

Identifikasi Lektin Umbi dari *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume

(Identification of Tuber Lectin from *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume)

MUHAMMAD ALFARABI^{1,2}, SISWA SETYAHADI³, MARIA BINTANG⁴,
MIFTAHUDIN⁵, CHAIDIR^{6,7*}

¹Program Studi S3 Biologi Tumbuhan, Institut Pertanian Bogor.

²Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Indonesia, Cawang, Jakarta, Indonesia.

³Pusat Teknologi Industri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Jakarta, Indonesia.

⁴Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia.

⁵Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat, Indonesia.

⁶Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Jakarta, Indonesia.

⁷Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, Indonesia, 12640.

Diterima 19 Februari 2016, Disetujui 18 Maret 2016

Abstrak: *Typhonium flagelliforme* atau yang dikenal dengan keladi tikus merupakan tumbuhan perdu yang banyak tumbuh di Indonesia. Tumbuhan ini mengandung lektin pada umbinya yang memiliki aktivitas antikanker. Namun hingga saat ini, tidak ada informasi ilmiah yang mengkaji mengenai lektin yang terdapat di umbi *T. flagelliforme* yang tumbuh diberbagai wilayah Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi lektin umbi dari tujuh aksesori *T. flagelliforme* di Indonesia. Umbi yang digunakan dalam penelitian berumur 6 bulan tanam. Ekstrak protein umbi yang didapat dianalisis kandungan protein, toksisitas, dan aktivitas hemaglutinasinya. Aksesori yang memiliki aktivitas hemaglutinasi tertinggi, lektinnya dipurifikasi menggunakan kolom DEAE-Sepharose dan CM *monolithic*. Hasil menunjukkan bahwa protein umbi dari setiap aksesori memiliki toksisitas dan aktivitas hemaglutinasi. Aksesori Solok memiliki total protein dan aktivitas hemaglutinasi tertinggi dibanding aksesori lainnya. Aksesori ini memiliki kandungan lektin dengan bobot molekul 12,67 kDa. Lektin ini stabil pada temperatur 20 hingga 40 °C dan pada pH 5,0 hingga 7,2. Informasi karakteristik ini dapat membantu dalam pengembangan obat antikanker berbasis lektin.

Kata kunci: lektin, *Typhonium flagelliforme*, toksisitas, fraksinasi protein, identifikasi protein.

Abstract: *Typhonium flagelliforme* (keladi tikus) is a herbaceous plant that is widely distributed in Indonesia. The plant produces tuber containing lectin protein that is considered to have anticancer activity. However, there is no sufficient information about tuber lectin of *T. flagelliforme* originated from Indonesia. The objective of the research was to identify and characterize tuber lectin from seven accession of *T. flagelliforme* from Indonesia. Tubers were harvested from 6 month-old plants of *T. flagelliforme*. Protein content, toxicity, and hemagglutination activities of the tuber crude protein extracts were determined. The accession with highest hemagglutination activity of tuber protein was used for tuber lectin purification using DEAE-Sepharose and CM *monolithic* column. The results showed that tuber protein from all accessions have hemagglutination and toxicity activities. Solok accession has

* Penulis korespondensi: Hp. 081511562266
e-mail: chaidir@bppt.go.id

the highest total soluble tuber protein and hemagglutination activity compared than those of the other accessions. The accession contained 12,67 kDa lectin protein. The Solok tuber lectin was thermally stable at 20 to 40 °C, and relatively stable at pH 5.0 to 7.2. Those protein characteristics of tuber lectin will be useful to develop lectin based anticancer medicine.

Keywords: lectin, *Typhonium flagelliforme*, toxicity, protein fractionation, protein identification.

PENDAHULUAN

METABOLIT tumbuhan banyak yang berguna bagi bidang farmasi, sebagian besar merupakan metabolit sekunder. Metabolit tersebut dapat berupa protein aktif seperti lektin (fitohemagglutinin). Protein ini merupakan protein non enzimatis yang memiliki aktivitas biologi dan terdapat di sebagian besar tumbuhan. Proses sintesis protein ini sama seperti sintesis protein lainnya pada tumbuhan dan dapat dipengaruhi oleh kondisi nutrisi tanah. Fungsi dari lektin pada tumbuhan adalah sebagai protein simpanan, pertahanan bagi tumbuhan dan berperan dalam interaksi tumbuhan dengan lingkungan⁽¹⁻²⁾.

