

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Protein

2.1.1. Defenisi Protein

Protein berasal dari kata protos atau proteos yang berarti pertama atau utama. Protein merupakan komponen penting sel hewan atau manusia sehingga fungsi utama protein yaitu sebagai zat pembentukan dan pertumbuhan tubuh (Devi, 2010). Protein merupakan senyawa organik kompleks berbobot molekul tinggi yang mengandung karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen, sulfur dan fosfor. Protein sangat dibutuhkan oleh organisme dalam kelangsungan hidupnya. Protein berfungsi sebagai metabolisme sel, pembentukan jaringan dan lain-lain (Muhsafaat, 2015).

Pada tahun 1838 protein dianggap sebagai makanan yang paling penting dan memiliki khasiat yang sangat istimewa bagi tubuh sehingga sering disebut "*Protein Mystique*". Protein merupakan bahan utama pembentuk sel tumbuhan, hewan dan manusia. Protein disebut juga zat putih telur karena pertamakali dijumpai pada putih telur (*eiwit*) (Irianto, 2007).

Menurut Budianto (2009) protein memiliki berbagai macam fungsi bagi tubuh diantaranya sebagai enzim untuk mempercepat reaksi biologis suatu senyawa seperti reaksi transportasi karbon dioksida dan replikasi kromosom. Sebagai alat pengangkut dan alat penyimpan misalnya hemoglobin mengangkut oksigen dalam eritrosit, myoglobin mengangkut oksigen dalam otot, ion besi diangkut dalam plasma darah oleh transferin dan disimpan dalam hati sebagai

kompleks dalam feritin. Protein sebagai pengatur pergerakan, gerakan otot terjadi karena adanya dua molekul protein yang berperan yaitu aktin dan miosin, seperti pergerakan flagella sperma disebabkan oleh protein flagelin. Protein sebagai penunjang mekanis yaitu kekuatan dan daya tahan robek kulit dan tulang disebabkan karena adanya kolagen, suatu protein yang berbentuk bulat panjang dan mudah membentuk serabut. Protein sebagai pertahanan tubuh seperti antibodi yaitu suatu protein khusus yang dapat mengenali dan menempel atau mengikat dan menghancurkan benda-benda asing yang masuk ke dalam tubuh seperti virus, bakteri, dan sel-sel asing lainnya yang dikenal sebagai immunoglobulin (Ig). Protein sebagai media perambatan impuls syaraf, biasanya berbentuk reseptor misalnya rodopsin bertindak sebagai reseptor/penerima warna atau cahaya pada sel-sel mata. Juga sebagai pengendalian pertumbuhan, sebagai reseptor dalam bakteri, dapat mempengaruhi fungsi-fungsi DNA yang mengatur sifat dan karakter bahan.

Berdasarkan susunan kimianya protein digolongkan menjadi tiga bagian yaitu protein sederhana, protein bersenyawa dan turunan protein. Dimana protein sederhana merupakan jenis protein yang tidak berikatan dengan bahan lain misalnya albumin dalam putih telur disebut ovalbumine dan albumin dalam susu disebut laktoalbumin. Protein bersenyawa yaitu ikatan protein dengan zat-zat lain seperti protein + glikogen = glikoprotein, protein + zat pewarna (hemoglobin) = kromoprotein, protein + fosfor = fosforprotein, protein + lemak = lipoprotein. Sedangkan turunan protein seperti albumin pepton, peptide dan gelatin. Protein tersusun atas unsur-unsur pembentuk yang disebut asam amino. Asam amino

dikelompokkan menjadi 2 yaitu asam amino esensial dan asam amino nonesensial. Asam amino esensial (tidak dapat dihasilkan tubuh sehingga harus ada dalam asupan makanan) yang terdiri atas : lisine, fenilalanin, isoleusine, triptofan, leusine, treonin, histidin, metionine dan valin. Sedangkan asam amino nonesensial yaitu dapat dihasilkan oleh tubuh seperti : arginine, glisine, terosi, prolin, histidine, serine, kistine, glutamin, alanine, asparagine, asam aspartik, taurine, cytine, asam glutamin, hidroxylysine (Irianto, 2007).

