, T., Sa, R., Correia, M.T., & Coelho, L.C.B. (2010). Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, 396–406.
- Praseptiangga, D., Hirayama, M., & Hori, K. (2012). Purification, characterization, and cDNA cloning of a novel lectin from the green alga, *Codium barbatum*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 76(4), 805–11. doi:10.1271/bbb.110944
- Rogers, D.J. & Hori, K. (1993). Marine algal lectins: new developments. *Hydrobiologia*, 260-261(1), 589–593. Retrieved from <http://link.springer.com/article/10.1007/BF00049075>
- Sato, Y., Morimoto, K., Hirayama, M., & Hori, K. (2011). Biochemical and Biophysical Research Communications High mannose-specific lectin (KAA-2) from the red alga *Kappaphycus alvarezii* potently inhibits influenza virus infection in a strain-independent manner. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 405(2), 291–296. doi:10.1016/j.bbrc.2011.01.031
- Setha, B., Gaspersz, F.F., Idris, A.P.S., Rahman, S., and Mailoa, M.N. 2013. Potential of seaweed *Padina* sp. as a source of antioxidant. *International Journal of Scientific & Technology Research.*, 2(6), 221–224.
- Shang, C., Chen, Q., Dell, A., Haslam, S.M., De Vos, W.H., & Van Damme, E.J.M. (2015). The cytotoxicity of elderberry ribosome-inactivating proteins is not solely determined by their protein translation inhibition activity. *PLoS one.*, 10(7), e0132389. doi:10.1371/journal.pone.0132389.
- Takebe, Y., Saucedo, C. J., Lund, G., Uenishi, R., Hase, S., Tsuchiura, T., Norman, K., Tyrrell, D., Shirakura, Wakita, T., McMahon, J.M., & O’Keefe, B.R. (2013). Antiviral lectins from red and blue-green algae show potent in vitro and in vivo activity against Hepatitis C virus. *PLoS ONE.*, 8(5), e64449. doi:10.1371/journal.pone.0064449.
- Teixeira, E., Arruda, F.V., Nascimento, K., Carneiro, A., Nagano, C., Silva, B., Sampaio, A.H., & Cavada, B.S. (2012). Biological applications of plants and algae lectins: An overview. In Chang, C.F. (ed.). *Carbohydrates-comprehensive studies on glycobiology and glycotecnology*. InTech. doi:10.5772/50632.
- Tsvileva, O., & Nikitina, V. (2013). *Trypsin-treated erythrocytes competition with lectin-specific carbohydrates: mushroom lectins select a winner*. Nova Science Publishers. Retrieved from <https://www.novapublishers.com/catalog/>

- [product_info.php?products_id=38393&osCsid=876f744b190e123c38f64f4b9e8adbbf](#).
- Van Damme, E.J. (2014). History of plant lectin research. In Hirabayashi, J. (ed.). *Lectins Methods and Protocols* (Methods in, pp. 3–14). Humana Press, New York.
- Wang, T., Lee, M., & Su, N. (2009). Screening of lectins by an enzyme-linked adsorbent assay. *Food Chemistry*, 113(4), 1218–1225. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.024>.
- Widowati, I., Lubac, D., Puspita, M., & Bourgougnon, N. (2014). Antibacterial and antioxidant properties of the red alga *Gracilaria verrucosa* from the north coast of Java, Semarang, Indonesia. *International Journal of Latest Research in Science and Technology*, 3(3), 179–185.
- Wikanta, T., Handayani, V. F., Rahayu, L., Pratitis, A., & Wuyung, P. (2011). Pengaruh pemberian ekstrak etil asetat *Ulva fasciata* delile dan *Turbinaria decurrens* bory terhadap laju pertumbuhan. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 6(1), 57–68.