

**EFEKTIVITAS METODE *GEL CLOT* DAN *CHROMOGENIC*
PADA UJI BAKTERI ENDOTOKSIN MENGGUNAKAN
DARAH *HORSESHOE CRAB* ASAL BANYUASIN,
SUMATRA SELATAN**

SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Bidang
Ilmu Kelautan pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*



Oleh :

NITA PUSPITA SARI

08051281722055

**JURUSAN ILMU KELAUTAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
INDERALAYA**

2021

**EFEKTIVITAS METODE *GEL CLOT* DAN *CHROMOGENIC*
PADA UJI BAKTERI ENDOTOKSIN MENGGUNAKAN
DARAH *HORSESHOE CRAB* ASAL BANYUASIN, SUMATRA
SELATAN**

SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Bidang
Ilmu Kelautan pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*

Oleh :

NITA PUSPITA SARI

08051281722055

**JURUSAN ILMU KELAUTAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
INDERALAYA**

2021

LEMBAR PENGESAHAN

**EFEKTIVITAS METODE *GEL CLOT* DAN *CHROMOGENIC* PADA UJI
BAKTERI ENDOTOKSIN MENGGUNAKAN DARAH *HORSESHOE*
CRAB, ASAL BANYUASIN SUMATRA SELATAN**

SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Bidang
Ilmu Kelautan pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*

Oleh :

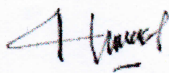
NITA PUSPITA SARI

08051281722055

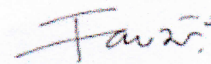
Indralaya, Oktober 2021

Pembimbing I

Pembimbing II



Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si
NIP. 197704122005021001



Dr. Fauziah, S.Pi
NIP. 197512312001122003

Mengetahui,
Ketua Jurusan Ilmu Kelautan



T. Zia Ugodry, ST., M.Si., Ph.D
NIP. 197709112001121006

Tanggal Pengesahan : Oktober 2021

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Nita Puspita Sari
NIM : 08051281722055
Program Studi : Ilmu Kelautan
Judul Skripsi : Efektivitas Metode *Gel Clot* dan *Chromogenic* pada Uji Bakteri Endotoksin Menggunakan Darah *Horseshoe Crab* Asal Banyuasin, Sumatra Selatan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya

DEWAN PENGUJI

Ketua : Dr. Fauziyah, S.Pi
NIP. 197512312001122003  (.....)

Anggota : Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si
NIP. 197704122005021001  (.....)

Anggota : Dr. Melki, S.Pi., M.Si.
NIP. 198005252002121004  (.....)

Anggota : Dr. Rozirwan, S.Pi., M.Sc.
NIP. 197905212008011009  (.....)

Ditetapkan di : Indralaya
Tanggal : Oktober 2021

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Dengan ini saya **NITA PUSPITA SARI, 08051281722055** menyatakan bahwa Karya Ilmiah/Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan Karya Ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata satu (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun Perguruan Tinggi lainnya.

Semua informasi yang dimuat dalam Karya Ilmiah/Skripsi ini yang berasal dari penulis lain, baik yang dipublikasikan atau tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar dan semua Karya Ilmiah/Skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Indralaya, 11 Oktober 2021



Nita Puspita Sari
NIM. 08051281722055

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Sriwijaya, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nita Puspita Sari
NIM : 08051281722055
Program Studi : Ilmu Kelautan
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalti-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

EFEKTIVITAS METODE *GEL CLOT* DAN *CHROMOGENIC* PADA UJI BAKTERI ENDOTOKSIN MENGGUNAKAN DARAH *HORSESHOE CRAB* ASAL BANYUASIN, SUMATRA SELATAN

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam banyak bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan skripsi ini **dibiayai dan didukung dari penelitian Kemendikbud skema unggulan a.n Dr. Fauziah tahun 2021**. Segala sesuatu terkait penggunaan data dan publikasi skripsi ini harus seizin Dr. Fauziah.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 11 Oktober 2021
Yang Menyatakan,



Nita Puspita Sari
NIM. 08051281722055

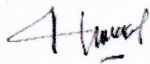
ABSTRAK

Nita Puspita Sari. 08051281722055. Efektivitas Metode *Gel Clot* dan *Chromogenic* pada Uji Bakteri Endotoksin Menggunakan Darah *Horseshoe Crab* Asal Banyuasin, Sumatra Selatan (Pembimbing : Dr. Fauziyah, S.Pi dan Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si)

Mimi atau belangkas (*horseshoe crab*) merupakan salah satu hewan laut yang termasuk ke dalam hewan langka dengan status terancam punah dan ditemukan di Perairan Muara Banyuasin, Sumatra Selatan. Darah belangkas memiliki kemampuan untuk mendeteksi bakteri, yang mana di dalam darah belangkas terdapat kandungan *amebocyte lysate* yang berperan penting dalam proses deteksi bakteri endotoksin, sehingga dilakukan penelitian tentang kemampuan darah belangkas asal Perairan Muara Banyuasin, Sumatra Selatan dalam mendeteksi bakteri endotoksin menggunakan metode *Gel Clot* dan *Chromogenic*, serta membandingkan efektivitasnya. Pengambilan sampel belangkas dilakukan di Perairan Muara Banyuasin, kemudian pengujian sampel dilakukan di Laboratorium Bioekologi Kelautan, Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya dan Laboratorium Rekayasa Genetika Terapan dan Desain Protein, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Bogor. Hasil uji endotoksin menunjukkan bahwa belangkas *C. rotundicauda* jantan dan betina, serta *T. gigas* jantan dapat mendeteksi bakteri endotoksin menggunakan metode *Gel Clot* dan metode *Chromogenic*. Metode *Gel Clot* lebih efektif mendeteksi bakteri endotoksin dengan berhasilnya mendeteksi 4 (empat) sampel darah dari 28 sampel darah, dengan metode yang lebih mudah dilakukan. Sedangkan metode *Chromogenic* hanya dapat mendeteksi 1 (satu) sampel dari 28 sampel dengan nilai korelasi $r = 0,905$ menggunakan metode yang lebih sulit dilakukan.

