

**EFEK SITOTOKSISITAS DAN ANTIBAKTERI FRAKSI KASAR
LEKTIN MAKROALGA HIJAU DARI PESISIR PANTAI
GUNUNGGIDUL, YOGYAKARTA**

SKRIPSI

**untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Guna Memperoleh Derajat
Sarjana Teknologi Pertanian di Fakultas Pertanian
Universitas Sebelas Maret**

Program Studi Ilmu Dan Teknologi Pangan



Oleh:

Prakoso Adi

H0912100

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2016

**EFEK SITOTOKSISITAS DAN ANTIBAKTERI FRAKSI KASAR
LEKTIN MAKROALGA HIJAU DARI PESISIR PANTAI
GUNUNGGKIDUL, YOGYAKARTA**

**Yang dipersiapkan dan disusun oleh
PRAKOSO ADI
H0912100**

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Pada tanggal: Desember 2016
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

Susunan Dewan Penguji

Ketua

Anggota I

Anggota II

**Danar Praseptiangga, S.TP., M.Sc., Ph.D
NIP. 19810909 200501 1 002**

**Ir. Yusro Nuri Fawzva, M.Si
NIP. 19600213 198703 2 002**

**Ir. Choiroel Anam, M.P., M.T
NIP. 19680212 200501 1 001**

**Mengetahui
Universitas Sebelas Maret
Fakultas Pertanian
Dekan,**

**Prof. Dr. Ir. Bambang Pujiasmanto, M.S.
NIP. 1956022 519801 1 001**

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul “Efek Sitotoksitas dan Antibakteri Fraksi Kasar Lektin Makroalga Hijau dari Pesisir Pantai Gunungkidul, Yogyakarta”. Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi untuk mencapai gelar Strata Satu (S-1) Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Penulis menyadari bahwa selama penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan beberapa pihak oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Bambang Pujiasmanto, M.S. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Ir. Bambang Sigit Amanto, M.Si. selaku Ketua Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Ir. Nugroho Aji, M.Si. selaku Kepala Pusat Penelitian dan Pengembangan Daya Saing Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (P3DSPBKP), Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia, Jakarta Pusat.
4. Nurrahmi Dewi Fajarningsih M.Biotech. selaku kepala laboratorium bioteknologi atas izin melakukan penelitian, bimbingan dan arahan selama penulis melakukan penelitian di laboratorium bioteknologi Pusat Penelitian dan Pengembangan Daya Saing Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (P3DSPBKP), Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia, Jakarta Pusat, sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Danar Praseptiangga, S.TP., M.Sc., Ph.D. selaku Pembimbing Utama Skripsi, Pembimbing Akademik (PA) sekaligus orang tua kedua penulis

atas segala kesabaran dan pengertian untuk membimbing, mengarahkan serta memberikan dukungan kepada penulis selama penyusunan skripsi ini. Terimakasih banyak Bapak atas ilmu, nasihat dan masukan yang sangat bermanfaat bagi penulis.

6. Ir. Yusro Nuri Fawzya, M.Si selaku Pembimbing Pendamping Skripsi atas segala kesabaran dan pengertian selama membimbing dan memberikan arahan kepada penulis khususnya selama melakukan penelitian di P3DSPBKP sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
7. Bapak dan Ibu Dosen Prodi Ilmu Teknologi Pangan dan Dosen Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta atas ilmu yang telah diberikan dan bantuannya selama masa perkuliahan penulis.
8. Staff Tata Usaha Prodi Ilmu Teknologi Pangan FP UNS (Pak Giyo dan Pak Joko), Laboran Prodi Ilmu Teknologi Pangan FP UNS (Ibu Lis, Pak Slamet, Mbak Dinda), Teknisi laboratorium Bioteknologi P3DSPBKP Bang Benget, Mas Ukis, Mbak Maya dan Pak Tomi, terimakasih atas bantuannya selama penelitian.
9. Ayah dan Ibu tercinta yang telah memberi doa, dukungan, motivasi serta nasihat dan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini penulis persembahkan kepada beliau berdua sebagai bentuk rasa terimakasih atas semua cinta, kasih sayang dan pengorbanan yang senantiasa dicurahkan kepada penulis selama ini.
10. Kakakku satu-satunya yang tercinta, Kwat Waluyo Jati, S. Akt., M.Si yang selalu memberikan dukungan, motivasi, doa serta kehangatan bagi penulis saat dirumah, *thanks for all my big brother*.
11. Tim Lektin B, Bhagaz Putra P, Astri Suryani P. serta Martha Arum N. yang selalu menjadi *partner* tertangguh dan sahabat dalam suka maupun duka penulis selama melakukan penelitian. Terimakasih untuk bantuan dan kerjasamanya, untuk kesabarannya dan untuk setiap kebersamaannya hingga akhirnya berjuang bersama menyelesaikan skripsi ini.

