



**PROFIL PROTEIN BERBASIS SDS-PAGE PADA KERANG
DARAH DAN KERANG HIJAU YANG DIRENDAM
DENGAN VARIASI KONSENTRASI DAN LAMA
PERENDAMAN LARUTAN ASAM ASETAT**



Rifandi Baco

G1C217256

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
2018**

PERNYATAAN PERSETUJUAN

Manuscript dengan judul

PROFIL PROTEIN BERBASIS SDS-PAGE PADA KERANG DARAH DAN KERANG HIJAU YANG DIRENDAM DENGAN VARIASI KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN LARUTAN ASAM ASETAT

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Semarang, Oktober 2018

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I



Dr. Ana Hidayati Mukaromah, M.Si
NIK. 28.6.1026.038

Pembimbing II



Aprilia Indra Kartika, S.Pd., M.Biotech
NIK. 28.6.1026.354

**SURAT PERNYATAAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Yang bertandatangan dibawah ini, saya:

Nama : Rifandi Baco
NIM : G1C217256
Fakultas/Jurusan : FIKKES/DIV Analis Kesehatan
Jenis Penelitian : SKRIPSI
Judul : PROFIL PROTEIN BERBASIS SDS-PAGE PADA
KERANG DARAH DAN KERANG HIJAU YANG
DIRENDAM DENGAN VARIASI KONSENTRASI
DAN LAMA PERENDAMAN LARUTAN ASAM
ASETAT
Email : difandi16@gmail.com

Dengan ini menyatakan bahwa saya menyetujui untuk:

1. Memberikan hak bebas royalti kepada Perpustakaan Unimus atas penulisan karya ilmiah saya, demi pengembangan ilmu pengetahuan
2. Memberikan hak menyimpan, mengalih mediakan/mengalih formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, serta menampilkannya dalam bentuk *softcopy* untuk kepentingan akademis kepada Perpustakaan Unimus, tanpa perlu meminta ijin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta
3. Bersedia dan menjamin untuk menanggung secara pribadi tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Unimus, dari semua bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran hak cipta dalam karya ilmiah ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Semarang, Oktober 2018
Yang menyatakan



Rifandi Baco
G1C217256

PROFIL PROTEIN BERBASIS SDS-PAGE PADA KERANG DARAH DAN KERANG HIJAU YANG DIRENDAM DENGAN VARIASI KONSENTRASI DAN LAMA PERENDAMAN LARUTAN ASAM ASETAT

Rifandi Baco¹, Ana Hidayati Mukaromah², Aprilia Indra Kartika³

1. Program Studi DIV Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang
2. Laboratorium Kimia, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang
3. Laboratorium Biologi Molekuler, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang

Info Artikel	Abstrak
Kata Kunci kerang, larutan asam asetat, SDS-PAGE, profil protein	Kerang menyerap nutrisi dari lingkungan secara <i>filter feeder</i> (penyaring), sehingga berbagai jenis logam berat yang terdapat pada perairan tercemar akan masuk kedalam tubuh kerang yang akan berdampak pada kesehatan manusia yang memakannya. Asam asetat mempunyai kemampuan mengikat logam (<i>chelating agent</i>) sehingga dapat menurunkan kadar logam berat pada beberapa jenis ikan dan kerang sebelum pengolahan menjadi makanan. Tujuan penelitian ini menganalisis profil protein berbasis SDS-PAGE pada kerang darah dan kerang hijau yang direndam dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman larutan asam asetat. Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif analitik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perendaman kerang dengan larutan asam asetat dapat menyebabkan penurunan konsentrasi protein dan penurunan integritas protein yang dinilai dari profil protein. Semakin tinggi konsentrasi dan lama perendaman larutan asam asetat, maka konsentrasi dan profil protein kerang akan mengalami penurunan. Perendaman kerang dengan larutan asam asetat konsentrasi 12,5%^{v/v} selama 30 menit memiliki lebih banyak pita protein mayor dari pada kerang yang mendapat perlakuan perendaman dengan larutan asam asetat 25%^{v/v} selama 30 menit dan larutan asam setat konsentrasi 12,5%^{v/v} dan 25%^{v/v} selama 60 menit, sedangkan pada perendaman kerang dengan larutan asam asetat konsentrasi 25%^{v/v} selama 60 menit tidak dianjurkan karena semua pita protein mayor sudah terdenaturasi habis.