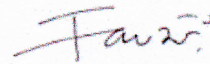
Kata Kunci : Amebosit lisat, Bakteri Endotoksin, Belangkas, *Chromogenic*, *Gel Clot*

Pembimbing II

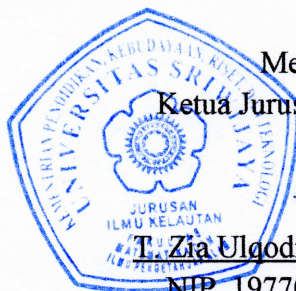


Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si
NIP. 197704122005021001

Indralaya, Oktober 2021
Pembimbing I



Dr. Fauziyah, S.Pi
NIP. 197512312001122003



Mengetahui,
Ketua Jurusan Ilmu Kelautan

T. Zia Ulgodry, ST., M.Si., Ph.D
NIP. 197709112001121006

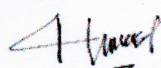
ABSTRACT

Nita Puspita Sari. 08051281722055. Effectiveness of Gel Clot and Chromogenic Method on Bacterial Endotoxin Test Using Blood of Horseshoe Crab from Banyuasin, South Sumatra (Supervisor : Dr. Fauziyah, S.Pi and Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si)

Mimi or horseshoe crab is one of the marine animals that is included as a rare animal with an endangered status and is found in the waters of Banyuasin Estuary, South Sumatra. The blood of horseshoe crab has the ability to detect bacteria, which in the blood contains amebocyte lysate which plays an important role in the detection of bacterial endotoxins, so research is carried out on the ability of horseshoe crab blood from Banyuasin Estuary waters, South Sumatra in detecting endotoxin bacteria using the Gel Clot method and Chromogenic, and comparing their effectiveness. Sampling was carried out in Banyuasin Estuary waters, then sample testing was carried out at the Marine Bioecology Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sriwijaya University and the Laboratory of Applied Genetic Engineering and Protein Design, Indonesian Institute of Sciences Biotechnology Research Center, Bogor. The results of the endotoxin test showed that male and female *C. rotundicauda*, and male *T. gigas* were able to detect bacterial endotoxins using the Gel Clot method and the Chromogenic method. Gel Clot method is more effective in detecting endotoxin bacteria by successfully detecting 4 (four) blood samples from 28 blood samples, with a method that is easier to perform. While the Chromogenic method can only detect 1 (one) sample from 28 samples with a correlation value $r = 0.905$ using a more difficult method.

Key words : *Amebocyte lysate, Chromogenic, Endotoxin Bacteria, Gel Clot, Horseshoe crab*

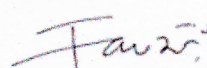
Supervisor II



Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si
NIP. 197704122005021001

Indralaya, October 2021

Supervisor I



Dr. Fauziyah, S.Pi
NIP. 197512312001122003

Head of Department of Marine Science



Tengku Zia Ulqodri, Ph.D
NIP. 197709112001121006

RINGKASAN

Nita Puspita Sari. 08051281722055. Efektivitas Metode *Gel Clot* dan *Chromogenic* pada Uji Bakteri Endotoksin Menggunakan Darah *Horseshoe Crab* Asal Banyuasin, Sumatra Selatan (Pembimbing : Dr. Fauziah, S.Pi dan Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si)

Belangkas (*horseshoe crab*) merupakan salah satu biota laut yang langka dan dalam status terancam punah (IUCN, 2015). Keberadaan belangkas ditemukan di wilayah Perairan Muara Banyuasin, Sumatra Selatan, dengan dua jenis belangkas ditemukan pada penelitian ini yaitu jenis *Carcinoscorpius rotundicauda* dan *Tachypleus gigas*.

Belangkas memiliki peran penting terutama pada bidang kesehatan, yang mana darah belangkas mengandung amebosit lisat yang dapat mendeteksi bakteri endotoksin. Di Amerika, obat-obatan yang disetujui oleh *Food and Drug Administration* Amerika Serikat harus diuji terlebih dahulu untuk mendeteksi kontaminasi bakteri (Maloney *et al.* 2018).

Tujuan dilakukannya penelitian ini yang pertama adalah menganalisis darah *horseshoe crab* asal Banyuasin, Sumatra Selatan untuk mendeteksi adanya bakteri endotoksin menggunakan metode *Gel Clot* dan *Chromogenic*. Kedua, yaitu menganalisis efektivitas metode *Gel Clot* dan *Chromogenic* menggunakan darah *horseshoe crab* asal Banyuasin, Sumatra Selatan untuk mendeteksi bakteri endotoksin.

Penelitian ini dilakukan di Perairan Muara Banyuasin. Belangkas yang ditemukan kemudian diolah darahnya di Laboratorium Bioekologi Kelautan, Jurusan Ilmu Kelautan, Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya serta di Laboratorium Rekayasa Genetika Terapan dan Desain Protein, Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI, Bogor. Komponen darah terlebih dahulu dipisahkan, kemudian pellet darah digunakan untuk uji endotoksin.

Terdapat dua metode uji endotoksin yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode *Gel Clot* dan *Chromogenic*. Metode *Gel Clot* dilakukan dengan cara mencampurkan darah belangkas dan bakteri endotoksin dengan konsentrasi 1 EU/ml, 0,5 EU/ml, 0,25 EU/ml dan 0,125 EU/ml. Setelah dihomogenkan perlahan, diinkubasi di suhu 37°C selama 60 menit (Putra *et al.* 2019). Hasil dinyatakan

positif apabila terbentuk koagulasi (gumpalan), sedangkan hasil dinyatakan negatif apabila tidak terbentuk koagulasi.

Metode *Chromogenic* dilakukan dengan cara mencampurkan darah belangkas, bakteri endotoksin (konsentrasi 1 EU/ml, 0,5 EU/ml, 0,25 EU/ml dan 0,125 EU/ml) dan pNA. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi di suhu 37°C selama 60 menit, dan diukur absorbansinya setiap 5 menit sekali menggunakan *ELISA Reader* dengan panjang gelombang 405 nm (Mizumura *et al.* 2017).