12. Keluarga “Samawa”, Rosyid, Adit, Aziz, Iqbal, Gunawan, Dadang, Dhita, Rara, Tri, Ana, Siti dan Alma yang sudah menjadi keluarga kedua baru penulis selama di perkuliahan. Terimakasih sudah menjadi penghibur dan penyemangat disegala keadaan, juga atas cerita dan pengalaman baru yang dilalui bersama.
13. Sahabat terdekat penulis, Endi Satria A. P. Terimakasih atas persahabatan, pengalaman, hiburan, semangat dan semuanya selama perkuliahan. Semoga persahabatan ini selalu terjaga.
14. Sahabat penulis selama melakukan magang di Deltomed Wonogiri Guruh Panji S. Terimakasih atas dukungan dan bantuannya sehingga penulis dapat melalui proses magang dengan baik.
15. Tim Pejuang Nugget Tempe KKN Nghawai, Andi, Guruh, Lala, Aulia, Alifah, Pangesti, Latifah, Luna dan ayu. Terimakasih atas dukungan, bantuan, pengalaman dan rasa kekeluargaan selama penulis melakukan KKN di Ngawi.
16. Sahabat seperjuangan selama penulis melakukan penelitian, Safira, Maya, Ojan, Mbak Wulan, Mas Reinal, Mbak Riska, Mbak Yani, Mbak Lia, Mbak princess, Natalia, Catherine, Kasyanto, Nugrah, Rian, Cendra, Delini, Tri, Dwi, Febi serta sahabat seperjuangan yang lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Terimakasih banyak untuk nilai pertemanan yang luar biasa selama berjuang melakukan penelitian di Ibukota, terimakasih juga karena selalu ada dan selalu siap membantu selama penelitian.
17. Keluarga besar ITP 2012 yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, terimakasih untuk kekompakan, kebersamaan dan kehangatan yang diciptakan. Semangat dan sukses untuk teman-teman semua.
18. Adik-adik tingkat ITP angkatan 2013, 2014, 2015 serta teman-teman Fakultas Pertanian UNS yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah banyak membantu dan mendukung dalam menyelesaikan skripsi.
19. Semua pihak yang telah banyak membantu secara langsung maupun tidak langsung, memberi dukungan, semangat serta doa kepada penulis

sehingga penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis secara pribadi dan kepada pembaca pada umumnya.

Surakarta, November 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
RINGKASAN	xv
SUMMARY	xvi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Makroalga atau Rumput Laut Indonesia	6
2. Persebaran Rumput Laut di Gunungkidul, Yogyakarta	7
3. Pemanfaatan Rumput Laut	10
4. Senyawa Bioaktif Mikroalga Hijau	12
5. Lektin	16
6. Lektin Alga	21
7. Pengujian Aktivitas Hemaglutinasi	24
8. Hemaglutinin Alga Hijau dari Pesisir Pantai Gunungkidul, Yogyakarta	26
9. Lektin Alga Sebagai Agen Antimikroba	27
10. Efek Sitotoksitas Lektin Alga Laut	37
B. Kerangka Berfikir	44
C. Hipotesis	44

