

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Protein

2.1.1. Definisi Protein

Protein adalah senyawa organik kompleks berbobot molekul tinggi yang merupakan polimer asam amino yang dihubungkan satu sama lain oleh ikatan peptida. Protein dihasilkan dari ekskresi setiap genetik molekul DNA yang terdapat di dalam sel. Protein adalah zat yang paling penting dalam setiap organisme, bagian dari semua sel hidup dan bagian terbesar dalam tubuh sesudah air (Bintang, 2010).

Protein merupakan salah satu kelompok bahan makronutrien yang berperan lebih dalam pembentukan biomolekul dari pada sumber energi. Kandungan energi protein rata-rata 4 kilokalori/g atau setara dengan kandungan energi karbohidrat. Jadi apabila organisme mengalami kekurangan energi, maka protein dapat digunakan sebagai sumber energi. Protein juga memegang peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tubuh, serta dapat mendukung aktifitas fisik seperti olahraga. Sejalan dengan manfaat protein sebagai zat gizi yang berperan dalam pertumbuhan, dan perkembangan, maka dibutuhkan 15-20 % protein dari total kebutuhan per hari (Bintang, 2010).

Protein mengandung C, H, O dan N beberapa mengandung S, P, kadang-kadang Zn, Fe dan Cu. Kadarnya bervariasi, dengan komposisi rata-rata: N (16%), H (7%), C (50%), O (22%), S (0,5–5%). Protein disusun terutama oleh asam-asam amino. Apabila protein dihidrolisa oleh asam kuat atau basa kuat atau

dengan pertolongan enzim tertentu dapat terdekomposisi sempurna menjadi komponen-komponen penyusunnya. Protein merupakan polipeptida, selain mengandung asam amino juga banyak mengandung bahan bukan asam amino seperti heme, derivat vitamin, lipida, dan karbohidrat. Protein yang mengandung senyawa lain selain asam amino disebut protein kompleks, sedang protein yang hanya mengandung asam amino saja disebut protein sederhana (Sugiyono, 2004).

2.1.2. Tingkatan Struktur Protein

Menurut Arumingtyas dkk. (2011), protein dapat di kelompokkan menjadi menjadi empat tingkat struktur, yaitu:

- a. Struktur primer: struktur primer protein menggambarkan sekuens linear residu asam amino dalam suatu protein. Sekuens asam amino selalu dituliskan dari gugus terminal amino ke gugus terminal karboksil. Struktur 3 dimensi protein tersusun dari struktur sekunder, tersier dan kuartener. Faktor yang menentukan untuk menjaga atau menstabilkan ketiga tingkat struktur tersebut adalah ikatan kovalen yang terdapat pada struktur primer.
- b. Struktur sekunder: Struktur sekunder dibentuk karena adanya ikatan hidrogen antara hidrogen amina dan oksigen karbonil dari rangka peptide. Struktur sekunder utama meliputi α -heliks dan β -strands (termasuk β -sheets).
- c. Struktur tersier: Struktur tersier menggambarkan rantai polipeptida yang mengalami *folded* sempurna dan kompak. Beberapa polipeptida *folded* terdiri dari beberapa protein globular yang berbeda yang dihubungkan oleh residu asam amino. Unit tersebut dinamakan *domain*. Struktur tersier bersebelahan

pada rantai polipeptida. Pembentukan struktur tersier membuat struktur primer dan sekunder menjadi saling berdekatan.

- d. Struktur kuarterner: Struktur kuarterner melibatkan asosiasi dua atau lebih rantai polipeptida yang membentuk multi-subunit atau protein oligomerik. Rantai polipeptida penyusun protein oligomeric dapat sama atau berbeda.

2.2. Kerang

Kerang termasuk pada kelas *Pelecypoda* atau *Bivalvia*. Binatang ini mempunyai sebuah mantel yang berupa dua daun telinga dan cangkang setangkup yang terdiri dari dua belah sehingga disebut dengan *Bivalvia*. Bentuk cangkang dan warnanya dapat digunakan untuk menentukan jenis kerang. Binatang ini sebagian besar hidup di laut dan hanya sedikit yang hidup di darat, mempunyai kelamin terpisah dan menyebarkan spermanya ke air untuk pembuahan. Kerang tidak mempunyai kepala dan tentakel tetapi mereka dapat memperoleh makanan dengan cara menyaring pada insang dengan sistem sifon. Kedua cangkang dapat membuka dan menutup dengan adanya otot pengikat (*adductor muscle*) dan terdapat dua otot pengikat satu pada bagian depan dan satu pada bagian belakang (Wati, 2014).