Lektin dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antikanker. Proses apoptosis sel kanker dapat diinduksi oleh lektin melalui mekanisme lisis mitokondria dan aktivasi reseptor kematian sel. Proses apoptosis melalui lisis mitokondria dari sel melanoma manusia A375 dapat diinduksi oleh lektin dari tanaman *jack bean* dengan lektin dari jenis concavalin A⁽³⁾. Oleh karenanya, proliferasi sel kanker dapat dihambat oleh lektin dari tumbuhan⁽⁴⁾. Selain itu, lektin memiliki aktivitas sebagai antifungi, seperti lektin dari *Dendrobium findleyanum* dapat menghambat pertumbuhan misel *Alternaria alternata*⁽⁵⁾. Beberapa fungsi lainnya dari lektin tumbuhan pada bidang biokimia dan biologi adalah sebagai alat bantu pada analisis identifikasi sel, kajian glikoprotein dan stimulasi mitogenik⁽⁶⁾.

Secara struktur, lektin memiliki sedikitnya satu domain yang dapat berikatan dan berinteraksi dengan polisakarida atau glikoprotein pada permukaan sel⁽⁷⁾. Tujuh famili dari lektin tumbuhan telah diketahui hingga sekarang, salah satunya adalah famili *monocot mannose binding lectin*⁽⁸⁾. Salah satu tanaman yang memproduksi lektin dari famili tersebut adalah *Typhonium divaricatum*, yang disintesis pada bagian umbi. Lektin tersebut stabil pada pH 5,6-8,6 dan temperatur 20-60 °C. Kandungan lektin tersebut adalah 12% dari total protein umbi dan memiliki aktivitas antiproliferasi sel kanker terhadap sel kanker Pro-01, Bre-04 dan Lu-04⁽⁹⁾.

Secara tradisional, ekstrak dari tumbuhan *T. flagelliforme* telah digunakan untuk pengobatan kanker di Indonesia. Ekstrak tersebut diekstrak dari keseluruhan bagian tumbuhan atau dari bagian umbi.

Ekstrak umbi diyakini memiliki kemampuan untuk mengurangi efek samping dari pengobatan kanker melalui kemoterapi. Telah diketahui bahwa ekstrak protein umbi *T. flagelliforme* mengandung lektin dan memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker MCF-7. Kadar lektin pada umbi tersebut meningkat selama masa tanam pada periode masa tanam selama 6 bulan⁽¹⁰⁾. Namun hingga saat ini tidak banyak data ilmiah yang melaporkan mengenai identifikasi dan karakteristik senyawa aktif yang berperan sebagai antikanker terutama mengenai lektin umbi dari *T. flagelliforme*. Oleh karenanya identifikasi lektin umbi dari tumbuhan tersebut menarik untuk dikaji. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah mengidentifikasi lektin umbi dari *T. flagelliforme* yang tumbuh di wilayah Indonesia. Hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat dalam pengembangan obat antikanker berbasis lektin.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Tujuh aksesori *T. flagelliforme* dari beberapa wilayah Indonesia (Bogor, Singaraja, Merapi Farm, Indmira, Ogan Ilir, Matesih, and Solok) telah dikonfirmasi dan ditanam dengan kondisi yang sama pada rumah kaca di Balai Bioteknologi, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Indonesia. Umbi yang digunakan pada penelitian merupakan umbi yang dipanen setelah umur 6 bulan setelah tanam.

METODE. Ekstraksi Protein Umbi. Sebanyak 25 g umbi dari setiap aksesori digunakan untuk mendapatkan ekstrak protein umbi dengan pelarut 0,15 M NaCl (perbandingan bobot umbi dengan volume pelarut adalah 1:2 b/v). Setelah direndam semalam pada 4 °C, suspensi tersebut disentrifugasi pada 5.000 rpm (Hettich Mikro 22R, Germany) selama 30 menit dengan temperatur 4 °C. Supernatan yang didapat merupakan ekstrak kasar protein umbi⁽⁹⁾.

Pengukuran Total Protein. Protein total umbi dari setiap ekstrak yang didapat diukur menggunakan metode Bradford⁽¹¹⁾. *Bovine serum albumin* (BSA) digunakan sebagai larutan protein baku. Konsentrasi protein diukur pada panjang gelombang 595 nm.

Pengukuran Aktivitas Hemagglutinasinya. Aktivitas hemagglutinasinya dari setiap ekstrak kasar protein *T. flagelliforme* diuji menggunakan 96-well micro titer

Uplate. Metode ini mengikuti Oda dan Minami 1986 dengan modifikasi⁽¹²⁾. Lima puluh mikroliter dari 2% eritrosit domba di dalam *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,2 dicampur dengan ekstrak kasar protein dengan volume berseri (12,5, 25, 50, 75, 100, 125 dan 150 μ l). Hasil reaksi dibaca secara manual setelah 2 jam inkubasi pada temperatur ruang. Hasil positif terjadi aglutinasi ditunjukkan dengan warna merah seragam pada sumur dan hasil negatif ditunjukkan adanya titik merah di tengah sumur. Larutan protein dengan aktivitas hemaglutinasi tertinggi adalah larutan yang memiliki hasil perbandingan volume eritrosit dengan volume ekstrak protein terbesar.

