

**ANALISIS PROTEIN ALERGEN PADA KACANG TANAH
(SEBELUM DAN SESUDAH PENGOLAHAN) MENGGUNAKAN
METODE KROMATOGRAFI KOLOM PENUKAR ANION DAN
ELEKTROFORESIS**

LAPORAN TUGAS AKHIR

ISNAINI RAHMATUL REZA

11151019



**PROGRAM STUDI STRATA 1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA
BANDUNG
2020**

**ANALISIS PROTEIN ALERGEN PADA KACANG TANAH
(SEBELUM DAN SESUDAH PENGOLAHAN) MENGGUNAKAN
METODE KROMATOGRAFI KOLOM PENUKAR ANION DAN
ELEKTROFORESIS**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan

Program Strata Satu

Isnaini Rahmatul Reza

11151019

Bandung, 30 Januari 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Emma Emawati, S.T., M.Si)

Pembimbing Serta,



(Winasih Rachmawati, M.Si. Apt.)

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Universitas Bhakti Kencana Bandung, dan terbuka untuk umum.

Referensi kepastakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Ketua Program Studi di lingkungan Universitas Bhakti Kencana Bandung.

*Dipersembahkan kepada kedua orangtua tercinta serta kakak dan adik
tersayang, dan teman-teman seperjuangan.*

ABSTRAK
ANALISIS PROTEIN ALERGEN PADA KACANG TANAH
(SEBELUM DAN SESUDAH PENGOLAHAN) MENGGUNAKAN
METODE KROMATOGRAFI KOLOM PENUKAR ANION DAN
ELEKTROFORESIS

Oleh :

Isnaini Rahmatul Reza

11151019

Alergi pangan merupakan reaksi abnormal sistem kekebalan tubuh dalam merespon protein alergen dari makanan dan termasuk reaksi hipersensitivitas yang diperantarai oleh antibody IgE (IgE-mediated). Kacang tanah merupakan salah satu dari delapan jenis kelompok pangan yang dapat menyebabkan alergi, Kacang tanah tersusun oleh 27,6% protein. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi protein alergen yang terdapat pada Kacang tanah. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi menggunakan PBS (*Phosphate buffer saline*) pH 7.2 dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000rpm selama 20 menit pada suhu 4°C, pemisahan protein menggunakan kromatografi kolom penukar ion dengan prinsip pemisahan berdasarkan perbedaan bobot molekul, dan karakterisasi protein menggunakan elektroforesis SDS-PAGE untuk mengetahui bobot molekul pada kacang tanah. Hasil analisis profil protein alergen pada Kacang Tanah menggunakan SDS-PAGE menunjukkan terdapat pita protein dengan bobot molekul 45 kDa.

Kata Kunci : Alergi pangan, Kacang tanah, Kromatografi kolom penukar ion, SDS PAGE.

ABSTRACT
PROTEIN ANALYSIS OF ALERGEN ON PEANUTS (BEFORE AND AFTER PROCESSING) USING CHROMATOGRAPHY METHOD OF ANION EXCHANGER COLUMN AND ELECTROPHORESIS

By :

Isnaini Rahmatul Reza

11151019

Food allergy is an abnormal reaction of the body's immune system in response to protein allergens from food and includes hypersensitivity reactions mediated by IgE antibodies (IgE-mediated). Peanuts is one of the big eight types of food groups that could cause allergies, Peanuts are composed of 27.6% protein. This study aims to identify protein allergens found in peanuts. The method used in this study is extraction using PBS (Phosphate buffer saline) pH 7.2 and centrifuged at 10.000rpm for 20 minutes at 4°C, the separation of proteins using ion exchange column chromatography with the principle of separation based on differences in molecular weigh, and protein characterization using SDS-PAGE electrophoresis to determine molecular weights in peanuts. Analysis of protein allergen profile on peanuts using SDS-PAGE showed on peanuts protein with molecular weight 45 kDa.

Keywords : Food Allergy, Peanuts, Chormatography ion exchanger, SDS-PAGE.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena dengan rahmat, karunia serta taufik dan hidayah-Nya lah penulis dapat menyelesaikan penulisan penelitian ini yang berjudul “Analisis Protein Alergen pada Kacang Tanah (sebelum dan sesudah pengolahan) menggunakan metode Kromatografi Kolom Penukar Anion dan Elekrtoforesis.” dapat diselesaikan. Penulisan Laporan Penelitian ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu persyaratan Kelulusan Strata 1 Farmasi di Universitas Bhakti Kencana Bandung. Penulis menyadari adanya keterbatasan ilmu dalam penulisan serta jauh dari kesempurnaan. Tetapi walaupun demikian penulis berusaha sesuai dengan kemampuan yang penulis miliki di dalam penyelesaian laporan tugas akhir ini. Selanjutnya harapan dari penulis, semoga laporan tugas akhir ini bermanfaat baik bagi yang berkepentingan maupun bagi masyarakat umum dan juga Civitas Akademika Universitas Bhakti Kencana Bandung, fakultas farmasi. Akhirnya dengan segala kerendahan hati, perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih yang tidak terhingga atas segala bantuan serta bimbingan yang telah diberikan dalam penyusunan laporan tugas akhir ini, kepada yang terhormat :

1. Kepada orangtua serta kakak dan adik tercinta yang selalu memberikan do'a serta dukungan selama kuliah di Universitas Bhakti Kencana Bandung.
2. Ibu Emma Emawati, S.T., M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama, serta Winasih Rachmawati, M.Si. Apt selaku Dosen Pembimbing Serta yang

telah bersedia meluangkan waktu juga membimbing penulis dari persiapan hingga selesainya laporan tugas akhir ini.