Belangkas yang ditemukan di Perairan Muara Banyuasin berjumlah 28 ekor dengan jenis *C. rotundicauda* berjumlah 12 ekor dan *T. gigas* berjumlah 16 ekor. Berdasarkan hasil penelitian, terdapat 4 (empat) sampel darah yang dapat mendeteksi bakteri endotoksin menggunakan metode *Gel Clot*, dengan bentuk koagulasi lunak dan koagulasi lemah. Sedangkan pada hasil uji metode *Chromogenic*, terdapat 1 sampel (nomor 26) yang memiliki korelasi yang tinggi antara amebosit lisat darah dengan konsentrasi bakteri endotoksin dengan nilai $r = 0,905$.

Sehingga dapat disimpulkan bahwa darah belangkas dari jenis *Carcinoscorpius rotundicauda* betina dan jantan, serta jenis *T. gigas* jantan dapat mendeteksi bakteri endotoksin, baik itu menggunakan metode *Gel Clot* dan *Chromogenic*. Metode *Gel Clot* lebih efektif ditandai dengan berhasilnya 4 sampel darah (nomor 4, 12, 26, dan 28) dalam mendeteksi endotoksin, dengan metode uji yang lebih mudah dilakukan. Sedangkan pada metode *Chromogenic* hanya ada 1 sampel (nomor 26) yang memiliki nilai korelasi tinggi antara amebosit lisat dan konsentrasi bakteri endotoksin, dengan metode uji yang lebih sulit dilakukan.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan tugas akhir atau skripsi yang berjudul “Efektivitas Metode *Gel Clot* dan *Chromogenic* pada Uji Bakteri Endotoksin Menggunakan Darah *Horseshoe Crab* asal Banyuasin, Sumatra Selatan” untuk memperoleh gelar sarjana bidang Kelautan.

Melalui halaman persembahan ini, saya mengucapkan rasa terima kasih kepada beberapa pihak yang telah membantu saya dalam menyelesaikan tugas studi akhir dan masa perkuliahan saya di Jurusan Ilmu Kelautan UNSRI. Izinkan saya mempersembahkan ungkapan terima kasih kepada beberapa pihak yang memberikan dukungan, baik secara fisik, materil, serta moral kepada saya. Saya ucapkan terima kasih sebesar-besarnya dan saya persembahkan untuk:

- **Kedua orangtuaku, Papa dan Mama (Suwinto dan Soe A Tjeu).** Terima kasih banyak untuk Papa dan Mama yang selalu mendukung Lili dari awal hingga sampai sekarang. Meski hidup kalian sulit, tapi tetap menomorsatukan pendidikan Lili, selalu support Lili meskipun Lili dulu sempat tidak mau kuliah. Selalu berusaha keras menyediakan keperluan Lili selama kuliah, dan selalu mendengarkan keluh kesah Lili ketika merasa berada di titik terendah ketika penelitian yang dilakukan benar-benar sulit. Semoga Papa dan Mama selalu sehat, panjang umur, dan diberikan kebahagiaan yang melimpah.
- **My brother, Adi Surya Jaya.** Meskipun jarang ngasih saran-saran penting dalam hidupku, tapi makasih karena selalu jadi sumber penyemangat sebagai donatur-donatur film, drama, anime, dan game yang selalu nemenin aku pas lagi suntuk ngerjain tugas. Semua rekomendasinya bagus-bagus dan sukses bikin aku menghilangkan stres kala mengerjakan tugas akhir. Semangat kuliahnya! Semoga bisa segera menyusul! ^^
- **Ibu dan Bapak Pembimbing Skripsi, Ibu Dr. Fauziah, S.Pi dan Bapak Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si.** Terima kasih banyak ibu dan bapak, atas segala bimbingan, masukan dan arahan untuk saya dalam mengerjakan tugas akhir, yang selalu membantu, mendukung, menyemangati, serta percaya bahwa saya bisa menyelesaikan tugas akhir ini meskipun saya sendiri sempat ragu dengan

penelitian yang sulit ini. Tanpa bimbingan ibu dan bapak, mungkin penelitian saya tidak akan selesai dengan hasil yang baik. Terima kasih banyak sekali lagi Ibu dan Bapak. Semoga Ibu dan Bapak sehat selalu, dan semoga Tuhan membalas Ibu dan Bapak atas ilmu yang telah diberikan.

- **Bapak Penguji Skripsi, Bapak Dr. Melki, S.Pi., M.Si., dan Bapak Dr. Rozirwan, S.Pi., M.Si.** Terima kasih banyak saya ucapkan kepada Bapak atas saran dan masukkan dalam penyusunan dan penulisan skripsi saya sehingga dapat menyempurnakan penulisan tugas akhir ini menjadi lebih baik lagi. Semoga Bapak sehat selalu dan selalu dalam lindungan Tuhan Yang Maha Esa. Terima kasih banyak sekali lagi, Pak.
- **Ibu Dr. Fauziah, S.Pi.** Saya ingin mengucapkan terima kasih terkhusus untuk Ibu, karena telah sabar menjadi pembimbing saya mulai dari ikut PKM-Penelitian, Kerja Praktek, serta Skripsi dengan kajian yang sama: Mimi. Saya mulai banyak tahu tentang hewan mimi sejak belajar dengan Ibu tentang ini, dan mulai tertarik untuk mendalami. Meskipun saya sempat kesulitan ketika skripsi karena sampel yang berulang kali rusak, Ibu tetap memberikan dukungan dan bantuan, bahkan rela mengambilkan sampelnya untuk saya ketika saya di Bogor. Saya minta maaf, Bu, jika selama ini saya pernah buat salah. Semoga Ibu selalu sehat dan semoga Tuhan membalas kebaikan Ibu atas semua ilmu yang telah diberikan.
- **Bapak Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si.** Saya juga ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya untuk Bapak, karena telah mau menerima saya untuk melakukan Kerja Praktek serta penelitian di Puslit Bioteknologi LIPI, Cibinong, Bogor. Terima kasih, Pak, karena selalu sabar dan siap melayani pertanyaan serta proses bimbingan saya selama di Bogor. Tanpa Bapak, mungkin saya tidak bisa menyelesaikan penelitian dengan baik. Terima kasih juga untuk ilmu-ilmu baru selama di LIPI, yang mungkin tidak bisa saya dapatkan selama di kampus. Semoga Bapak selalu sehat dan semoga Tuhan membalas kebaikan Bapak atas semua ilmu yang telah diberikan.
- **Bu Ellis Nurjuliasti Ningsih, M.Si. dan Bu Fitri Agustriani, M.Si.** Nita juga ingin mengucapkan terima kasih kepada Ibu Ellis dan Ibu Fitri. Terima kasih Bu Ellis, karena telah memberikan saya nasehat tentang kesehatan ketika saya tiba

