



14-18 September 2013



SEMINAR TAHUNAN KE-2 W O BIOTEKNOLOGI KONGRES FORUM BIOFARMASI KELAUTAN INDONESIA

Tema
Riset Bioteknologi sebagai Pilar industrialisasi
kelautan dan Perikanan dalam Menwujudkan Blue Economy



Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk
dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan

bersama dengan

Fakultas Perikanan & Ilmu Kelautan - Universitas Sam Ratulangi,
Forum Biofarmasi Kelautan dan Perikanan
dan Konsorsium Bioteknologi Indonesia (KBI)

Daftar Isi

halaman

Kata Pengantar	1
Pendahuluan	2
Jadwal	6
abstrak pembicara utama	8
STRATEGI PENGEMBANGAN BAHAN AKTIF DARI LAUT SEBAGAI BAHAN BAKU INDUSTRI KESEHATAN Rizka Andelusia	9
METAGENOMIC INSIGHTS INTO THE BIOSYNTHESIS OF MARINE NATURAL PRODUCTS Agustinus R. Uriu, Sike Reiter, Shigeki Matsunaga and Iori Piel	11
METABOLOMICS AND NATURAL PRODUCT RESEARCH Noer Kasanah	12
Abstrak Kimia Bahan Alam	13
(KBA-01) ANALISIS SENYAWA ANTIOKSIDAN DARI BEBERAPA JENIS ALGA HIJAU DI PERAIRAN PESISIR TONGKAINA DAN POPOH Desy M.H. Martini, R.Ch. Kipri, Antonius Rumengan	14
(KBA-02) SEARCHING THE BIOSYNTHETIC CAPACITY OF ACTINOBACTERIA ASSOCIATED WITH SPONGES FROM TERNATE Noer Kasanah, Ayuningtyas, Amiqatul Fikriyah, Diga	15
(KBA-03) POTENSI BIOAKTIF SPONGE <i>Haliciona</i> sp. SEBAGAI PESTISIDA SELEKTIF PADA BUDIDAYA PERIKANAN PANTAI Emma Suryati dan A. Terrivia	16
(KBA-04) KARAKTERISTIK RUMPUT LAUT SARGASUM: AKTIFITASNYA UNTUK MENINGKATKAN PERTUMBUHAN DAN PRODUKTIVITAS BEBERAPA TANAMAN Happy Widastuti, Soekarno Wismana Putra, M. Hanafi, Djoko Santoso	17
(KBA-05) PRELIMINARY STUDY OF CYTOTOXIC AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ALGAE FROM SOUTH SULAWESI WATERS Elmi Nurmaldeh Zahreddi	18



Daftar Isi

(KBA-06) KOMPONEN BIOAKTIF YANG DIISOLASI DARI ASCIDIAN <i>Cystodytes</i> sp., DIKOLEKSI DARI SULAWESI UTARA, INDONESIA Deliska Adellena Sumilat, Dafny Sylvia Wewenglang, Henki Rotnasulu	20
(KBA-07) UJI AKTIVITAS ANTIKIBAKTERI SALEP EKSTRAK ETANOL DAUN LAMUN (<i>Syringodium isoetifolium</i>) Hases Jaya Edy, ML Edy Perwanto, Gideon Tioew	21
(KBA-08) NEW NATURAL PRODUCT FROM <i>Botryosphaeria australis</i> , AN ENDOPHYTE FROM MANGROVE <i>Avicennia marina</i> Robert A. Barak, Ila Zarfa, Fitje Lintang, Daowen Lai, Weihsin Lin, Abdessamad Debbab, Heike Britta-Oesterelt, Peter Proksch	22
(KBA-09) UJI ANTIFERTILITAS EKSTRAK ALGA COKLAT <i>Padina australis</i> TERHADAP PEMBUAHAN BULU BABI <i>Tripleneus tesgratilla</i> Nickson J. Kawung, Adalina Sumanganda, Novel Kojong, Patricia E. Montolalo	23
(KBA-10) POTENSI ANTITUMOR RUMPUT LAUT <i>Ulva fasciata</i> DARI PERAIRAN INDONESIA Thamrin Wilanta, Ender Marraskuzanta, Asri Pratiha, Nurrahmi Dewi Fajarningsih, Muhamad Nunsid, Hedi Indra Januar, dan Elawati Chasanah	24
(KBA-11) TELAAH SITOTOKSIK DAN SITOTAKSIS DARI KARANG LUNAK <i>Nephthea</i> sp. Antonius P. Rumengan, R. E. R. Mangindaan, dan Losung Fitje	25
(KBA-12) SECALONIC ACID F: A CYTOTOXIC AND ANTIMICROBIAL COMPONENT ISOLATED FROM AN OKINAWAN SPONGE-DERIVED FUNGUS STRAIN TPU978 Henki Rotnasulu, Dafny S. Wewenglang, Deliska A. Sumilat, Hiroyuki Yamazaki, Kazuyo Ueki, Michio Namikoshi	26
(KBA-13) ISOLASI PIGMEN-PIGMEN DARI EKSTRAK ALGA MERAH <i>Kappaphycus alvarezii</i> (Doty) SELAMA PEMELIHARAAN DI PERAIRAN PESISIR PULAU NAIN Darus Saadah J. Parama, D.M.H. Mantiri dan R.Ch. Kepel	27
(KBA-14) AKTIVITAS LARVASIDA DARI EKSTRAK SPONGE TERHADAP LARVA NYAMUK <i>Aedes aegypti</i> Remy E.P. Mangindaan, Fitje Losung dan Melky Pattawati	29
(KBA-15) PEMISAHAN LEKTIN DARI ALGA LAUT (<i>Eucheuma</i> sp.) MENGGUNAKAN METODE SDS - PAGE Rosita A.J. Untang, Remy E.P. Mangindaan, dan Oneng Monorafa	30