Berdasarkan bentuknya protein dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu protein fibriler dan protein globuler. Protein fibriler adalah protein yang berbentuk serabut, tidak dapat larut dalam pelarut-pelarut encer, baik larutan garam, asam basa, maupun alkohol. Memiliki berat molekul besar yang belum dapat diketahui dengan pasti dan sukar dimurnikan. Susunan molekulnya terdiri dari rantai molekul yang panjang sejajar dengan rantai utama, tidak membentuk kristal, apabila rantai ditarik memanjang dapat kembali pada keadaan semula ketika dilepaskan. Contoh protein fibriler antara lain: kolagen yang terdapat pada tulang rawan, miosin pada otot, keratin pada rambut, dan fibrin pada gumpalan darah. Sedangkan protein globuler atau steroprotein adalah protein yang berbentuk bola, banyak terdapat pada bahan pangan seperti susu, telur dan daging. Protein ini mudah terdenaturasi, dapat larut dalam larutan garam dan asam encer, mudah berubah dibawah pengaruh suhu, konsentrasi garam, pelarut asam dan basa. Contoh protein globulin antara lain: albumin, globulin, glutelin, prolamin atau gliadin, protamin, histon (Budiyanto, 2009).

2.1.2 Jenis Protein Berdasarkan Berat Molekulnya

Tabel 2. Jenis Protein dalam daging berdasarkan berat molekulnya

Jenis Protein	Berat Molekul	Jenis Protein	Berat Molekul
Miofibril		Protein Filamen	
Miosin	200 kDa	Desmin	55 kDa
Aktin	197 kDa	Mioglobin	77 kDa
Tropomiosin	134 kDa	Haemoglobin	13 kDa
Troponin	202 kDa	Protease pada Daging	
Troponin C	18 kDa	Alkaline Preotease	22 kDa
Troponin I	23 kDa	Serin Protease	22-24 kDa
Troponin T	38 kDa	Miosin-Cleaving Enzim	26-27 kDa
Aktinin		Ca-actived enzim	22 kDa
α aktinin	95 kDa	Protease (CAF, CANP)	80+30 kDa
β aktinin	37 kDa	Catepsin B	24-27 kDa
Y aktinin	35 kDa	Catepsin D	42-45 kDa
Eu aktinin	42 kDa	Catepsin L	24 kDa
M-protein	165 kDa	Kolagen	
Creatin kinase	43 kDa	Prokolagen	120 kDa
C-protein	135 kDa	Prokolagen N-proteinase	260 kDa
F-protein	121 kDa	Prokolagen C-proteinase	80 kDa
I-protein	50 kDa	Lysil oksidase	29-31 kDa

Sumber : Ariska (2016) dikutip dari Prace and Schweigert (1987)

Protein daging terdiri dari protein sederhana dan protein terkonjugasi dengan radikal non protein berdasarkan asalnya protein dapat dibedakan dalam tiga kelompok yaitu protein sakrolasma, protein myofibril dan protein jaringan ikat. Protein sarkoplasma adalah protein larut air (*water soluble* protein) karena umumnya dapat diekstrak oleh air dan larut garam encer. Protein miofibril terdiri atas miosin dan aktin serta sejumlah kecil troponin dan aktinin, memiliki sifat larut dalam garam (*salt soluble* protein). Protein jaringan ikat merupakan fraksi protein yang tidak larut, terdiri atas protein kolagen, elastin dan retikulin (Ariska, 2016).

2.1.3

Protein berfungsi sebagai pembentuk komponen struktural, enzim, pembentukan antibodi, sumber energi dan memegang peranan penting dalam mengangkut dan menyimpan zat-zat gizi di dalam tubuh. Protein pengikat-retinol

atau *retinol binding protein (RBP)* transferin dan lipoprotein adalah protein yang mengangkut vitaminA, mangan, zat besi serta lipida. Protein pengangkut ini dapat mengangkut zat-zat gizi dari saluran cerna kedalam darah, jaringan dan sel di dalam tubuh (Hardiansyah, 2016).

