

ANALISA PROFIL PROTEIN KERANG DARAH (*Anadara granosa*) YANG DIPAJAN ION LOGAM TIMBAL (Pb) DENGAN VARIASI KONSENTRASI

SKRIPSI

Diajukan Sebagai salah satu syarat penyelesaian
Pendidikan Diploma IV Kesehatan
Program Studi Analis Kesehatan



Diajukan oleh :

DIAMAN

GIC215034

**PROGRAM STUDI DIV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**

2016

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi dengan judul “Analisa profil protein kerang darah (*Anadara Granosa*) yang dipajan ion logam timbal (Pb) Dalam berbahaya konsentrasi” Oleh Diaman (NIM: G1C215034) Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Program Studi Diploma IV Analis Kesehatan.

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I

Dra. Ana Hidayati Mukaromah, M.Si
NIK: 28.6.1026.038

Tanggal, 19 September 2016

Pembimbing II

Dr. Stalis Norma Ethica, M.Si
NIK: 28.6.1026.040

Tanggal, 19 September 2016

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Diploma IV Analis Kesehatan
Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Semarang**

Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si.Med
NIK: 28.6.1026.034

**ANALISA PROFIL PROTEIN KERANG DARAH (*Anadara Granosa*) YANG
DIPAJAN ION LOGAM TIMBAL (Pb)
DENGAN VARIASI KONSENTRASI**

Diaman¹, Ana Hidayati Mukaromah², Stalis Norma Ethica³

¹Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

²Laboratorium Kimia Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

³Laboratorium Biomolekuler Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang

ABSTRAK

Kerang darah merupakan bahan makanan sumber protein kadar tinggi yang berasal dari laut dengan kandungan asam amino esensial yang lengkap dan seimbang, juga mengandung beberapa jenis mineral dan vitamin. Timbal (Pb) adalah salah satu jenis logam berat yang bersifat toksik bagi organisme yang merusak kinerja tubuh organisme, salah satunya menyebabkan denaturasi protein yang ditunjukkan perubahan karakteristik pola pita protein total. Hasil penelitian profil protein menunjukkan bahwa sampel kerang darah yang tidak direndam timbal (Pb) dengan metode SDS-PAGE menampilkan 1 pita mayor dengan nilai Rf 3,6 BM 59 kDa selain itu memiliki 4 pita minor dengan Rf 0,5 BM 225 kDa, Rf 0,8 BM 209 kDa, Rf 1,3 BM 128 kDa, 1,6 BM 100 kDa. Pada kerang darah yang direndam (Pb) dengan konsentrasi 0,5% memiliki 1 pita mayor dengan nilai Rf 3,7 BM 38 kDa dan 3 pita minor Rf 0,3 BM 225 kDa, Rf 0,6 BM 225 kDa dan 1,0 BM 179 kDa. Pada konsentrasi 4% hanya memiliki 1 pita yaitu pita minor dengan Rf 1,6 BM 198 kDa. Hasil berbeda ditunjukkan pada sampel yang direndam (Pb) 20% dan 40% tidak ditemukan sedikitpun pita protein. Hal ini menunjukkan bahwa perendaman dengan larutan Pb pada konsentrasi sebesar 0,5% mulai menyebabkan kerusakan protein pada sampel kerang darah, sedangkan perendaman dengan larutan Pb pada konsentrasi sebesar 20% mulai menyebabkan denaturasi total pada protein sampel kerang darah.

Kata kunci : Kerang darah, ion Pb, Profil Protein.

**PROFILE ANALYSIS OF PROTEIN SHELL OF BLOOD (*Anadara granosa*)
SOAKED THE METAL ION OF LEAD (Pb) IN VARIOUS
CONCENTRATION**

Diaman¹, Ana Hidayati Mukaromah², Stalis Norma Ethica³

¹Analysts Health Studies undergraduate program Faculty of Nursing and Health, University of Muhammadiyah Semarang

²Chemical Laboratory Faculty of Nursing and Health Sciences, University of Muhammadiyah Semarang

³Laboratory of Biomolecular Engineering Faculty of Nursing and Health, University of Muhammadiyah Semarang

ABSTRACT

Blood mussel is a food source with high levels of protein from the sea containing complete and balanced essential amino acids. It also contains several kinds of minerals and vitamins. Lead (Pb) is a type of heavy metals, which are toxic to organisms, damaging the performance of the organism's body, one of which causes protein denaturation indicated by changes in the characteristics of the total protein banding pattern. Results of this profile protein study showed that blood mussel sample which was not soaked in lead (Pb) using SDS – PAGE solution had one major band with Rf value of 3.6 BM 59 kDa in addition has four minor bands at Rf 0.5 BM 225 kDa, Rf 0.8 BM 209 kDa, Rf 1.3 BM 128 kDa, 1.6 BM 100 kDa. Another sample of blood mussel soaked in Pb aqueous solution with a concentration of 0.5% had one major band with Rf value of 3.7 BM 38 kDa and a third minor band Rf 0.3 BM 225 kDa, 225 kDa BM Rf 0.6 and 1.0 BM 179 kDa. At a concentration of 4% it only had one minor band with a ribbon that Rf 1.6 BM 198 kDa. Different results showed by 2 other samples immersed in 20% and 40% of Pb, respectively, where no band could be found on electrophoresis gel indicating that protein from the treated blood mussel samples had been completely denatured. These results showed that immersion of Pb solution from 0.5% concentration could start denaturing protein of blood mussel sample, while from 20% concentration it could denature all protein of the sample.

HALAMAN PERNYATAAN ORIGINALITAS

1. Skripsi ini asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana) baik di Universitas Muhammadiyah Semarang maupun diperguruan tinggi lain.
2. Skripsi ini murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penguji.
3. Dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan oleh orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai sumber acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini

Semarang, 19 september 2016

Yang membuat pernyataan,



G1C215034

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan atas kehadiran Allah swt karena berkat segala limpahan rahmat dan karunia_Nya hingga sampai saat ini masih diizinkan untuk melanjutkan kehidupan dan juga mampu menyelesaikan Skripsi sesuai dengan waktu yang telah ditentukan.

Shalawat dan salam tetap tercurahkan kepada Nabi Allah Muhammad saw dan semua sahabat serta keluarganya, karena berkat perjuangan mereka semua kita bisa berada dizaman yang penuh dengan cahaya islam seperti ini.

Adapun judul dari Skripsi tugas Akhir yang saya ajukan adalah “Analisa profil protein kerang darah (*Anadara Granosa*) yang dipajan ion logam timbal (Pb) Dalam berbagai konsentrasi.

Hal mendasar yang membuat ketertarikan dalam judul ini sehingga diajukan sebagai tugas akhir saya adalah seberapa besar pengaruh pajanan logam Pb pada kerang darah (*Anadara Granosa*) terhadap profil protein

Dengan segala kerendahan hati ucapan terima kasih yang tak terhingga atas kasih sayang dan dukungan kepada ibu wa.malusi dan Ayah la.ngkola sebagai orang tua kandung saya seta teman-teman atas segala bantuan juga doanya selama ini

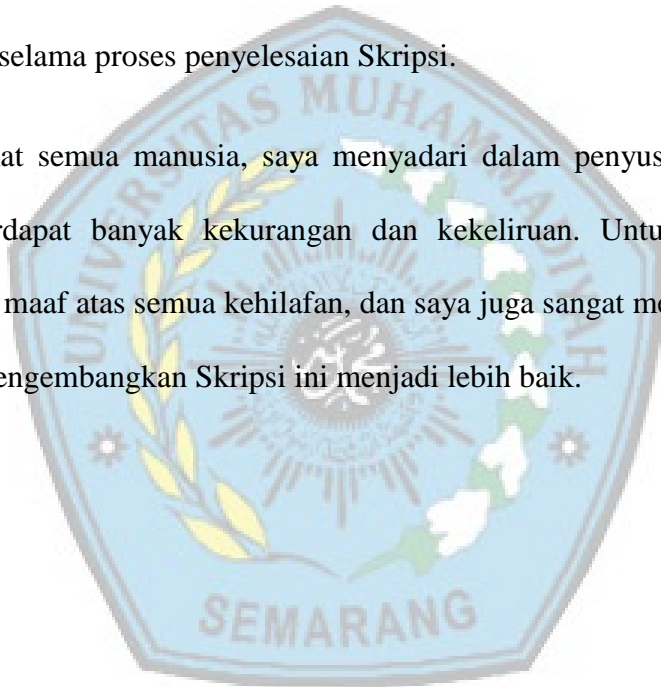
Pada kesempatan ini pula, peneliti sampaikan rasa terima kasih yang setulus-tulusnya kepada :

1. Dra. Ana Hidayati Mukaromah. M.Si selaku pembimbing satu, yang tidak pernah lelah memberikan masukan dalam penyusunan Skripsi ini
2. Dr. Stalis Norma Ethica, M.Si selaku pembimbing dua, yang juga tidak pernah lelah memberikan masukan dalam penyusunan Skripsi ini

3. Dra. Sri SintoDewi, M.Si Med, selaku ketua program studi D IV Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan
4. Kepada kakanda saya, Kamal, Heri, Dasir, Linta, Hasan, Hardia,Sardia,yang telah membantu dalam segi ekonomi dalam menunjang kesuksesan saya .semua perjuangan dan jasa dari kakandaku semua tidak akan saya lupakan
5. Teman-teman seangkatan D IV Analisis Kesehatan yang selalu memberikan semangat selama proses penyelesaian Skripsi.