Daftar Isi

halaman

(KBA-16) PENGEMBANGAN METODE SKRINING SUBSTANSI ANTIMITOTIK DAN ANTIJAMUR MENGGUNAKAN KONIDIA <i>Pyricularia oryzae</i> Fitje Loung dan Remy E.R.Mangindaan	31
(KBA-17) EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN LARUT ASAM DARI TULANG IKAN TUNA (<i>Thunnus albacares</i>) SEBAGAI BAHAN BAKU FARMASI Rosmawaty Peranginangin, Tika Lestari dan Hasan Rachmat	32
(KBA-18) NUTRACEUTICAL FORMULATION OF GRANULATED SEA CUCUMBER FOR NATURAL APHRODISIAC Kuslerlysh Tarman, Elowati Chasanah, Virjean Pricilla, Ety Riari	33
(KBA-19) ANTIOKSIDANT EFFECTS OF MICROALGAE (TETRAELEMIS CHUII) EXTRACT AGAINST OXIDATIVE STRESS IN WISTAR RATS (<i>RATTUS NORVEGICUS</i>) INDUCED BY TRACE COOKING OIL Tri Dewanti W, Jaya Mahar and Kartika Candra W	34
(KBA-20) EKSPLOKASI BAHAN AKTIF FARMASETIKAL DARI MIKROALGA <i>Spirulina platensis</i> YANG DIBIAKKAN DALAM SERUM LATEKS Tri-Panji, Suharyanto, Suminar Setiadi Achmadi, Marini Wijayanti Dan Irma Shita Arlyza	35
(KBA-21) STABILITAS SENYAWA BIOAKTIF <i>Turbinaria decurrens</i> TERHADAP TEKANAN LINGKUNGAN Nini Susilowati, Medi Indra Jenuar, dan Thamrin Wikanta	37
(KBA-22) KARAKTERISTIK STRUKTUR KITIN DAN KITOSAN YANG DIISOLASI DARI BIOMAS ROTIFER <i>Brachionus rotundiformis</i> HASIL KULTUR Rumengan, I.F.M., E. Suryanto, R. Modesto, S. Wulur, T.E. Talei and D. Limbong	38
(KBA-23) OPTIMASI PRODUKSI OLIGOMER KITOSAN YANG DIHASILKAN SECARA ENZIMATIS MENGGUNAKAN KITOSANASE <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> KPU 2123 Yusra Nuri Fauzya, Art Rahmawati, La Ode Sumarin dan Gintung Patanti	40
Abstrak Akuakultur	41
(A-01) PENGARUH SALINITAS TERHADAP PERKEMBANGAN GONAD DAN KETAHANAN HIDUP LARVA IKAN NILA (<i>Oreochromis niloticus</i>) Sulis Derwanto	42



JADWAL PRESENTASI ORAL PADA SETIAP SESI PARALEL

Waktu	SESI PARALEL A : Marine Natural Product (Ruang 1)	SESI PARALEL B : Marine Natural Product (Ruang 2)
	Moderator : Prof. Ir. Farnis Boneka, M.Sc	Moderator : Drs. Thamrin Wilkanta, MS
	Analisis Senyawa Antioksidan dari Beberapa Jenis Alga Hijau di Peraliran Pesisir Tongkaina dan Poopoh	Isolasi pigmen-pigmen dari ekstrak alga merah <i>Kappaphycus alvarezii</i> (Doty) Doty selama pemeliharaan di perairan pesisir Pulau Nain
	Searching the Biosynthetic Capacity of Actinobacteria Associated with Sponges from Ternate	Aktivitas Larvasida dari Ekstrak Sponges terhadap Larva Nyamuk <i>Aedes aegypti</i>
13.00 - 14.00	Potensi Bioaktif Sponge <i>Haliclona</i> sp Sebagai Pestisida Selektif pada budidaya Perikanan Pantal	Pemisahan Lektin dari Alga Laut (<i>Eucheuma</i> sp) Menggunakan Metode SDS - PAGE
	Karakteristik Rumput Laut Sargasum: Aktifitasnya untuk Meningkatkan Pertumbuhan dan Produktivitas beberapa Tanaman	Pengembangan Metode Skrining Substansi Antimitotik dan Antijamur Menggunakan Konidia <i>Pyricularia oryzae</i>
	Preliminary Study of Cytotoxic and Antimicrobial Activities of Algae from South Sulawesi Waters	Ekstraksi dan Karakterisasi Kolagen Larut Asam Dari Tulang ikan Tuna (<i>Thunnus albacares</i>) Sebagai Bahan Baku Farmasi
14.00-14.45	Komponen bioaktif yang diisolasi dari ascidian <i>Cystodytes</i> sp., dikoleksi dari Sulawesi Utara, Indonesia.	Nutraceutical Formulation of Granulated Sea Cucumber for Natural Aphrodisiac
	Desy M.H. Mantiri	Darus Saadah J.Paranta
	Noer Kasanah	Remy E.P.Mangindaan ✓
	Emma Suryati	Rosita A.J. Lintang ✓
	Happy Widiastuti	Fitje Losung ✓
	Elmy Zubaidah Zainuddin	Rosmawaty P
	Deiske Adeliene Sumilat	Kustiariyah Tarman