2.2.1. Kerang Darah (*Anadara granosa*)

Kerang darah (*Anadara granosa*) merupakan salah satu jenis kerang yang terdapat di pantai laut yang lumpur berpasir dengan kedalaman 1-30 m. Kerang darah disebut *Anadara granosa* karena kelompok kerang ini memiliki pigmen darah merah (hemoglobin) yang disebut *bloody cockles*. Kerang darah memiliki cairan hemoglobin yang berfungsi mengikat oksigen dalam daging kerang. Oleh

karena itu kerang darah dapat hidup pada kondisi kadar oksigen yang rendah, sehingga terkadang masih bisa hidup setelah dipanen walaupun tanpa air (WWF Indonesia, 2015).



Gambar 1. Kerang darah (*Anadara granosa*) (WWF Indonesia, 2015)

Kerang darah (*Anadara granosa*) termasuk didalam kingdom *Animalia* dan tergolong kedalam kelompok *filum Mollusca*. Kerang darah juga termasuk kedalam kelas *Bivalvia* yang sama dengan kupang, remis, kijing, lokan, tiram karena semua memiliki sepasang cangkang. Kerang darah tergolong dalam *ordo Arcoida*, dengan famili *Archidae* dan genus *Anadara* (WWF Indonesia, 2015).

Kerang darah mempunyai kandungan gizi yang lengkap. Menurut Daluningrum (2009), didalam 40 g kerang darah terdapat kandungan protein sebesar 11,84%, kandungan lemak sebesar 0,6%, kadar air sebesar 81,81% dan kadar abu sebesar 2%.

2.2.2. Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Kerang hijau (*Perna viridis*) termasuk binatang lunak (*Mollusca*) yang hidup dilaut, bercangkang dua (*bivalve*) berwarna hijau. Insangnya berlapis-lapis (*Lamelii branchia*) dan berkaki kapak (*Pelecypoda*) serta memiliki benang *byssus*. Kerang hijau adalah *plankton feeder*, dapat berpindah-pindah tempat dengan menggunakan kaki dan benang *byssus*, hidup baik pada perairan dengan kisaran

kedalaman 1-7 m dan memiliki toleransi terhadap perubahan salinitas antara 27-35 per mil (WWF Indonesia, 2015).



Gambar 2. Kerang hijau (*Perna viridis*) (WWF Indonesia, 2015)

Kerang hijau (*Perna viridis*) termasuk pada kingdom, filum dan kelas yang sama dengan kerang darah. Yaitu kingdom *Animalia*, filum *Mollusca* dan kelas *Bivalvia*. Yang membedakan kerang hijau dan kerang darah hanya terdapat pada *ordo*, famili dan genus. Kerang hijau termasuk kedalam *ordo Mytiloida*, famili *Mytilidae* dan tergolong kedalam genus *Perna* (WWF Indonesia, 2015).

Menurut Daluningrum (2009), didalam 100 g daging kerang hijau terdapat kandungan gizi yang cukup tinggi. Kandungan protein dalam 100 g kerang hijau mencapai 21,9%. Kandungan karbohidrat juga terdapat sebanyak 18,5%, kandungan air 40,8% dan kandungan lemak sebanyak 14,5%. Kandungan lain yaitu kadar abu sebanyak 4,3%.

2.2.3. Protein Kerang

Protein pada daging kerang dan daging biota perairan mempunyai perbedaan dengan protein pada susu dan daging lain. Protein dalam daging kerang memiliki keunggulan pada kandungan asam amino khususnya lisin dan metionin. 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).

Kandungan protein yang terdapat pada daging kerang yaitu sebanyak 26 g dari 100 g daging kerang. Kandungan protein juga dilengkapi dengan kandungan gizi yang lain. Kandungan mineral seperti kalsium, fosfor, zat besi, yodium, zinc (Zn) dan selenium terdapat didalam kerang. Kandungan gizi yang lain seperti vitamin A, D, E, K, vitamin B kompleks (B1, B2, B6 dan B12) juga terdapat pada kerang. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nurjanah (2005), kerang darah (*Anadara granosa*) dan kerang hijau (*Perna viridis*) mempunyai kandungan protein yang tinggi yaitu sebesar 11,84% dan 21,9%.