BAB III METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian.....	45
B. Bahan dan Alat	45
1. Bahan	45
a. Bahan yang Berhubungan dengan Uji Aktivitas Hemaglutinasi, Kadar Protein dan Aktivitas Hemaglutinasi Inhibisi	45
i. Bahan Utama	45
ii. Bahan Pendukung	46
b. Bahan yang Berhubungan dengan Uji Aktivitas Antibakteri	46
i. Spesies Bakteri	46
ii. Reagen	46
c. Bahan yang Berhubungan dengan Uji Efek Sitotoksitas	47
2. Alat	47
a. Alat yang Berhubungan dengan Uji Aktivitas Hemaglutinasi, Kadar Protein dan Aktivitas Hemaglutinasi Inhibisi	47
b. Alat yang Berhubungan dengan Uji Aktivitas Antibakteri ...	48
c. Alat yang Berhubungan dengan Uji Efek Sitotoksitas	48
C. Tahap Penelitian.....	49
1. Ekstraksi Fraksi Kasar Lektin	49
a. Preparasi Ekstraksi Fraksi Kasar Lektin Makroalga Hijau ...	49
b. Persiapan <i>Fresh Red Blood Cell</i> (RBC)	52
c. Persiapan <i>Trypsin Treated</i> Eritrosit	54
d. Pengujian Aktivitas Hemaglutinasi	55
e. Penentuan Kandungan Protein	57
2. Uji Penghambatan Terhadap Gula dan Glikoprotein	59
3. Uji Efek Antibakteri Fraksi Kasar Lektin	66
a. Teknik Penyiapan Mikroba Uji	66
i. Inokulasi Mikroba dengan Metode <i>Spread Plate</i>	66

ii. Inokulasi Mikroba dari Media NA ke Media <i>Nutrient Broth</i> (NB)	67
iii. Penyegaran Mikroba Uji	68
b. Resazurin Assay	69
4. Uji Sitotoksisitas Fraksi Kasar Lektin	70
BAB IV PEMBAHASAN	
A. Pengujian Kadar Protein	77
B. Pengujian Aktivitas Hemaglutinasi pada Eritrosit Kelinci	78
C. Pengujian Penghambatan oleh Gula dan Glikoprotein	86
D. Pengujian Antibakteri Lektin Alga Hijau	96
E. Pengujian Efek Sitotoksisitas Lektin Alga Hijau	102
BAB V KESIMPULAN	
A. Kesimpulan	108
B. Saran	111
DAFTAR PUSTAKA	112
LAMPIRAN	126

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Produksi Rumput Laut Indonesia Tahun 2010 – 2014	7
Tabel 2.2 Produksi Rumput Laut Kabupaten Gunungkidul (Kg)	9
Tabel 2.3 Kejadian Penting dalam Penelitian Lektin hingga Tahun 1981 ...	16
Tabel 2.4 Fungsi dari Lektin	20
Tabel 2.5 Aplikasi Utama Lektin	20
Tabel 3.1 Formulasi BSA Standar	57
Tabel 4.1 Kadar Protein Fraksi Kasar Lektin Alga Hijau	78
Tabel 4.2 Aktivitas Hemaglutinasi pada Eritrosit Kelinci	79
Tabel 4.3 Penghambatan Hemaglutinasi oleh Monosakarida, Disakarida, dan Glikoprotein	94
Tabel 4.4 Hasil Pengujian Antibakteri Fraksi Kasar Lektin Alga Hijau dengan Metode Resazurin Assay	98

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Interaksi Permukaan Sel Lektin-Karbohidrat menurut Sharon dan Lis (2004)	19
Gambar 2.2 Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif menurut Delcour <i>et al.</i> (1999)	31
Gambar 2.3 Struktur Bangun Kloramfenikol menurut Susanti <i>et al.</i> (2009)	36
Gambar 2.4 Aplikasi Biomedis dari Lektin Alga menurut Singh <i>et al.</i> (2013)	40
Gambar 2.5 Morfologi Sel MCF-7 menurut AbuHammad dan Zihlif (2013)	41
Gambar 2.6 Morfologi sel HeLa menurut Meiyanto dan Septisetyani (2005)	41
Gambar 2.7 Kerangka Berfikir Penelitian Efek Sitotoksitas dan Antimibakteri Fraksi Kasar Lektin Makroalga Hijau dari Pesisir Pantai Gunungkidul, Yogyakarta	44
Gambar 3.1 Ekstraksi Fraksi Kasar Lektin menurut Praseptiangga (2013) dengan Modifikasi	51
Gambar 3.2 Preparasi <i>Fresh Red Blood Cell</i> menurut Praseptiangga (2013)	53
Gambar 3.3 Preparasi <i>Trypsin Treated</i> Eritrosit menurut Praseptiangga (2013)	54
Gambar 3.4 Uji Aktivitas Hemaglutinasi menurut Hori <i>et al.</i> (1986) dengan Modifikasi	56
Gambar 3.5 Uji Kadar Protein dengan BCA (<i>Bicinconic Acid</i>) Kit	58
Gambar 3.6 Preparasi Glikoprotein menurut Hori <i>et al.</i> (1986) dalam Hung <i>et al.</i> (2009) dengan Modifikasi	62
Gambar 3.7 Pengujian Gula dan Glikoprotein Secara Kualitatif menurut Praseptiangga (2013)	64
Gambar 3.8 <i>Hemagglutination Inhibition Assay</i> Secara Kuantitatif menurut Praseptiangga (2013)	65