Hakekat semua manusia, saya menyadari dalam penyusunan Skripsi Tugas Akhir ini terdapat banyak kekurangan dan kekeliruan. Untuk itu izinkan saya memohonkan maaf atas semua kehilafan, dan saya juga sangat membutuhkan kritikan yang dapat mengembangkan Skripsi ini menjadi lebih baik.

Terima Kasih



Semarang, 19 September 2016

penyusun

DAFTAR ISI

Nomor	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Halaman Persetujuan.....	ii
Abstrak	vi
Surat Pernyataan Originalitas.....	viii
Kata Pengantar	vii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar lampiran	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Orisinal Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kerang Darah	6
2.3 Macam-Macam Logam Berat	8
2.4 Analisis Profil Protein.....	10
2.6 SDS-PAGE.....	11
2.7 Kerangka Teori.....	13
2.8 Kerangka Konsep	14
2.9 Hipotesis.....	14
BAB III METODE PENELITIAN.....	15
3.1 Jenis Penelitian.....	15

3.2 Objek Penelitian	15
3.3 Tempat Dan Waktu Penelitian	15
3.4 Bahan Dan Alat	15
3.5 Prosedur	16
3.6 Alur Penelitian	19
3.7 Teknik pengambilan sampel	20
3.8 Variabel Penelitian	20
3.9 Devenisi Operasinal	20
3.10 Teknik Pengumpulan Data	21
3.11 Pengolahan Data.....	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Gambaran Sampel Penelitian	22
4.2 Analisis Total Protein Secara Spektrofotometri.....	22
4.3 Analisi Protein Kerang Darah	23
4.4 Hasil Analisis Profil Total Protein.....	24
4.5 Pembahasan.....	25
BAB V PENUTUP.....	27
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN - LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Table 1.1 Originalitas Penelitian.....	4
Table 1.2 Kandungan Gizi Kerang Darah.....	8
Table 3.1 Defenisi Opreasional.....	20
Tabel 4. Konsentrasi Pb (NO3) ₃ pada kerang darah, absorbansi dan total protein	22
Tabel 5 Berat Molekul Protein Marker, Rf Marker	22
Tabel 6 Rf Sub Unit Protein Bakso hasil SDS-PAGE dan Berat Molekulnya	22



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Kerang Darah	6
Gambar 2 Kerangka Teori.....	13
Gambar 3 Kerangka konsep.....	14
Gambar 4 Alur Penelitian.....	19
Gambar 5 elektroforesis SDS-PAGE.....	24
Gambar 6. Visualisasi representasi protein kerang darah	25



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran Pembuatan Media	31
Lampiran Proses Penelitian.....	40



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Protein adalah senyawa organik kompleks berbobot molekul tinggi yang merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida (Abrams, 2004). Asam amino berfungsi memperbaiki jaringan yang rusak setelah luka, melindungi hati dari berbagai zat toksik, menurunkan tekanan darah, mengatur metabolisme kolesterol, mendorong sekresi hormon pertumbuhan, dan mengurangi kadar amonia dalam darah (Kamiya *et al.*, 2002).

Jika ditinjau dari sumbernya, protein dapat berasal dari nabati dan hewani. Berdasarkan habitatnya sumber protein dapat berasal dari darat maupun laut. Contoh bahan makanan sumber protein kadar tinggi yang berasal dari laut antara lain kerang darah. Menurut penelitian Nurjanah, Zulhamsyah dan Kustiyariyah pada tahun 2005, kerang darah (*Anadara granosa*) memiliki kandungan protein dalam 40 gram sebanyak 19,48%.

Kumalawati, *et al* 2008 melaporkan paparan logam berat timbal (Pb) menyebabkan denaturasi protein dengan mengalami perubahan karakteristik pola pita protein total. Dengan adanya logam berat tersebut akan terbentuk kompleks garam protein. Kompleks inilah yang membuat protein akan sulit untuk larut.

Oleh Inneke Sintya *et al.* tahun 2015, analisis kandungan logam berat telah dilakukan pada kerang darah (*Anadara granosa*). Hasil analisis menunjukkan bahwa

kandungan Cd pada kerang berukuran kecil (<3 cm) tidak terdeteksi, sedangkan pada kerang berukuran besar (>3 cm) mengandung rata – rata logam 0,2186 ppm.

Penelitian sebelumnya tentang kandungan logam berat timbale (Pb), karakteristik pola pita protein total dan kandungan protein kerang air tawar (*Anodonta Woodiana* Lea.) telah dilakukan oleh Kumalawati.,*et al* (2008). Penelitian tersebut memakai objek kerang air tawar dan belum diketahui kebutuhan konsentrasi yang dapat mendenaturasi protein. peneliti Inneke Sintya *et al.* tahun 2015, yang melakukan analisis pada kerang darah (*Anadara granosa*). Hasil analisis menunjukkan bahwa ukuran besar yang rentan mengakumulasi logam dari pada yang berukuran kecil dan tidak melakukan uji analisa profil protein. Dengan adanya temuan masalah tersebut peneliti ingin mengetahui pengaruh penambahan ion logam Pb^{2+} .

Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang penambahan ion Pb^{2+} dengan konsentrasi 0, 0,5, 4,0, 20 dan 40%^{b/v} terhadap profil protein kerang darah.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah diatas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

- 1.2.1 Bagaimana profil protein kerang darah (*Anadara granosa*) sebelum di pajan ion Pb^{2+} dengan konsentrasi 0; 0,5; 4,0; 20 dan 40 %^{b/v}

1.2.2 Apakah terdapat perubahan setelah di pajan ion logam Pb^{2+} dengan konsentrasi 0; 0,5; 4,0; 20 dan 40 % ^{b/v} terhadap profil protein kerang darah (*Anadara granosa*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

- 1.3.1 Menguji profil protein pada kerang darah (*Anadara granosa*) sebelum di pajan ion logam Pb^{2+} dengan konsentrasi 0; 0,5; 4,0; 20 dan 40% ^{b/v}.
- 1.3.2 Menguji profil protein kerang darah setelah di pajan ion logam Pb^{2+} dengan konsentrasi 0; 0,5; 4,0; 20 dan 40 % ^{b/v} terhadap profil protein kerang darah (*Anadara granosa*).

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi:

- 1.4.1 Masyarakat sebagai konsumen bahan makanan yang berasal dari laut, agar memperoleh informasi yang lebih baik mengenai kualitas bahan makanan yang menjadi sumber asupan protein sehari-hari.
- 1.4.2 Institusi, khususnya program studi D4 analis kesehatan sebagai suatu sumbangan karya ilmiah yang akan memperluas wawasan ahli teknologi laboratorium medik, baik pada tingkat teoritis maupun pada tingkat praktek.

1.5 Originalitas

Tabel 1. Originalitas Penelitian

No	Nama	judul	Hasil
1.	Kumalawati, Prabang Setyono Dan sunrto Departemen of Biologi, Faculti of Mathematich And Natural science. Sebelas Maret Universty, Surakarta.	Kandungan logam berat timbal (Pb), karakter pola pita protein total dan kandungan protein Kerang air tawar (Anodonta Woodiana) Di sungai Serang Hilir Waduk Kadung Gombo.	konsentrasi timbal (Pb) dalam air Sungai Serang sebesar 0,41 ppm, Konsentrasi timbal dalam kerang sebesar 0,20 mg/kg.
2.	Ineke sintya et al jurusan Biologi FMIPA. Universitas Hasanudin 2015.	Analisis kandungan logam berat (Cd) pada kerang darah (<i>Anadara granosa</i>) asal pasar Kerang Tanjung Di Makassar .	hasil analisis menunjukkan kandungan Cd kerang kecil <3 cm) tidak terdeteksi , ukuran >3 cm mengandung rata-rata Cd 0,2186 ppm.

Berdasarkan data originalitas penelitian diatas, dapat dibedakan antara penelitian yang dilakukan oleh kumalawati *et al*, hanya mengetahui dan mengkaji kadar Pb didalam air sungai, kerang darah dan sedimen. penelitian yang dilakukan oleh Ineke sintya *et al*, hasil analisis menunjukkan bahwa ukuran besar (kerang darah) yang rentang mengakumulasi logam dari pada yang berukuran kecil dan tidak melakukan uji analisa profil protein. Pada penelitian yang akan dilakukan adalah melihat dan menggambarkan total protein pada kerang darah yang sengaja dipajankan dengan larutan ion logam Pb^{2+} pada konsentrasi 0; 0,5; 4,0; 20 dan 40% ^{b/v}.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah (*Anadara granosa*) merupakan hewan moluska (binatang lunak) yang memiliki dua buah cangkang (bivalvia).

