

LEKTIN DARI SPONS *Cliona varians* ASAL PERAIRAN MALALAYANG MANADO

(*Lectin of Sponge Cliona varians from Malalayang Water Manado*)

Fritawati Sulasi^{1*}, R. E. P. Mangindaan¹, F. Losung¹

¹Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado

*e-mail : sulatimbuleng@yahoo.com

Lectin is found in various organisms including marine organisms such as marine sponges. Lectin of sponge *Cliona varians* from Brazilian water was investigated. However, lectin activity of sponge *C. varians* from Manado water was not investigated yet. The purpose of the research is to determine lectin activity of *C. varians* and the carbohydrate-binding site. Extraction using metode by Moura *et al.* (2006). Sponge centrifugated using tris HCl then purified with acetone until the lectin extract obtained. The result show that sponge *C. varians* in Manado water have the lectin activity up to 3750 ppm. However, the carbohydrate-binding site was not determined yet.

Keywords : lectin, sponge, *Cliona varians*

Lektin telah ditemukan di berbagai organisme termasuk organisme laut seperti spons. Spons *Cliona varians* dari perairan Brazil memiliki aktivitas lektin. Namun belum diteliti aktivitas lektin dari spons *C. varians* dari perairan Manado. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas lektin dari spons *C. varians* dan menentukan sisi pengikat gula. Ekstraksi menggunakan metode Moura *dkk.* (2006). Spons disentrifugasi menggunakan tris HCl setelah itu dimurnikan dengan aseton hingga diperoleh ekstrak lektin. Hasil pengujian menunjukkan bahwa spons *C. varians* pada perairan Manado memiliki aktivitas lektin hingga pada konsentrasi 3750 ppm. Namun sisi pengikat gula dari lektin tersebut belum bisa ditentukan.

Kata kunci : lektin, spons, *Cliona varians*

PENDAHULUAN

Organisme laut di perairan Manado telah menjadi objek penelitian oleh para ilmuwan baik di dalam negeri maupun di luar negeri. Avertebrata laut merupakan salah satu objek yang banyak diteliti sebagai sumber substansi bioaktif. Banyak substansi bioaktif yang telah diisolasi dari organisme-organisme perairan laut Manado, di antaranya merupakan senyawa baru. Salah satu dari organisme-organisme tersebut adalah spons.

Spons dianggap sebagai pabrik kimia di lingkungan laut karena

memproduksi senyawa kimia beragam (Kim dan Dewapriya 2012). Salah satu jenis spons, *Cliona varians*, telah diteliti menghasilkan substansi bioaktif lektin yang dapat menghambat pertumbuhan sel leukimia (Queiroz *dkk.* 2009).

Menurut D'adamo (2007) lektin adalah protein non imun alami yang secara khusus berinteraksi dengan molekul gula tanpa memodifikasi gula tersebut. Namun definisi ini tidak berlaku lagi karena lektin-lektin I-type masuk dalam kelompok imunoglobulin, misalnya sialoadhesin (Hirabayashi 1997). Berdasarkan mekanisme kerjanya yang mirip antibodi, lektin

dapat digunakan hampir di seluruh aspek biologi. Lektin dapat mengenali secara spesifik molekul/residu karbohidrat tertentu (Utama 1996). Aktivitas lektin dipengaruhi oleh suhu dan pH. Aktivitasnya berkurang pada suhu di atas 60°C. Dan pada pH 6-8 aktivitasnya bagus (Moura *dkk.* 2006).

Lektin tersebar di organisme hidup dan bereaksi dengan makromolekul glikosilasi (Gilboa-garber dan Garber 1989). Lektin telah diisolasi dari kacang (Wong dan Ng 2005), ikan (Watanabe *dkk.* 2008) tikus (Kasper *dkk.* 1993) dan pisang (Swanson *dkk.* 2010). Pada tanaman, lektin digunakan sebagai sistem pertahanan terhadap jamur dan serangga sedangkan pada mikroorganisme lektin berperan dalam menginfeksi mikroorganisme seperti virus dan bakteri yang masuk ke tubuh (Sharon dan Lis 2004). Pada organisme laut, lektin telah diisolasi dari organisme-organisme seperti alga laut *Gracilaria verrucosa* (Ngkuno 2010) dan *Eucheuma gelatinae* (Rawung 2006) serta spons *Haliclona crater* (Pajic *dkk.* 2002) dan *Axinella corrugata* (Dresch *dkk.* 2012).

