

Identifikasi Gula Spesifik pada Agglutinin dari Rumput Laut

Jenny Kumajas*, Soenandar Millian Tompunu Tengker

Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Manado, Tondano, 95618, Indonesia

INFO ARTIKEL

Diterima: 10 Juni 2019
Disetujui: 17 Agustus 2019

Key word:
Agglutinin
Marine seaweed
Specific sugar

Kata kunci:
Agglutinin
Rumput laut
Gula spesifik

ABSTRACT

Agglutinin or lectin is a protein or glycoprotein that binds saccharide specifically. The substance can agglutinate cells, because of the cell's surfaces consist of saccharides. Previous research has found 3 species of marine seaweed, *Halymenia durvillaei*, *Laurencia obtusa* and *Ulva fasciata*, contain of agglutinin. Cells agglutination by agglutinin can be inhibited by specific saccharide which is its specific sugar. This research aims to determine the specific sugar of agglutinin from *Halymenia durvillaei*, *Laurencia obtusa* and *Ulva fasciata* seaweeds. The researched shows that specific sugar on agglutinin of *Laurencia obtusa* is D-Glucosamine, and *Ulva fasciata* is D(+)-Glucose.

ABSTRAK

Agglutinin atau lektin adalah protein atau glikoprotein yang mengikat gula secara spesifik. Substans tersebut dapat mengaglutinasi sel karena permukaan sel terdiri atas gula atau sakarida. Pada penelitian sebelumnya ditemukan 3 jenis rumput laut, *Halymenia durvillaei*, *Laurencia obtusa* dan *Ulva fasciata* yang mengandung agglutinin. Aglutinasi sel oleh agglutinin dapat dihambat oleh gula tertentu yang merupakan gula spesifiknya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis gula spesifik pada agglutinin dari rumput laut *Halymenia durvillaei*, *Laurencia obtusa* dan *Ulva fasciata*. Penelitian ini menunjukkan bahwa gula spesifik pada agglutinin dari ekstrak *Laurencia obtusa* adalah D-glukosamin, dan *Ulva fasciata* adalah D(+)-Glukosa.

e-mail:
kumajasj@yahoo.com
telp: 081244501244

Pendahuluan

Agglutinin atau lektin adalah protein atau glikoprotein yang mengikat gula secara spesifik. Karena struktur permukaan sel terdiri atas gula atau sakarida, maka agglutinin dapat menyebabkan aglutinasi sel. Aglutinasi sel oleh agglutinin dapat dihambat oleh gula atau sakarida tertentu yang merupakan gula spesifiknya. Hal ini menunjukkan bahwa sakarida tersebut terdapat pada permukaan sel dan merupakan penentu terjadinya aglutinasi. Substans ini dapat digunakan untuk menentukan struktur gula pada permukaan sel dan mendeteksi perubahan permukaan sel [1, 2]. Selain itu, menjadi novel dalam pengobatan tumor dan kanker, anti-inflamasi, antibiotik dan alat kontrasepsi [2-6].

Rumput laut merupakan salah satu sumber agglutinin yang potensial [1, 2, 4-18]. Kumajas menemukan 3 jenis rumput laut di

Teluk Manado yang mengandung agglutinin [7]. Ketiga jenis rumput laut tersebut adalah *Halymenia durvillaei*, *Laurencia obtusa* dan *Ulva fasciata*.

Agglutinasi sel oleh agglutinin dapat dihambat oleh jenis gula atau sakarida tertentu yang merupakan gula spesifiknya. Hal ini menunjukkan bahwa gula tersebut terdapat pada permukaan sel dan merupakan penentu terjadinya aglutinasi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis gula spesifik pada agglutinin dari rumput laut *Halymenia durvillaei*, *Laurencia obtusa* dan *Ulva fasciata*.