di Bogor untuk penelitian pertama kali, untuk waspada di masa Pandemi COVID-19 yang waktu itu sedang tinggi. Terima kasih banyak juga untuk Ibu Fitri yang membantu saya ketika penelitian di Taman Nasional Sembilang, yang mau menemani saya keliling untuk cari mimi dan membantu saya mengambil data penelitian. Terima kasih banyak sekali lagi ibu. Semoga Ibu selalu sehat dan dalam lindungan Tuhan Yang Maha Esa.

- **Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Ilmu Kelautan UNSRI**, Bapak Tengku Zia Ulqodry, S.T., M.Si., Ph.D, Bapak Dr. Rozirwan, S.Pi., M.Sc., Bapak Dr. Melki, S.Pi., M.Si., Bapak Andi Agussalim, Bapak Beta Susanto Barus, M.Si, Bapak Dr. Muhammad Hendri, M.Si., Ibu Dr. Riris Aryawati, S.T., M.Si., Ibu Dr. Fauziah, S.Pi, Ibu Fitri Agustriani, M.Si., Ibu Ellis Nurjuliasti Ningsih, M.Si., Bapak Gusti Diansyah, M.Sc, Ibu Wike Ayu Eka Putri, S.Pi., M.Si., Bapak Heron Surbakti, S.Pi., M.Si., Ibu Isnaini, S.Pi., M.Si., Bapak Hartoni, S.Pi., M.Si., Bapak Rezi Apri, S.Si, M.Si., dan Ibu Anna Ida Sunaryo, S.Kel., M.Si. Terima kasih banyak Bapak dan Ibu, atas semua ilmu yang telah diberikan selama saya mengemban pendidikan di Jurusan Ilmu Kelautan UNSI. Semoga Tuhan membalas Ibu dan Bapak atas ilmu yang telah diberikan.
- **Staf Tata Usaha, Babe (Pak Marsai) dan Pak Min (Pak Minarto)**. Terima kasih banyak Babe dan Pak Min, atas dukungannya dan selalu mendengarkan keluh kesah saya selama kuliah di Ilmu Kelautan. Babe dan Pak Min selalu jadi yang terbaik melayani kami para mahasiswa. Saya minta maaf jika pernah membuat kesalahan. Semoga Babe dan Pak Min selalu sehat dan dalam lindungan Tuhan Yang Maha Esa.
- **Teman-temanku TRITEA**. Terima kasih sudah menjagi bagian keluargaku selama kuliah di Ilmu Kelautan UNSRI, ketika senang maupun dalam keadaan sulit, kalian selalu ada memberikan dukungan. Semoga kalian sukses selalu kedepannya, dan semoga kita bisa bertemu lagi dikemudian hari dengan cerita sukses masing-masing!
- **Dosen-dosen Laboratorium Eksplorasi Sumberdaya dan Akustik Kelautan (ESAK)**. Terima kasih banyak saya ucapkan kepada Ibu Fitri Agustriani, S.Pi., M.Si. selaku Kepala Lab ESAK, serta Ibu Dr. Fauziah, S.Pi., dan Ibu Ellis Nurjuliasti Ningsih, S.Pi., M.Si., yang telah memberikan kepercayaan kepada

saya sebagai asisten dari Lab ESAK. Terima kasih juga untuk dukungannya selama saya melakukan penelitian, baik dari segi ilmu, materil, dan moral sehingga saya bisa menyelesaikan penelitian ini dengan hasil yang baik.

- **Rekan-Rekan Lab ESAK.** Rekan-rekan Angkatan 18 dan Angkatan 19, terkhusus rekan-rekanku Angkatan 2017: Sri, Brenda, Jihan, Kak Agnes, Asta, Aldi, Ashraffi, Remi, Walen, Kamil, Yogi, Agi. Terima kasih karena telah membantu selama mengemban tugas sebagai asisten laboratorium. Semoga kalian sukses selalu!
- **Tim Lapangan.** Terima kasih untuk rekan-rekanku ketika penelitian di lapangan: Sri, Brenda, Aldi, Ashraffi, Remi, Walen, Agung Setiawan, Agung Sianturi, Kevin, Dicky, yang telah membantu saya selama pengambilan data di lapangan (Sembilang dan Sungang). Mulai dari bantu nyari mimi, sampai masak makanan pas di kapal. Semoga kita sama-sama sukses terus!
- **Vinia,** sahabat dekat sekaligus sepupuku. Thanks bre karena selalu menemani dan mendengar keluh kesah pas lagi stres sama kuliah dan skripsian. Walau dirimu juga ndak tahu apa yang kubicarakan tentang penelitianku, tapi tetap dengerin, biar aku berasa punya teman diskusi yang nyambung hehehe. Makasih juga selalu ngajak ke rumah buat nonton film :) Semoga sukses selalu dan tercapai apa yang dicita-citakan.
- **Sobat-Sobatku NiNaMAs (Nadya Ayu, Maura, Asta).** Thanks banyak-banyak karena selalu jadi sahabat yang nemenin kemanapun aku pergi pake motor! ^^ Makasih karena selalu ngasih semangat dengan cara-cara yang unik kayak ngajak makan, ngajak ngegibah, dan laen-laen hehe. Semoga kita bisa sama-sama sukses dan selalu komunikasi meski nanti sudah lulus ^^
- **PrabuSquad.** (Maura, Agung Setiawan, Hamid, Gaby K, Bang Denny, Kak Desi, Kak Ericha, Kak Iga, Fahrezi) Terima kasih untuk dukungan selama saya menempuh kuliah di Ilmu Kelautan UNSRI. Semoga bisa reunion lagi, kakak, abang, dan teman-teman sekalian.
- **Noviantrio Gulo,** sobat sekaligus partner per-mimian sejak tahun 2018. Thanks bro sudah banyak bantuin, bahkan rela sampe ikut bolak balik Sungsang buat nemenin aku ambil sampel mimi. Semoga sukses terus bro!