2.1.1 Klasifikasi kerang darah (*Anadara granosa*)

Kingdom : Animalia
Sub Kingdom : Metazoa
Filum : Mollusca
Kelas : Bivalvia
Sub Kelas : Pteriomorpha
Ordo : Arcoida
Super Famili : Arcoidea/ Aracea
Famili : Archidae
Genus : *Anadara*
Species : *Anadara granosa*



Gambar 1 kerang darah (*Anadara granosa*) (Anonim, 2016).

Kerang darah (*Anadara granosa*) merupakan salah satu jenis kerang yang terdapat di pantai laut pada substrat lumpur berpasir dengan kedalaman 1-30 m (Suwignyo *et al.*, 2005). Kerang darah disebut *Anadara granosa* karena kelompok kerang ini memiliki pigmen darah merah (haemoglobin) yang disebut *bloody cockles*. Kerang ini memiliki cairan haemoglobin yang berfungsi mengikat oksigen dalam daging kerang, sehingga kerang ini dapat hidup pada kondisi kadar oksigen yang relative rendah. Kerang darah masih bisa hidup setelah dipanen walaupun tanpa air (Nurjanah *et al* 2005).

2.1.2 Ciri - ciri kerang darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah memiliki cangkang yang lebih tebal, lebih kasar, lebih bulat dan bergerigi di bagian puncaknya serta tidak ditumbuhi oleh rambut-rambut (Suwignyo *et al.*, 2005), mempunyai 2 keping cangkang yang tebal, elips dan kedua sisi sama, cangkang berwarna putih ditutupi periostrakum yang berwarna kuning kecoklatan sampai coklat kehitaman, ukuran kerang dewasa 6-9 cm. Komposisi kimia kerang sangat bervariasi tergantung pada spesies, jenis kelamin, umur, dan habitat.

2.1.3 Kandungan gizi kerang darah (*Anadara granosa*)

Pada umumnya kerang kaya akan asam suksinat, asam sitrat, asam glikolat yang erat kaitannya dengan cita rasa dan memberikan energi sebagai kalori. Selain itu kerang juga mengandung enzim tiaminase dalam jumlah yang besar sehingga dapat merusak vitamin B1 bila dikonsumsi dalam keadaan mentah. Tiaminase dapat diinaktifkan dengan pemanasan atau pemasakan.

Tebel 2. Kandungan gizi kerang darah per 40 gram (Daluningrum 2009).

Kandungan gizi	Jumlah (%)
Protein	11,84
Lemak	0,60
Air	81,81
Kadar abu	2

2.1.4 Manfaat Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah merupakan salah satu jenis kerang yang bernilai ekonomis tinggi dan harganya terjangkau pada masyarakat. Kerang darah bermanfaat sebagai antioksidan dalam sistem pertahanan tubuh terhadap reaksi oksidasi radikal bebas. Kerang darah diduga memiliki komponen mineral tertentu yang berguna sebagai antioksidan, diantaranya adalah tembaga (Cu), zat besi (Fe), Seng (Zn) dan Selenium (Se). Cu dan Zn merupakan mineral penting pada berbagai sistem enzim dan hormon. Fe berperan penting untuk tubuh manusia. Apabila kekurangan Fe, maka akan menyebabkan anemia, sedangkan selenium merupakan mineral yang cukup esensial, sebagai enzim yang paling penting antioksidan. Kerang darah juga mengandung Ca yang berguna sebagai mineral untuk pembentukan tulang dan gigi terutama pada masa pertumbuhan dan ibu hamil (Nurjanah *et al* 2005).

2.2 Macam - macam logam berat

Logam berat dibagi dalam 2 jenis, yaitu:

1. Logam berat esensial, yakni logam dalam jumlah tertentu yang sangat dibutuhkan oleh organism, dalam jumlah yang berlebihan logam tersebut bisa menimbulkan

efek toksik, contohnya adalah Zn, Cu, Fe, Co, Mn dan lain sebagainya (Widowati, 2008).

2. Logam berat non esensial, yakni logam yang keberadaannya dalam tubuh masih belum diketahui manfaatnya, bahkan bersifat toksik, seperti Cd dan Pb, dan lain-lain.

2.2.1 Timbal (Pb)

Ekskresi plumbum di ginjal dapat mempengaruhi fungsi ginjal, mengingat ginjal merupakan suatu organ yang sangat penting untuk mengatur fungsi untuk mempertahankan volume, komposisi dan distribusi cairan tubuh serta mengeluarkan hasil metabolisme tubuh yang sudah tidak digunakan dan obat-obatan. Kerusakan pada ginjal membuat sampah metabolisme dan air tidak dapat lagi dikeluarkan. Dalam kadar tertentu, sampah tersebut dapat meracuni tubuh, kemudian menimbulkan kerusakan jaringan bahkan kematian. Penanganan pada kerusakan ginjal adalah transplantasi ginjal dan dialisis atau cuci darah. Dana yang dikeluarkan besar dan pengobatan dapat berjalan hingga seumur hidup, sehingga diperlukan alternatif lain untuk pencegahan kerusakan ginjal akibat paparan plumbum. Keracunan plumbum sangat berbahaya bagi kesehatan manusia (Lu, 2006).

Jika kandungan logam berat (Pb) dalam perairan naik sedikit demi sedikit, maka logam tersebut dapat diserap dalam jaringan tubuh organisme dari yang terkecil yang berperan sebagai produsen hingga organisme terbesar yang berperan sebagai

konsumen akhir rantai makanan seperti ikan, udang, kerang dan akhirnya tertimbun dalam jaringan hewan tersebut (Murtiani, 2003).

2.3 Analisis Profil Protein

Analisis protein adalah studi awal yang dapat membuka wawasan mengenai proses biologis yang akan diamati. Identifikasi level protein secara kuantitatif dapat diamati melalui profil protein yang berhasil diperoleh dari ekstraksi protein. Profil protein tersebut juga menggambarkan pola ekspresi level protein sehingga memungkinkan kita untuk menganalisis perbedaan ekspresi dari karakter- karakter yang berlawanan (Afrian, 2013).

Analisis protein didalam sel, didahului prosedur fraksinasi sel, yaitu pertama memisahkan sel dari jaringan, kedua menghancurkan sel untuk mengambil kandungan sitoplasma dan organelnya dan prosedur ketiga memisahkan organel- organel dan molekul penyusunnya. Prosedur pertama dan kedua dinamakan homogenasi. Homogenasi dapat dilakukan dengan menggunakan alat paling sederhana seperti homogenizer atau mortar, sampai dengan menggunakan alat yang paling mutakhir seperti vibrasi dan sonikasi. Pemilihan homogenizer ini tergantung dari bahan yang akan dihomogenasi (Widyarti, 2001).

Teknik analisis protein membutuhkan prosedur isolasi, yaitu memisahkan protein dari makromolekul yang lain atau memisahkan protein dengan sifat tertentu dari protein lain yang tidak diinginkan dalam analisis. Suatu teknik isolasi dan identifikasi protein harus mempertimbangkan sifat-sifat fisik, kimiawi, dan kelistrikan suatu

protein sedemikian rupa sehingga konformasi dan aktivitasnya tidak berubah (Widyarti, 2001).

2.4 SDS – PAGE

Prinsip dasar untuk menganalisa profil protein menggunakan SDS-PAGE diawali dengan melakukan preparasi sampel protein dengan melakukan isolasi protein sampel, elektroforesis SDS-PAGE dan analisa profil protein berdasarkan berat molekul (Ikawikanti *et al*, 2011).

Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamid Gel Eletrforesis (SDS-PAGE) adalah teknik untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuannya untuk bergerak dalam arus listrik, yang merupakan fungsi dari panjang rantai polipeptida atau berat molekulnya. Hal ini didapatkan dengan ditambahkan detergen SDS dan pemanasan untuk merusak struktur tiga dimensi pada protein dengan terlepasnya ikatan *disulfide* yang selanjutnya direduksi menjadi gugus sulfidhidril. SDS akan membentuk kompleks dengan protein dan kompleks ini bermuatan negatif karena gugus anionik dari SDS (Saputra 2015).