Gambar 3.9 Metode Inokulasi Mikroba ke Media NA dengan Metode <i>Spread Plate</i>	66
Gambar 3.10 Metode Inokulasi Mikroba dari Media NA ke Media NB	67
Gambar 3.11 Metode Penyegaran Bakteri	68
Gambar 3.12 MIC <i>Test</i> dengan Metode Resazurin Assay menurut Sarker <i>et al.</i> (2007) dengan Modifikasi	69
Gambar 3.13 Pembiakan Sel Kultur	72
Gambar 3.14 Pemanenan Sel Kultur	73
Gambar 3.15 Proses uji Sitotoksitas dengan Metode MTT menurut Ali <i>et al.</i> (2014) dan Wahyuni <i>et al.</i> (2011) dengan Modifikasi ..	76
Gambar 4.1 Reaksi pada Metode BCA menurut Purwanto (2014)	77
Gambar 4.2 Hasil Uji HA Lektin <i>Caulerpa lentilifera</i> pada Eritrosit Kelinci	80
Gambar 4.3 Hasil Uji HA Lektin <i>Chaetomorpha linum</i> pada Eritrosit Kelinci	81
Gambar 4.4 Hasil Uji HA Lektin <i>Chaetomorpha mediterranea</i> pada Eritrosit Kelinci	81
Gambar 4.5 Hasil Uji HA Lektin <i>Blidingia Minima</i> pada Eritrosit Kelinci.	82
Gambar 4.6 Hasil Uji Lektin <i>Spongomorpha arcta</i> pada T-RBC Kelinci ..	82
Gambar 4.7 Hasil Uji HA Lektin <i>Cladophora rupertis</i> pada Eritrosit Kelinci	82
Gambar 4.8 Hasil Uji HA Lektin <i>Codium arabicum</i> pada Eritrosit Kelinci	83
Gambar 4.9 Hasil Uji HA Lektin <i>Codium intricatum</i> pada Eritrosit Kelinci	83
Gambar 4.10 Hasil Uji HA Lektin <i>Enteromorpha clathrata</i> pada Eritrosit Kelinci	84
Gambar 4.11 Hasil Uji HA Lektin <i>Ulva lactuca</i> pada Eritrosit Kelinci	84
Gambar 4.12 Hasil Uji Aktivitas Hemaglutinasi Inhibisi <i>Chaetomorpha linum</i> pada Eritrosit Kelinci	87

Gambar 4.13 Struktur Karbohidrat Fetuin N-Glikan menurut Karlsson <i>et al.</i> (2002)	89
Gambar 4.14 Struktur Karbohidrat PTG menurut Yamamoto <i>et al.</i> (1981)	90
Gambar 4.15 Struktur Karbohidrat aPTG menurut Yamamoto <i>et al.</i> (1981)	90
Gambar 4.16 Struktur Karbohidrat BSM menurut Karlsson <i>et al.</i> (1997) ..	91
Gambar 4.17 Struktur Karbohidrat aBSM menurut Chai <i>et al.</i> (1992)	91
Gambar 4.18 Struktur Fetuin O-Glikan menurut Wu <i>et al.</i> (2003)	91
Gambar 4.19 Struktur asialo Fetuin O-glikan menurut Wu <i>et al.</i> (2003)	92
Gambar 4.20 Hasil Uji HIA Kuantitatif Lektin <i>Chaetomorpha linum</i>	92
Gambar 4.21 Hasil Resazurin Assay Fraksi Kasar Lektin <i>Codium intricatum</i> (Konsentrasi Awal 5000 ppm)	97
Gambar 4.22 Prinsip Uji Sitotoksik Menggunakan Metode MTT	103
Gambar 4.23 Grafik Persentase Mortalitas Sel Kanker MCF-7 dan HeLa oleh Fraksi Kasar Lektin Alga Hijau pada Konsentrasi 100 ppm	103
Gambar 4.24 Kondisi Sel MCF-7 (a) dan HeLa (b) dengan Pemberian Perlakuan <i>Crude Extract</i> Lektin <i>Codium arabicum</i> Sebelum (1) dan Sesudah (2) Pemberian Reagen MTT	105
Gambar 4.25 Hasil Pengujian MTT Fraksi Kasar Lektin <i>Codium arabicum</i> pada Beberapa Konsentrasi (ppm) Terhadap Sel Kanker MCF-7	107