***Corresponding Author**

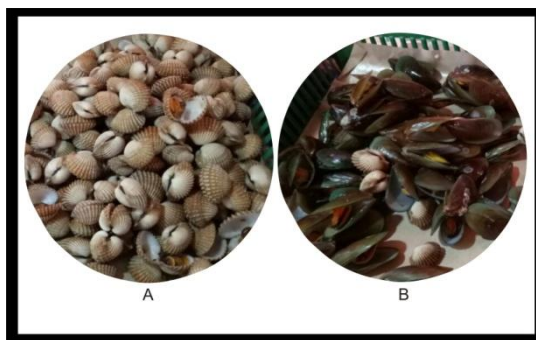
Rifandi Baco

Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Indonesia 50273

E-mail : difandi16@gmail.com

Pendahuluan

Kerang merupakan salah satu bahan makanan sumber protein hewani dan kerang banyak disukai masyarakat karena kerang rasanya enak, gurih dan mempunyai nilai gizi yang baik. Kerang termasuk salah satu biota laut yang berperan sebagai biomonitoring tingkat polusi logam berat di perairan terutama daerah pantai, dan mempunyai kemampuan mobilitas yang terbatas sehingga polutan dalam perairan dapat mengakibatkan akumulasi didalam kerang (Adriyani & Mahmudiono, 2009).



Gambar 1. (A) Kerang Darah; (B) Kerang Hijau

Kerang mengandung mineral seperti kalsium, fosfor, zat besi, yodium, zinc (Zn) dan selenium terdapat didalam kerang, gizi yang lain seperti vitamin A, D, E, K, vitamin B kompleks (B1, B2, B6 dan B12), dan kandungan proteinnya yang mencapai 26 g per 100 g. Kerang darah (*Anadara granosa*) dan kerang hijau (*Perna viridis*) mempunyai kandungan protein yang tinggi yaitu sebesar 11,84% dan 21,9% (Nurjanah, 2005).

Keunggulan protein daging kerang dan daging biota perairan yaitu memiliki kandungan asam amino khususnya lisin dan metionin yang lebih tinggi dibandingkan dengan protein dari susu dan daging. Asam amino metionin penting dalam proses sintesis protein karena kode asam amino metionin sama dengan kode awal satu rangkaian RNA. Asam amino lisin berperan dalam biosintesis karnitin yang akan merangsang lemak pada daging kerang mengalami β -oksidasi sehingga kadar lemak dan kolesterolnya lebih rendah (Tarigan, 2010).

Kerang umumnya hidup di perairan pantai yang bersubstrat pasir berlumpur dan sering ditemukan juga pada ekosistem estuari yang sangat rentan terhadap pencemaran. Peningkatan pencemaran di wilayah habitat

kerang tersebut menjadi ancaman nyata bagi kualitas daging kerang. Kerang menyerap nutrisi dari lingkungan secara *filter feeder* (penyaring), sehingga berbagai jenis logam berat yang terdapat pada perairan tercemar akan masuk kedalam tubuh kerang yang akan berdampak pada kesehatan manusia yang memakannya. Penurunan kadar logam berat perlu dilakukan sebelum mengkonsumsi daging kerang (WWF Indonesia, 2015).

Upaya yang sering dilakukan masyarakat sebelum mengkonsumsi daging kerang adalah merendamnya dengan larutan asam asetat untuk menurunkan kadar logam berat pada kerang. Asam asetat yang digunakan sebagai bahan tambahan makanan yaitu untuk pengasam, pengawet dan penyedap makanan, juga mempunyai kemampuan mengikat logam (*chelating agent*) sehingga dapat menurunkan kadar logam berat pada beberapa jenis ikan dan kerang sebelum pengolahan menjadi makanan (Kurniawan, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Adriyani dan Mahmudiono (2009) menunjukkan bahwa terdapat penurunan kadar logam berat dan kadar protein pada kerang yang direndam larutan asam asetat selama 60 menit. Dengan perendaman pada larutan asam asetat konsentrasi 12,5% kadar logam berat mengalami penurunan sebesar 14,95%, sedangkan dengan perendaman pada larutan asam asetat konsentrasi 25% kadar logam berat mengalami penurunan sebesar 34,87%. Kadar protein pada kerang dengan perendaman larutan asam asetat konsentrasi 12,5% mengalami penurunan sebesar 4,8%, sedangkan dengan perendaman larutan asam asetat konsentrasi 25% mengalami penurunan sebesar 2,92%.