14.45-15.00	Uji Aktivitas Antibakteri Salep Ekstrak Etanol Daun Lamun (<i>Syringodium isoetifolium</i>)	Hosea Jaya Edy	Pengaruh Pemberian Ekstrak Mikroalga (<i>Tetraselmis chuii</i>) Terhadap Stres Oksidatif pada Tikus Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>) yang diinduksi Minyak Jelantah	Tri Dewanti W
Rehat				
15.00-16.00	<p>Moderator : Dr. Muhammad Nursid</p> <p>New Natural Product from <i>Bryosphaeria australis</i>, an Endophyte from Mangrove <i>Avicennia marina</i></p> <p>Uji Antifertilitas Ekstrak Alga Coklat <i>Padina australis</i> terhadap Pembuahan Bulu Babi <i>Tripneustes gratilla</i></p> <p>Potensi Antitumor Rumpuk Laut Ulva fasciata dari Peraliran Indonesia</p> <p>Telaah Sitotoksik dan Sitotaksis Dari Karang Lunak <i>Nephitea</i> Sp</p> <p>Secalonic Acid F: A Cytotoxic and Antimicrobial Component Isolated from an Okinawan Sponge-derived Fungus strain TPU978</p>	<p>Robert A. Bara</p> <p>Nickson J. Kawung</p> <p>Thamrin Wikanta</p> <p>Antonius P. Runiengan ✓</p> <p>Hensi Rotinsulu</p>	<p>Moderator : Prof. Dr. Janny D. Kusen, M.Sc</p> <p>Eksplorasi Bahan Aktif Farmasetikal dari Mikroalga <i>Spirulina platensis</i> yang Dibiakkan dalam Serum Lateks</p> <p>Stabilitas senyawa bioaktif <i>Turbinaria decurrens</i> terhadap tekanan lingkungan</p> <p>Structural Characteristics of Chitin and Chitosan Isolated from the Biomass of Cultivated Rotifer, <i>Brachionus rotundiformis</i></p> <p>Optimasi Produksi Oligomer Kitosan yang Dihasilkan Secara Enzymatis Menggunakan Kitosanase <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> KPU 2123</p>	<p>Tri Panji</p> <p>Rini Susilowati</p> <p>Inneke F. M. Rumenggan</p> <p>Yusro Nuri Fawzya/Gintung Patantis</p>

Pemisahan Lektin dari Alga Laut (*Eucheuma* sp) Menggunakan Metode SDS – PAGE.

Rosita A.J. Lintang¹⁾, Remy E.P. Mangindaan¹⁾, dan Oneng A. Monoarfa²⁾
e-mail : lintang_rosita@yahoo.com

ABSTRAK

Alga Laut merupakan salah satu sumber daya hayati laut yang memiliki kandungan karbohidrat, protein dan berbagai vitamin. Biota ini dilaporkan memiliki substans bioaktif yang mampu mengaglutinasi sel darah merah yang dikenal sebagai lektin. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh biota ini dapat diekstraksi dan diolah untuk dijadikan bahan baku obat-obatan.

Sampel alga laut *Eucheuma* sp diekstraksi mengikuti metode Bollag dan Edelstein (1991) yang dimodifikasi Tepung alga laut dilarutkan dalam fosfat buffer. Setelah diaduk dengan pengaduk listrik, campuran disaring dan filtrat yang diperoleh disentrifus. Pada supernatan dilakukan proses *salting out* dengan penambahan amonium sulfat, lalu disentrifus. Endapan protein yang diperoleh dimasukkan pada kantung dialisis dan diteteskan 0,002% NaN_3 . Sebanyak 5 ml ekstrak kasar dimurnikan pada kolom Sephadex G – 100 dan diukur pada panjang gelombang 280 nm. Pengujian lektin dilakukan menggunakan suspensi eritrosit 1%. Puncak yang memiliki aktivitas dianalisa dengan Metode SDS – PAGE.

Hasil pemisahan lektin dengan metode SDS - PAGE, mendeteksi pita yang cukup tebal dengan berat molekul (BM) berkisar 28 kDa.