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Data Hasil Analisis	126
Lampiran 2 Dokumentasi Hasil Uji	128
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian	133

**EFEK SITOTOKSISITAS DAN ANTIBAKTERI FRAKSI KASAR
LEKTIN MAKROALGA HIJAU DARI PESISIR PANTAI
GUNUNGGIDUL, YOGYAKARTA**

PRAKOSO ADI

H0912100

RINGKASAN

Indonesia sebagai negara kepulauan kaya akan biodiversitas kelautan yang salah satunya adalah makroalga. Makroalga khususnya makroalga hijau mengandung senyawa - senyawa bioaktif yang sangat bermanfaat untuk kesehatan, salah satu diantaranya adalah senyawa bioaktif lektin. Lektin merupakan protein pengikat karbohidrat spesifik yang dapat diaplikasikan sebagai antibakteri dan antikanker. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek sitotoksitas dan antibakteri fraksi kasar lektin dari sepuluh jenis spesies makroalga hijau yang diperoleh dari pesisir pantai Gunungkidul, Yogyakarta, Indonesia. Metode pengujian yang digunakan pada penelitian ini meliputi uji aktivitas hemaglutinasi lektin terhadap eritrosit kelinci, pengujian kadar protein total lektin, uji aktivitas hemaglutinasi inhibisi lektin, penentuan *minimum inhibitory concentration* (MIC) lektin dengan metode *resazurin assay* dan pengujian efek sitotoksitas lektin dengan metode MTT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi kasar lektin dari sepuluh jenis makroalga yang diujikan belum dapat dikatakan sebagai senyawa antibakteri apabila dibandingkan dengan nilai MIC dari kloramfenikol sebagai kontrol positif. Selain itu, semua fraksi kasar lektin makroalga hijau tersebut juga belum dapat dikatakan memiliki sifat antikanker karena memiliki nilai $IC_{50} > 100$ ppm.

Kata Kunci: fraksi kasar lektin, makroalga hijau dari pesisir pantai Gunungkidul, antibakteri, antikanker

**CYTOTOXICITY AND ANTIBACTERIAL EFFECTS OF CRUDE
FRACTION LECTIN GREEN MACROALGAE FROM GUNUNGKIDUL
COAST, YOGYAKARTA**

PRAKOSO ADI

H0912100

SUMMARY

Indonesia is an archipelago country which rich in marine biodiversity. The one of marine biodiversity organisms from Indonesia is macroalgae. Macroalgae, especially green macroalgae contains lectins, which has benefit for health. Lectins are carbohydrate binding proteins that can be applied as antibacterial and anticancer compounds. The main purpose of this research was to determine cytotoxicity and antibacterial effects of crude fraction lectins from ten species of green macroalgae, which was collected from Gunungkidul coast, Yogyakarta, Indonesia. The hemagglutination activity against rabbit erythrocytes, total protein contains and carbohydrates binding specificity of crude fraction lectins was evaluated. The minimum inhibitory concentration (MIC) of crude fraction lectins was evaluated using resazurin assay, and the cytotoxicity effect of crude fraction lectin was evaluated using MTT assay. The result showed that crude fraction lectins from ten macroalgae samples was not effective yet as antibacterial compounds compared by the MIC value of positive control (chloramphenicol). Furthermore, the crude fraction lectin was not active yet as anticancer compounds due to the IC_{50} value > 100 ppm.

Keywords: crude fraction lectins, green macroalgae from Gunungkidul coast, antibacterial, anticancer