Berdasarkan upaya perendaman kerang dengan larutan asam asetat yang sering dilakukan oleh masyarakat untuk menurunkan kadar logam berat, maka perlu dilakukan penelitian tentang profil protein pada kerang darah dan kerang hijau yang direndam dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman larutan asam asetat. Metode yang digunakan untuk mengetahui profil protein adalah metode SDS-PAGE.

Bahan dan Metode

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif analitik. Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi

Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Waktu penelitian dari pembuatan proposal sampai dilaksanakannya penelitian adalah dari bulan Februari-Mei 2018. Objek penelitian ini adalah daging kerang darah dan kerang hijau yang direndam dengan larutan asam asetat variasi konsentrasi 12,5%^{V/V} dan 25%^{V/V} dan lama perendaman 30 menit dan 60 menit. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah plastik, pisau, pinset, cawan porselen, neraca analitik, sendok tanduk, wadah plastik, *chamber* elektroforesis, mikro pipet, *mikrotube*, *blue tip*, *yellow tip*, *power supply*, *vortex*, sarung tangan, tempat buang cairan biologis, *sentrifuge*, *water bath*, cawan mortir, spektrofotometer, rotator, *beaker glass* dan erlenmeyer. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging (kerang darah dan kerang hijau), asam asetat, *aquadest*, *Acrylamid* dan *Bisacrylamid* (*elektrophoresis grade*), TEMED (katalis dalam proses polimerasi), APS (*Amonium Persulfate*), *brophenol blue*, *Coomassie Brilliant Blue*, PBS (*Phospat Buffered Saline*), BSA (*Bovine Serum Albumin*) dan BPA (*Biorad Protein Assay*). Penelitian ini diawali dengan analisa total protein setiap sampel dengan menggunakan spektrofotometer dan dilanjutkan dengan analisa profil protein dengan metode SDS-PAGE.

Hasil

1. Analisa Total Protein

Penelitian ini menggunakan metode spektrofotometri untuk menentukan total protein kerang darah dan kerang hijau sebelum perendaman dan sesudah perendaman dengan larutan asam asetat konsentrasi 12,5%^{V/V} dan 25%^{V/V} selama 30 menit dan 60 menit. Total protein pada kerang darah dan kerang hijau dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman larutan asam asetat dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Total protein pada kerang darah

Sampel	Variasi		Total Protein (µg/µl)
	Konsentrasi larutan asam asetat (% ^{V/V})	Lama perendaman larutan asam asetat (Menit)	
D0	0	0	9,76
D1	12,5	30	7,85
D2	25	30	5,75
D3	12,5	60	5,71
D4	25	60	4,00

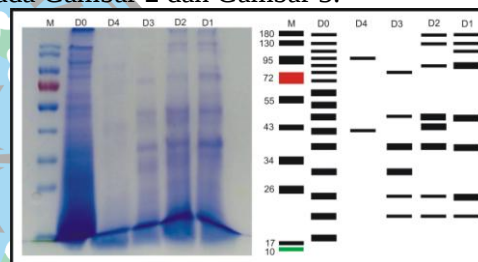
Tabel 2. Total protein pada kerang hijau

Sampel	Variasi		Total Protein (µg/µl)
	Konsentrasi larutan asam asetat (% ^{V/V})	Lama perendaman larutan asam asetat (Menit)	
H0	0	0	7,82
H1	12,5	30	7,34
H2	25	30	4,79
H3	12,5	60	4,57
H4	25	60	3,56

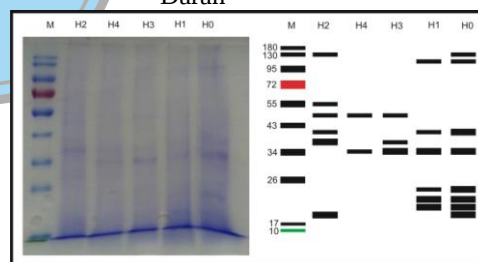
Berdasarkan Tabel 1 dan Tabel 2, total protein kerang darah dan kerang hijau yang direndam dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman larutan asam asetat mengalami penurunan.