Bahan dan Metode

Penelitian ini dimulai dengan pengambilan sampel rumput laut *Halymenia durvillaei*, *Laurencia obtusa* dan *Ulva fasciata* di sekitar Teluk Manado. Sampel dibersihkan kemudian diekstraksi sesuai prosedur

ekstraksi protein Bollag dan Edelstein di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Manado di Tondano [19].

Rumput laut ditambahkan fosfat buffer dan dihaluskan dengan blender pada temperatur rendah. Setelah disaring, filtratnya disentrifus dan hasilnya ditambahkan garam ammonium sulfat secara bertahap. Suspensi protein diendapkan pada sentrifus dan didialisis untuk mengeluarkan garam dan substansi dengan berat molekul rendah. Fraksinasi ekstrak agglutinin dilakukan pada kolom Sephadex G-100 (2,5x29 cm) dengan eluen fosfat buffer (M/15, pH 7,0). Hasilnya dianalisa pada spektrofotometer (280 nm). Tiap puncak dikumpulkan dan ditambahkan garam ammonium sulfat, suspensinya disentrifus. Hasilnya didialisis dengan fosfat buffer dan digunakan dalam penentuan gula spesifik.

Uji hambat gula menggunakan sel darah merah (eritrosit) manusia golongan O yang diambil dari PMI. Sebelum digunakan, sel darah merah dipisahkan dari sel darah putih (leukosit), plasma darah dan cairan antikoagulan.

Suatu seri pengenceran 2x dari 50 µL larutan gula (0,15 M) dibuat pada mikrotiter plate (cekungan 1-5). Cekungan ke-6 tidak ditambahkan gula sehingga berlaku sebagai kontrol. Sebanyak 50 µL ekstrak rumput laut ditambahkan pada tiap cekungan, diaduk perlahan kemudian diinkubasi pada temperatur ruang. Setelah 1 jam, 100 µL suspensi sel darah merah manusia golongan O ditambahkan pada tiap cekungan, ditutup dan diinkubasi selama 2 jam pada temperatur ruang. Konsentrasi penghambatan ditentukan pada konsentrasi gula terendah yang tidak menyebabkan aglutinasi.

Hasil dan Pembahasan

Hasil uji hambat aglutinasi oleh 15 jenis gula dan 2 polisakarida terhadap agglutinin dari *Halymenia durvillaei*, *Laurencia obtusa* dan *Ulva fasciata* ditunjukkan oleh Tabel 1.

Tabel 1 memperlihatkan bahwa aktivitas agglutinin dari ekstrak rumput laut jenis *Laurencia obtusa* dapat dihambat oleh D-

glukosamin pada konsentrasi 37,5 mM, dan *Ulva fasciata* oleh D(+)-Glukosa pada konsentrasi 150 mM. Hal ini menunjukkan bahwa sisi pengikat gula pada agglutinin ekstrak *Laurencia obtusa* spesifik terhadap gula D-glukosamin, sedangkan *Ulva fasciata* spesifik terhadap D-Glukosa. Kedua jenis gula tersebut merupakan monosakarida. Hori *et al* menemukan aktivitas agglutinin 4 jenis alga laut yang mampu dihambat oleh monosakarida [17]. Karena itu mereka berpendapat bahwa umumnya aktivitas agglutinin alga laut dapat dihambat oleh monosakarida. Ini berarti sisi pengikat gula agglutinin dari ekstrak alga laut lebih spesifik terhadap monosakarida.