Pengukuran Toksisitas. Nilai toksisitas dari setiap ekstrak kasar protein diukur dengan menggunakan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT)⁽¹³⁾. Media pertumbuhan telur udang menggunakan air laut yang dibuat dengan 38 g garam di dalam air suling. Tempat inkubasi dirancang memiliki bagian gelap dan terang terkena sinar lampu. Telur udang diinkubasi selama 24 jam dengan suhu ruang pada bagian gelap dan larva *Artemia sp.* yang telah menetas pada bagian terang dipindahkan ke media pertumbuhan yang baru, kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam dengan suhu ruang dibawah sinar lampu. Sepuluh larva udang dipindahkan ke dalam tabung tes yang mengandung ekstrak protein kasar dengan konsentrasi bertingkat (5, 7.5, 10, 15, 20 μ g/mL) dan diinkubasi kembali dibawah sinar lampu selama 24 jam dengan suhu ruang. Persentase kematian dari larva udang tersebut dihitung untuk menentukan nilai LC₅₀.

Fraksinasi Protein. Ekstrak kasar protein disaring dengan 0,2 μ m *micro filter* dan sebanyak 2 mL filtrat diisikan ke dalam kolom HiTrap DEAE-Sepharose *Fast Flow* (GE Healthcare Life Science, USA). Kolom tersebut telah diekuilibrasi dengan 20 mM Tris-HCl pH 8,0 sebelumnya. Larutan protein dielusi dengan 30 mL larutan gradien 0 sampai 1 M NaCl dan laju alir yang digunakan adalah 1 mL/menit. Fraksi protein aktif yang dihasilkan dilakukan perubahan larutan dapar menjadi 20 mM dapar asetat pH 4,3 dengan menggunakan kolom HiTrap *Desalting* (GE Healthcare Life Science, USA), kemudian diisikan ke dalam kolom CM *monolithic* (BIA Separations, Austria) yang telah diekuilibrasi dengan 20 mM buffer asetat pH 4,3. Larutan protein tersebut dielusi dengan 30 mL larutan gradien 0 sampai 1 M NaCl dengan laju alir 2 mL/menit. Fraksi aktif yang dihasilkan dilakukan perubahan larutan dapar menjadi PBS pH 7,2 dan selanjutnya digunakan untuk uji karakteristik protein⁽⁹⁾.

SDS-PAGE. Elektroforesis untuk pemisahan protein menggunakan elektroforesis gel poliakrilamida sodium dodesil sulfat. Gel yang digunakan terdiri dari

4% *stacking* and 12% *separating gels*. Sebanyak 17 μ L sampel larutan protein di dalam *loading dye* (1:1) diisikan ke dalam sumur. Proses elektroforesis menggunakan mini gel elektroforesis unit dengan voltase konstan pada 165 V selama 45 menit. Pita protein yang terbentuk divisualisasi dengan *coomassie brilliant blue* (Biorad, USA) dan marka bobot molekul menggunakan *unstained protein ladder* (Fermentas, USA)⁽¹⁴⁾.

Karakterisasi Lektin Berdasarkan Suhu dan pH. Kestabilan lektin pada berbagai suhu dilakukan dengan menginkubasi lektin di dalam PBS pH 7,2 pada 20, 30, 40, 50, 60, 70, and 80 °C selama 30 menit. Setelah itu, larutan didinginkan selama 5 menit dan dilakukan uji hemaglutinasi untuk melihat aktivitas aglutinasi dari lektin tersebut. Selanjutnya untuk mengukur kestabilan lektin pada berbagai nilai pH, lektin dilarutkan di dalam 100 mM larutan dapar dengan pH tertentu (dapar asetat pH 5 dan 6, PBS pH 7,2, dapar Tris-HCl pH 8 dan 9). Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit dan selanjutnya diuji uji hemaglutinasi untuk melihat aktivitas aglutinasi dari lektin tersebut⁽⁹⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein Umbi dan Lektin dari *T. flagelliforme*. Ekstrak protein kasar umbi dari setiap aksesori *T. flagelliforme* digunakan untuk dianalisis kadar total protein, aktivitas hemaglutinasi, dan efek toksiknya (Tabel 1). Setiap ekstrak menunjukkan aktivitas hemaglutinasi sehingga ekstrak tersebut mengandung lektin. Hasil ini didukung dari penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa umbi dari *T. divaricatum* mengandung lektin⁽⁹⁾.