- **Kak Sonia dan Celik (Sri).** Aku mau makasih banyak untuk kalian karena memberikan support untuk aku disaat titik terendah. Motivasi kalian sangat membekas di hatiku. Makasih juga karena selalu siap digangguin untuk jawab pertanyaan-pertanyaan tentang skripsi hehe. Sukses terus ya kalian!
- **Kak Ayu F. Izaki.** Kakak sekaligus partnerku saat penelitian di LIPI. Terima kasih banyak kak, karena sudah jadi partner sekaligus mentor yang siap membantu kapanpun ketika aku penelitian. Terima kasih karena selalu sabar menghadapi tingkahku yang kadang keras kepala, tukang nanya, dan yang selalu suka nge-blank pas di lab hehe. Semoga sukses terus kakak, dan semoga kita bisa ketemu lagi di lain waktu ^^
- **Rekan-rekan Lab. RGTDP LIPI Biotek.** Terima kasih banyak untuk para kakak dan rekan-rekanku selama ngelab di LIPI Bogor: Kak Ayu, Kak Mita, Kak Rafika, Mba Lita, Kak Chaeril, Kak Naufal, Kak Sylvere, Kak Rini, Mas Egi, Mba Sheila, Mba Rosyida, Halim, dan Faiz, yang telah membantu saya selama penelitian di lab. Terima kasih juga untuk pengalaman yang menyenangkan dan ilmu-ilmu baru yang diberikan selama saya di sana. Semoga kita bisa ketemu lagi dan semoga sukses untuk penelitiannya! ^^
- **Para Staf di Lab. RGTDP LIPI Biotek.** Terima kasih juga untuk Ibu Lita, Ibu Nur, Mba Anika, dan Mba Maritsa (Mba Icha) karena telah membantu saya selama penelitian di LIPI. Terima kasih untuk ilmu-ilmu baru yang diberikan selama saya penelitian di LIPI, dan terima kasih Mba Anik dan Mba Icha yang selalu siap nemenin saya untuk piket setiap minggu. Semoga sehat selalu dan dalam lindungan Tuhan Yang Maha Esa.

Saya ucapkan terima kasih untuk seluruh pihak yang mungkin namanya tidak dapat saya sebutkan satu per satu. Semoga Tuhan selalu melimpahkan kebaikan, rezeki, kesehatan, dan berkah lainnya kepada kalian semua. Amin.

“Life is a sculpture that you cast as you make mistakes and learn from them.”

RM - BTS

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas semua berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir dengan judul “Efektivitas Metode *Gel Clot* dan *Chromogenic* pada Uji Bakteri Endotoksin Menggunakan Darah *Horseshoe Crab* Asal Banyuasin, Sumatra Selatan”. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak yang terlibat dalam pembuatan Laporan Tugas Akhir ini, terkhusus penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada Ibu Dr. Fauziyah, S.Pi dan Bapak Dr. Apon Zaenal Mustopa, M.Si selaku pembimbing serta Bapak Dr. Melki, S.Pi., M.Si dan Bapak Dr. Rozirwan, S.Pi., M.Sc selaku penguji, yang telah membantu memberikan bimbingan serta masukan dalam penulisan Laporan Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan Laporan Tugas Akhir ini, baik dari segi materi maupun dalam penyajiannya, mengingat kurangnya pengetahuan serta pengalaman penulis. Penulis berharap adanya masukan berupa kritik dan saran untuk tulisan ini agar dapat lebih baik lagi. Semoga Laporan Tugas Akhir ini dapat memberikan informasi dan manfaat bagi mahasiswa Jurusan Ilmu Kelautan dan kepada masyarakat.

Indralaya, 13 September 2021

Nita Puspita Sari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI	
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
RINGKASAN	viii
HALAMAN PERSEMBAHAN	x
KATA PENGANTAR.....	xv
DAFTAR ISI.....	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR TABEL	xix
DAFTAR LAMPIRAN	xx
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Belangkas	5
2.1.1 Biologi Belangkas	5
2.1.2 Reproduksi Belangkas	6
2.1.3 Habitat Belangkas.....	7
2.1.4 Potensi Kandungan Senyawa Antitoksin pada Darah Belangkas	7
2.2 <i>Amebocyte Lysate</i>	7
2.3 Pengolahan <i>Amebocyte Lysate</i>	9
2.4 Uji Deteksi Bakteri Endotoksin	10
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Alat dan Bahan.....	11