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel Spons

Sampel spons yang digunakan diperoleh dari perairan Malayang dengan menggunakan alat bantu selam. Sampel yang diperoleh dimasukkan dalam plastik sampel kemudian disimpan dalam termos yang berisi es. Setelah itu sampel dibawa ke laboratorium Kimia Bahan Hayati Laut Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi untuk diteliti.

Ekstraksi Lektin

Spons yang diperoleh dari perairan Malayang diekstrak menggunakan metode Moura *dkk.* yang telah dimodifikasi. Sampel spons yang diperoleh, dipotong kecil lalu ditimbang 500 gram dan dihaluskan menggunakan mixer. Setelah itu ditambahkan larutan tris HCl dengan perbandingan 2 : 1 dan dihomogenasi menggunakan pengaduk pada suhu 4°C selama 2 jam. Selanjutnya campuran disaring dan disentrifus pada kecepatan 3200 rpm selama 15 menit pada suhu ruangan. Supernatan yang diperoleh ditambah aseton dengan perbandingan 1 : 1, lalu di sentrifus dengan kecepatan 3200 rpm selama 15 menit pada suhu ruangan. Selanjutnya presipitat yang diperoleh di keringkan dalam *freeze dryer* dan ditimbang sehingga diperoleh ekstrak kasar lektin.

Penentuan Aktivitas Lektin

Ekstrak kasar lektin dilarutkan dalam salin dengan konsentrasi 6000 ppm, selanjutnya 100 µl salin dimasukkan ke dalam semua cekungan microtiter plate. Setelah itu ekstrak kasar lektin sebanyak 100 µl ditambahkan pada cekungan nomor 1, diaduk dengan mikropipet kemudian 100 µl dari campuran dipindahkan ke cekungan ke-2 dan diaduk, demikian dilakukan seterusnya sampai cekungan ke-7 dan 100 µl dari cekungan ke-7 dibuang, sehingga terbentuk suatu seri pengenceran 2 kali. Dalam cekungan ke-8 tidak ditambahi ekstrak lektin sehingga berlaku sebagai kontrol. Selanjutnya ke dalam tiap cekungan ditambahkan 100 µl suspensi eritrosit. Setelah pengadukan perlahan, keseluruhan plate ditutup dengan plastik tipis dan diinkubasi selama dua jam pada suhu ruangan. Selanjutnya

dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan cara mengamati titer aglutinasi pada titik pengenceran tertinggi yang memberikan aglutinasi positif. Untuk pengamatan mikroskopis menggunakan mikroskop, dengan cara mengambil cuplikan pada cekungan di mikrotiter plate, ditetaskan di kaca preparat lalu ditutup dengan kaca objek kemudian diamati di bawah mikroskop.

Penentuan Sisi Pengikat Gula

Jenis-jenis gula yang digunakan yaitu, D(-)-Arabinose, D(+)-Xylose, D(+)-Glucose, D(+)-Galactose, Manitol, L-Rhamnose, Inositol, D(+)-Mannose, D(+)-Glucosamine, sodium glucuronat, N-acetyl-D-glucosamine, Maltose, Lactose, Saccharose dan Raffinose. Polisakarida yang digunakan yaitu Arabic gum dan Starch potato. Setiap jenis gula dilarutkan dalam salin dengan konsentrasi 50 mM. Dengan multimikropipet, 50 μ l salin dimasukkan ke cekungan nomor 1 sampai 6. Selanjutnya dengan mikropipet 50 μ l larutan gula (50mM) ditambahkan pada cekungan ke-1 dan diaduk. Sebanyak 50 μ l dari campuran tersebut dipindahkan pada cekungan ke-2 dan diaduk. Demikian seterusnya sampai pada cekungan ke-5, sehingga terbentuk suatu seri pengenceran dua kali dari larutan gula. Cekungan ke-6 tidak ditambahkan larutan gula sehingga berlaku sebagai kontrol. Pada tiap cekungan ditambahkan ekstrak lektin dengan konsentrasi titer tertinggi yang masih menunjukkan aktivitas aglutinasi.