Ekstrak dari aksesori Solok memiliki kadar total protein dan aktivitas hemaglutinasi tertinggi dibandingkan dengan aksesori lainnya. Kadar total protein aksesori Solok sebesar 48,80 mg. Aksesori yang memiliki kadar total protein terendah adalah aksesori Matesih sebesar 36,10 mg atau 0,7 kalinya dari kadar total protein aksesori Solok. Aksesori Singaraja memiliki aktivitas hemaglutinasi terendah dibanding aksesori lainnya, dengan aktivitas sebesar 0,1 kalinya dari aktivitas hemaglutinasi aksesori Solok. Kami berasumsi dengan tingginya aktivitas hemaglutinasi dari suatu ekstrak protein umbi menunjukkan bahwa ekstrak protein umbi mengandung dan memiliki kadar lektin yang tinggi pada umbi dari *T. flagelliforme*.

Secara umum, lektin dapat mengaglutinasi sel eritrosit sehingga uji hemaglutinasi dilakukan untuk mendeteksi keberadaan lektin pada ekstrak kasar protein umbi. Interaksi lektin dengan darah dapat terjadi dengan spesifik tipe darah. Misalnya, lektin dari

Tabel 1. Protein total, aktivitas hemaglutinasi, dan nilai toksisitas ekstrak kasar protein umbi dari 25 g umbi *T. flagelliforme* berumur 6 bulan setelah tanam.

Akresi	Protein total (mg)	Aktivitas hemaglutinasi	Toksitas (LC ₅₀ dalam µg/mL)
Bogor	46,63 ± 0,16	0,33 ± 0,26	10,65 ± 0,71
Singaraja	40,38 ± 0,46	0,11 ± 0,19	12,87 ± 0,58
Merapi Farm	41,45 ± 0,15	0,33 ± 0,33	14,73 ± 0,46
Indmira	41,15 ± 0,00	0,43 ± 0,06	14,68 ± 0,17
Ogan Ilir	44,08 ± 0,26	0,52 ± 0,13	16,15 ± 0,25
Matesih	36,10 ± 0,00	0,44 ± 0,38	15,07 ± 0,66
Solok	48,80 ± 0,00	1,00 ± 0,00	12,07 ± 0,98

Data: rerata ± SD, n=3.

lima bean, dapat mengaglutinasi darah dari tipe A dan lektin dari *Lotus tetragonolobus* dapat mengaglutinasi tipe darah O. Spesifisitas ini terjadi karena terdapat interaksi spesifik antara lektin dengan molekul karbohidrat dipermukaan sel yang disebabkan lektin secara struktur memiliki domain yang dapat berikatan spesifik dengan suatu molekul karbohidrat⁽⁶⁾.

Selain menganalisis aglutinasi dari ekstrak, efek toksik dari ekstrak diuji dengan menggunakan metode BSLT. Metode ini merupakan metode cepat untuk mendeteksi keberadaan molekul aktif pada suatu ekstrak tumbuhan dan untuk mengukur toksisitas dari suatu ekstrak. Hasil uji dari ekstrak setiap aksesori menunjukkan bahwa nilai LC₅₀ dibawah 100 µg/mL sehingga hal tersebut membuktikan bahwa ekstrak kasar protein umbi dari setiap aksesori memiliki efek toksik terhadap larva udang. Suatu produk bahan alam yang memiliki nilai LC₅₀ dibawah 1000 µg/mL dapat dikatakan memiliki efek toksik sedangkan yang memiliki nilai di atas 1.000 µg/mL dapat dikatakan tidak memiliki efek toksik⁽¹³⁾. Ekstrak aksesori Bogor memiliki efek toksik tertinggi dibanding aksesori lainnya, yaitu dengan nilai LC₅₀ sebesar 10,65 µg/mL, sedangkan aksesori Ogan Ilir memiliki efek toksik terendah, yaitu sebesar 16,15 µg/mL.

Setiap ekstrak dari 7 aksesori yang digunakan pada penelitian ini menunjukkan perbedaan pada kadar total protein umbi, aktivitas hemaglutinasi dan efek toksik sehingga hal tersebut menunjukkan bahwa perbedaan aksesori memiliki peranan terhadap variasi karakteristik protein atau metabolit lainnya. Genus *Typhonium* terdiri dari 40 spesies yang tersebar luas pada wilayah tropis-subtropis Asia dan Australia⁽¹⁵⁾. Di India, *T. trilobatum* (L.) Schott merupakan tumbuhan yang banyak ditemukan tumbuh liar. Selain itu, dapat ditemukan spesies lainnya seperti *T. divaricatum* (L.) Decne, *T. flagelliforme* (Lodd.) Bl., *T. bulbiferum* Dalz., *T. venosum* (Dryand ex Ait.) Hett. & Boyce, dan *T. roxburghii* Schott⁽¹⁶⁾. *T. trilobatum*, *T. roxburghii* dan *T. flagelliforme* merupakan tumbuhan yang telah

diketahui memiliki manfaat pada bidang medis. Secara kekerabatan, *T. flagelliforme* memiliki perbedaan dengan *T. trilobatum* dan *T. roxburghii*. *T. trilobatum* memiliki kesamaan sebesar 63% dengan *T. roxburghii*, sedangkan *T. flagelliforme* memiliki kesamaan sebesar 43% dengan *T. trilobatum* dan *T. roxburghii*⁽¹⁷⁾.