3.2.1 Di Lapangan	11
3.2.2 Di Laboratorium	12
3.3 Metode Penelitian.....	12
3.3.1 Di Lapangan	12
3.3.2 Di Laboratorium	13
A. Pembuatan Larutan Antikoagulan	13
B. Pengambilan dan Pemisahan Komponen Darah	14
C. Pembuatan Larutan Standar Endotoksin (CSE).....	14
D. Uji Endotoksin Metode <i>Gel Clot</i>	15
E. Uji Endotoksin Metode <i>Chromogenic</i>	16
3.4 Analisis Data	16
3.4.1 Metode Kualitatif (<i>Gel Clot</i>)	16
3.4.2 Metode Kuantitatif (<i>Chromogenic</i>)	17
A. Standar Deviasi	17
B. Kurva Standar Metode <i>Chromogenic</i>	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Karakteristik dan Peta Sebaran Belangkas.....	19
4.1.1 Morfometrik dan Ekologi Belangkas	19
4.1.2 Peta Lokasi Belangkas dan Kualitas Perairan	21
4.2 Efektivitas Deteksi Bakteri Endotoksin dari Darah Belangkas Asal	
Banyuasin, Sumatra Selatan.....	23
4.2.1 Hasil Uji <i>Gel Clot</i> (Kualitatif).....	24
4.2.2 Hasil Uji <i>Chromogenic</i> (Kuantitatif).....	27
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN.....	37
RIWAYAT HIDUP	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Alur Penelitian	3
2. Peta Lokasi Pengambilan Sampel	11
3. Skema Pembuatan Larutan Antikoagulan	13
4. Skema Pengambilan dan Pemisahan Komponen Darah.....	14
5. Diagram Pengenceran Larutan Standar Endotoksin.....	14
6. Skema Uji Endotoksin Metode <i>Gel Clot</i>	15
7. Skema Uji Endotoksin Metode <i>Chromogenic</i>	16
8. Kurva Standar Metode <i>Chromogenic</i>	17
9. Peta Lokasi Belangkas.....	21
10. Hasil Uji <i>Gel Clot</i>	25
11. Aktivitas Uji Endotoksin pada Sampel Darah Belangkas dengan Metode <i>Chromgenic</i> selama 60 Menit	28

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Alat dan Bahan di Lapangan	11
2. Alat dan Bahan di Laboratorium	12
3. Titik Lokasi Belangkas.....	13
4. Ukuran Morfometrik Belangkas.....	19
5. Rincian Jumlah Belangkas yang Ditemukan.....	21
6. Rata-rata Kualitas Perairan Lokasi Pengambilan Sampel	22
7. Perbandingan Metode <i>Gel Clot</i> dan <i>Chromogenic</i>	24
8. Hasil Uji <i>Gel Clot</i> yang Dapat Mendeteksi Bakteri Endotoksin.....	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan Konsentrasi Bakteri Endotoksin.....	38
2. Hasil Pengukuran Nilai Absorbansi Metode <i>Chromogenic</i>	39
3. Foto Penelitian.....	41

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mimi atau belangkas (*horseshoe crab*) merupakan hewan laut yang termasuk ke dalam hewan langka. Menurut IUCN (2015), keberadaan tiga jenis belangkas di Asia telah dinyatakan dalam status terancam punah. Belangkas juga merupakan salah satu hewan laut purba. Di Indonesia, belangkas dianggap sebagai hewan laut primitif dan sudah dikelompokkan ke dalam hewan yang jarang atau rawan karena terjadinya penangkapan yang cukup banyak oleh nelayan, serta degradasi habitat belangkas.

Perairan estuari Sumatra Selatan merupakan habitat yang sangat memungkinkan bagi belangkas Asia karena memiliki potensi mangrove yang tinggi. Jenis belangkas yang ditemukan pada perairan ini adalah *C. rotundicauda* dan *T. gigas* (Fauziyah *et al.* 2019b; Fauziyah *et al.* 2019c). Jenis belangkas *C. rotundicauda* ditemukan pada beberapa titik sampling dengan jarak 0,2 – 4,2 km dari mangrove, sedangkan belangkas jenis *T. gigas* ditemukan dekat dengan perairan laut. Kualitas perairan seperti kedalaman, salinitas, suhu, pH, DO dan jenis substrat juga mempengaruhi kehidupan belangkas. Hal ini didukung oleh Fauziyah *et al.* (2019b) dan Sari *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa distribusi belangkas dipengaruhi oleh parameter lingkungan.

Secara ekologis, darah belangkas memiliki manfaat penting sebagai imun pertahanan tubuh bagi belangkas itu sendiri. Menurut John *et al.* (2010), komponen *amebocyte lysate* merupakan bagian dari sistem kekebalan primitif belangkas. Bekuan yang terbentuk sebagai hasil aktivasi oleh endotoksin memberikan pengendalian luka dengan cara mencegah pendarahan dan membentuk penghalang fisik untuk masuknya bakteri dan infeksi. Selain itu, belangkas juga memiliki manfaat lain seperti sebagai umpan untuk menangkap ikan sembilang. Di Thailand dan China, belangkas dimanfaatkan untuk dikonsumsi (Meilana *et al.* 2015).

Darah belangkas mengandung zat yang sangat penting, terutama dalam industri kesehatan. Di Amerika Serikat, obat-obatan yang disetujui oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat (*United State Food and Drug Administration*)

harus diuji terlebih dahulu menggunakan *Amebocyte Lysate* untuk mendeteksi kontaminasi bakteri (Maloney *et al.* 2018).

Amebocyte Lysate yang terkandung dalam darah belangkas memiliki manfaat yaitu sebagai uji pirogen. Menurut Putra *et al.* (2019), pengujian pirogen yang menggunakan kelinci memiliki kelemahan dibandingkan dengan menggunakan *Amebocyte Lysate*. Uji pirogen yang menggunakan kelinci harus memerlukan pemeliharaan dan perawatan hewan yang dapat menimbulkan beberapa kesulitan. Pengujian endotoksin menggunakan darah belangkas memiliki keunggulan karena lebih cepat dan efisien. Uji endotoksin yang dilakukan hanya memakan waktu satu jam (Dolejs dan Vanousova, 2015).