Uji hambat gula ditentukan setelah inkubasi selama 2 jam pada suhu ruangan dan diuji terhadap eritrosit manusia. Pengamatan uji

hambat gula dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Tiap cekungan diisi suspensi eritrosit (0,5%) sebanyak 50 μ l. Penentuan gula spesifik dari lektin ditentukan dengan uji hambat gula.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Ekstraksi Lektin dari *Sponge C. varians*

Dari sampel *C. varians* sebanyak 500 gr, setelah diekstraksi diperoleh 10.25 gr ekstrak basah, yaitu ekstrak yang masih tercampur dengan pelarut. Ekstrak ini kemudian dikeringkan dan diperoleh ekstrak sebanyak 0.47 gr.

b. Uji Aktivitas Lektin

Pengamatan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil yang diperoleh pada pengamatan makroskopis dapat dilihat pada Gambar 2.

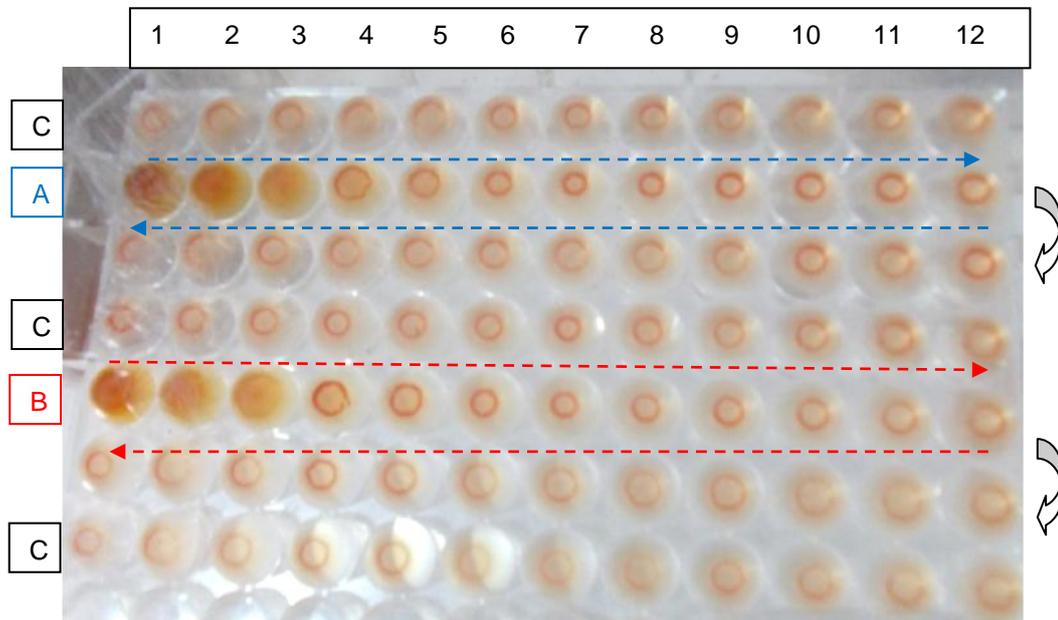
Pada hasil pengamatan nampak bahwa tidak ada perbedaan pada kedua ulangan dan aglutinasi terjadi pada cekungan 1 sampai 4 dengan konsentrasi lektin 3750 ppm. Sedangkan pada cekungan 5 sampai 24 tidak terjadi aglutinasi.

Pada pengamatan mikroskopis (Gambar 3) dengan konsentrasi 15.000 ppm nampak tidak terjadi ikatan antara lektin dan sel darah.