Fraksinasi Protein. Ekstrak kasar protein umbi dari aksesori Solok memiliki aktivitas hemaglutinasi tertinggi dibanding dengan aksesori lainnya sehingga ekstrak tersebut dilakukan fraksinasi untuk mendapatkan lektin umbi terpurifikasi. Tahapan ini menggunakan kolom penukar ion, yaitu DEAE-Sepharose yang merupakan kolom penukar anion dan kolom penukar kation CM-monolithic. Uji hemaglutinasi digunakan untuk mendeteksi keberadaan lektin pada fraksi yang dihasilkan. Hasil fraksinasi dengan kolom penukar anion, didapatkan fraksi aktif A2 dan setelah dilakukan elektroforesis didapatkan 2 pita protein dengan bobot molekul 11,84 and 19,10 kDa dari fraksi tersebut (Gambar 1A dan 1B). Selanjutnya fraksi A2 dilakukan fraksinasi lanjut dengan kolom penukar kation dan didapatkan fraksi aktif B2. Setelah dilakukan elektroforesis, fraksi tersebut memiliki pita tunggal dengan bobot molekul 12,67 kDa (Gambar 1C dan 1D). Kadar protein total dari fraksi A2 dan B2 adalah 3,71 dan 0,17 mg.

Tabel 2. Kadar protein total pada fraksinasi menggunakan kolom DEAE-Sepharose dan CM monolithic.

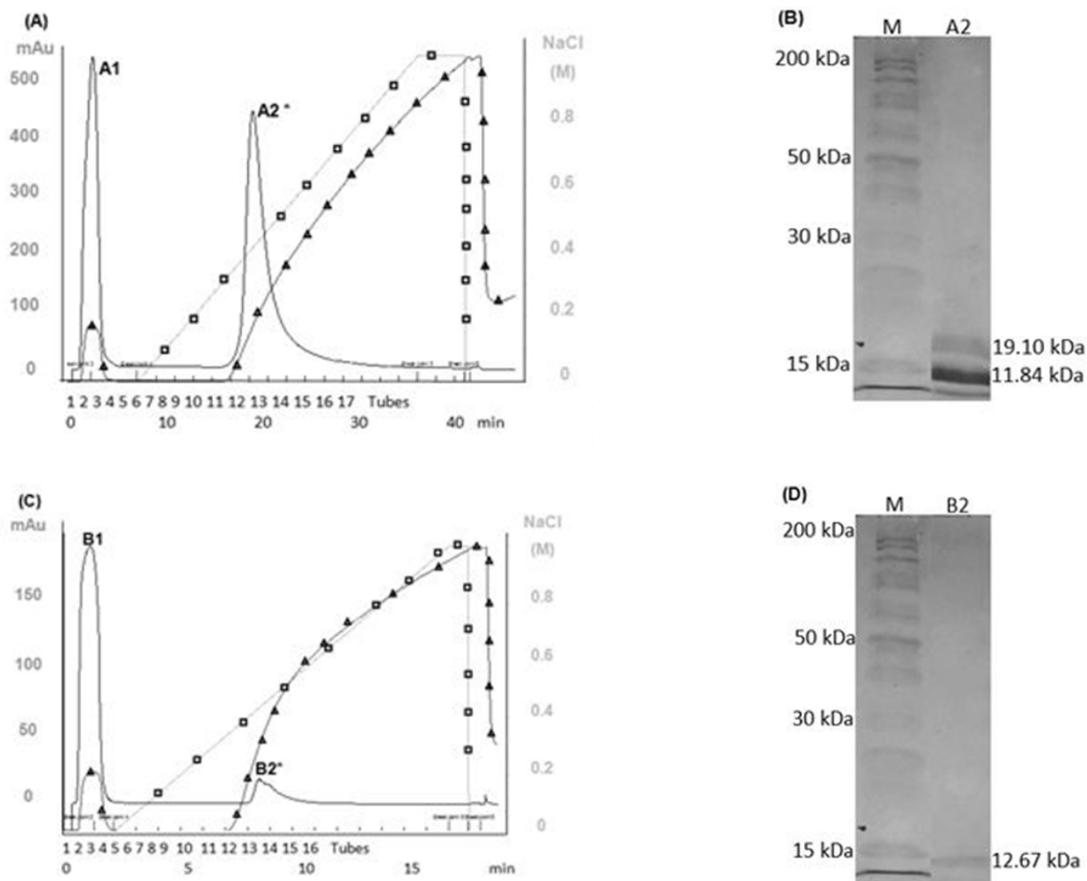
Kolom	Protein total (mg)	Persentase protein total
DEAE-Sepharose	3,71 ± 0,02	7,70 ^a
CM monolithic	0,17 ± 0,05	4,66 ^b