2.2.4. Habitat Kerang

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).

2.3. Penurunan Logam Berat dengan Larutan Asam Asetat

2.3.1. Asam Asetat

Nama asam asetat berasal dari kata latin *asetum*, “vinegar”. Asam asetat, asam *etanoat* atau asam cuka adalah senyawa kimia asam organik yang merupakan yang merupakan asam karboksilat yang paling penting di perdagangan, industri, laboratorium dan dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan (Hasibuan, 2015).

Asam asetat merupakan pereaksi kimia dan digunakan dalam produksi polimer seperti *polietilena tereftalat*, selulosa asetat, dan *polivinil* asetat, maupun berbagai macam serat dan kain. Asam asetat digunakan sebagai pengatur keasaman dalam industri makanan. Asam asetat encer juga sering digunakan sebagai pelunak air di rumah tangga. Penggunaan asam asetat lainnya, termasuk penggunaan dalam cuka relatif kecil (Winarno, 2008).

Asam asetat digunakan sebagai bahan tambahan makanan untuk pengasam, pengawet dan penyedap makanan, dan mempunyai kemampuan mengikat logam (*chelating agent*) sehingga dapat menurunkan kadar logam berat pada beberapa jenis ikan dan kerang sebelum pengolahan menjadi makanan. Oleh karena itu, asam asetat sering digunakan dalam pengolahan kerang yaitu dalam proses perendaman daging kerang (Kurniawan, 2010).

Melalui penelitian yang dilakukan oleh Yanuarti (2010) dan Kurniawan (2010), larutan asam asetat terbukti efektif untuk menurunkan kadar logam berat pada kerang. Penelitian yang dilakukan oleh Adriyani dan Mahmudiono (2009) menunjukan bahwa terdapat penurunan kadar logam berat 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%.

2.3.2. Denaturasi

Denaturasi protein dapat diartikan suatu perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier dan kuartener molekul protein tanpa terjadinya pemecahan ikatan-ikatan kovalen. Karena itu, denaturasi dapat diartikan suatu proses terpecahnya ikatan hydrogen, interaksi hidrofobik, ikatan garam dan terbukanya lipatan molekul protein (Sumardjo, 2008).

2.3.3. Faktor-faktor Penyebab Denaturasi

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).

Denaturasi protein dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain dengan panas, pH, bahan kimia, mekanik, dan sebagainya. Masing-masing cara mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap denaturasi protein. Senyawa kimia seperti urea dan garam dapat memecah ikatan hidrogen yang menyebabkan denaturasi protein karena dapat memecah interaksi hidrofobik dan meningkatkan daya larut gugus hidrofobik dalam air. Deterjen atau sabun dapat menyebabkan

denaturasi karena senyawa pada deterjen dapat membentuk jembatan antara gugus hidrofobik dengan hidrofilik sehingga terjadi denaturasi. Selain deterjen dan sabun, aseton dan alkohol juga dapat menyebabkan denaturasi (Sumardjo, 2008).

2.3.4. Denaturasi Akibat Logam dan Asam

Logam berat dan asam asetat termasuk kedalam faktor-faktor yang dapat menyebabkan protein terdenaturasi. Menurut penelitian Diaman (2016), logam berat menyebabkan denaturasi protein karena mengalami perubahan karakteristik pola pita protein total.

Pengolahan makanan dalam hal ini kerang seringkali juga menyebabkan kandungan protein menjadi terdenaturasi atau konsentrasinya menurun. Pengolahan kerang dengan cara merendam dengan larutan asam asetat disamping dapat menurunkan kadar logam berat pada kerang tetapi juga dapat menyebabkan protein kerang mengalami denaturasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Adriyani dan Mahmudiono (2009) menunjukkan bahwa terdapat penurunan kadar protein pada kerang yang direndam larutan asam asetat selama 60 menit. Dengan perendaman pada larutan asam asetat konsentrasi 12,5%, kadar protein mengalami penurunan sebesar 4,8%. Sedangkan dengan perendaman pada larutan asam asetat konsentrasi 25%, kadar protein mengalami penurunan sebesar 2,92%.

