

# Uji Hemaglutinasi Assay pada Hemolimf *Spodoptera exigua* yang diberi Perlakuan Botani Pestisida

A.Irma Suryani  
Tjandra Anggraeni

**Abstrak.** Tahap larva dari ulat grayak (*Spodoptera exigua*), memiliki aktifitas makan yang tinggi dan bersifat polifagus sehingga serangga ini berpotensi sebagai hama dalam pertanian. Penggunaan botani pestisida dalam hal ini *Mirabilis jalapa*, diharapkan dapat mengendalikan hama pertanian sehingga dilakukan penelitian terhadap imun sistem larva *S. exigua* dengan mengamati lektin yang berperan dalam menganali molekul asing yang masuk ke tubuh serangga. Hasil penelitian diperoleh, semakin tinggi konsentrasi *M. jalapa*, pada konsentrasi *M. jalapa* 0.4% dan 0.8%, maka titer agglutinasi hemolimf semakin rendah. Hal ini diduga daya ikat lektin terhadap molekul asing semakin menurun. Sehingga *M. jalapa* ini berpotensi dimanfaatkan sebagai botani pestisida yang ramah lingkungan.

**Kata kunci:** hama pertanian, botani pestisida, agglutinasi lektin.

## Pendahuluan

Molekul asing yang masuk ke tubuh serangga akan direspon oleh imun sistem. Lektin berperan penting dalam memperantarai pengenalan *non-self* dari imun innate diantaranya dalam opsonisasi (Wilson *et al.*, 1999). Lektin (agglutinin) terdapat dalam bentuk larutan ataupun terikat pada membran.

Lektin merupakan salah satu imun humoral berupa dimana, agglutinin atau lektin ini merupakan molekul berupa protein bukan enzim yang berikatan atau bereaksi dengan karbohidrat dari partikel asing yang dapat menyebabkan aglutinasi atau presipitasi sehingga lektin ini berperan sebagai pengenalan sel asing yang masuk ke dalam tubuh organisme khususnya serangga (Narayanan, 2004, Anggraeni, 1992). Mekanisme pengikatan lektin terhadap karbohidrat berupa ikatan non kovalen. Ikatan ini tergolong lemah, tapi jika terbentuk lebih dari satu ikatan, baik antar molekul maupun di dalam molekul lektin, maka cukup kuat untuk menggumpalkan lektin (Altroy, 1988 dalam Harjono, 1996). Lektin selain berperan dalam pengenalan *non-self*, juga diketahui berperan dalam opsonisasi fagositosis (Wilson *et al.*, 1999). Menurut (Sharon, 1984 dalam Anggraeni 1992), terdapat tiga interaksi lektin yang terjadi yaitu: (i) antara gula pada permukaan fagosit dan lektin dari permukaan sel lain; (ii) antara lektin pada permukaan fagosit dan gula dari permukaan sel yang lain (atau partikel); (iii) dengan cara ekstraseluler lektin yang membentuk jembatan antara gula pada kedua tipe sel. Lektin yang terdapat pada

## BIONATURE

p-ISSN 1411 - 4720  
e-ISSN 2654 - 5160

**Abstract.** The larval stage of the armyworm (*Spodoptera exigua*), has a high and polyphagous feeding activity so that these insects have the potential to be pests in agriculture. The use of botanical pesticides in this case *Mirabilis jalapa*, is expected to control agricultural pests so that research on the immune system of *S. exigua* larvae is carried out by observing lectins that play a role in analyzing foreign molecules that enter the insect's body. The results were obtained, the higher the *M. jalapa* concentration, at the concentration of *M. jalapa* 0.4% and 0.8%, the lower the hemolymph agglutination titers. This is thought to decrease the binding capacity of lectins to foreign molecules. So that *M. jalapa* has the potential to be used as an environmentally friendly botanical pesticide.

**Keywords:** agricultural pests, botanical pesticides, lectin agglutination.

A.Irma Suryani

Universitas Negeri Makassar  
Indonesia

Tjandra Anggraeni

Institut Teknologi Bandung  
Indonesia

hewan maupun tumbuhan, memiliki spesifitas yang berbeda-beda misalnya pada kecoak, spesifik terhadap *GalNac* dan fukosa, *Bombyx sp* (asam glukuronat), *S. exigua* (galaktosa), ayam (mannosa), manusia (glukosa-galaktosa), kacang ercis (amannosa) (Boucias dan Pendland, 1993: Harjono, 1996).