Kata kunci: Lektin, aglutinasi, Alga laut, *Eucheuma cottonii*, SDS-PAGE

- 1) Fak. Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat
- 2) Dinas Kelautan dan Perikanan Kab Gorontalo

PENDAHULUAN

Keanekaragaman alga laut yang tumbuh di perairan Indonesia serta alga laut yang sudah lama dikenal sebagai komoditi ekspor merupakan pertimbangan utama untuk melakukan penelitian dan pengembangan biota ini serta produk-produk yang dikandungnya. Manfaat alga laut sebagian besar bukan sebagai bahan pangan manusia, melainkan bahan baku dan bahan tambahan dalam industri makanan, obat-obatan dan kosmetika (Soegiarto, 1984). Alga laut juga sumber golongan senyawa eikosanoid, terpenoid dan polisakarida, dan lektin (Hori *dkk.*, 1986).

Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa alga laut merupakan salah satu sumber lektin yang terdistribusi secara luas di alam dan diketahui sebagai protein atau glikoprotein yang dapat mengikat sakarida secara khusus. Lektin termasuk protein imun alami yang secara khusus berinteraksi dengan molekul gula tanpa memodifikasi gulanya (D'adamo, 2007). Substansi ini dapat digunakan untuk menentukan struktur gula pada permukaan sel (Menghi *et al*, 1986), mendeteksi perubahan permukaan sel dalam terapi tumor (Itoh *et al*, 1985), sebagai alat kontrasepsi (Olafsen, 1988) serta pertahanan terhadap mikroorganisme (Sharon and Lis, 1987 *dalam* Sharma and Sahni, 1993).

Aglutinası sel darah merah oleh lektin dapat dihambat oleh jenis sakarida tertentu, yang merupakan gula spesifiknya. Interaksi lektin/aglutinin dengan gula yang spesifik, maka aglutinin dapat digunakan untuk menentukan jenis gula pada permukaan sel (Menghi *dkk*, 1986) dan setiap lektin mempunyai kemampuan yang berbeda dalam mengaglutinasi sel (Sharon dan Lis, 1972). Selain sebagai pengaglutinasi sel, beberapa lektin memperlihatkan aktivitas mitogenik kuat sehingga lektin disebut sebagai molekul pengenalan sel. Potensi lain dari lektin yang sangat penting dalam proses biologi seperti fertilisasi, embriogenesis, migrasi sel, formasi organ, sistem pertahanan imun dari infeksi mikroba.

Sodium Dodecyl Sulphate – Polyacrilamid Gel Elektroforesis (SDS – PAGE) merupakan suatu metode yang sangat baik untuk mengenal dan memonitor protein selama pemurnian dan homogenitas pemurnian (Garfin *dalam* Deutscher, 1990). Gel elektroforesis sangat efektif untuk menganalisa substansi yang mempunyai berat molekul tinggi (seperti protein, DNA dan RNA). Gel poliakrilamid terdiri dari hubungan silang rantai-rantai polimerik yang bersifat menyerap dan memiliki ukuran pori yang dapat diatur (Bohinski, 1987). Ukuran pori dapat diatur konsentrasi akrilamid yang digunakan, makin tinggi konsentrasi akrilamid makin kecil ukuran pori. Hubungan antara konsentrasi akrilamid dengan ukuran pori.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan :

1. Mengekstrak lektin dari alga laut jenis *Eucheuma* Sp.
2. Memurnikan ekstrak lektin dengan kromatografi filtrasi gel.
3. Memurnikan dan menentukan berat molekul lektin dengan metode SDS – PAGE

METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan merupakan stok sampel alga laut jenis *Eucheuma* sp yang dikoleksi dari Likupang dan disimpan dalam bentuk tepung alga di Laboratorium Kimia Bahan Hayati Laut.

Ekstraksi Lektin

Ekstraksi lektin dilakukan berdasarkan metode ekstraksi protein (Bollag dan Edelstein, 1991) dengan beberapa modifikasi. Tepung alga ditambah fosfat buffer M/15 pH 7, diaduk selama 24 jam, pada temperatur 5°C. Setelah itu protein diendapkan melalui cara salting out. Selanjutnya disentrifus dan endapan protein dimasukkan ke kantong membran lalu di dialysis dengan larutan PBS.

Kromatografi Filtrasi Gel

Serbuk Sephadex G – 100 ditambah larutan buffer fosfat (M/15, pH 7), diaduk pada temperatur 90°C selama 5 jam. Selanjutnya suspensi tersebut dituang dalam kolom (2,5 x 29 cm). Ekstrak kasar dimasukkan ke dalam kolom yang telah diisi dengan sephadex dengan eluen buffer fosfat (M/15, pH 7). Hasil fraksinasi ditampung pada *fraction collector* dan dianalisa pada spektrofotometer (OD 280). Tiap puncak digabungkan sehingga diperoleh fraksi-fraksi pemurnian. Tiap puncak ditambah amonium sulfat, kemudian disentrifus. Endapan yang diperoleh dari tiap fraksi didialisis dengan buffer fosfat. Selanjutnya diuji untuk menentukan fraksi mana yang memiliki aktivitas. Puncak yang memiliki aktivitas dianalisa dengan metode SDS – PAGE.