2.1.4. Sifat protein

Polimerisasi protein dapat terurai atau terpecah menjadi bentuk yang lebih sederhana. Ini terjadi bila bereaksi dengan asam, basa atau enzim. Misalnya proses pemasakan (ripening) pemecahan protein. Pembusukan daging: dekomposisi protein lebih lanjut dan disertai perubahan yang lain (Heri, 2015).

2.1.5. Denaturasi Protein

Denaturasi protein diartikan sebagai suatu perubahan atau modifikasi terhadap susunan ruang atau rantai polipeptida. Denaturasi protein dapat terjadi dikarenakan pengaruh panas, pH, bahan kimia, mekanik. Denaturasi: suatu proses terpecahnya ikatan hydrogen, interaksi hidrofobik, ikatan garam dan terbukanya lipatan molekul atau rantai polipeptida suatu molekul protein berubah (Heri, 2015).

2.2. Kerang Hijau (*Perna viridis*)

Klasifikasi kerang hijau menurut Cappenberg (2008), antara lain sebagai berikut : memiliki *Kingdom : Animalia, Filum : Mollusca, Kelas : Pelecypoda (Bivalvia), Subkelas : Lamellibranchia, Ordo : Anisomyria, Super family : Mytilacea, Family : Mytilidae, Sub family : Mytilinae, Genus : Perna, Spesies : Perna viridis*



Gambar 1. kerang hijau (*Perna viridis*)

Sumber : <https://id.wikihow.com/Memasak-Kerang-Hijau#/Berkas:Cook-Mussels-Step-1>

Kerang hijau memiliki banyak nama daerah (*local common name*), yaitu di Jakarta dikenal dengan nama kijing, di Riau dikenal dengan nama kemudi kapal, di Banten dikenal dengan nama kedaung, di Malaysia disebut siput sudu, di Filipina disebut *tahong*, di Thailand disebut *hoimong poo* dan di Singapura dikenal dengan nama *tam cay* atau *chay luan* (Cappenberg, 2008).

2.3. Kandungan Zat Gizi Kerang Hijau

Kerang hijau merupakan salah satu komoditas dari kelompok *shellfish* yang sudah dikenal masyarakat Indonesia. *Perna viridis* juga merupakan salah satu jenis kerang yang memiliki nilai ekonomis dan kandungan gizi yang sangat baik untuk dikonsumsi. Daging kerang hijau merupakan sumber protein dan mineral berbentuk lunak dan berair/berlendir serta mengandung air 40,80%, protein 21,9%, lemak 14,5%, karbohidrat 18,5% dan abu 4,4%, dalam 200 gram daging mengandung 300 kalori. Daging yang segar umumnya berwarna hijau atau oranye mengkilap. Dari nilai gizinya menjadikan kerang hijau sebanding dengan daging sapi, telur, daging ayam (Murdinah, 2009).

Kerang hijau hidup subur di Indonesia pada muara-muara sungai dan hutan-hutan bakau, dengan kondisi lingkungan dasar perairan berlumpur atau berpasir. Populasi kerang hijau di perairan Indonesia cukup besar, oleh sebab itu

pemanfaatannya juga berpotensi besar. Budidaya kerang hijau relatif mudah dilakukan di perairan pantai (Suryono, 2013).

Selain sebagai bahan makanan, kerang dapat dikembangkan dalam produk baru menjadi kamaboko, hidrolisat protein, pasta *condiment* dan kerupuk, serta perebusan kerang hijau dengan pewarna alami dapat meningkatkan pemanfaatannya sebagai sumber protein (Murdinah, 2008).