Lektin pada bangsa lalat *Sarcophaga peregrina* meskipun terdeteksi pada permukaan beberapa hemosit, plasmatisit dan granulosit, lektin ini disintesa oleh badan lemak yang kemudian dilepaskan ke hemolimf (Komano, 1983 dalam Anggraeni, 1992). Uji Hemagglutinas ini dengan menggunakan beberapa eritrosit vertebrata. Dikarenakan lektin invertebrata teragglutinas terhadap molekul asing secara in vitro dengan menggunakan eritrosit vertebrata (Gul dan Avyali, 2001). Pada penelitian ini digunakan eritrosit vertebrata (kelinci) dan dilakukan pengamatan terhadap titer agglutinas hemolimf *S. exigua* yang telah diberi perlakuan *M.jalapa*.

## Metode Penelitian

### Prosedur Penelitian

Larva *S. exigua* instar 3, didinginkan terlebih dahulu  $\pm$  10 menit sebelum hemolimfnya diambil. Prosesnya sebagai berikut :

- Larva *S. exigua* diambil hemolimfnya dengan pipa kapiler. Hemolimf yang keluar dari setiap larva segera dikumpulkan ke dalam mikrotube (*ependorf*) berukuran 1,5 ml yang berisi beberapa kristal *phenylthiourea*. Seluruh hemolimf disentrifuge pada kecepatan 8000 g, suhu 4 °C, selama 5 menit. Supernatan digunakan untuk hemagglutinas assay (HA).
- Pelet yang dihasilkan, dicuci tanpa disuspensikan dengan menggunakan TBS, pH 7,4 kemudian disuspensikan hanya dengan menggunakan 50µl TBS, pH 7, Pelet diresuspensikan dengan menggunakan mikropipet dan disentrifugasi pada kecepatan 12.000 g, suhu 4 °C, selama 15 menit. Lisat yang dihasilkan dipergunakan untuk assay HA.
- Hemagglutinas assay (HA) dilakukan pada *microplate*, 96, 'V'
- Dilakukan pengenceran seri, sampel yang diuji sebanyak 25 µl dibuat di dalam TBS (pH 7,4) pada *microplate*.
- Sebanyak 25 µl suspensi eritrosit kelinci (trisodium sitrat), (*eritrosit tersebut telah dicuci 3 x dengan menggunakan TBS, pH 7 dan diresuspensi dengan buffer yang sama*) ditambahkan ke larutan yang telah diencerkan tadi.
- Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada temperatur ruangan selama 60 menit, setelah itu diamati lektin yang membentuk roset. Metode kerja merupakan modifikasi dari buku petunjuk laboratorium (Anggraeni, 1992).

## Hasil Penelitian

**Tabel 1. Perhitungan Titer Agglutinas**

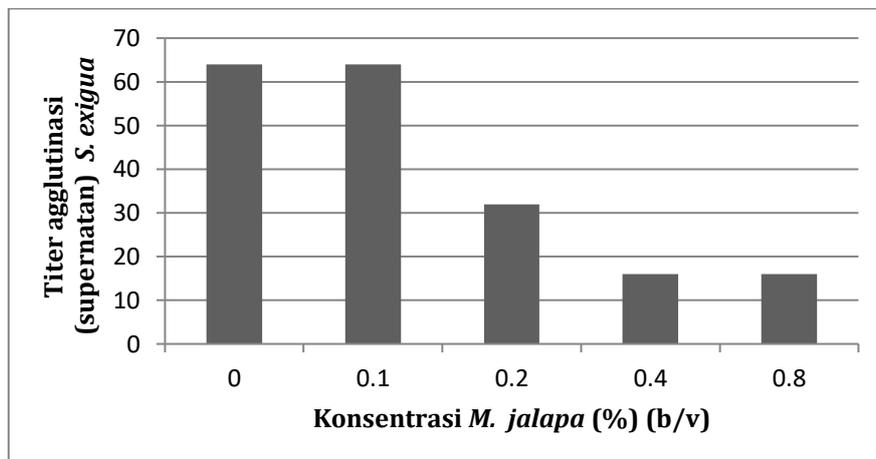
Eritrosit vertebrata	Perlakuan Larva diberi MJ (%)	Titer Agglutinas <i>S. exigua</i>	
		supernatan larva	pelet larva
Kelinci	0	64	6
	0.1	64	4
	0.2	32	4
	0.4	16	2
	0.8	16	0

Berdasarkan tabel diatas, hasil uji HA diperoleh titer agglutinas tertinggi dari uji menggunakan eritrosit vertebrata, dikarenakan lektin invertebrata (serangga) teragglutinas terhadap molekul asing secara in vitro dengan menggunakan eritrosit vertebrata (Gul dan