Tabel 1. Aktivitas penghambatan agglutinin dari *Halymenia durvillaei*, *Laurencia obtusa* dan *Ulva fasciata*

No	Jenis Sakarida	Aktivitas Penghambatan		
		A	B	C
1	D(-)-Arabinosa	-	-	-
2	D(+)-Xilosa	-	-	-
3	D(+)-Glukosa	-	-	+
4	D(+)-Galaktosa	-	-	-
5	Manitol	-	-	-
6	L-Ramnosa	-	-	-
7	Inositol	-	-	-
8	D(+)-Manosa	-	-	-
9	D(+)-Glukosamin	-	++	-
10	Maltosa	-	-	-
11	Laktosa	-	-	-
12	Sakarosa	-	-	-
13	Rafinosa			
14	Sodium Glukuronat			
15	N-Asetil-Glukosamin			
16	Gum Arabic			
17	Potato starch			

Keterangan:

A: *Halymenia durvillaei*

B: *Laurencia obtuse*

C: *Ulva fasciata*

-: Tidak ada aktivitas penghambatan

+: ada aktivitas penghambatan (konsentrasi gula 150 mM)

++: ada aktivitas penghambatan (konsentrasi gula 37,5 mM)

Konsentrasi glukosa yang dibutuhkan untuk menghambat aktivitas agglutinin *Ulva fasciata* lebih besar dari glukosamin untuk *Laurencia obtusa*. Hal ini dapat disebabkan oleh sisi pengikat gula pada agglutinin dari *Ulva fasciata* lebih banyak, sehingga jumlah gula bebas yang dibutuhkan untuk menghambat aglutinasi sel juga lebih besar.

Aktivitas agglutinin dari *Halymenia durvillaei* tidak dapat dihambat oleh 15 sakarida dan 2 polisakarida yang diuji. Hal ini dapat disebabkan karena ekstrak agglutinin dari *Halymenia durvillaei* mengandung beberapa jenis agglutinin dengan sisi pengikat gula spesifik yang berbeda. Penyebab lainnya adalah mungkin sisi pengikat gulanya yang sangat besar. Jika demikian, maka ekstrak agglutinin *Halymenia durvillaei* perlu dimurnikan lagi atau konsentrasi gula uji harus dinaikkan.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa gula spesifik dari agglutinin rumput laut jenis *Laurencia obtusa* adalah D-Glukosamin, sedangkan *Ulva fasciata* adalah D(+)-Glukosa.

Daftar Pustaka

- Ambrosio, A. L.; Sanz, L.; Sánchez, E. I.; Wolfenstein-Todel, C.; Calvete, J. J., Isolation of two novel mannan-and L-fucose-binding lectins from the green alga *Enteromorpha prolifera*: biochemical characterization of EPL-2. *Archives of biochemistry and biophysics* **2003**, 415, (2), 245-250.
- Pinto, V.; Debray, H.; Dus, D.; Teixeira, E. H.; De Oliveira, T. M.; Carneiro, V. A.; Teixeira, A. H.; Gerardo Filho, C.; Nagano, C. S.; Nascimento, K. S., Lectins from the red marine algal species *Bryothamnion seaforthii* and *Bryothamnion triquetrum* as tools to differentiate human colon carcinoma cells. *Advances in pharmacological sciences* **2009**, 2009.
- Blonski, K.; Milde-Langosch, K.; Bamberger, A.-M.; Osterholz, T.; Utler, C.; Berger, J.; Loening, T.; Schumacher, U., Ulex europeus agglutinin-I binding as a potential prognostic marker in ovarian cancer. *Anticancer research* **2007**, 27, (4C), 2785-2790.
- Silva, L. M. C. M.; Lima, V.; Holanda, M. L.; Pinheiro, P. G.; Rodrigues, J. A. G.; Lima, M. E. P.; Benevides, N. M. B., Antinociceptive and anti-inflammatory activities of lectin from marine red alga *Pterocladia capillacea*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **2010**, 33, (5), 830-835.
- Teixeira, E.; Napimoga, M.; Carneiro, V.; De Oliveira, T.; Nascimento, K.; Nagano, C.; Souza, J.; Havt, A.; Pinto, V.; Gonçalves, R., In vitro inhibition of oral streptococci binding to the acquired pellicle by algal lectins. *Journal of Applied Microbiology* **2007**, 103, (4), 1001-1006.
- Snyder, M. G.; Zaneveld, L. J., Treatment of cervical mucus with lectins: effect on sperm migration. *Fertility and sterility* **1985**, 44, (5), 633-637.
- Kumajas, J., Aktivitas agglutinin dari beberapa jenis rumput laut di Teluk Manado. *Fullerene Journal of Chemistry* **2017**, 2, (2), 72-76.
- Suttisrisung, S.; Senapin, S.; Withyachumnarnkul, B.; Wongprasert, K., Identification and characterization of a novel legume-like lectin cDNA sequence from the red marine algae *Gracilaria fisheri*. *Journal of biosciences* **2011**, 36, (5), 833-843.
- Medina-Ramirez, G.; Gibbs, R. V.; Calvete, J. J.; Carpenter, B. G., Micro-heterogeneity and molecular assembly of the haemagglutinins from the red algae *Bryothamnion seaforthii* and *B. triquetrum* from the Caribbean Sea. *European Journal of Phycology* **2007**, 42, (1), 105-112.
- Nascimento, K.; Nagano, C.; Nunes, E.; Rodrigues, R.; Goersch, G.; Cavada, B.; Calvete, J.; Saker-Sampaio, S.; Farias, W. R.; Sampaio, A., Isolation and characterization of a new agglutinin from the red marine alga *Hypnea cervicornis* J. Agardh. *Biochemistry and cell biology* **2006**, 84, (1), 49-54.