2.4. Logam Berat

2.4.1. Definisi Logam Berat

Logam berat adalah unsur logam dengan berat molekul tinggi. Logam berat merupakan bahan pencemar yang berbahaya, bersifat toksik dan dapat mempengaruhi berbagai aspek di perairan baik dari segi biologis maupun ekologis (Ismarti, 2015). Menurut Widowati (2008) dalam Ika (2011), ada dua jenis logam berat yaitu logam berat esensial dan logam berat non esensial. Logam berat esensial adalah logam dalam jumlah tertentu dibutuhkan oleh organisme namun dalam jumlah yang berlebihan dapat menjadi toksik seperti seng (Zn), tembaga (Cu), besi (Fe), cobalt (Co), dan Mangan (Mn). Sedangkan logam berat non esensial adalah logam yang keberadaannya belum diketahui manfaatnya bagi tubuh organisme seperti timbal (Pb), kromium (Cr), merkuri (Hg), Arsen (As) dan Cadmium (Cd).

Salah satu jenis logam berat yang mengakibatkan polusi dan pencemaran air adalah timbal. Timbal (Pb) adalah senyawa logam yang lunak dan berwarna coklat kehitaman serta mudah dimurnikan. Timbal memiliki berat atom 207,21; berat jenis 11,34; nomor atom 82; titik leleh 327,4°C dan titik didih 1.620°C

berwarna biru silver atau abu- abu degan kilau logam. Keracunan Pb kebanyakan disebabkan oleh pencemaran lingkungan, terutama kota-kota besar (Ayni, 2006).

2.4.2. Bahaya Logam Berat Timbal (Pb)

Timbal (Pb) merupakan unsur logam berat yang bersifat *neurotoksin*, tidak terurai oleh proses alam sehingga dapat masuk dan terakumulasi dalam tubuh serta dapat membahayakan kesehatan manusia. Timbal merupakan logam berat yang sangat beracun, dapat dideteksi secara praktis pada seluruh benda mati di lingkungan dan seluruh sistem biologis. Paparan timbal dapat mengakibatkan fase pertumbuhan fisik dan mental serta kecerdasan dan kemampuan akademik pada anak. Timbal dapat terakumulasi pada gigi, gusi, dan tulang. Konsentrasinya yang semakin meningkat akan menyebabkan anemia, kerusakan pada otak dan sistem syaraf serta kegagalan fungsi ginjal, sehingga pada orang dewasa ditandai dengan gejala seperti pucat, sakit dan kelumpuhan (Mirawati, 2015).

Menurut Departemen Kesehatan (2002) dalam Nuraini (2015) mengemukakan bahwa Timbal (Pb) tidak larut dalam air, dan kadar yang diperbolehkan maksimum 0,005mg/L. Logam berat timbal dapat ditoleransi dalam seminggu dengan takaran 50mg/kg berat badan untuk dewasa dan 25mg/kg berat badan untuk bayi dan anak-anak.

Menurut WHO (2010) tentang PTWI (*Provisional Tolerable Weekly Intake*) mobilitas timbal di tanah dan tumbuhan cenderung lambat dengan kadar normalnya pada tubuh berkisar 0,5-3ppm. Meskipun hingga saat ini timbal belum diketahui manfaatnya dalam tubuh, namun kadar timbal masih ditoleransi dengan mempertimbangkan berat badan yaitu 0,025 mg/kg berat badan. Jika berat badan

mencapai 60 kg maka kadar timbal yang dapat ditoleransi sebesar 0,2142 mg/hari (Yuyun, 2016).

Logam berat yang masuk ke dalam ekosistem laut dapat mengendap ke dasar perairan dan terserap oleh sedimen. Logam berat yang mengendap pada dasar perairan akan membentuk sedimentasi yang dapat mengontaminasi biota laut seperti udang, kepiting, kerang, dan menjadi racun bagi manusia yang mengonsumsi hewan tersebut (Palar, 2008).

Keberadaan logam berat seperti Pb, Cd, Hg dan As dalam tubuh dapat menyebabkan keracunan, iritasi usus dan lambung, penurunan produktivitas sel darah putih dan sel darah merah, perubahan kulit, iritasi paru-paru dan mempercepat perkembangan kanker bahkan dapat menyebabkan kematian (Agustina, 2014).