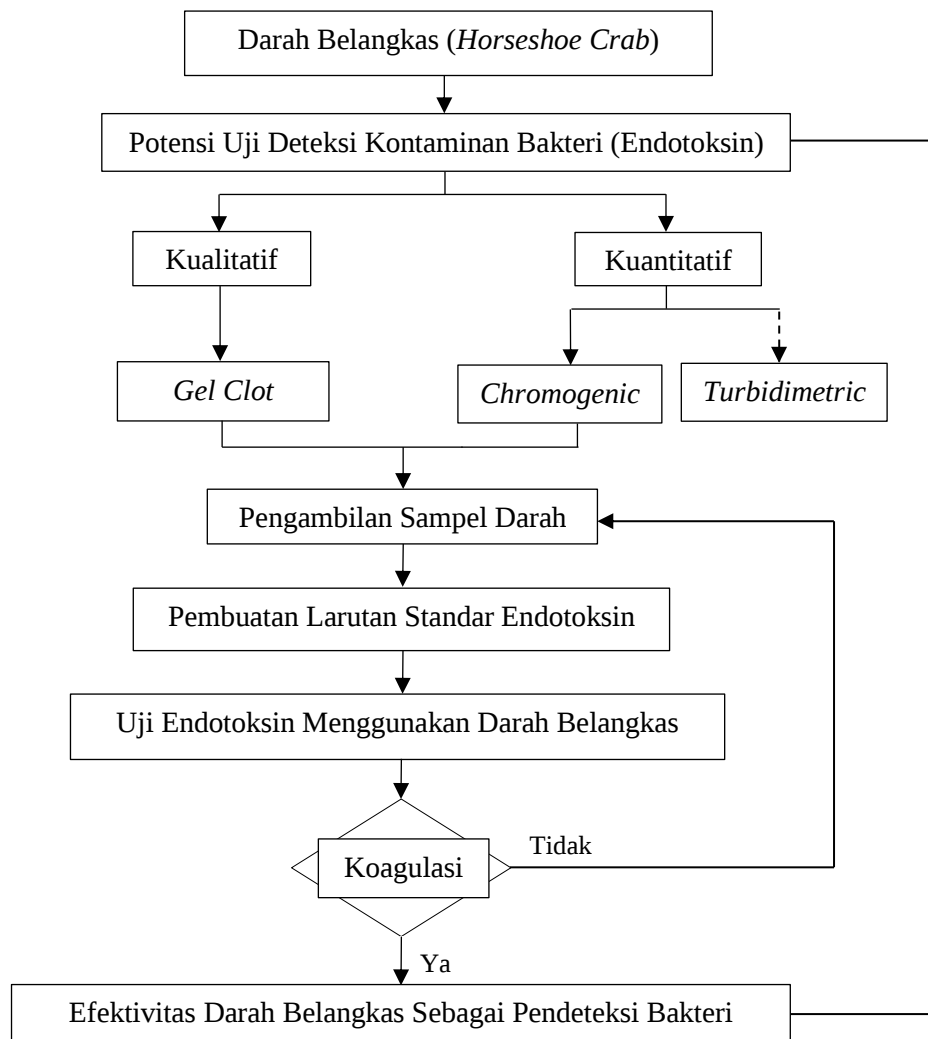
Pengujian deteksi bakteri endotoksin menggunakan darah belangkas dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Metode kualitatif yang umum digunakan adalah metode *Gel Clot*, dengan hasil deteksi dalam bentuk koagulasi (positif). Sedangkan metode kuantitatif terbagi menjadi dua, yaitu *Turbidimetric* (kekeruhan) dan *Chromogenic* (warna) yang nilainya dapat dibaca dengan absorbansi (Sushruta dan Anubha, 2011). Pada penelitian ini, digunakan dua metode yaitu *Gel Clot* dan *Chromogenic* untuk membandingkan efektivitasnya dalam mendeteksi bakteri endotoksin menggunakan darah belangkas.

1.2 Perumusan Masalah

Belangkas merupakan salah satu hewan laut yang langka karena populasinya yang semakin berkurang. Di Sumatra Selatan, belangkas cukup banyak ditemukan oleh nelayan setempat yang tidak sengaja tertangkap ketika nelayan menjaring ikan demersal atau biota dasar seperti kepiting, udang, dan lainnya. Belangkas memiliki manfaat penting pada darahnya yang mampu mendeteksi bakteri endotoksin. Darah belangkas diolah sehingga menghasilkan produk bernama *Limulus Amebocyte Lysate Reagen*, yang dapat digunakan untuk uji deteksi kontaminan bakteri pada produk makanan dan obat-obatan.

Penelitian tentang pengujian bakteri endotoksin menggunakan darah belangkas dengan membandingkan metode kualitatif dan kuantitatif masih belum banyak dilakukan di Indonesia, sehingga penelitian tentang pengujian bakteri endotoksin masih sedikit literturnya. Penelitian terkait LAL yang pernah dilakukan di

Indonesia antara lain penelitian oleh Putra *et al.* (2019) tentang penerapan uji bakteri endotoksin pada bidang radiofarmasi menggunakan *Tachypleus Amebocyte Lysate* dengan metode *Gel Clot*. Informasi tentang belangkas serta manfaatnya perlu disebarluaskan lebih banyak kepada masyarakat sehingga bisa dilakukan langkah perlindungan seperti konservasi pada habitat belangkas atau pengembangan pada bidang kesehatan mengingat manfaat yang dimiliki belangkas. Skema Kerangka Pemikiran dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Alur Penelitian

Keterangan:

----- = Di luar kajian penelitian

————> = Alur Penelitian

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah,

1. Menganalisis darah *horseshoe crab* asal Banyuasin, Sumatra Selatan, untuk mendeteksi adanya bakteri endotoksin menggunakan metode *Gel Clot* dan *Chromogenic*.
2. Menganalisis efektivitas metode *Gel Clot* dan *Chromogenic* menggunakan darah *horseshoe crab* asal Banyuasin, Sumatra Selatan, untuk mendeteksi bakteri endotoksin