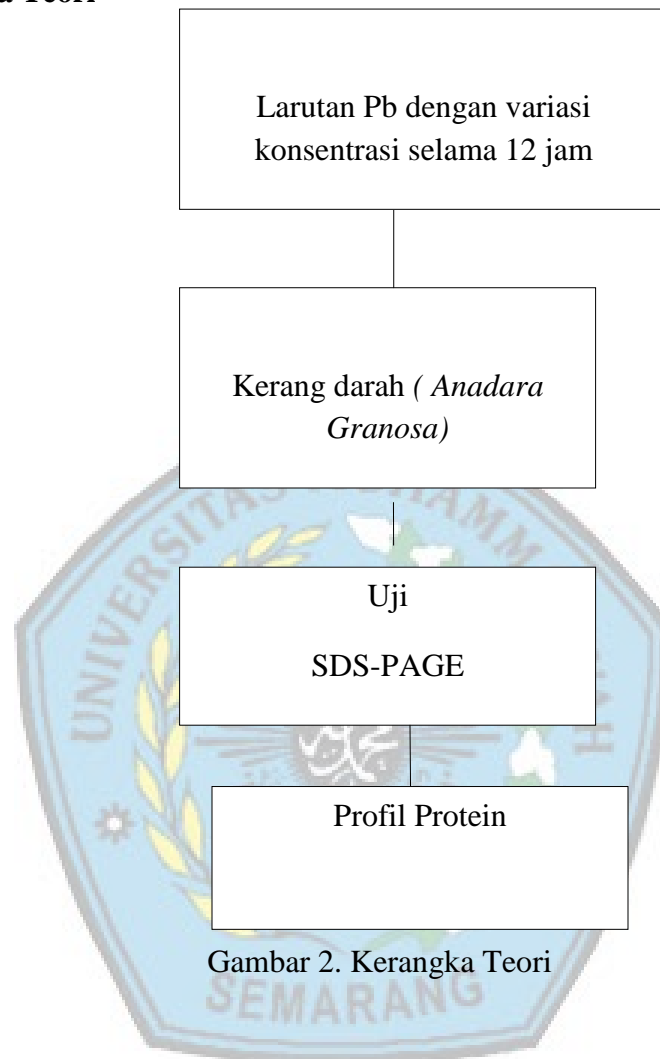
Dalam Westermeier (2004), elektroforesis merupakan suatu cara untuk memisahkan fraksi-fraksi suatu campuran berdasarkan atas pergerakan partikel koloid yang bermuatan dibawah pengaruh medan listrik. Cara electroforesis telah digunakan untuk analisa virus, asam nukleat, enzim dan protein lain, serta molekul-molekul organic dengan berat molekul rendah seperti asam amino. SDS adalah detergen anionik yang dapat melapisi protein, sebagian besar *sebaning* dengan berat molekulnya, dan memberikan muatan listrik negatif pada semua sampel. Protein

glikolisis mungkin tidak bermigrasi karena diharapkan migrasi protein lebih didasarkan pada berat molekul dan rantai polipeptidanya bukan gula yang melekat. (Westermeier, 2004).

SDS berfungsi untuk mendenaturasi protein karena SDS bersifat sebagai deterjen yang mengakibatkan ikatan dalam protein terputus membentuk protein yang dapat terelusi dalam gel. SDS dapat mengganggu konfirmasi spesifik protein dengan cara melarutkan molekul hidrophobik yang ada di dalam struktur tersier polipeptida. SDS mengubah semua molekul protein kembali kestruktur primernya (struktur linear) dengan cara merenggangkan gugus utama polipeptida, dan menyelubungi setiap molekul protein dengan muatan negatif. (Westermeier, 2004).

Analisa menggunakan SDS-PAGE ini gel poliacrilamid yang digunakan terdiri dari dua yaitu stacking gel dan resolving gel. Stacking gel berfungsi sebagai gel tempat meletakkan sampel, sedangkan resolving gel merupakan tempat dimana protein akan berpindah bergerak menuju anoda. Stacking gel dan resolving gel memiliki komposisi yang sama yang membedakan hanya konsentrasi gel polyacrilamid pembentuknya, dimana stacking gel lebih rendah daripada resolving gel. (Westermeier, 2004)

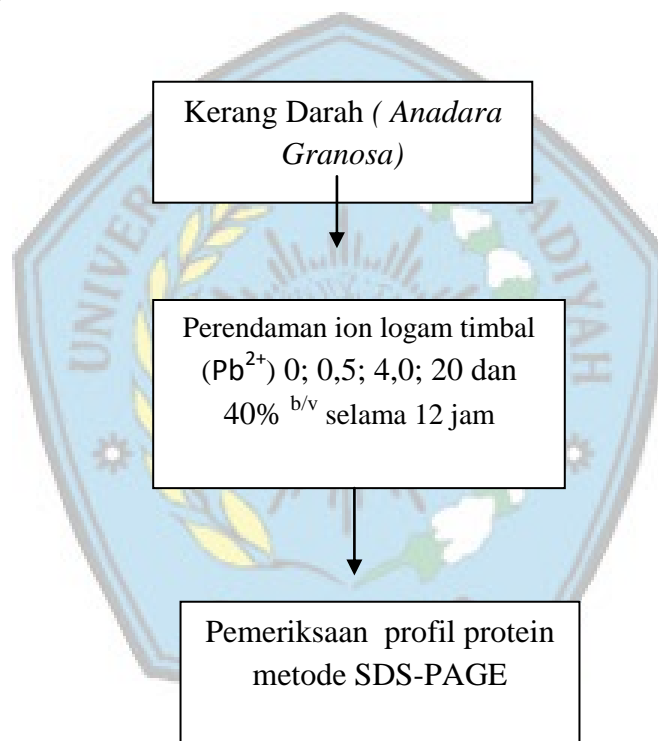
2.7 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

2.8 Kerangka konsep

Kerangka konsep dalam penelitian ini yaitu daging kerang darah yang diambil dari pasar kobong, JL. Bundel, Rejomulyo. Selanjutnya akan dilakukan perendaman dengan ion logam timbal (Pb^{2+}) dengan variasi konsentrasi $0; 0,5; 4,0; 20$ dan $40\% \text{ b/v}$ selama 24 jam. lalu dilanjutkan dengan SDS-PAGE untuk melihat karakteristik profil protein.



Gambar 3. Kerangka konsep

2.9 Hipotesis

“Ada pengaruh perendaman dengan berbagai variasi konsentrasi timbal (Pb^{2+}) terhadap profil protein Kerang darah (*Anadara granosa*)”.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian deskriptif.

3.2 Objek Penelitian

Adalah kerang darah (*Anadara granosa*) yang diperoleh dari pasar Kobong, JL. Bundel, Rejomulyo.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat penelitian di laboratorium kimia dan Laboratorium Biologi Molekuler Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang Jalan. Kedungmundu Raya No.18

3.3.2 Waktu penelitian

Penelitian telah dilaksanakan selama bulan Agustus 2016.

3.4 Bahan dan Alat

3.4.1 Bahan

Bahan yang akan digunakan adalah kerang darah, $Pb(NO_3)_2$, acrylamide dan bisacrylamid (electrophoresis grade), TEMED, APS, Bromophenol Blue, Coomassie Brilliant Blue, PBS.

3.4.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: wadah plastic, pisau, pinset, cawan porselen, neraca analitik, sendok tanduk, Chamber elektroforesis,

mikro pipet, power supply, vortex, sarung tangan, tempat buang cairan biologis, sentrifus, *water bath*, *yellowtip*, *bluetip*, *whitetip*, erlenmeyer dan rotator, alat penggerus, spektrofotometer, beaker glass erlenmeyer.

3.5 Prosedur penelitian

3.5.1 Pembuatan larutan Pb (NO₃)₂ 0% sebanyak 50 ml

Di masukan aquades 50 ml didalam beker glass tanpa penambahan Pb (NO₃)₂.

3.5.2 Pembuatan larutan Pb(NO₃)₂ 0,5% sebanyak 50 ml

Ditimbang Pb (NO₃)₂ 0,25 g dan dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan 50 ml, diaduk dan dihomogenkan.

3.5.3 Pembuatan larutan Pb (NO₃)₂ 4% sebanyak 50 ml

Ditimbang Pb (NO₃)₂ 2 g dan dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan 50 ml, diaduk dan dihomogenkan.

3.5.4 Pembuatan larutan Pb (NO₃)₂ 20% sebanyak 50 ml

Ditimbang Pb (NO₃)₂ 10 g dan dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan 50 ml, diaduk dan dihomogenkan.

3.5.5 Pembuatan larutan Pb (NO₃)₂ 40% sebanyak 50 ml

Ditimbang Pb (NO₃)₂ 20 g dan dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan 50 ml, diaduk dan dihomogenkan.

3.6 Perendaman Kerang darah (*Anadara granosa*) dengan ion Pb (NO₃)₂

Langkah awal perendaman kerang darah adalah pemilihan bahan kerang darah. Sampel kerang darah yang dipilih adalah yang segar dan masih dalam keadaan hidup (cangkang terbuka, tidak berlendir pada sekeliling cangkang dan tidak mengeluarkan aroma tak sedap) berukuran besar (panjang 5-6 cm dan lebar 4-5 cm). Langkah berikutnya adalah memisahkan antara daging dan cangkang lalu dicuci dengan air mengalir agar kerang darah benar-benar bersih. Kerang darah yang telah dicuci ditiriskan dalam wadah keranjang plastik. Kemudian kerang darah ditimbang 20 g, dipindahkan ke wadah penampung untuk dilakukan proses perendaman. Kerang darah diletakkan dalam wadah yang telah disediakan, kemudian masing-masing wadah ditambahkan larutan ion Pb(NO₃)₂ konsentrasi 0; 0,5; 4,0; 20 dan 40 %^{b/v} hingga semua kerang darah terendam, kemudian didiamkan selama 12 jam. Setelah itu kerang darah diangkat dari wadah perendaman kemudian dicuci dan ditiriskan setelah itu dimasukkan didalam mortal untuk dihaluskan.