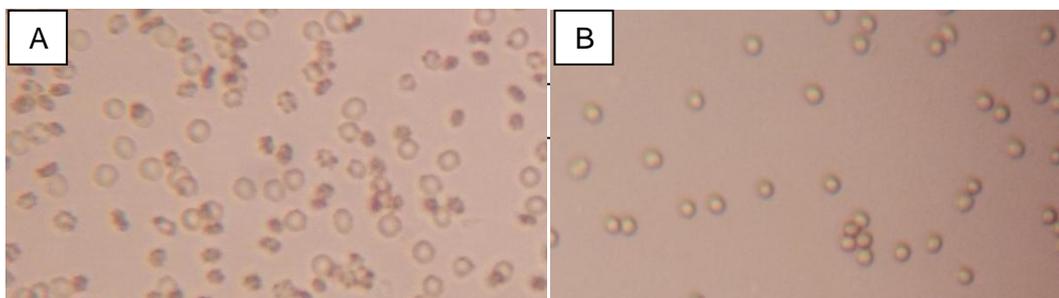
Pada pengamatan secara makroskopis nampak terjadi aglutinasi, sedangkan secara mikroskopis tidak terjadi demikian. Pada titer aglutinasi yang menunjukkan adanya aglutinasi diamati secara mikroskopis adalah seperti yang nampak pada Gambar 4. Hal ini dapat disebabkan terjadinya denaturasi lektin yang disebabkan oleh perubahan suhu dan mekanik, dalam hal ini guncangan.



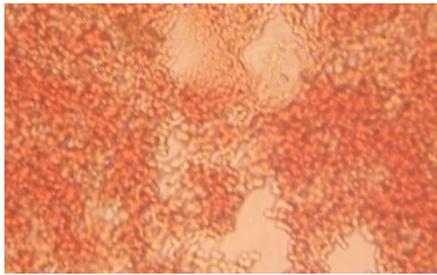
Gambar 1. Sampel *C. varians*
 A) *C. varians* di Perairan
 B) Sampel yang Akan Diekstrak



Gambar 2. Aktivitas Lektin Secara Makroskopis pada Mikrotiter Plate
 Keterangan : 1,2,3... : Pengenceran; A,B,... : Pengulangan; C : Kontrol
 (+) cekungan 1 sampai 4 terjadi aglutinasi
 (-) cekungan 5 sampai 24 tidak terjadi aglutinasi



Gambar 3. Aktivitas Lektin (Secara Mikroskopis)
 A) Kontrol
 B) Titer Aglutinasi



Gambar 4. Aglutinasi yang Terjadi pada Eritrosit Manusia Golongan Darah O

Vinesian (2010) mengungkapkan bahwa protein dapat mengalami denaturasi akibat panas dan pengaruh mekanik. Namun menurut Kumajas (1994) suhu tidak terlalu mempengaruhi aktivitas lektin. Penelitian yang dilakukan untuk menyelidiki aktivitas lektin dari 5 jenis rumput laut pada suhu 25°C dan 4°C menunjukkan hasil yang tidak jauh berbeda.