2.4.3. Pengendapan Logam berat dan hubungannya dengan protein

Ada beberapa reaksi dari protein yang menunjukkan pengaruh yang berbeda-beda antara pereaksi yang lainnya, seperti reaksi uji protein (albumin) dengan uji biuret yang berwarna merah dan belum tentu sama dengan pereaksi lainnya (Ariwulan, 2011). Berbagai protein globular memiliki daya kelarutan yang berbeda dalam udara tergantung dari variabel yang mempengaruhi kelarutannya seperti pH, kekuatan ion, sifat dielektrik pelarut dan temperatur. Beberapa protein akan mengendap pada pH isoelektriknya, dengan cara mengatur pH larutan. Sebagian besar protein dapat diendapkan dari larutan dengan asam seperti asam trikloroasetat dan asam perklorat. Penambahan asam ini menyebabkan terbentuknya garam protein yang tidak larut. Zat pengendapan lainnya adalah

tungsat, fosfotungsat dan metanofungsat. Protein juga diendapkan dengan kation tertentu seperti Zn^{2+} dan Pb^{2+} (Patong, 2012).

Protein yang tercampur dengan logam berat akan terdenaturasi. Denaturasi merupakan proses berubahnya struktur molekul tanpa memutuskan ikatan kovalen. Denaturasi dapat dilakukan oleh berbagai bahan yang paling penting adalah bahan, pH, garam, dan pengaruh, biasanya dibarengi oleh fungsi-fungsi yang digunakan untuk berbagai fungsi seperti fungsi kelarutan. Denaturasi terjadi pada albumin yang terkoagulasi setelah ditambahkan $AgNO_3$ dan $(CH_3COO)_2 Pb$. Senyawa-senyawa tersebut akan memutihkan garam dan berikatan dengan protein membentuk endapan proteinat logam. Protein juga mengendap bila di temukan garam-garam anorganik dengan konsentrasi yang tinggi dalam larutan protein. Berbeda dengan logam berat, garam-garam anorganik mengendapkan protein karena kemampuan ion garam terdehidrasi berkompetisi dengan protein untuk mengikat udara (Sri, 2012).

2.5. Proses Masuknya Logam Berat Ke dalam Tubuh Kerang

Pantai merupakan salah satu habitat yang baik bagi organisme laut baik yang menetap seperti kerang maupun yang migran. Dengan adanya pembuangan limbah yang mengandung logam berat secara terus-menerus, dapat menimbulkan dampak buruk terhadap organisme yang hidup di perairan tersebut terutama jenis organisme yang menetap pada suatu substrat di perairan seperti kerang hijau (Suryono, 2013).

Masalah pencemaran lingkungan yang berkaitan dengan sistem perairan pantai pada umumnya sangat kompleks karena adanya interaksi proses kimia,

fisika dan biologi (Suhartono, 2009). Seiring dengan meningkatnya perindustrian di Indonesia, kebanyakan industri di Indonesia belum menyertakan unit pengolahan limbah yang baik sehingga, sebagian besar dibuang ke saluran-saluran menuju pantai (Suryono, 2013).

Kontaminasi logam berat pada lingkungan dan makanan tidak luput dari aktivitas manusia baik di darat maupun di perairan (Yuyun, 2016). Keberadaan logam berat yang berasal dari pembuangan limbah dan aktivitas manusia di daratan, akan menumpuk pada air dan sedimen akan terakumulasi masuk ke dalam air, sedimen serta biota dan akan menimbulkan efek toksik bagi organisme yang ada di dalamnya (Sembel, 2015).

Kerang dapat merespon logam di lingkungan perairan dengan mereduksi tingkat aktifitas *cilia* melalui pengaturan *syaraf branchial*. Respon lain juga ditunjukkan dengan mengurangi daya dan kapasitas filtrasi air tanpa pengaruh aktifitas *cilia*. Selain itu, respon kerang yang diisolasi dari lingkungan perairan yang buruk akan lebih sensitif terhadap logam berat, dapat berpengaruh terhadap mekanisme fisiologis dan metabolisme. Kerang hijau merupakan organisme *filter feeder* atau menyaring makanan, yaitu dengan cara memompa air melalui rongga mantel melalui insang sehingga mendapatkan partikel-partikel yang ada dalam air. *Micro algae* adalah makanan utamanya, sedangkan bakteri dan zat organik terlarut merupakan makanan tambahan (Suryono, 2013).