3.7 Total protein daging kerang darah

Sampel daging Kerang darah 20 g yang direndam menggunakan larutan Pb(NO₃)₂ konsentrasi 0, 0,5, 4,0, 20, dan 40 % selama 12 jam, kemudian kerang darah diambil dan dihaluskan dalam cawan mortir, setelah itu ditambahkan PBS pH 7,4 dengan perbandingan 1: 2 (20 gram : 40 µl PBS pH 7,4) lalu dihomogenkan. Kerang darah yang telah dihaluskan kemudian disimpan semalaman pada suhu 4 °C

setelah itu dimasukan kedalam mikrotube sebanyak 1500 µl lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Kerang darah yang telah disentrifus diambil supernatannya, supernatan tersebut adalah protein. Pengukuran konsentrasi protein, dilakukan dengan pembuatan blangko 1000 µl menggunakan 800 µl aquades ditambahkan 200µl reagen biorad, kemudian untuk sampel 1000 µl menggunakan supernaten dari kerang darah yang diambil sebanyak 2 µl lalu ditambahkan dengan aquades 798 µl dan reagen biorad sebanyak 200 µl lalu dihomogenkan dan diinkubasi selama 5 menit kemudian dibaca menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm untuk mendapatkan absorbansi total proteinya.

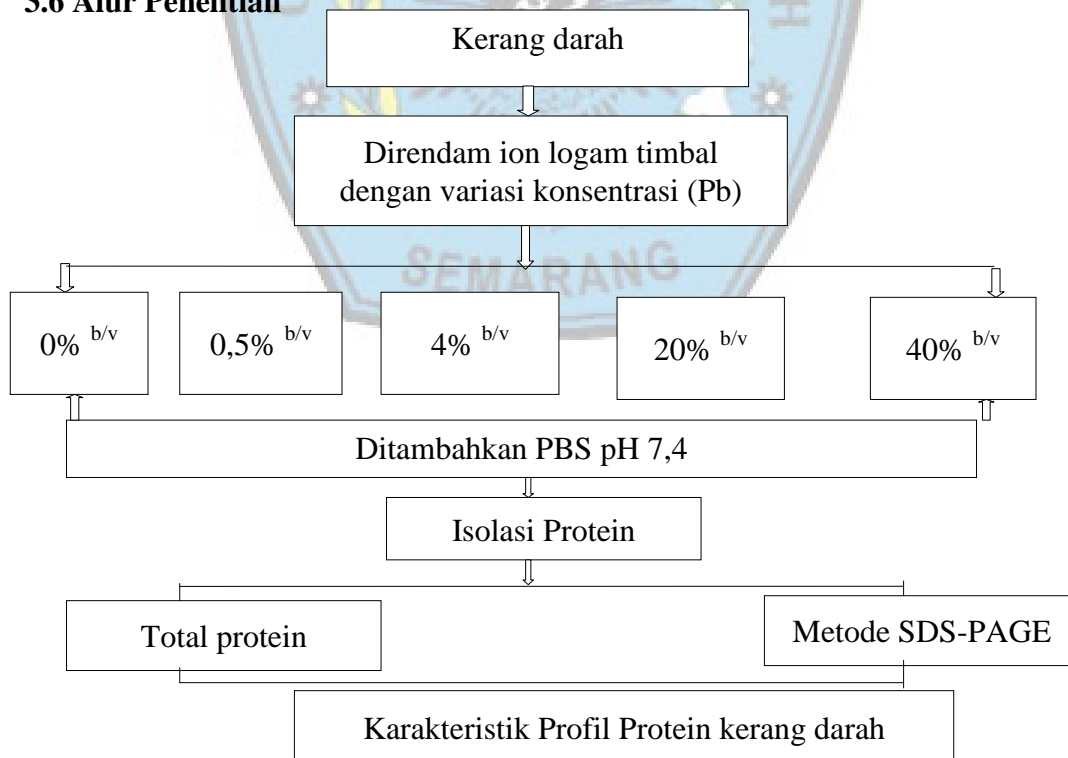
3.8 Separasi Protein kerang darah SDS-PAGE(*Sodium Dodecyl Sulphat Poliacrylamid Gel Electrophoresis*).

Menurut metode Laemmli (1970), disiapkan glassplate, sisir, dan spaser yang telah dibersihkan menggunakan detergen dan alkohol 70% untuk pencetak gel. Setelah alat pencetak gel disiapkan, dimasukkan separating gel yang telah dibuat dalam alat pencetak gel, ditunggu hingga polimerisasi. Selanjutnya masukkan stacking gel diatas separating gel dengan cepat, dimasukkan sisir diatasnya. ditunggu hingga terjadi polimerisasi. Diangkat sisir dari atas stacking gel secara perlahan.

Setelah terjadi polimerisasi kemudian dimasukkan dalam alat elektroforesis, dimasukkan running buffer kedalamnya, dipanaskan selama 15 menit dengan dialirkan listrik dari alat SDS-PAGE, dimasukkan sampel dalam sumuran yang telah

disediakan 20 μ l, dialirkan listrik dengan tegangan 40 volt, setelah *bromophenol blue* mencapai dasar stacking gel ditambah tegangan menjadi 200 volt, dihentikan aliran listrik setelah *bromophenol blue* mencapai dasar separating gel. Dikeluarkan gel dari alat pencetak secara perlahan, kemudian dimasukkan dalam larutan pewarna dengan 0,1% *Commasie Brilliant Blue R-250* selama 30 – 60 menit hingga pita protein terwarnai. Selanjutnya untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak mengandung protein diberi larutan destaining, larutan destaining diganti 3 – 4 kali hingga gel tampak bersih. Kemudian untuk menentukan berat molekul protein yang diinginkan dihitung menggunakan Rf dan diplotkan pada grafik logaritmik dari Rf marker protein yang berat molekulnya telah diketahui.

3.6 Alur Penelitian



Gambar 4 Alur Penelitian

3.7 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah non *probability sample* yaitu *purposive sampling*

3.8 Variabel Penelitian

3.8.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini yaitu variasi konsentrasi ion logam timbal (Pb)

3.8.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu profil protein kerang darah.

3.9 Definisi Operasional

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini dapat di definisi sebagai berikut:

Tabel 3 Defenisi Oprasional

Variabel	Pengertian
Kerang darah	Daging yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kerang darah (<i>Anadara granosa</i>) yang direndam dengan ion logam timbal (Pb)
Profil protein Kerang darah	Profil sub-sub unit protein yang menyusun protein Kerang darah yang diperoleh dengan cara Elektroforesis yang dinyatakan dalam satuan kDa.

3.10 Teknik Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer dan hasil penelitian disajikan dalam bentuk narasi.

3.11 Pengolahan Data

Data hasil penelitian ditabulasikan, diolah dan disajikan secara deskriptif.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Gambaran Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kerang darah yang diperoleh dari pasar Kobong, JL. Bundel, Rejomulyo yang merupakan pusat pelelangan hasil laut daerah Semarang Jawa Tengah. Kerang darah mula-mula direndam dalam larutan $Pb(NO_3)_2$ dengan konsentrasi berturut-turut yaitu 0; 0,5; 4,0; 20 dan 40 % selama 12 jam. Setelah proses perendaman kemudian kerang darah ditiriskan dan dianalisis profil proteinya secara elektroforesis menggunakan metode SDS-PAGE.

4.2 Analisis Total Protein Secara Spektrofotometri

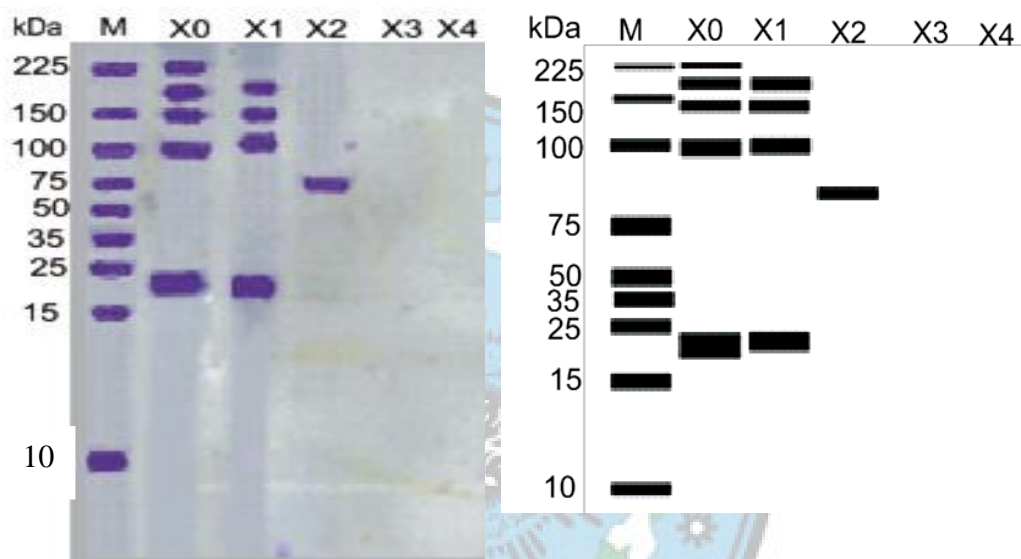
Hasil isolasi total protein Kerang darah yang direndam pada berbagai konsentrasi berdasarkan pengukuran absorbansi ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Konsentrasi $Pb(NO_3)_2$ pada Kerang darah, absorbansi dan total protein

Konsentrasi $Pb(NO_3)_2$	Absorbansi	Kadar protein dalam $\mu\text{g}/\mu\text{l}$
0%	0,953	20,83
0,5%	0,807	17,69
4%	0,703	15,45
20%	0,401	8,96
40%	0,378	8,46

4.3 Hasil Analisis Profil Total Protein Pada Kerang Darah

Analisis Profil total protein dilakukan dengan metode SDS-PAGE terhadap kerang darah yang direndam $Pb(NO_3)_2$ pada konsentrasi 0, 0,5, 4,0 b, 20 dan 40 % selama 12 jam menunjukkan hasil sebagaimana ditampilkan pada gambar 5.