2. Analisa Profil Protein

Analisa profil protein kerang darah dan kerang hijau sebelum dan sesudah perendaman dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman larutan asam asetat dengan menggunakan metode SDS PAGE tertera pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. SDS-PAGE dan Visualisasi Representasi Pita Protein Kerang Darah



Gambar 3. SDS-PAGE dan Visualisasi Representasi Pita Protein Kerang Hijau

Berdasarkan Gambar 2 dan Gambar 3, profil protein kerang darah dan kerang hijau yang direndam dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman larutan asam asetat mengalami penurunan jumlah dan ketebalan pita protein. Jumlah pita protein mayor dan pita protein minor pada setiap sampel dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Keterangan hasil visualisasi

Kode Sampel	Konsentrasi Larutan Asam Asetat (%V/V)	Lama Perendaman (Menit)	Jumlah Pita Protein	
			Mayor	Minor
D	0	0	9	7
D	12,5	30	4	4
D	25	30	3	5
D	12,5	60	3	4
D	25	60	0	2
H	0	0	6	2
H	12,5	30	3	3
H	25	30	2	4
H	12,5	60	1	2
H	25	60	0	2

Keterangan:

D = Kerang darah

H = Kerang Hijau

Kerang darah dan kerang hijau tanpa perendaman dan yang dilakukan perlakuan direndam dengan larutan asam asetat dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman kemudian diseparasi dengan SDS-PAGE menurut metode Laemmli (1970) dan diwarnai dengan *Coomasie Brilliant Blue* (CBB). Menurut Mahasri (2010) penentuan berat molekul (BM) protein dilakukan dengan menghitung *Rf* (*Retardation factor*) dari masing – masing pita (*band*) protein dengan rumus sebagai berikut :

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

Untuk mengetahui berat molekul (BM) sampel, *Rf* (*Retardation factor*) dari setiap sampel yang sudah diketahui nilainya diplotkan pada grafik logaritmik dengan BM (Marker) yang sudah diketahui nilainya. Berdasarkan keterangan hasil visualisasi pada Tabel 3. didapatkan hasil berat molekul setiap pita protein mayor dan pita protein minor dari setiap sampel yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil berat molekul (kDa) sampel

Kode Sampel	Konsentrasi Larutan Asam Asetat (%V/V)	Lama Perendaman (Menit)	Berat Molekul (kDa)	
			Mayor	Minor
D	0	0	61, 55, 50, 40, 36, 30, 25, 22 dan 18	163, 130, 114, 95, 85, 77 dan 67
			85, 50, 36 dan 25	163, 130, 95 dan 22
D	12,5	30		
D	25	30		
D	12,5	60		
H	0	0		
H	12,5	30		
H	25	30		
H	12,5	60		
H	25	60		

D	25	30	50, 46 dan 36	163, 130, 85, 25 dan 22
D	12,5	60	36, 30 dan 18	77, 50, 25 dan 22
D	25	60		95 dan 40
H	0	0	51, 35, 25, 21, 20 dan 18	130 dan 120
H	12,5	30	35, 21 dan 19	120, 41 dan 25
H	25	30	37 dan 18	130, 55, 49 dan 41
H	12,5	60	35	49 dan 47
H	25	60		49 dan 37

Keterangan:

D = Kerang darah

H = Kerang Hijau

Diskusi

Peningkatan konsentrasi larutan asam asetat pada perendaman kerang dari konsentrasi 12,5%V/V ke konsentrasi 25%V/V menyebabkan denaturasi protein karena semakin banyak volume asam asetat yang terkandung dalam larutan yang digunakan untuk merendam kerang. Hal ini menyebabkan pita protein mayor akan terdenaturasi menjadi pita protein minor akan tetapi masih sama-sama memiliki pita protein mayor.

Peningkatan lama waktu perendaman larutan asam asetat dari 30 menit ke 60 menit juga menyebabkan denaturasi protein karena semakin lama waktu kontak antara protein dan asam yang merupakan salah satu faktor terjadinya denaturasi. Hal ini juga menyebabkan pita protein mayor ada yang terdenaturasi menjadi pita protein minor dan ada juga yang terdenaturasi habis sehingga tidak lagi mempunyai pita protein mayor.

Protein memiliki beberapa sifat khusus, antara lain protein memiliki kemampuan untuk mengangkut oksigen dan lipida, memiliki kelarutan tertentu dalam garam encer maupun asam encer, dan berfungsi sebagai enzim atau hormon. Protein yang dipengaruhi oleh pemanasan, sinar ultraviolet, pengocokan yang kuat (perlakuan mekanik), dan bahan-bahan kimia tertentu dapat mengalami denaturasi (Sumardjo, 2008).