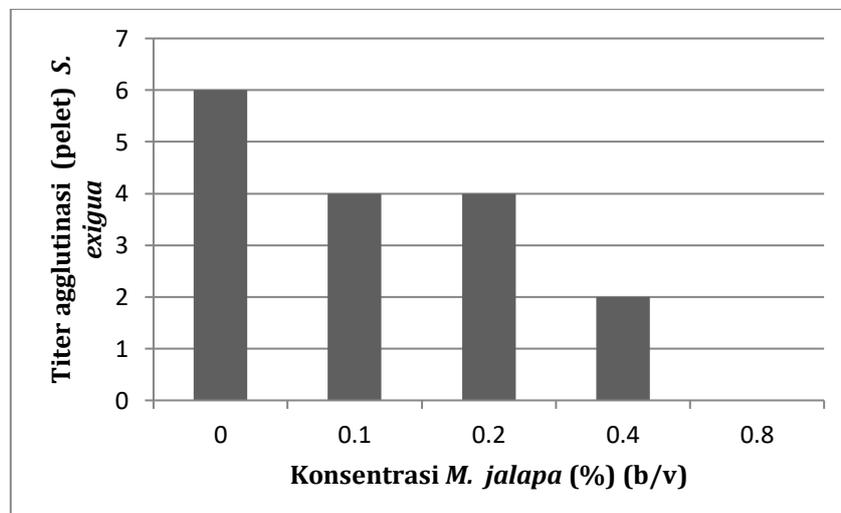
Avyali, 2001). Dalam penelitian ini digunakan eritrosit kelinci karena hal ini sejalan dengan penelitian Gomes *et al.*, (1988) yang meneliti aktifitas natural lektin pada hemolimf *Pangstrongylus megistus* melalui uji hemagglutinas, menemukan bahwa pada supernatan dan pelet *P. megistus* terdapat aktifitas lektin dimana, titer hemagglutinas tertinggi diperoleh dari hasil uji eritrosit kelinci.

Hasil uji hemagglutinas diketahui bahwa baik dalam kondisi normal maupun pada perlakuan *M. jalapa*, lektin ini dapat terdeteksi namun hasil titer aglutinas pada perlakuan dengan konsentrasi 0.1% dan 0.2% lebih tinggi dan terjadi penurunan titer agglutinas pada konsentrasi 0.4% dan 0.8% seperti halnya yang terjadi pada pengamatan respon imun seluler (hemosit). Selain itu, titer agglutinas pada supernatan lebih tinggi dibanding pada pelet, diduga karena sintesa lektin terjadi di badan lemak dan dilepaskan ke hemolimf serangga sehingga akumulasi lektin lebih dominan pada plasma atau supernatan serangga.

Penurunan aktifitas lektin dari hasil uji titer agglutinas. Semakin tinggi konsentrasi *M.jalapa* yang digunakan, maka semakin rendah titer aglutinas hemolimf *S.exigua*. Hal ini diduga, daya ikat lektin dalam mengenali molekul asing semakin berkurang sehingga, *M.jalapa* ini berpotensi digunakan sebagai botani pestisida di masa akan datang.



**Gambar 1. Pemberian *M. jalapa* terhadap Penurunan Titer Agglutinas pada Supernatan Larva *S. Exigua* Menggunakan Eritrosit Vertebrata (Kelinci)**



**Gambar 2. Pemberian *M. jalapa* terhadap Penurunan Titer Agglutinas pada Pelet Larva *S. Exigua* Menggunakan Eritrosit Vertebrata (Kelinci)**

## Referensi

- Anggraeni, T.(1992). *Sistem Pertahanan Tubuh pada Serangga*. PAU Bidang Ilmu Hayati. Bandung.
- Boucias, Pendland. (1993). The Galactose Binding Lectin from The Beet Armyworm, *Spodoptera exigua*. *Journal Insect Biochemistry and Molecular*, 23 (2), 233-42.
- Gomes, Y.M., Furtado, A.F., Carvalho, A.B.D. (1988). Natural Lectin Activity in the Haemolymph of *Pangstrongylus megistus* (Heteroptera Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 83 (4), 509-12.
- Gul, Avyali. (2001). Purification and Determination of the Molecular Structure of Hemolymph Lectin of *Agrotis segetum* (Denis and Schiff). *Turk Journal Biologi*, (26), 49-55.
- Harjono, I.U. (1996). Lektin-Sifat dan Aplikasinya dalam Biologi dan Biomedik. *Cermin dunia kedokteran* No. 111.
- Narayanan. (2004). Insect defence. Its Impact on Microbial Control of Insect Pests. *Current science*, 86 (6), 25.
- Wilson., Chen., Ratcliffe. (1999). Innate Immunity in Insects : The Role of Multiple, Endogenous Serum Lectins in the Recognition of Foreign Invaders in the Cockroach, *Blaberus discoidalis*. *Journal immunol*, 162, 1590-1596.

<b>A.Irma Suryani</b>	Dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Makassar E-mail: <a href="mailto:a.irma.suryani@unm.ac.id">a.irma.suryani@unm.ac.id</a>
<b>Tjandra Anggraeni</b>	Jurusan Biologi SITH Institut Teknologi Bandung E-mail: <a href="mailto:a.irma.suryani@unm.ac.id">a.irma.suryani@unm.ac.id</a>