Gambar 5. Hasil elektroforesis dan visualisasi SDS-PAGE Kerang darah yang direndam $Pb(NO_3)_2$. M(marker), X0 (Pb 0%), X1(Pb 0,5%), X2 (Pb 4%), X3 (Pb20%), dan X4 (40%).

4.4 Analisis Protein Pada Kerang Darah

Kerang darah yang telah direndam $Pb(NO_3)_2$, dipisahkan dengan metode Ehara (Darmawati *et al*, 2010), kemudian diseparasi dengan SDS-PAGE 12% dan diwarnai dengan *Coomasie Brilliant Blue* (CBB). Menurut Gunanti (2010) penentuan berat molekul (BM) protein dilakukan dengan menghitung Rf (*Retardation factor*) dari masing-masing pita (*ban*) protein dengan rumus sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

Menurut standar pewarnaan CBB tersebut, diperoleh harga Rf dengan Marker yang telah diketahui sebagaimana ditunjuk pada tabel 5 & 6.

Tabel 5. Berat Molekul Protein Marker, Rf Marker (Darmawati, 2005).

Marker(Dalton)	Rf Marker
225	0,6
150	1,0
100	1,7
75	2,2
50	3,3
35	3,6
25	4,2
15	4,7
10	7,2

Tabel 6. Rf dan Berat Molekul (BM) berbasis SDS-PAGE Sampel kerang Darah yang di rendam $Pb(NO_3)_2$ selama 12 jam berdasarkan variasi konsentrasi

Kode	Variasi Konsentrasi $Pb(NO_3)_2$ (%b/v)	Rf	BM
X0	0%	0,5	225
		0,8	209
		1,3	128
		1,6	100
		3,6	59
X1	0,5	0,3	225
		0,6	225
		1,0	179
		3,7	38
X2	4	1,6	106
X3	20	-	-
X4	40	-	-

Keterangan : Untuk mengetahui berat Molekul Kerang darah (BM), Rf yang sudah diketahui nilainya diplotkan pada grafik logaritmik dengan BM (Marker) yang sudah diketahui nilainya.

4.5 Pembahasan

Kerang darah (*Anadara granosa*) sangat dikenal oleh masyarakat sebagai makanan sumber protein dengan harga yang ekonomis dan rasa yang gurih, selain itu kerang darah menguntungkan para penambang karena paling mudah untuk dibudidayakan. Kerang darah baik untuk dikonsumsi masyarakat terutama para ibu hamil maupun anak-anak karena rasa yang lezat dan kaya akan protein. Namun perlu diwaspadai bahwa kerang sebagai salah satu makanan yang berasal dari laut sangat rentan terpajan oleh logam berat salah satunya adalah timah hitam yang berasal dari pembuangan limbah oleh pabrik atau industri.

Paparan logam berat timbal (Pb) dapat menyebabkan denaturasi protein karena mengalami perubahan karakteristik pola pita protein total (kumalawati., *et al* 2008). Menurut Wibowo (2010) protein-protein tersebut dapat terpisah karena adanya proses separasi. Molekul-molekul dari protein akan bermigrasi dari kutub negatif menuju kutub positif yang dibantu dengan adanya aliran listrik. Pemisahan molekul protein berdasarkan tingkat migrasi dan berat molekulnya dalam sebuah medan listrik.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa sampel kerang darah yang tidak direndam dengan $Pb(NO_3)_2$ (0%), yang berfungsi sebagai kontrol atau *pembaning* pola pita protein memberikan hasil pita protein mayor dengan berat

molekul 59 kDa serta terdapat 4 pita-pita protein yang lebih tipis dari pita mayor, yaitu yang setara dengan berat molekul kDa 225 kDa, 209 kDa, 128 kDa dan 100 kDa.

Pada sampel kerang darah yang direndam dengan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 0,5%, hasil SDS-PAGE menunjukkan satu pita protein tebal dengan berat molekul 38 kDa serta terdapat 3 pita protein tipis lebih kecil dibandingkan dengan kontrol, dengan berat molekul 225 kDa, 225 kDa, 179 kDa. Beberapa protein yang hilang dari konsentrasi 0,5% yaitu BM 209 kDa, 128 kDa, 100 kDa. Besar kemungkinan bahwa dalam konsentrasi ini kandungan protein dan penyusun sampel kerang darah seperti asam amino esensial mengalami penurunan, dalam kondisi yang lain juga menunjukkan aktivitas perubahan bentuk, dapat dilihat dengan adanya karakter yang menunjukkan konsistensi bentuk setelah perendaman daging sampel kerang darah tidak lagi menunjukkan karakteristik yang normal karena daging sampel sebelum perendaman berwarna merah terang, setelah dilakukan perendaman berubah menjadi pucat. Dari hasil tersebut kemungkinan kandungan nutrisi sampel kerang darah terutama proteinya mengalami penurunan.

Pada konsentrasi 4% hanya terdapat satu pita protein lebih tipis bahkan hampir tidak terdeteksi, *ban* tersebut memiliki berat molekul (BM) 106 kDa. Pita protein yang hilang diantaranya pada berat molekul (BM) seperti 225 kDa, 209 kDa, 179 kDa, 128 kDa dan 100 kDa. Keadaan ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi tersebut kemungkinan besar protein kerang darah hampir terdenaturasi seluruhnya, walaupun masih menunjukkan satu *ban* yang tersisa ada kemungkinan

hampir keseluruhan kandungan yang bermanfaat bagi tubuh dalam sampel kerang darah hilang seperti protein, keadaan ini bila sampel kerang darah terpajan dalam konsentrasi yang tinggi dapat memberikan kondisi negatif dan jika dikonsumsi maka akan berdampak pada kelangsungan hidup organisme.

Hasil yang sangat berbeda pada sampel kerang darah yang direndam dengan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dengan konsentrasi 20% dan 40% yaitu tidak terlihatnya pola pita protein karena sampel kerang darah sudah terdenaturasi sempurna oleh $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Maka besar kemungkinan dalam konsentrasi tersebut kandungan sampel kerang darah hilang seperti protein.

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini secara umum sejalan dengan hasil yang dilaporkan oleh Kumalawati., *et al* pada tahun 2008 bahwa paparan logam berat timbal (Pb) dapat menyebabkan denaturasi protein dengan mengalami perubahan karakteristik pola pita protein total.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai profil protein kerang darah yang direndam dengan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ pada konsentrasi konsentrasi 0, 0,5 , 4,0 , 20 dan 40 % selama 12 jam berbasis SDS-PAGE didapatkan kesimpulan bahwa hasil pita protein mayor pada sampel kerang darah sebelum direndam dengan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (0%) dengan berat molekul 59 kDa dan setelah direndam dengan konsentrasi 0,5% memiliki berat molekul (BM) 38 kDa, serta pita-pita protein tipis (minor) 0% dengan berat molekul 225 kDa, 209 kDa, 128 kDa, 100 kDa. Konsentrasi 0,5% berat molekul 225 kDa, 225 kDa, 179 kDa. Pada konsentrasi 4% mulai terjadi denaturasi protein dengan menunjukkan satu pita protein yang tampak minor dengan berat molekul (BM) 106 kDa sedangkan pada kerang darah yang direndam $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dengan konsentrasi 20% dan 40% mulai terjadi kerusakan total pita protein dengan tidak terlihatnya pita protein hal ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi tersebut protein kerang darah telah terdenaturasi sempurna.

5.2 Saran

1. Dapat dilakukan penelitian dengan konsentrasi timbal (Pb) yang lebih rendah dari 5000 ppm dan dengan lama perendaman timbal (Pb) kurang dari 12 jam.
2. Masyarakat disarankan untuk tetap waspada dan lebih berhati - hati memilih makanan laut khususnya kerang – kerangan (kerang darah) yang posisinya di

perairan yang dekat dengan industri dan tetap menjadi masyarakat konsumtif yang lebih memilih keamanan dari suatu bahan makanan.

3. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis secara molekuler protein pada jenis kerang lainnya seperti kerang hijau, kerang bulu. Dipasar tradisional sehingga dapat diketahui profil proteinya.