Pengujian Aktivitas Lektin

Aktivitas lektin diuji pada eritrosit 1%, dan penentuan aktivitas lektin dibuat pada mikrotiter plate (Greiner 650161). Sebanyak 100 µl salin 0,85% dimasukkan ke cekungan nomor 1 sampai 8. Selanjutnya ekstrak lektin sebanyak 100 µl ditambah pada cekungan nomor 1 diaduk dengan pipetman Gilson kemudian 100 µl campuran tersebut dipindahkan ke cekungan ke-2 diaduk kembali, demikian dilakukan sampai pada cekungan ke-7 dan 100 µl campuran dari cekungan ke-7 dibuang, sehingga terbentuk suatu seri pengenceran 2 kali. Pada cekungan ke-8 tidak ditambahi ekstrak lektin sehingga berlaku sebagai kontrol. Dengan volume yang sama (100 µl), suspensi eritrosit 1% (v/v) ditambahkan pada tiap cekungan (1 – 8). Setelah pengadukan perlahan, plate ditutup dan diinkubasi selama dua jam pada temperatur ruang. Titer aglutinasi ditentukan pada cekungan dengan pengenceran tertinggi yang masih menyebabkan aglutinasi positif. Aktivitas lektin ditentukan melalui pengamatan secara makroskopis pada mikrotiter plate dan secara mikroskopis melalui mikroskop.

Pemisahan Lektin dengan Metode SDS-PAGE

Pemisahan lektin dilakukan menurut metode SDS – PAGE (Bollag dan Edelstein, 1991). Dua plat kaca disisipi *spaser* pada sisi kanan, kiri dan bagian bawah. Campuran pembentuk *separating gel* disiapkan pada erlemeyer kecil Selanjutnya campuran ini segera diisi ke dalam ruang antara lempeng kaca menggunakan alat suntik. Dari tepi atas plat kaca disisakan ruang setinggi 1,5 cm untuk larutan *stacking gel*. Setelah penuangan *separating gel* selesai selanjutnya ditetesi isobutanol atau akuades, *Separating gel* dibiarkan terpolimerisasi dengan sempurna selama ± 60 menit. Setelah *separating gel* mengeras, isobutanol atau akuades dikeluarkan, selanjutnya ruang yang disisakan tadi diisi dengan campuran *stacking gel*. Sebelum *stacking gel* mengalami

polimerisasi, sisir disisipkan di atas *stacking gel* dan dibiarkan sekitar 1 jam. Setelah polimerisasi *stacking gel* selesai, sisir, klep dan spaser bagian bawah dilepas, dan sampel dimasukkan ke dalam sumur.

Sebelum dimasukkan ke sumur, sampel (20 μ l) dicampur dengan SDS – Buffer sampel (5 μ l) dipanaskan pada suhu 100 $^{\circ}$ C selama 5 menit. Selanjutnya sampel (25 μ l) dan protein marker (5 μ l) dimasukkan ke sumur, kemudian plat gel dipasang pada alat elektroforesis yang telah diisi dengan buffer elektroforesis lalu dihubungkan ke sumber listrik. Elektroforesis dijalankan dengan tegangan konstan 50 Volt dan kecepatan arus 25 mA selama \pm 2 jam. Setelah elektroforesis selesai, gel dikeluarkan dan direndam dalam larutan *stain* (pewarna) Coomasiie brilliant blue (50 ml) selama 30 menit sambil digoyang konstan, kemudian dicuci dengan larutan *destain* (pencuci) yang mengandung metanol, asam asetat dan akuades selama 1 jam.

Penentuan berat molekul dilakukan dengan membandingkan mobilitas protein sampel dengan mobilitas protein marker yang telah diketahui berat molekulnya. Standar protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah Phosphorylase b (BM 94 kDa), Albumin (BM 67 kDa), Ovalbumin (BM 43 kDa), Carbonic anhydrase (BM 30 kDa), Trypsin inhibitor (BM 20,1 kDa) dan α -Lactalbumin (BM 14,4 kDa).

Analisa Berat Molekul

Berat molekul protein sampel ditentukan dengan membandingkan mobilitasnya mobilitas protein standar (marker) yang telah diketahui berat molekulnya. Kurva standar protein marker dibuat berdasarkan pada sumbu X adalah mobilitas relatif (Rf) protein marker dan sumbu Y adalah berat molekul protein marker. Mobilitas protein relatif ditentukan dengan mengukur jarak (cm) pita-pita protein dari batas atas *separating gel* dibagi dengan jarak (cm) *tracking dye*.