2.4. SDS-PAGE

Elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan molekul yang menggunakan medan listrik (elektro) sebagai penggerak molekul dan matriks penyangga berpori (*foresis*). Metode ini sangat umum digunakan untuk memisahkan molekul yang bermuatan atau dibuat bermuatan. Dengan

menggunakan elektroforesis, protein bisa dipisahkan berdasarkan berat molekulnya (menggunakan SDS-PAGE) atau berdasarkan titik isoelektriknya (menggunakan IEF). DNA juga bisa dipisahkan berdasarkan berat molekulnya menggunakan elektroforesis (Arumingtyas dkk., 2011).

Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) merupakan deterjen anionik yang digunakan bersama dengan β -merkaptotanol untuk melepaskan struktur sekunder, tertier, dan kuartener, serta ikatan disulfida pada protein sehingga menghasilkan rantai polipeptida linier yang membentuk kompleks SDS-protein bermuatan negatif. Medan listrik akan membawa kompleks SDS protein tersebut ke arah muatan yang berlawanan. SDS-PAGE menggunakan gel poliakrilamid yang berperan sebagai media migrasi dalam pemisahan protein. Gel poliakrilamid dibentuk melalui polimerisasi akrilamid dengan bisakrilamid (senyawa pengikatan silang), dengan inisiator amonium persulfat (APS) dan katalis tetrametiletilendiamin (TEMED). Ruang antar ikatan silang pada polimer membentuk pori yang ukurannya dapat dibuat beragam berdasarkan banyaknya akrilamid yang digunakan (konsentrasi gel). Pori-pori tersebut yang memungkinkan terjadinya migrasi molekul protein pada gel poliakrilamid (Arumingtyas dkk., 2011).

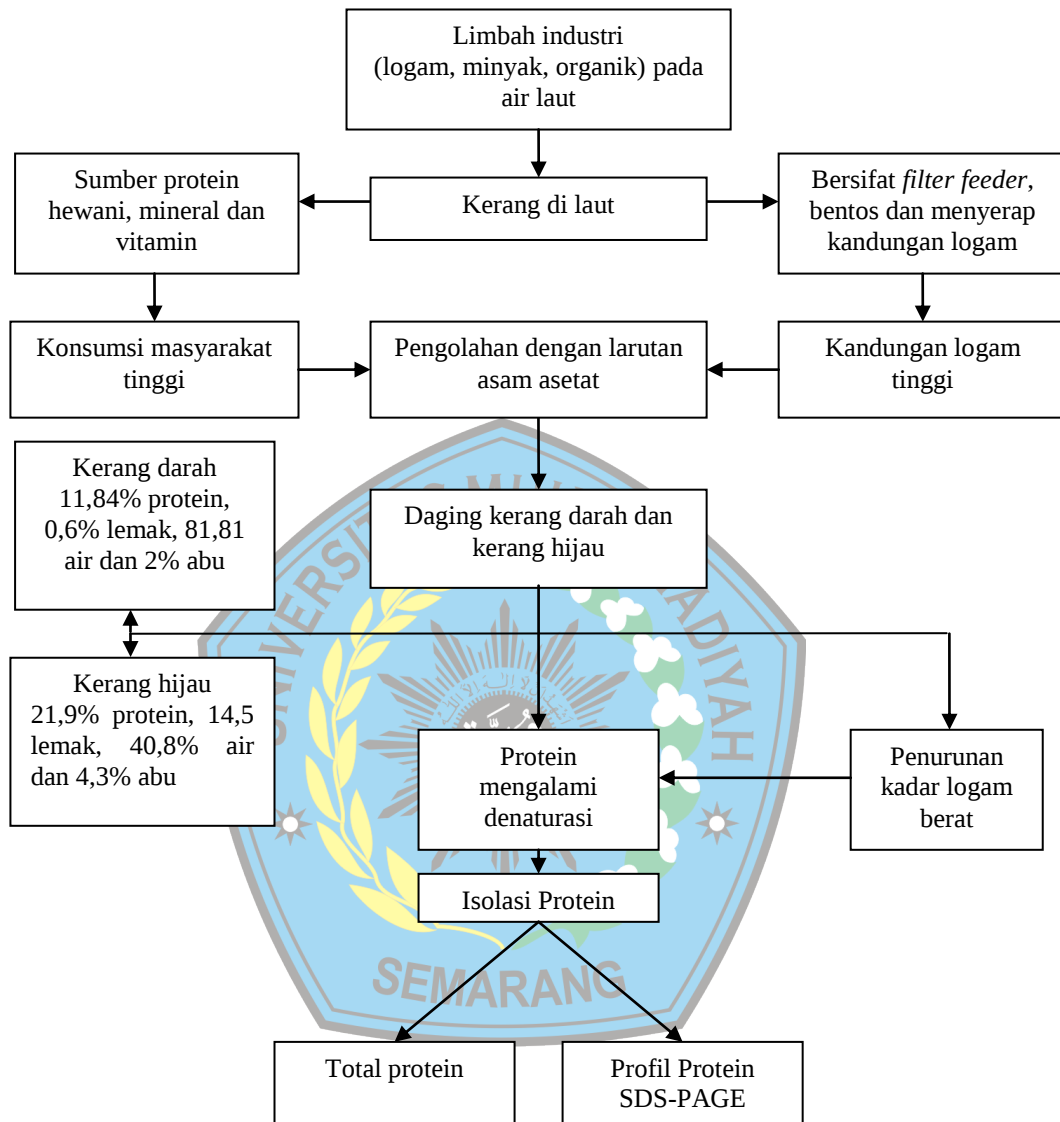
Gel poliakrilamid yang digunakan dalam analisis SDS-PAGE terdiri dari 2 *stacking gel* dan *resolving gel*. *Stacking gel* berfungsi sebagai gel tempat meletakkan sampel, terdapat beberapa *well*, sedangkan *resolving gel* merupakan tempat dimana protein akan bergerak/berpindah menuju anoda. *Stacking gel* dan *resolving gel* memiliki komposisi yang sama, yang membedakan hanya