11. Nagano, C. S.; Debray, H.; Nascimento, K. S.; Pinto, V. P.; Cavada, B. S.; Saker-Sampaio, S.; Farias, W. R.; Sampaio, A. H.; Calvete, J. J., HCA and HML isolated from the red marine algae *Hypnea cervicornis* and *Hypnea musciformis* define a novel lectin family. *Protein Science* **2005**, *14*, (8), 2167-2176.
12. Nagano, C. S.; Gallego del Sol, F.; Cavada, B. S.; Nascimento, K.; Nunes, E. V.; Sampaio, A. H.; Calvete, J. J., Crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of HML, a lectin from the red marine alga *Hypnea musciformis*. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications* **2005**, *61*, (11), 997-999.
13. Molchanova, V.; Chernikov, O.; Chikalovets, I.; Lukyanov, P., Purification and partial characterization of the lectin from the marine red alga *Tichocarpus crinitus* (Gmelin) Rupr. (Rhodophyta). *Botanica marina* **2010**, *53*, (1), 69-78.
14. Ichihara, K.; Arai, S.; Shimada, S., cDNA cloning of a lectin-like gene preferentially expressed in freshwater from the macroalga *Ulva limnetica* (Ulvales, Chlorophyta). *Phycological research* **2009**, *57*, (2), 104-110.
15. Ly, B. M.; Trang, V. T. D.; Ngoc, N. T. D.; Trinh, P. T. H., A new screening for hemagglutinins from Vietnamese marine macroalgae. *Journal of applied phycology* **2012**, *24*, (2), 227-235.
16. Hori, K.; Nang, H. Q.; Kha, T., Seasonal changes in growth rate, carrageenan yield and lectin content in the red alga *Kappaphycus alvarezii* cultivated in Camranh Bay, Vietnam. *Journal of Applied Phycology* **2009**, *21*, (3), 265-272.
17. Hori, K.; Miyazawa, K.; Ito, K., Preliminary characterization of agglutinins from seven marine algal species. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries (Japan)* **1986**.
18. Calvete, J.; Costa, F.; Saker-Sampaio, S.; Murciano, M.; Nagano, C.; Cavada, B.; Grangeiro, T.; Ramos, M.; Bloch Jr, C.; Silveira, S., The amino acid sequence of the agglutinin isolated from the red marine alga *Bryothamnion triquetrum* defines a novel lectin structure. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* **2000**, *57*, (2), 343-350.
19. Bollag, D. M.; Edelman, S., Protein methods. Wildy-Liss. Inc., New York, NY **1991**.