Protein sampel diukur dari batas atas *separating gel* sehingga didapat nilai mobilitas protein sampel (Rf sampel). Dengan menggunakan kurva standar protein marker, berat molekul protein-protein sampel ditentukan dan langsung diplot pada kurva standar marker atau melalui persamaan linier kurva standar marker.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Kasar Lektin

Jenis rumput laut yang digunakan dalam ekstraksi lektin adalah alga laut jenis *Eucheuma* sp (Gambar 1) yang digolongkan ke dalam alga merah. Tepung alga laut (*Eucheuma* sp) sebanyak 50 g menghasilkan filtrat sekitar 480 ml. setelah *salting out*

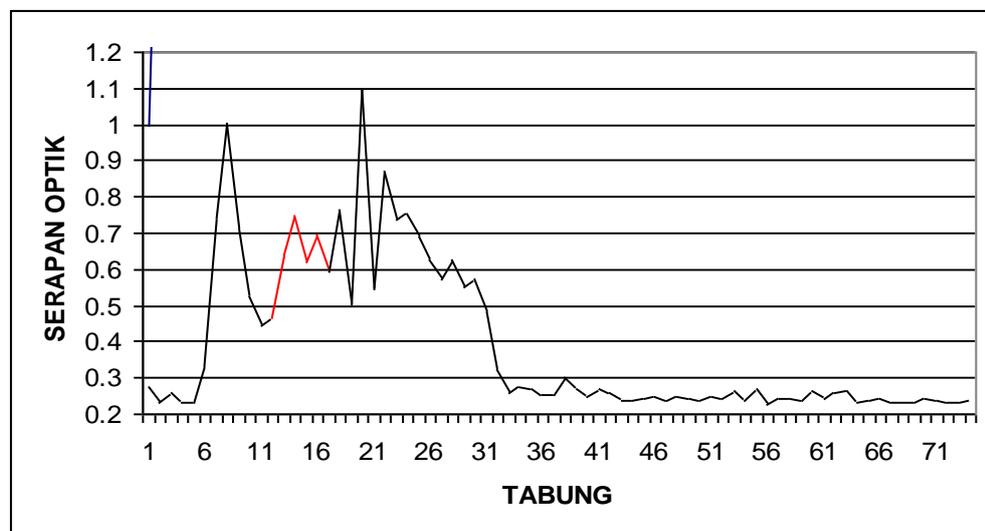
dan disentrifus, presipitat yang diperoleh dimasukkan dalam kantung membran dialisis, sehingga menghasilkan ekstrak kasar lektin sebanyak 36 ml.



Gambar 1. *Eucheuma* sp (Ayhuan, 1995)

Hasil Pemurnian Lektin Melalui Kolom Sephadex G - 100

Ekstrak kasar lektin sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam kolom, dengan larutan pengelusi Phospat Buffer (M/15, pH 7) dimana kecepatan perpindahan *fraction* 9 menit. Kurva hasil pemurnian lektin pada kolom Sephadex G -100 disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Hasil Filtrasi Gel Ekstrak *Eucheuma* sp pada Kolom Sephadex G – 100 (2,5 x 29 cm) dengan eluen buffer phospat (M/15, pH 7) setelah dianalisa dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 280 nm

Gambar 2 memperlihatkan 7 puncak fraksinasi yaitu fraksi nomor 6 -11 (P1), 12 -15 (P2), 16 -17 (P3), 18 -19 (P4), 20 - 21 (P5), 22 - 27 (P6) dan 28 - 32 (P7). Fraksi-fraksi ini memiliki volume yang berbeda (Lampiran 3). Hasil fraksinasi ini memperlihatkan masih banyak puncak yang terdeteksi. Hal ini dapat menggambarkan bahwa pada ekstrak kasar lektin terdapat banyak protein selain lektin.

Aktivitas Lektin

Aktivitas lektin ditentukan setelah inkubasi selama 2 jam pada temperatur ruang. Aktivitas lektin dari ekstrak kasar dan ke-7 puncak hasil filtrasi gel alga laut jenis *Eucheuma* sp diuji terhadap eritrosit manusia. Pengujian dilakukan pada mikrotiter plate dan pengamatan aglutinasi dilakukan secara makroskopis. Hasil pengamatan makroskopis diperlihatkan pada Tabel 1

Tabel 1. Hasil Pengamatan Makroskopis Aktivitas Lektin Ekstrak Kasar dan Hasil Filtrasi Gel

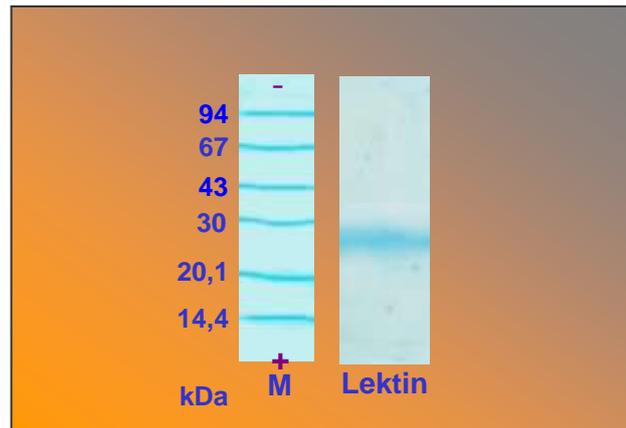
Ekstrak Alga Laut	Aktivitas
Ekstrak Kasar	4
Puncak 1	-
Puncak 2	2
Puncak 3	1
Puncak 4	-
Puncak 5	-
Puncak 6	-
Puncak 7	-

*) : nilai seri pengenceran 2x yang masih memberikan aglutinasi positif

Pada Table 1 ternyata, aktivitas lektin setelah filtrasi gel pada kolom Sephadex G – 100 mengalami penurunan aktivitas. Hal ini mungkin disebabkan oleh sifat dari protein yang mudah terdenaturasi sehingga aktivitas biologi khususnya akan menurun atau hilang sama sekali. Protein akan mengalami denaturasi oleh pengaruh panas dan mekanik (Vinesian, 2010). Denaturasi protein dapat diakibatkan oleh panas, pH ekstrim dan atau pengguncangan intensif larutan protein sehingga bersinggungan dengan udara (Lehninger, 1990).