3. Seluruh Dosen yang telah memberikan ilmu dan pembelajaran selama perkuliahan di Universitas Bhakti Kencana Bandung, fakultas farmasi.
4. Sahabat dan rekan terbaik penulis, Rani Ramadhani, Fitri Hartati, Maeyani, Flora Sekar, sebagai tempat saling berbagi, memberi arti, dan telah membantu penulis dalam penulisan.
5. Seluruh rekan-rekan angkatan 2015 yang telah memberikan dukungan, semangat serta doa tulus yang diberikan setiap saat.

Penulis menyadari banyak kelemahan serta kekurangan dalam penulisan dan penyusunan laporan tugas akhir masih belum mendekati kesempurnaan, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan koreksi dan saran yang sifatnya membangun sebagai bahan masukan yang bermanfaat demi perbaikan dan peningkatan diri dalam bidang ilmu pengetahuan.

Bandung, 30, Januari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	ii
ABSTRAK	iv
<i>ABSTRACT</i>	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
I.4 Manfaat Penelitian	3
I.5 Waktu dan Tempat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Alergi	4
II.2 Kacang Tanah	8
II. 3 Protein.....	9
II. 4 Kromatografi Kolom Penukar Ion	10
II.5 Elektroforesis	13

BAB III METODE PENELITIAN	18
III.1 Metode Penelitian	18
BAB IV ALAT DAN BAHAN	19
IV.1 Alat	19
IV.2 Bahan.....	19
BAB V PROSEDUR PENELITIAN	19
V.1 Preparasi Sampel	19
V.2 Ekstraksi Protein Alergen pada Kacang Tanah.....	19
V.3 Pemisahan Protein alergen dengan Metode Kromatografi Kolom Penukar Anion.....	19
V.4 Klasifikasi Protein alergen dengan metode Elektroforesis SDS PAGE (Bollag and Edelstein 1991).....	20
BAB VI HASIL & PEMBAHASAN	23
VI.1 Preparasi Kacang Tanah.....	23
VI.2 Ekstraksi Protein Alergen pada Kacang Tanah.....	24
VI.3 Pemisahan Protein alergen dengan Metode Kromatografi Kolom Penukar Anion.....	25
VI.4 Klasifikasi Protein alergen dengan metode Elektroforesis SDS PAGE (Bollag and Edelstein 1991).	27
BAB VII Kesimpulan dan Saran.....	35
VII. 1 Kesimpulan	35
VII. 2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Bagan Alur Kerja.....	40
Lampiran B. Perhitungan Pembuatan Larutan.....	41
Lampiran C. Nilai Absorbansi dari profil protein Kacang Tanah.....	42
Kacang tanah mentah.....	42
Kacang tanah rebus.....	43
Lampiran D. Cara menghitung RF Marker dan menghitung BM sampel.....	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Skema SDS-PAGE.....	16
Gambar V1.1 Hasil pemurniaan Kacang tanah mentah dengan menggunakan kromatografi kolom penukar anion, Sephadex DEAE A-25. Fraksi 1-10 pengelusi PBS pH 7,2; 11-23 pengelusi PBS bergradien garam.....	26
Gambar VI.2 Hasil pemurniaan Kacang tanah rebus dengan menggunakan kromatografi kolom penukar anion, Sephadex DEAE A-25. Fraksi 1-10 pengelusi PBS pH 7,2; 11-23 pengelusi PBS bergradien garam.....	27
Gambar VI 3. Elektrogram hasil SDS-PAGE Kacang Tanah mentah, pewarna coomasie brilliant blue. hasil kromatografi penukar anion fraksi 1–10. (1) Protein marker, Ukuran BM standar berturut-turut dari atas ke bawah yaitu 116, 66.2, 45, 35, 25, 18.4, 14,4. (2); ekstrak kasar udang rebus (3); fraksi 1 (4); fraksi 3 (5); fraksi 6 (6); fraksi 7 (7); fraksi 11 (8); fraksiI 15 (9); fraksi 19 (10) fraksi 21.....	30
Gambar VI.4 Elektrogram hasil SDS-PAGE Kacang Tanah rebus, pewarna coomasie brilliant blue. hasil kromatografi penukar anion fraksi 1–10. (1) Protein marker, Ukuran BM standar berturut-turut dari atas ke bawah yaitu 116, 66.2, 45, 35, 25, 18.4, 14,4. (2); fraksi 1 (3); fraksi 6 (4); fraksi 9 (5); ekstrak kasar udang rebus (6); fraksi 12 (7); fraksi 14 (8); fraksi 18 (9); fraksi 2 (10); fraksi 23.....	31
Gambar VI.5 Kurva Kacang tanah mentah.....	32
Gambar VI.6 Kurva Kacang tanah Rebus.....	33