Semakin banyaknya respon kerang terhadap adanya logam berat di perairan maka logam berat tersebut akan terakumulasi ke dalam jaringan insang kerang, mengakibatkan kerang mengeluarkan banyak lendir yang dapat

menyelimuti insang, serta terjadi penurunan filtrasi kerang hijau. Akibat adanya lendir yang menyelimuti insang dapat berpengaruh terhadap respirasi dan filtrasi. Logam berat seperti Pb, Zn, dan Cu dapat terikat oleh jaringan lendir pada insang sehingga merusak insang, akibatnya fungsi insang terganggu termasuk filtrasi makanannya juga terganggu, sebab itu, keberadaan logam berat dalam perairan sangat tidak baik bagi kerang hijau (Capenberg, 2008).

2.6. SSA (Spektrofotometer Serapan Atom)

Alat spektrofotometer secara khusus menghitung konsentrasi bahan kimia berupa atom bukan senyawa, alat ini sering disebut Spektrofotometer serapan atom (SSA). Spektrofotometer serapan atom merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk menentukan kadar logam tanpa dipengaruhi oleh keberadaan logam yang lain, dengan memanfaatkan serapan energi sebagai dasar pengukuran dimana terjadi penyerapan energi oleh atom-atom netral keadaan gas. Selain itu pelaksanaannya sederhana interferensinya sedikit, cocok untuk analisis sekelumit logam karena memiliki kepekaan yang tinggi. Alat spektrofotometer ini mulai dikenal sejak tahun 1990an (Sari, 2010).

Prinsip dasar dari spektrofotometer serapan atom yaitu pengukuran serapan suatu sinar oleh suatu atom berdasarkan absorpsi serapan atom pada panjang gelombang dari suatu atom yang mengalami eksitasi. Sinar yang tidak diserap, akan diteruskan dan diubah menjadi sinyal listrik. Pengukuran konsentrasi logam dalam lapisan api yang panas, cahaya dari lampu katoda yang mengandung logam akan dianalisa melalui api tersebut masuk ke dalam monokromator yang akan mengisolasi radiasi keadaan dasar dari lampu katoda.

Larutan yang disemprotkan ke dalam api akan membentuk atom-atom. Jika atom-atom yang terbentuk sama dengan elemen pada lampu, maka cahaya tersebut akan terabsorpsi. Tingkat absorpsi tergantung pada jumlah atom yang terdapat pada larutan, oleh sebab itu SSA dapat menentukan kadar logam meskipun dengan jumlah yang sangat kecil karena tingkat kepekaannya yang tinggi (Kombongkila', 2016).

2.7. Analisis Profil Protein

Analisis protein merupakan langkah awal mengenai proses biologis yang akan diamati. Identifikasi protein secara kuantitatif dapat diamati melalui profil protein yang diperoleh dari destruksi protein. Profil protein tersebut akan menggambarkan pola ekspresi tingkat protein untuk menganalisis perbedaan ekspresi dari karakter-karakter yang berlawanan (Arif, 2012).

Teknik analisis protein membutuhkan prosedur isolasi, yaitu pemisahan protein dari makromolekul yang lain atau pemisahan protein dengan sifat-sifat tertentu dari protein lain yang tidak diinginkan dalam analisis. Teknik isolasi dan indentifikasi protein harus mempertimbangkan sifat-sifat fisik, kimiawi, dan kelistrikan suatu protein sehingga konformasi dan aktivitasnya tidak berubah (Widyarti, 2001 dalam Diaman, 2016).