DAFTAR PUSTAKA

- Afrian, DS. 2013. *Pengembangan Transmission Blocking Vaccine (TBV) Terhadap Malaria Berbasis Saliva Vektor: Spesifikasi Profil Protein Kelenjar Saliva Vektor*. Universitas Jember
- Darmawati, S dan Haribi, R. 2005. *Analisis Molekuler Protein Hemaglutinin Sub Unit Pilli dari Salmonella thypi O dan Salmonella thipy H penyebab Salmonellosis*. Laporan Penelitian Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Gunanti. 2010. *Karateristik Protein Lernaea cyprenacea dengan Metode Elektroforesis SDS-PAGE*. Fakultas perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga Surabaya. Jurnal Ilmial perikanan dan Kelautan Vol.2 No.2
- Ikawikanti, A, Masdiana. C, Dyah, A. 2011. *Isolasi dan Karakterisasi Salmonella spp pada Lingkungan Peternakan Ayam Broiler di Kota Malang*. Pendidikan Dokter Hewan Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
- Jolane Abrams, 2004 DNA, RNA and protein: life at is simplest. <http://www.postmodern.com/-jka//rnaworld/nfrna/nfrna defed.html>.
- Kumalawati, Setyono P dan Sunarto. 2008. *Kandungan logam berat timbal (pb), karakteristik Pola pita protein total dan kandungan protein Kerang air tawar (anodonta woodiana lea.) Di sungai serang Hilir waduk kedungombo. jilid 1*.Surakarta: Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sebelas maret University, Surakarta
- Kamiya T, Miyukigaoka, Shi T, Ibaraki. 2002. Biological functions and health benefits of amino acids. *Food and Food Ingredients Journal* 68(3): 206-24.
- Lu, Frank C. 2006. *Toksikologi dasar Asas, Organ Sasaran, Dan Penilaian Risiko*. Jakarta:UI-Press
- Murtiani, L. 2003. Analisis Kadar Timbal (Pb) Pada Ekstrak Kerang Darah (*Anadara granosa* L) Di Muara Tambak Oso Sedati-Sidoarjo. Skripsi tidak dipublikasikan. Surabaya : Universitas Negeri Surabaya.
- Nurjanah, Zulhamsyah dan Kustiyariyah. 2005. *Kandungan mineral dan proksimat kerang darah (Anadara granosa) yang diambil dari kabupaten boalemo, gorontalo*. Buletin Teknologi Hasil Perikanan. Vol 8 . (2). :1-4
- Sintya , I., Litaay, M., Ferial, EW., Ambeng. 2015. Analisis kandungan logam berat Kadmium (Cd)Pada Kerang darah *Anadara granosa* L. Asal pasar kerang Tanjung Di Makassar. *submit to jurnal sainsmat*. VOL 9 (2) .(1-9)

- Suwignyo,S.,Widigdo,B.,Wardiatno,Y.,dan Krisanti,M. 2005. *Avetebrata air untuk mahasiswa perikanan* Jilid 2. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor
- Suwignyo, Sugiarto. 2005. *Avetebrata Air . Jilid 1*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Saputra, 2015.Fahrur Rahman. Aplikasi Metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) untuk Mengidentifikasi Sumber Gelatin pada Kapsul Keras.
- Wibowo, M. S. 2010. *Elektroforesis*. Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung
- Widyarti, S. 2001. *Prinsip Dasar Analisis-Biologi Molekuler*. Penerbit Erlangga. Jakarta
- Westermeier. 2004. *Electrophoresis in Practice: A Guide to Theory and Practice*. New Jersey: John Wiley & Sons inc. Inggris



Lampiran 1. Pembuatan media elektrofresis SDS-PAGE

A. Pembuatan larutan *Buffer Elektroda*

Bahan	Banyak
<i>Glysin</i>	14,4 gram
<i>Tris</i>	3 gram
<i>SDS</i>	1 gram
dH ₂ O	1000 ml

Cara membuat

Glysin, *tris* dan *SDS* dicampurkan kedalam erlenmeyer sampai tanda batas 1000 ml dengan aquades (dH₂O) steril

B. Pembuatan *SDS* 10% b/v

Cara membuat

10 gram *SDS* yang telah ditimbang dilarutkan n kedalam 100 ml aquades (dH₂O) steril

C. Pembuatan *APS* 10%

Bahan	Banyak
<i>APS</i>	0,1 gram
dH ₂ O	1 ml

Cara membuat

APS yang telah ditimbang dilarutkan n kedalam 1 ml aquades (dH₂O) steril

D. Pembuatan larutan *Separating Gel* 10% sebanyak 15 ml

Bahan	Banyak
<i>Polyacrylamid</i>	6000 µl
1,5 M <i>Tris</i> Ph 8,8	3750 µl
10% <i>SDS</i>	150 ml
dH ₂ O	4925 µl
<i>Temed</i>	10 µl
<i>APS</i> 10 %	135 µl

Cara membuat

Poliacrylamid, M *Tris* Ph 8,8 dicampur sampai homogen dan segera diisi pada plat kaca

E. Pembuatan larutan *Stacking Gel* sebanyak 5 ml

Bahan	Banyak
<i>Polyacrylamid</i> 30 %	833 μ l
1,5 M <i>Tris</i> Ph 6,8	630 μ l
10% <i>SDS</i>	20 μ l
dH20	3377 μ l
<i>Temed</i>	20 μ l
APS 10 %	90 μ l

Cara membuat

Poliacrylamid, M *Tris* Ph 6,8 dicampur sampai homogen dan segera diisi pada plat kaca.

F. Pembuatan larutan destaining sebanyak 500 ml

Bahan	Banyak
<i>Methanol</i>	250 ml
<i>acetid acid glacial</i>	50 ml

Cara membuat :

Methanol , *acetid acid glacial* dicampur sampai homogen dan disimpan dalam botol tertutup.

G. Pembuatan larutan staining 0,2% sebanyak 50 ml

Bahan	Banyak
<i>Comasiebriilian blue</i>	0,1 gram
Larutan destaining	50 ml

Cara membuat :

Comasiebriilian blue, Larutan destaining dicampur sampai homogen dan disimpan dalam botol tertutup.

Lampiran 2. Pembuatan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ menjadi 0,5, 4,0, 20 dan 40 % ^{b/v}

A. Pembuatan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ konsentrasi 0,5 % sebanyak 50 ml

$$\frac{0,5}{100} \times 50 = 0,25 \text{ gram}$$

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ sebanyak 0,25 gram dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan 50 ml dicampur dan dihomogenkan

B. Pembuatan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ konsentrasi 4 % sebanyak 50 ml

$$\frac{4}{100} \times 50 = 2 \text{ gram}$$

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ sebanyak 2 gram dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan 50 ml dicampur dan dihomogenkan

C. Pembuatan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ konsentrasi 20 % sebanyak 50 ml

$$\frac{20}{100} \times 50 = 10 \text{ gram}$$

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ sebanyak 10 gram dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan 50 ml dicampur dan dihomogenkan

D. Pembuatan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ Konsentrasi 40 % Sebanyak 50 ml

$$\frac{40}{100} \times 50 = 20 \text{ gram}$$

$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ sebanyak 20 gram dilarutkan dengan aquades sampai volume larutan 50 ml dicampur dan dihomogenkan.

Lampiran 3. Konsentrasi Total Protein Kerang Darah

Pembacaan pada spektrofotometer

Blangko : 800µl Aquades + 200 µl Biorad

Sampel : 798µl Aquades + 2 µl sampel + 200 µl Biorad

Absorbansi pada spektrofotometer

Rumus : $y = 0,465x - 0,0157$

Keterangan : X = konsentrasi protein ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)

Y = Absorbansi λ 595 nm

1. Konsentrasi protein kerang darah $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 0%

Absorbansi = 0,953

$$Y = 0,465x - 0,0157$$

$$X = \frac{y+0,0157}{0,465} = \frac{0,953+0,0157}{0,465} = 20,83 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

2. Konsentrasi protein kerang darah $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 0,5%

Absorbansi = 0,807

$$Y = 0,465x - 0,0157$$

$$X = \frac{y+0,0157}{0,465} = \frac{0,807+0,0157}{0,465} = 17,69 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

3. Konsentrasi protein kerang darah $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 4%

Absorbansi = 0,703

$$Y = 0,465x - 0,0157$$

$$X = \frac{y+0,0157}{0,465} = \frac{0,703+0,0157}{0,465} = 15,45 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

4. Konsentrasi protein kerang darah $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 20%

Absorbansi = 0,401

$$Y = 0,465x - 0,0157$$

$$X = \frac{y+0,0157}{0,465} = \frac{0,401+0,0157}{0,465} = 8,96 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

5. Konsentrasi protein kerang darah $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 40%

Absorbansi = 0,378

$$Y = 0,465x - 0,0157$$

$$X = \frac{y+0,0157}{0,465} = \frac{0,378+0,0157}{0,465} = 8,46 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$