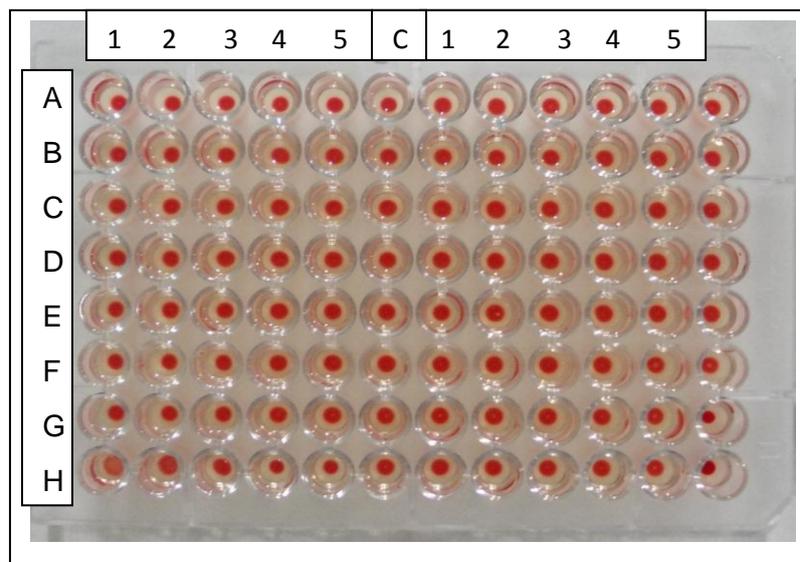
Tipe sel darah juga mempengaruhi aktivitas lektin. Penelitian yang dilakukan Kumajas yang disebutkan diatas juga dilakukan pada beberapa tipe sel darah, yaitu A, B dan O. Hasil menunjukkan bahwa golongan darah O menunjukkan aktivitas paling kecil. Hasil yang sama

ditunjukkan oleh Moura *dkk.* (2006) yang meneliti aktivitas lektin pada spons *C. varians*.

Dari 3 jenis tipe darah, ditemukan bahwa golongan darah O menunjukkan aktivitas yang rendah. Ini dapat berarti bahwa golongan darah O memiliki sedikit jumlah karbohidrat sehingga aktivitas yang ditunjukkan kecil. Karena lektin mengikat karbohidrat yang ada pada permukaan sel darah. Kumajas (1994) juga dalam penelitiannya mengemukakan bahwa semakin sedikit jumlah karbohidrat semakin kecil aktivitas lektin.

c. Penentuan Sisi Pengikat Gula

Pada penentuan gula juga dilakukan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis. Namun tidak dapat ditentukan gula spesifik lektin dari spons ini. Titer kontrol pada penentuan gula harusnya menunjukkan aktivitas aglutinasi, namun hal tersebut tidak terlihat. Pada titer terlihat bahwa ekstrak lektin tidak mengikat sel darah (Gambar 5).



Gambar 5. Penentuan Sisi Pengikat Gula
Keterangan : A, B, C,... : Gula; 1, 2, 3,...: Pengenceran; C : Kontrol

KESIMPULAN

Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa :

1. Spons *C. varians* mengandung aktivitas lektin yang ditunjukkan hingga pada titer ke 4, yaitu pada konsentrasi 3750 ppm.
2. Belum bisa ditentukan gula spesifik lektin dari spons *C. varians*.

DAFTAR PUSTAKA

D'Adamo, P. J. 2007. Lectins. The Individualist. 28 April 2013.

Dresch, R.R., C. B. Lerner, B. Mothes, V. M. T. Trindade, A. T. Henriques and M. M. Vosàri-Hampe. 2012. Biological Activities of ACL-I and Physicochemical Properties of ACL-II, Lectins Isolated From the Marine Sponge *Axinella corrugata*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B : Biochemistry and Molecular Biology. Vol. : 161, Issue : 4, Pages : 365-370. 1 Maret 2012.

Gilboa-Garber, N and N Garber. 1989. Microbial Lectin Cofunction with Lytic Activities as a Model for a General Basic Lectin Role. FEMS Microbiology Letters. Vol. : 63, Issue : 3, Pages : 211-221. 1 Maret 2012.

Hirabayashi, J. 1997. Introduction to "Lectin". GlycoWordindex. 22 Oktober 2012.

Kasper, M., G. Haroske, K. Pollack, A. Migheli, and M. Müller. 1993. Heterogenous *Dolichos Biflorus* Lectin Binding to a Subset of Rat Alveolar Macrophages in Normal and Fibrotic Lung Tissues. Acta Histochemica.

Vol. : 95, Issue : 1, Pages : 1-11. 1 Maret 2012.

Kim, S and P. Dewapriya. 2012. Chapter 8-Bioactive Compounds from Marine Sponges and Their Symbiotic Microbes : A Potential Sources of Nutraceuticals. Advances in Food and Nutrition Research. Vol. : 65, Pages : 137-151. 1 Maret 2012.