2.8. SDS-PAGE(*Sodium Dodecyl Sulphate – Poliacrylamide Gel Elektroforesis*)

SDS-PAGE merupakan suatu metode yang digunakan untuk menganalisis protein dengan memisahkan pita-pita protein berdasarkan berat molekulnya (Arif, 2012). Ada beberapa alat dan bahan serta metode yang akan dipersiapkan dalam penggunaan SDS-PAGE yaitu *elektroforesis gel, stacking gel, SDS, acrilamid,*

APS dan *temed*, *staining* dan *destaining*. SDS-PAGE merupakan metode pemisahan molekul yang menggunakan medan listrik sebagai penggerak molekul dan matriks penyangga berpori. SDS-PAGE telah digunakan untuk menganalisis protein pada mikroorganisme, hewan, dan manusia. Profil protein dapat diteliti melalui analisis SDS-PAGE dengan berbagai konsentrasi gel pemisah (12-2-%) dan voltase 75- 200 volt (Dwi, 2016).

Elektroforesis SDS-PAGE merupakan suatu metode yang digunakan untuk separasi atau pemisahan sebuah molekul bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasinya dalam sebuah medan listrik. Molekul yang bermuatan negatif dilewatkan melalui suatu medium akan bergerak menuju ke muatan positif. Kecepatan gerak molekul tersebut tergantung pada rasio muatan terhadap massa dan bentuk molekulnya (Yephyhardi, 2009). Analisa dengan metode SDS-PAGE menggunakan *gel poliacrilamid* terdiri dari *stacking gel* dan *sparating gel*. Dimana *stacking gel* berfungsi sebagai gel tempat meletakkan sampel, sedangkan *sparating gel* merupakan tempat protein akan berpindah menuju anoda (Diaman dkk, 2016).

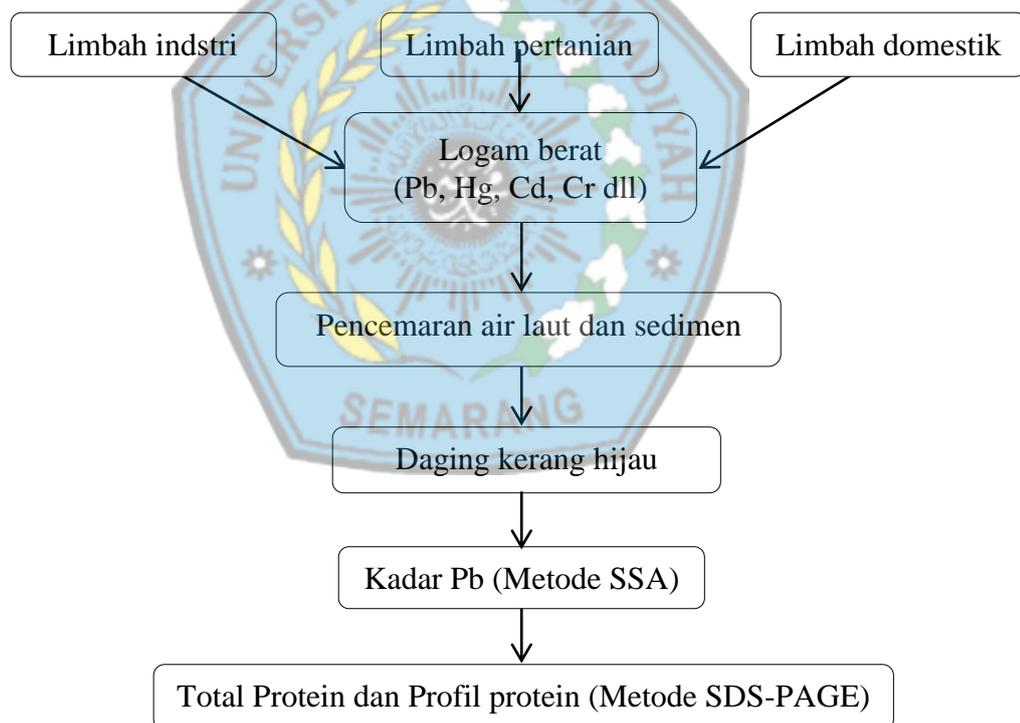
Penggunaan *gel poliacrilamid* merupakan migrasi komponen *akrilamida* dengan *N.N' bisakrilamida* untuk menentukan berat molekul suatu protein, disamping itu juga merupakan monitor pemurnian protein. Penggunaan SDS-PAGE terhadap protein tak larut dengan kekuatan ion rendah, dapat menentukan suatu protein termasuk monomerik atau oligomerik, menetapkan berat molekul dan jumlah rantai peptida sebagai sub unit atau monomer (Diaman dkk, 2016).