Keterangan:

^aPersentase menunjukkan total protein yang dihasilkan oleh kolom DEAE-Sepharose dibandingkan dengan total protein ekstrak kasar aksesori Solok

^bPersentase menunjukkan total protein yang dihasilkan oleh kolom CM monolithic dibandingkan dengan total protein yang dihasilkan kolom DEAE-Sepharose

Data: rerata ± SD, n=3



Gambar 1. Kromatogram dari fraksinasi protein dan visualisasi profil fraksi protein dengan SDS-PAGE. (A) Kromatogram protein dari kolom DEAE-Sepharose. (B) Profil fraksi protein dari kolom DEAE-Sepharose. (C) Kromatogram protein dari kolom CM-monolithic. (D) Profil fraksi protein dari kolom CM-monolithic. *) Fraksi protein aktif, — protein, □ konsentrasi garam, ▲ konduktivitas garam.

Tabel 3. Kadar protein total dan aktivitas hemaglutinasi pada proses fraksinasi.

Proses	Protein total (mg)	Aktivitas hemaglutinasi	Aktivitas hemaglutinasi spesifik ^a	Recovery (%) ^b	Kelipatan purifikasi ^c
Ekstrak kasar	48,80	1,00	0,02	100,00	1,00
DEAE-Sepharose	3,71	0,66	0,17	66,00	8,67
CM monolithic	0,17	0,44	0,39	44,30	19,05

Keterangan:

^aPerbandingan aktivitas hemaglutinasi dengan protein total

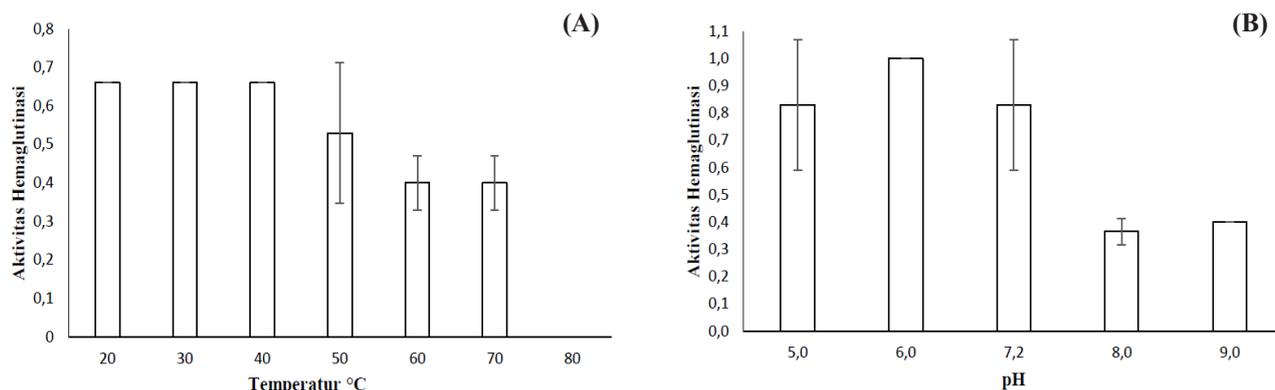
^bPerbandingan aktivitas hemaglutinasi fraksi dengan aktivitas hemaglutinasi ekstrak kasar

^cPerbandingan aktivitas hemaglutinasi spesifik fraksi dengan aktivitas hemaglutinasi spesifik ekstrak kasar

Kadar total protein fraksi A2 adalah sebesar 7,7% dari kadar total protein ekstrak kasar akses Solok, sedangkan fraksi B2 sebesar 4,66% dari kadar total protein fraksi B2. Oleh karenanya, lektin yang terkandung pada umbi akses Solok adalah sebesar 0,35% dari kadar total protein ekstrak kasar (Tabel 2). Setiap tahapan dalam purifikasi protein akan menurunkan kadar total protein dan meningkatkan aktivitas spesifik serta kelipatan kemurnian (Tabel 3).