Kumajas, J. 1994. Isolasi Agglutinin Pada Beberapa Jenis Rumput Laut. Skripsi Fakultas Perikanan. UNSRAT. 25 hal.

Moura, R. M., A. F. S. Queiroz, J. M. S. L. L. Fook, A. S. F. Dias, N. K. V. Monteiro, J. K. C. Ribeiro, G. E. D. D. Moura, L. L. P. Macedo, E. A. Santos and M. P. Sales. 2006. CvL, a lectin from the marine sponge *Cliona varians*: Isolation, characterization and its effects on pathogenic bacteria and Leishmania promastigotes. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A. No. 145, Pages : 517-523. Elsevier Ltd. 5 Oktober 2012.

Ngkuno, Y. 2010. Isolasi dan Pemurnian Lektin dari Alga *Gracilaria verrucosa*. Tesis Pascasarjana. UNSRAT. Manado. 46 Hal.

Pajic, I., Z. Kljajic, N. Dogovic, D. Sladic, Z. Juranic and M. J. Gasic. 2002. A Novel Lectin from Sponge *Haliclona cratera* : Isolation, Characterization and Biological Activity. Comparative Biochemistry and Physiology part C : Toxicology and Pharmacology. Vol. : 132, Issue : 2, Pages : 213-221. 1 Maret 2012.

- Queiroz, A. F. S., R. A. Silva, R. M. Moura, J. L. Dreyfuss, E. J. Paredes-Gamero, A. C. S. Souza, I. L. S. Tersariol, E. A. Santos, H. B. Nader, G. Z. Justo and M. P. de Sales. 2009. Growth Inhibitory Activity of a Novel Lectin From *Cliona varians* Against k562 Human Erythroleukemia Cells. *Cancer Chemoter Pharmacol.* No. 63, Pages : 1023-1033. 15 April 2013.
- Rawung, L. D. 2006. Penentuan Karakteristik Sisi Pengikat Gula Lektin Dari Alga Laut *Eucheuma gelatinae* (Esp) J. Agardh. Skripsi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. UNSRAT. 28 Hal.
- Sharon, N., and H. Lis. 2004. Review : History of Lectins : From Hemagglutinins to Biological Recognition Molecules. *Glycobiology.* Vol. : 14, No. 11, Pages : 53-62. Oxford University. 29 April 2013.
- Swanson, M. D., H. C. Winter, I. J. Goldstein, and D. M. Markovitz. 2010. A Lectin Isolated from Bananas Is a Potent Inhibitor of HIV Replication. *The Journal of Biological Chemistry.* Vol. : 285, No. 12, Pages: 8646-8655. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. USA. 26 April 2013.
- Utama, I. H. 1996. Lektin, Sifat dan Aplikasinya dalam Biologi/Biomedis. *Cermin Dunia Kedokteran.* Kalbe Farma Jakarta. 12 Mei 2013.
- Vinesian, M. D. 2010. Denaturasi Protein. Makalah Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian. Universitas Sahid Jakarta.
- Watanabe, Y., N. Shiina, F. Shinozaki, H. Yokoyama, J. Kominami, S. Nakamura-Tsurata, J. Hirabayashi, K. Sugahara, H. Kamiya, H. Matsubara, T. Ogawa, dan K. Muramoto. 2008. Isolation and Characterization of L-rhamnose-binding Lectin, Which Binds to Microsporidian *Guglea plecoglossi*, from Ayu (*Plecoglossus altivelis*) Eggs. *Developmental & Comparative Immunology.* Elsevier. Vol. : 32, Issue : 5, Pages : 487-499. 1 Maret 2012.
- Wong, J. H. and T. B. Ng. 2005. Isolation and Characterization of a Glucose/Mannose/Rhamnose-Specific Lectin from the Knife Bean *Canavalia gladiata*. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* Vol. : 439, Issue : 1, Pages : 91-98. 1 Maret 2012.