Pemisahan Lektin Dengan Metode SDS – PAGE

Analisa terhadap lektin dari alga laut jenis *Eucheuma* sp dengan metode SDS – PAGE menggunakan gabungan dari puncak P2 dan P3 menghasilkan pita yang cukup tebal dengan berat molekul yang terdeteksi berkisar pada 27,976 Da \approx 28 kDa (Gambar 3).



Gambar 3. Analisa Elektroforesis pemisahan Lektin dengan Coomassie Brilliant Blue R – 250.

Penggabungan 2 puncak aktif pada pemisahan ini diharapkan akan menghasilkan 2 pita dengan berat molekul yang berbeda. Pada kenyataannya hal ini tidak terjadi. Walaupun konsentrasi protein lektin tidak diukur, tetapi dugaan kuat penyebab tidak terdeteksinya salah satu pita adalah rendahnya konsentrasi protein pada puncak tersebut. Penyebab lain diduga karena berat molekul dari dua puncak tersebut relatif sama atau berhimpitan. Pewarna Coomassie Brilliant Blue R-250 yang digunakan memiliki tingkat sensitivitas berkisar pada 0,1 µg – 1 µg protein per pita sehingga kemungkinan tidak dapat mendeteksi protein lektin yang diduga konsentrasinya lebih kecil dari kisaran tersebut. Hal ini dapat diatasi dengan penggunaan pewarna logam seperti perak (sensitivitas 10 – 100 ng protein per pita) dan tembaga (Garfin *dalam* Deutscher, 1990).

Berat molekul suatu senyawa dapat menjadi patokan dalam melakukan analisis terhadap senyawa tersebut. Analisa komposisi dan urutan asam amino dapat dilakukan sampai pada tingkat selluler sehingga bila diperlukan maka produksi senyawa lektin ini memungkinkan untuk dilakukan dengan metode rekayasa genetika.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

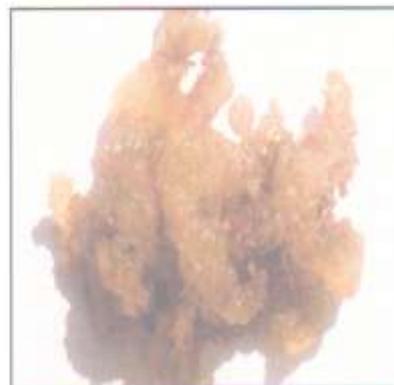
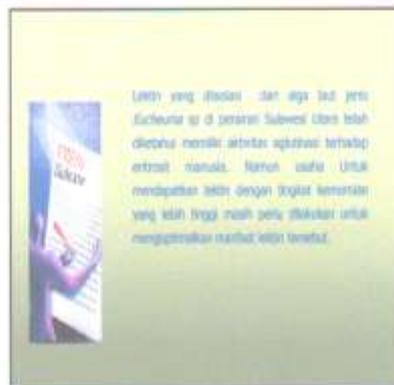
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

Pemurnian lektin dengan kromatografi filtrasi gel, menghasilkan 7 puncak, dimana dua diantaranya (puncak 2 dan 3) memiliki aktivitas aglutinasi. Lektin dari alga laut jenis *Eucheuma* sp terdeteksi keberadaannya dengan Metode SDS-PAGE memperlihatkan berat molekul (BM) \approx 28 kDa

Saran yang diajukan yaitu: Analisa terhadap struktur dan urutan asam amino perlu dilakukan untuk memungkinkan produksi senyawa ini dengan metode rekayasa genetika.

DAFTAR PUSTAKA

- Bohinski, R.C. 1987. Modern Concepts In Biochemistry. Penerbit John Carrol University. Hal 85 – 118.
- Bollag, D. M and S.J. Edelstein. 1991. Protein Methods. Wiley – Liss. 230 hal
- D'adamo, P. J. 2007. Lectins. The individualist 28 April 2013.
- Hori, K., K. Miyazawa and K. Ito. 1986. Preliminary Characterization of Agglutinins from Seven Marine Algae Species. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 52 (2) : 323 – 331.
- Itoh, A.K. Lizuka and S.Natori. 1985. Antitumor Effect of Sarcophaga Lectin on Marine Transplanted Tumours. Japan Jour Canc. Res-Gann. 76 :107-1033.
- Lehninger, A.L. 1990. Dasar-Dasar Biokimia Jilid I. The Johns Hopkins University School of Medicine. Penerbit Erlangga.
- Menghy, D., D. Accili., A. Bondi and G. Materazzi. 1986. Lectin as Indicators of Cell Surface and Cytoplasmic Sugar changes in the Oviduct of the Postovulatory and Pregnant Rabbit. Bass and App. Histochem. 30 : 69 – 84.
- Olafsen, J.A. 1988. Role of Lectins in Invertebrate Humoral Defense. American Fisheries Society Special Publication. 18 : 189-205
- Sharon, N. 1993. Lectin- Carbohydrate Complexes of Plant and Animals: an Anatomic View. Elsevier Science Publishers. P. 221 – 226.
- Sharon, N. and H. Lis. 1972. Lectin : Cell – Agglutinating and Sugar – Specific Protein. Science. 177 (4053) : 949 – 959.
- Sharma, G.M and M.K. Sahni. 1993. Marine Protein in Chemical Chemistry. Departement of Chemistry William Peterson Collage, Wayne, New Jersey. 07470.
- Soegiarto, A. 1984. Rumpu Laut (Alga) : Manfaat, Potensi dan Usaha Budidaya. LON – LIPI Jakarta. 61 hal.