Bobot molekul lektin umbi akses Solok adalah 12,67 kDa. Hal ini sedikit berbeda dengan bobot molekul lektin dari *T. divaricatum*, yaitu sebesar 12 kDa. Selain itu, lektin yang terkandung dari 100 g

umbi segar *T. divaricatum* sebesar 12% dari kadar total protein umbi⁽⁹⁾. Perbedaan hasil ini disebabkan adanya perbedaan spesies yang digunakan, habitat, dan kuantitas umbi. Selain kekerabatan genetik, perbedaan kondisi pertumbuhan dapat menyebabkan perbedaan kandungan metabolit, khususnya pada kandungan nitrogen pada nutrisi tanah akan mempengaruhi sintesis asam amino dan protein pada tumbuhan⁽¹⁸⁾. Selain itu, perbedaan habitat dan kondisi pertumbuhan dapat menyebabkan perbedaan pada pertumbuhan vegetatif dan generatif, waktu pembungaan, dan arsitektur pedix pada famili Araceae⁽¹⁹⁾.



Gambar 2. Aktivitas hemaglutinasi lektin umbi akses Solok pada selang temperatur dan pH. (A) Aktivitas hemaglutinasi setelah diinkubasi pada temperatur 20 °C sampai 80 °C. (B) Aktivitas hemaglutinasi setelah diinkubasi pada pH 5,0 sampai 9,0. Data: rerata ± SD, n=3.

Berdasarkan klasifikasi famili protein lektin, tumbuhan famili Araceae mengandung lektin dari famili *monocot mannose binding lectin*. Lektin jenis ini dapat juga ditemukan pada tumbuhan monokotil dan berinteraksi spesifik dengan manosa, yaitu gula sederhana dan merupakan epimer dari glukosa pada atom C-2⁽²⁰⁾. Famili tumbuhan lain yang memproduksi lektin jenis ini adalah Alliaceae, Amaryllidaceae, Araceae, Bromeliaceae, Liliaceae, dan Orchidaceae. Lektin jenis ini dapat disimpan dalam jaringan pada daun, bunga, umbi, rizoma, dan akar. Famili lektin selain jenis ini yang dapat ditemukan pada tumbuhan lainnya adalah famili lektin legum dari leguminosae, chitin binding lectin, tipe 2 RIP (*Ribosome Inactivating Protein*), jacalin dari tumbuhan nangka dan yang terkait, amaranthin dari *Amaranthus* dan Cucurbitaceae *phloem lectin*⁽⁸⁾.

Secara umum, lektin tumbuhan memiliki potensi sebagai antikanker dan sebagian diantaranya telah menjadi obat antikanker. Tidak ada spesifisitas aktivitas antikanker dari lektin tumbuhan terhadap suatu sel kanker. Selama ini, lektin dari legum banyak dikaji dalam beberapa dekade terakhir terhadap peranannya sebagai antikanker⁽²¹⁾. Sedangkan lektin dari jenis *monocot mannose binding lectin* pertama kali dipublikasikan pada tahun 1987 dari umbi *snowdrop*⁽²²⁾ dan hingga saat ini, aktivitas antikanker dari lektin ini belum banyak dikaji terutama dari genus *Typhonium*.

Karakterisasi Lektin. Perbedaan suhu dan pH digunakan untuk menganalisis kestabilan lektin terpurifikasi. Kestabilan lektin tersebut ditunjukkan dengan reaksi hemaglutinasi. Oleh karena lektin merupakan molekul protein, maka dapat dipengaruhi oleh suhu dan pH. Suhu yang tinggi akan menyebabkan perubahan struktur lektin yang dikarenakan terputusnya ikatan-ikatan kimia pada lektin dan suhu yang sangat rendah akan menghambat aktivitas lektin yang diakibatkan kurangnya energi

yang dibutuhkan untuk melakukan suatu reaksi. Selain itu, perubahan pH yang signifikan dapat mendenaturasi lektin. Oleh sebab itu, sangat penting mengetahui kondisi optimum dari lektin berdasarkan suhu dan pH.

Hasil uji menunjukkan bahwa lektin stabil pada suhu 20-40 °C, sedikit menurun pada suhu 50 °C, dan terus menurun hingga suhu 70 °C. Aktivitas lektin tidak terdeteksi pada suhu 80 °C sehingga dapat disimpulkan bahwa suhu maksimum bagi lektin adalah 70 °C. Aktivitas lektin pada selang suhu 60-70 °C lebih rendah 0,6 kali dari selang suhu 20-40 °C (Gambar 2A).

Hasil uji kestabilan terhadap nilai pH menunjukkan bahwa lektin relatif stabil pada pH 5,0 sampai 7,2, dan kestabilan menurun pada pH 8,0-9,0. Aktivitas lektin meningkat 1,5 kali dari pH 5,0 ke pH 6,0 dan menurun 2 kali dari pH 7,2 ke pH 9,0. Aktivitas tertinggi lektin terdeteksi pada pH 6,0 (Gambar 2B). Berdasarkan hasil uji tersebut, kestabilan lektin akses Solok pada selang suhu dan pH tertentu sama dengan lektin dari *T. divaricatum*. Hal ini menunjukkan bahwa lektin dari akses Solok stabil pada selang temperatur dan pH yang luas⁽⁹⁾.