konsentrasi gel poliakrilamida pembentuknya, dimana konsentrasi *stacking gel* lebih rendah dari pada *resolving gel*. Penggunaan Poliakrilamida mempunyai keunggulan dibandingkan dengan gel lainnya, seperti: tidak bereaksi dengan sampel, tidak membentuk matriks dengan sampel, tidak menghambat pergerakan sampel yang memungkinkan pemisahan protein secara sempurna, mempunyai daya pemisahan yang cukup tinggi (Hermanto, 2015).

Analisis SDS-PAGE sering diteliti dengan berbagai konsentrasi gel pemisah (12-20%) dan voltase 75-200 volt. Analisis SDS-PAGE merupakan Prosedur dasar dalam banyak aplikasi analisis protein. Pada teknologi yang lebih maju bisa berfungsi sebagai dimensi kedua sesudah protein diseparaasi berdasarkan titik isoelektriknya menggunakan isoelektrik fokusing. Pada proses perifikasi SDS-PAGE dipakai sebagai salah satu prosedur untuk menilai tingkat kemurnian protein (Agustyanti, 2016).

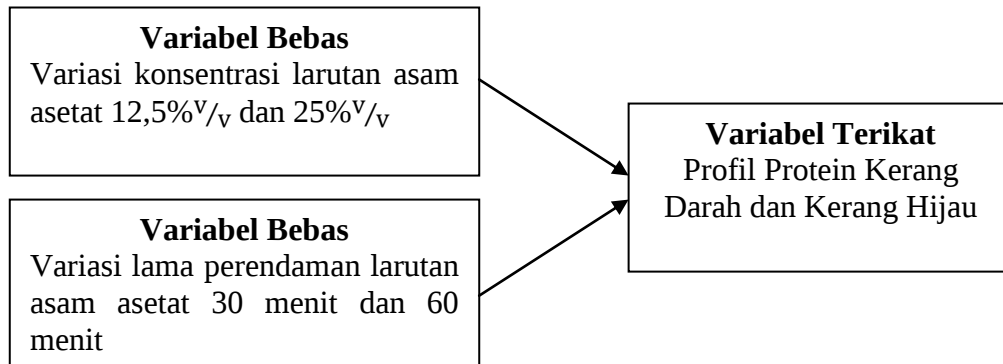
Analisis protein diawali dengan mengukur pita protein pada *marker* dengan menggunakan mistar untuk menentukan R_f *marker* dan dibuat kurva baku untuk menghitung berat molekul sampel. Kemudian dicari nilai R_f sampel yang didapat dari jarak tempuh protein dibagi dengan jarak keseluruhan. Berat molekul protein dihitung menggunakan R_f dan diplotkan pada grafik logaritma dari R_f *marker* protein yang berat molekulnya telah diketahui (Darmawati & Haribi, 2005).

2.5. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