Lampiran 4. Nilai RF Marker , RF Dan BM Sampel

Perhitungan Rf Marker

Rf dihitung dengan rumus

$$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

A. Nilai Rf Marker

1. Marker 1 225 kDa : $\frac{0,6 \text{ mm}}{8 \text{ mm}} = 0,07$

2. Marker 2 150 kDa : $\frac{1,0 \text{ mm}}{8 \text{ mm}} = 0,12$

3. Marker 3 100 kDa : $\frac{1,7 \text{ mm}}{8 \text{ mm}} = 0,21$

4. Marker 4 75 kDa : $\frac{2,2 \text{ mm}}{8 \text{ mm}} = 0,27$

5. Marker 5 50 kDa : $\frac{3,3 \text{ mm}}{8 \text{ mm}} = 0,41$

6. Marker 6 35 kDa : $\frac{3,6 \text{ mm}}{8 \text{ mm}} = 0,45$

7. Marker 7 25 kDa : $\frac{4,2 \text{ mm}}{8 \text{ mm}} = 0,52$

8. Marker 8 15 kDa : $\frac{4,7 \text{ mm}}{8 \text{ mm}} = 0,58$

9. Marker 9 10 kDa : $\frac{7,2 \text{ mm}}{8 \text{ mm}} = 0,9$

B. BM Sampel 0%

1. *Ban* 1 : 225 kDa2. *Ban* 2 : 224 kDa3. *Ban* 3 : 223 kDa4. *Ban* 4 : 139 kDa

5. *Ban 5* : 68 kDa

C. BM Sampel 0,5%

1. *Ban 1* : 211 kDa

2. *Ban 2* : 224 kDa

3. *Ban 3* : 150 kDa

4. *Ban 4* : 123 kDa

D. BM Sampel 4%

1. *Ban 1* : 198 kDa

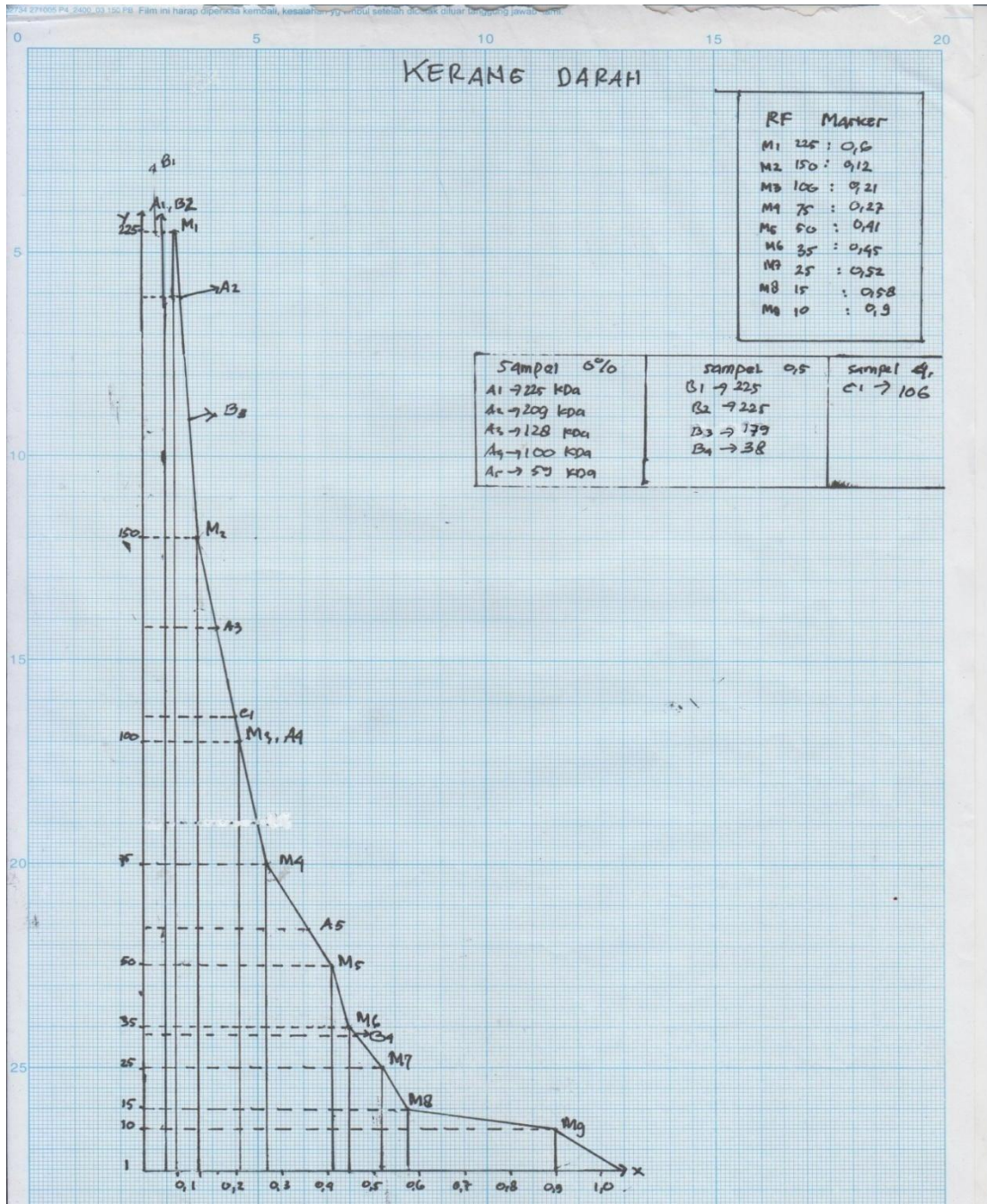
E. BM Sampel 20% dan 40%

Tidak terdeteksi.



Lampiran 5. Grafik logaritmik untuk mengetahui BM Sampel Kerang darah

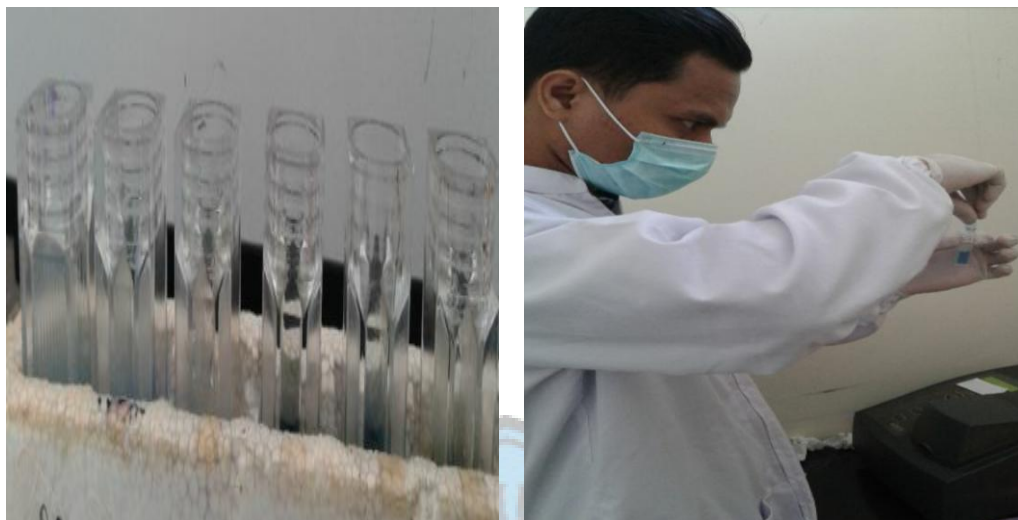
Dari Rf Sampel yang diketahui, hasil diplotkan ke grafik yang dibuat dari Rf dan BM Marker. Didapatkan data sebagai berikut:



Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

Gambar 1. Perendaman dengan $Pb(NO_3)_2$ gambar 2. Penggerusan sampel

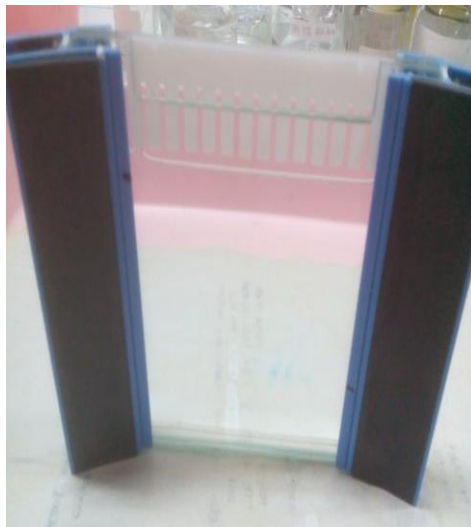
Gambar 3. Sampel siap disentrifus



Gambar 4. Pembacaan protein pada spektrofotometer



Gambar 5. Reagen untuk SDS-PAGE



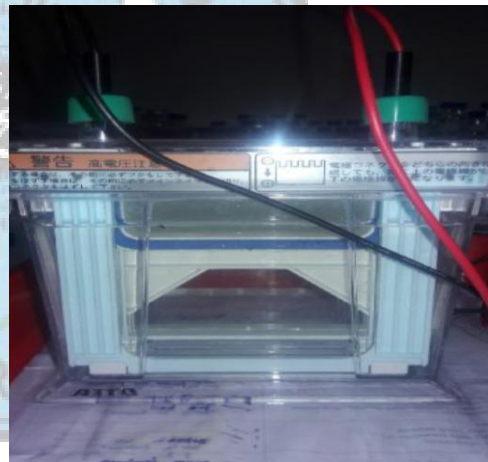
Gambar 6. Plat kaca dan Sisir gel



gambar 7. memasukan *Separating gel* dan *Stacking gel*



A . Power Suply



B. Chamber Elektroforesis

Gambar 8. Running SDS-PAGE