SIMPULAN

Ekstrak protein umbi dari setiap akses *T. flagelliforme* menunjukkan aktivitas hemaglutinasi, efek toksisitas, dan mengandung lektin umbi. Lektin umbi dari akses Solok memiliki bobot molekul 12,67 kDa dengan kadar sebesar 0,35 % dari total protein umbi dan stabil pada temperatur 20-40 °C, serta pH 5,0 sampai 7,2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Pusat Teknologi Farmasi dan Medika, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi yang telah memberikan bantuan dana

penelitian pada tahun 2012-2013 serta kepada rekan kerja kami di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

1. Damme EJM Van, Goossens K, Smeets K, Leuven F Van, Verhaert P, Peumans WJ. Characterization and molecular cloning of the lectin from *Arum maculatum* L. *Plant Physiol.* 1995. 107: 1147-58.
2. Peumans WJ, Damme EJM. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.* 1995. 109: 347-52.
3. Liu B, Li CY, Bian HJ, Min MW, Chen LF, Bao JK. Antiproliferative activity and apoptosis-inducing mechanism of concanavalin A on human melanoma A375 cells. *Arch Biochem Biophys.* 2009. 482: 1-6.
4. Liu B, Bian HJ, Bao JK. Plant lectins: potential antineoplastic drugs from bench to clinic. *Cancer Lett.* 2010. 287: 1-12.
5. Sudmoon R, Sattayasai N, Bunyatratthata W, Chaveerach A, Nuchadomrong S. Thermostable mannose-binding lectin from *Dendrobium findleyanum* with activities dependent on sulfhydryl content. *Acta Biochim Biophys Sin.* 2008. 40: 811-18.
6. Sharon N, Lis H. History of lectin: from hemagglutinins to biological recognition molecules. *Glycobiol.* 2004. 14: 53-62.
7. Goldstein IJ, Hughes RC, Monsigny M, Osawa T, Sharon N. What should be called a lectin. *Nature.* 1980. 285: 66.
8. Damme EJM Van, Peumans WJ, Barre A, Rouge P. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Crc Rev Plant Sci.* 1998. 17: 575-692.
9. Luo Y, Xu X, Liu J, Li J, Sun Y, Liu Z, et al. A novel mannose-binding tuber lectin from *Typhonium divaricatum* (L.) Decne (family Araceae) with antiviral activity against HSV-II and anti-proliferative effect on human cancer cell lines. *J Biochem Mol Biol.* 2007. 40: 358-367.
10. Alfarabi M, Rosmalawati S, Bintang M, Miftahudin, Rofa'ani E, Chaidir. Antiproliferation activity of tuber protein *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) blume on MCF-7 cell line. *Int J Biosciences.* 2015. 6: 52-60.
11. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976. 72: 248-54.
12. Oda Y, Minami K. Isolation and characterization of a lectin from tulip bulbs, *Tulipa gesneriana*. *Eur J Biochem.* 1986. 159: 239-45.
13. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *J Med Plant Res.* 1982. 45: 31-4.
14. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970. 227: 680-85.
15. Wang JC, Yang KC. The genus *Typhonium* (Araceae) in Taiwan. *Botanical Bull Acad Sin.* 1996. 37: 159-63.
16. Acharya L, Mukherjee AK, Panda PC, Das P. Molecular characterization of five medicinally important species of *Typhonium* (Araceae) through random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Z Naturforsch C.* 2005. 60: 600-4.
17. Rout GR. Evaluation of genetic relationship in *Typhonium* species through random amplified polymorphic DNA markers. *Biol Plantarum.* 2006. 50: 127-30.
18. Lambers H, Chapin FS, Pons TL. *Plant physiological ecology.* 2nd ed. New York: Springer; 2008. 255.
19. Yadav SR. Adaptive significance of phenology and spadix architecture in Araceae of western ghats of India. *Acta Bot Yunnanica.* 1998. 20: 31-40.
20. Martinez RAF, Arteaga ICT, Labra AB, Gasca TG, In: C.M. Vazquez (Ed), *The role of plant lectins in cancer treatment*, In *New approaches in the treatment of cancer*, New York: Nova Science Publisher Inc; 2010.71.
21. Damodaran D, Jeyakani J, Chauhan A, Kumar N, Chandra NR, Surolia A. Cancer lectin DB: a database of lectins relevant to cancer. *Glycoconjugate J.* 2008. 25: 191-98.
22. Damme EJM Van, Allen AK, Peumans WJ. Isolation and characterization of a lectin with exclusive specificity towards mannose from snowdrop (*Galanthus nivalis*) bulbs. *FEBS Lett.* 1987. 215: 140-44.