SDS adalah deterjen yang memiliki sifat polar dan nonpolar, dapat mengikat protein sehingga bagian nonpolar dari SDS tersembunyi ke dalam bagian nonpolar (hidrofobik) dari protein sedangkan gugus sulfat dari SDS yang bermuatan negatif berhubungan langsung atau terekspos pada pelarut. SDS berfungsi untuk mendenaturasi protein karena SDS bersifat sebagai deterjen yang mengakibatkan ikatan dalam protein terputus membentuk protein yang dapat terelusi dalam gel begitu juga mercaptoetanol. SDS dapat mengganggu konformasi spesifik dengan cara melarutkan molekul hidrofobik yang ada didalam struktur tersier polipeptida. SDS mengubah semua molekul protein kembali ke struktur primernya (struktur linear) dengan cara meregangkan gugus utama polipeptida. SDS juga menyebabkan seluruh rantai peptida bermuatan negatif (Fatchiyah, 2011).

Prinsip dasar penggunaan SDS-PAGE yaitu larutan protein yang akan dianalisis dicampur dengan SDS, dimana SDS merupakan *detergent anionic* yang apabila dilarutkan molekulnya memiliki muatan negatif dalam range pH yang luas dan akan mendenaturasi sebagian besar struktur kompleks protein secara kuat tertarik ke arah anoda bila ditempatkan pada suatu medan elektrik. Pada saat pemberian arus listrik, molekul bermigrasi melalui *gel poliacrilamid* menuju kutub positif (anoda), dimana molekul yang kecil akan bermigrasi lebih cepat dibanding molekul yang besar, sehingga akan terjadi pemisahan. Molekul protein akan melewati pori-pori *gel poliacrilamid* pada proses elektroforesis dengan SDS sehingga kemudahan pergerakan melalui pori tergantung pada diameter molekul. Molekul yang lebih besar akan tertahan sehingga bergerak lambat. Molekul yang

terdenaturasi diameternya tergantung dari berat molekulnya, makin besar diameter molekul maka semakin lambat pula gerakannya. Dengan demikian, SDS - PAGE akan memisahkan molekul berdasarkan berat molekulnya. Untuk melihat pita protein yang terbentuk dilakukan pengecatan khusus seperti pengecatan CBB (*Commasie Brilliat Blue*) dan pengecatan SSS (*Silver Salt Staining*) yang bertujuan untuk mengikat protein secara spesifik dengan ikatan kovalen. Pengecatan dengan SSS sifatnya lebih sensitif namun menggunakan waktu yang cukup lama dibandingkan CBB (Saputra, 2014).

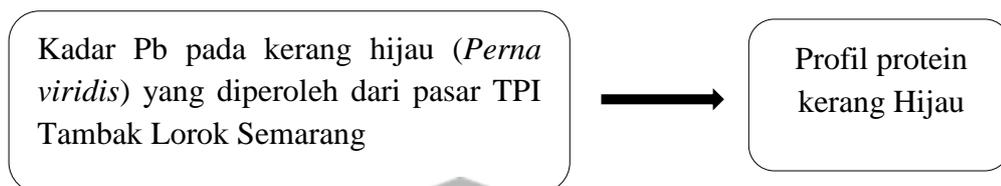
2.9.Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori

2.10. Kerangka Konsep

Kerangka konsep dalam penelitian ini adalah daging kerang yang diambil dari pasar TPI Tambak Lorok Semarang, akan dianalisis kadar Pb dengan menghubungkan pengaruh kadar Pb tersebut terhadap profil protein yang terdapat dalam daging kerang hijau.



Gambar 3. Kerangka Konsep