SDS-PAGE

Metode elektroforesis menggunakan gel poliakrilamid dan komponen-komponen yang dipisahkan berada dibawah pengaruh arus listrik. Metode ini digunakan untuk memisahkan, menggolongkan, mengcekasi pemurnian dan mengukur berat molekul protein.

Sistem ini terdiri dari plat gel, buffer elektroforesis, sampel, *stacking gel* dan *separating gel*.

Metode Penelitian

- Pengambilan Sampel
- Ekstraksi Lektin
- Kromatografi Terasorwal
- Pengujian Aktivitas Lektin
- Pemurnian Lektin dengan Metode SDS-PAGE
- Analisa Berat Molekul

-Pengambilan Sampel

PROSEDUR PEMURNIAN Lektin

```

    graph TD
      A[PROSEDUR PEMURNIAN Lektin] --> B[ELUAI]
      A --> C[DEKATI]
      B --> D[PRECIPITASI]
      B --> E[SUPERNATAN]
      C --> F[PRECIPITASI]
      C --> G[SUPERNATAN]
      D --> H[MOYORAN]
      E --> I[PRECIPITASI]
      F --> H
      G --> I
      H --> J[SISTEM Lektin]
      I --> J
  
```

Filtrasi Gel

Ekstrak kasar Lektin 7 ml

pH 6,7

Kromatografi Filtrasi Gel Sephadex G-100 (2,6x17 cm)

Spektrofotometer (520 nm)

Aktivasi selulosa Diacel 200 (500 mg, 15 menit dalam)

Pengujian Aktivitas Lektin

SDS-PAGE 14% akrilamide

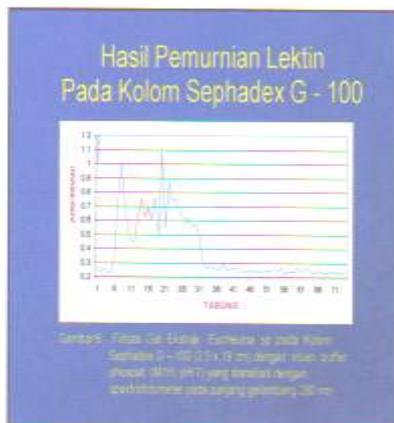
Pengujian Aktivitas Lektin



HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Kasar Lektin

Ekstrak kasar lektin yang diekstraksi dari tepung alga laut jenis *Eucheuma sp* sebanyak 50 g, setelah melalui *salting out* dan sentrifus yaitu sebanyak 36 ml

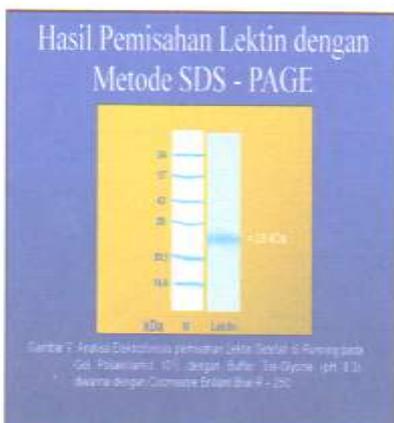


Hasil Pengujian Aktivitas Lektin

Tabel 2. Hasil Pengujian Morfologi Aktivitas Lektin Ekstrak Kasar dari Hasil Filtras Cel.

Ekstrak Kasar	Aktivitas
Frasa 1	+
Frasa 2	+
Frasa 3	+
Frasa 4	+
Frasa 5	+
Frasa 6	+
Frasa 7	+

1) Hasil pengujian uji yang masih menunjukkan positif



KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

- Lektin dari alga laut jenis *Eucheuma sp* terbukti terdistribusikan dengan Metode SDS - PAGE menunjukkan bentuk/ukuran 25 kDa.
- Pemurnian lektin dengan kromatografi Filtras Gel menghasilkan 7 fraksi, dari diantaranya (F1 dan F2) memiliki aktivitas optimal.

Saran

Harapnya lektin akan elektrofisis dapat diuji lebih lanjut dengan cara lain, untuk pemurnian gel dapat dicoba dengan pemurnian lektin pada berbagai.