Protein akan mengalami kekeruhan terbesar pada saat mencapai pH isoelektris

yaitu pH dimana protein memiliki muatan positif dan negatif yang sama, pada saat inilah protein mengalami denaturasi yang ditandai kekeruhan meningkat dan timbulnya gumpalan. Mekanismenya adalah penambahan asam asetat dapat mempengaruhi jembatan garam yang terdapat pada protein. Ion positif dan negatif pada garam dapat berganti pasangan dengan ion positif dan negatif dari asam sehingga jembatan garam pada protein yang merupakan salah satu jenis interaksi pada protein, terpengaruh dan protein dapat dikatakan terdenaturasi.

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Adriyani dan Mahmudiono (2009), tentang penurunan total protein pada kerang yang direndam dengan larutan asam asetat akibat terjadinya denaturasi protein. Sementara jika dilihat dari profil protein berbasis SDS-PAGE, hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Diaman (2016) dan Feri dkk (2017) yang menunjukkan bahwa denaturasi protein yang dalam hal ini disebabkan oleh perendaman larutan asam asetat dapat menyebabkan perubahan karakteristik pola pita protein total. Pada penelitian ini, denaturasi protein bisa terlihat dari perbedaan ketebalan dan jumlah hasil pita protein yang mengalami penurunan ketika semakin tinggi konsentrasi larutan asam asetat dan semakin lama waktu perendaman yang memungkinkan kontak langsung protein dan asam juga semakin lama.

Dengan ini dapat disimpulkan bahwa profil protein pada kerang darah dan kerang hijau yang direndam dengan variasi konsentrasi dan lama perendaman larutan asam asetat konsentrasi dengan metode SDS-PAGE mengalami penurunan jumlah dan ketebalan pita protein. Perendaman kerang dengan larutan asam asetat dapat menyebabkan penurunan konsentrasi protein dan penurunan integritas protein yang dinilai dari profil protein. Semakin tinggi konsentrasi dan lama perendaman larutan asam asetat, maka konsentrasi dan profil protein kerang akan mengalami penurunan.

Ucapan Terima Kasih

Terselesaikannya penyusunan *manuscript* ini berkat saran, bimbingan, dukungan serta bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu

pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ana Hidayati Mukaromah, M.Si selaku pembimbing pertama.
2. Aprilia Indra Kartika, S.Pd., M.Biotech selaku pembimbing kedua.
3. Dr. Stalis Norma Ethica, M.Si selaku penguji skripsi.
4. Kepada orang tua tercinta yang selalu mendoakan, serta adik yang sangat kubanggakan.
5. Kepada teman-teman kelas DIV Analis Kesehatan JASUS angkatan 2017 yang memberikan semangat.

Referensi

- Adriyani, R. & Mahmudiono, T., 2009. Kadar Logam Berat Cadmium, Protein dan Organoleptik pada Daging Bivalvia dan Perendaman Larutan Asam Cuka. *Jurnal Media Eksakta*, VIII(2), pp. 152-161.
- Diaman, 2016. Analisa Profil Protein Kerang Darah yang Dipajan Ion Logam Timbal dengan Variasi Konsentrasi. *Jurnal Universitas Muhammadiyah Semarang*, pp. 1-5.
- Feri, Mukaromah, A. H. & Ethica, S. N., 2017. Profil Protein Daging Ikan Bandeng (*Chanos chanos*) Menggunakan SDS-PAGE Sebelum dan Sesudah Penggaraman. *Prosiding Seminar Nasional*, I(1), pp. 146-150.
- Kurniawan, V. A., 2010. Pengaruh Lama Waktu Perendaman dengan Larutan Asam Cuka 25% dalam Menurunkan Kadar Logam Berat Kadmium pada Daging Kerang Darah. *Jurnal Universitas Diponegoro*, II(5), pp. 1-5.
- Nurjanah, K., 2005. Kandungan Mineral dan Proksimat Kerang Darah yang Diambil dari Kabupaten Boalemo Gorontalo. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan*, II(53), pp. 21-34.
- Sumardjo, D., 2008. *Penagntar Kimia*. Jakarta: EGC Emergency Arcan.
- Tarigan, T. N., 2010. Penggunaan Asam Amina Metionin dan Lisin dalam Ransum Terhadap Karkas Broiler Umur 6 Minggu. *Jurnal Univeritas Sumatera Utara*.
- WWF Indonesia, 2015. *Perikanan Kerang*. Jakarta: BMP Kerang.