DAFTAR TABEL

Tabel IV.1 Jarak migrasi dari marker beserta nilai rf dan berat molekul dari masing-masing pita sampel Kacang Tanah mentah.....32

Tabel IV.2 Jarak migrasi dari marker beserta nilai rf dan berat molekul dari masing-masing pita sampel Kacang Tanah Rebus.....34

BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kejadian alergi makanan, termasuk alergi protein merupakan ancaman bagi masyarakat karena makanan merupakan kebutuhan pokok, tetapi makanan juga dapat membahayakan jiwa. Walaupun semua makanan merupakan alergen yang potensial, menurut beberapa peneliti, bahan makanan yang banyak menimbulkan alergi adalah bahan makanan yang memiliki kandungan protein tinggi. Delapan jenis bahan pangan yang telah dikenal mengandung protein alergen adalah ikan, susu, kacang kedelai, kacang tanah, *shellfish*, telur, gandum, dan *nut tree*. Pada umumnya alergi pangan disebabkan oleh alergen yang berupa protein. Alergi akan terjadi pada individu yang memiliki kelainan genetik, yang disebut atopik, sehingga suatu protein pangan yang bersifat alergen pada seseorang belum tentu akan berakibat sama terhadap orang lain. (Bowman dan Selgrade 2008). Pada umumnya protein yang masuk ke dalam tubuh dicerna oleh usus halus menjadi asam aminonya. Apabila terdapat pori-pori pada membran sel mukosa usus halus, maka protein yang belum tercerna, termasuk protein alergen, dapat terserap dan dikenali oleh IgE sebagai protein asing. Reaksi alergi dapat menyebabkan produksi lendir yang berlebih pada hidung, gatal-gatal merah di tubuh, diare, muntah, gangguan saluran nafas, penurunan tekanan darah secara tiba-tiba, bahkan dapat berakibat kematian (Brown, 2004).

Kacang tanah merupakan bahan pangan yang kaya akan kandungan nutrisi, namun konsumen kacang tanah juga dihadapkan pada dua isu global keamanan pangan, yaitu kontaminasi aflatoksin dan protein kacang tanah sebagai sumber alergen. Isu konsumsi kacang tanah dapat menimbulkan

alergi bagi pasien yang sensitif. Gejala bervariasi mulai dari gejala ringan sampai akut yang mengarah ke anafilaksis (*anaphylactic shock*) atau bahkan kematian (Furlong *et al.*; 2001, Sampson 2002). Sampai saat ini 13 protein alergen kacang tanah sudah diidentifikasi, yaitu Ara h1 hingga Ara h13 (vanBoxtel *et al.* 2006; 2008, Koppelman *et al.* 2001,2003; Krause *et al.* 2009).

Dari latar belakang tersebut maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bobot molekul protein alergen pada kacang tanah mentah dan kacang tanah siap santap yang ada di pasaran melalui bobot molekul yang dianalisis menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodesil Sulfat-Poliakrilik Gel Elektroforesis*) dan mengetahui pola pemisahan protein penyebab alergi yang dihasilkan dari kolom kromatografi kolom penukar ion. Elektroforesis SDS-PAGE menggunakan gel buatan sebagai medium penyangga. Gel yang digunakan terbentuk dari polimerisasi akrilamida dengan N, N'-metilena bis akrilamida sehingga terbentuk ikatan silang karena polimerisasi akrilamida sendiri hanya menghasilkan ikatan linier yang tidak membentuk gel kaku. Teknik elektroforesis gel banyak digunakan baik di bidang kimia maupun biokimia, karena teknik ini memiliki banyak keuntungan seperti daya resolusi tinggi, sederhana dan mudah dibawa. (Girindra, 1993).

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka masalah yang dapat diteliti adalah mencari tahu bobot molekul dari kacang tanah yang dianalisis menggunakan metode SDS-PAGE.

I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan perumusan masalah yang telah dikemukakan, maka penelitian dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran protein alergen pada kacang tanah dilihat dari bobot molekul hasil analisis menggunakan metode Elektroforesis SDS PAGE.

I.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari hasil penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi kepada masyarakat luas bahwasannya kacang tanah mentah dan kacang tanah rebus memiliki kandungan protein penyebab alergi.
2. Mengetahui bobot molekul protein alergen dalam kacang tanah.

I.5 Waktu dan Tempat

1. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus-Desember 2019
2. Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium Universitas Bhakti Kencana di Bandung dan Laboratorium Biokimia di Jl. Singaperbangsa no 2 Bandung.