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari dilakukannya penelitian ini adalah dapat mengetahui kemampuan darah belangkas dalam mendeteksi bakteri endotoksin pada konsentrasi tertentu, sehingga penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi untuk melakukan penelitian lebih lanjut terkait pengujian endotoksin menggunakan darah belangkas.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Samson SA, Taru P, 2017. Karakteristik habitat belangkas (*horseshoe crab*) di Perairan Muara Badak Kecamatan Muara Badak Kabupaten Kutai Kartanegara Provinsi Kalimantan Timur. *Ilmu Perikanan Tropis* Vol. 23 (1): 32-39
- Armstrong P, Conrad M. 2008. Blood collection from the American Horseshoe Crab, *Limulus Polyphemus*. *JoVE* Vol. 20: 1-5
- Anggraini R, Bengen DG, Natih NMN. 2017. Struktur poluasi dan morfometri belangkas *Carcinoscorpius rotundicauda*, Latreille 1802 di Pesisir Kampung Gisi Teluk Bintan Kepulauan Riau. *Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis* Vol. 9 (1): 211-220
- Botton ML, Itow T. 2009. The effect of water quality on horseshoe crab embryos and larvae. *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs*: 439-454
- Cartwright-Taylor L, Bing YV, Chi HC, Tee LS. 2011. Distribution and abundance of horseshoe crabs *Tachypleus gigas* and *Carcinoscorpius rotundicauda* around the main island of Singapore. *Aquatic Biology* Vol. 13: 127-136
- Chang R. 2005. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti Jilid 1/Edisi Ketiga*. Jakarta : Erlangga. hlm 109
- Chatterji A, Kotnala S, Mathew R. 2004. Effect of salinity on larval growth of horseshoe crab, *Tachypleus gigas* (Müller). *Current Science* Vol. 87 (2): 248-250
- Chiu HMC, Morton B. 2004. The behaviour of juvenile horseshoe crabs, *Tachypleus tridentatus* (Xiphosura), on a nursery beach at Shui Hau Wan, Hong Kong. *Hydrobiologia* Vol. 523: 29-35
- Coates CJ, Bradford EL, Krome CA, Nairn J. 2012. Effect of temperature on biochemical and cellular properties of captive *Limulus polyphemus*. *Aquaculture* Vol. 334-337: 30-38
- Dawson ME. 1995. A wealth of options choosing an LAL test method. *LAL Update* Vol. 13 (3): 1-6
- Dolejs P, Vanousova K. 2015. A collection of horseshoe crabs (chelicerata: xiphosura) in the National Museum, Prague (Czech Republic) and a review of their immunological importance. *Arachnologische Mitteilungen* Vol. 49: 1-9
- Erwansyah. 2018. Populasi dan struktur genetik belangkas *Tachypleus tridentatus* Leach, 1819 sebagai dasar pengelolaan di Perairan Kota Balikpapan [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Insitut Pertanian Bogor.

- Fadika U, Rifai A, Rochaddi B. 2014. Arah dan Kecepatan Angin Musiman serta Kaitannya dengan Sebaran Suhu Permukaan Laut di Selatan. *Osanografi* Vol 3 (3): 429-437
- Faturrohman K, Nirmala K, Djokosetiyanto D, Hastuti YP. 2017. The concentration of optimum dissolved oxygen levels for growth of mangrove crab *Scylla serrata* seed in recirculation system. *Akuakultur Indonesia* Vol. 16 (1): 107-115
- Fauziyah, Agustriani F, Putri WAE, Purwiyanto AIS, Suteja Y. 2018. Composition and biodiversity of shrimp catch with trammel net in Banyuasin coastal waters of south Sumatera, Indonesia. *AACL Bioflux* Vol. 11 (5): 1515–1524
- Fauziyah, Purwiyanto AIS, Putri WAE, Agustriani F, Mustopa AZ, Fatimah. 2019b. The first investigation record of threatened horseshoe crabs in the Banyuasin estuarine, South Sumatra, Indonesia. *Ecologica Montenegrina* Vol. 24: 17-22
- Fauziyah, Putri WAE, Purwiyanto AIS, Agustriani F, Mustopa AZ, Fatimah. 2019c. The morphometric variability of the mangrove horseshoe crab (*Carcinoscorpius rotundicauda*) from Banyuasin estuarine of South Sumatra, Indonesia. *Ecologica Montenegrina* Vol. 24: 38-46
- [IUCN] International Union for Conservation of Nature. 2015. Red list of threatened species. www.Iucnredlist.org
- Jawahir ARN, Samsur M, Shabdin ML, Adha ARK. 2017. Distribution of two species of Asian horseshoe crabs at west coast of Sarawak's Waters, East Malaysia. *Egyptian Journal of Aquatic Research* Vol. 43: 135-140
- John A, Jalal KCA, Kamaruzzaman, Zaleha K. 2010. Mechanism in the clot formation of horseshoe crab blood during bacterial endotoxin invasion. *Applied Sciences* Vol. 10 (17): 1930-1936
- John A, Kamaruzzaman, Jalal KCA, Zaleha K. 2012. TAL – a source of bacterial endotoxin detector in liquid biological samples. *International Food Research* Vol. 19 (2): 423-425
- John A, Sheikh HI, Solachuddin, Ichwan JA, Kamaruzzaaman. 2020. Effect of prolonged captivity on the hemolymph profile of *Tachypleus gigas*. *bioRxiv* Vol. 1 (1): 1-28
- Kasnir M, Harlina, Rosmiati. 2014. Water quality parameter analysis for the feasibility of shrimp culture in Takalar Regency, Indonesia. *Journal of Aquaculture Research and Development* Vol. 5 (6): 1-3
- Kawabata S, Muta T, Iwanaga S. 2013. *Limulus* coagulation factor C. *Elsevier* Vol. 2: 1740-1742

- Krisfalusi-Gannon J, Ali W, Dellinger K, Robertson L, Brady TE, Goddard MKM, Tinker-Kulberg R, Kepley CL, Dellinger AL. 2018. The role of horseshoe crabs in the biomedical industry and recent trends impacting species sustainability. *Sustainability Frontiers Marine Science* Vol. 5 (185): 1-13
- Lindsay GK, Roslansky PF, Novitsky TJ. 1989. Single-step, chromogenic limulus amebocyte lysate assay for endotoxin. *Journal of Clinical Microbiology* Vol. 27 (5): 947-951
- Mahfud MZ, Sudarmadji, Subchan W. 2017. Pengaruh faktor lingkungan terhadap *relative fitness* dan distribusi spasial kepiting bakau (*Scylla* sp.) di Hutan Mangrove Blok Bedul Sogoro Anak Taman Nasional Alas Purwo. *Ilmu Dasar* Vol. 18 (2): 65-72
- Maloney T, Phelan R, Simmons N. 2018. Saving the horseshoe crab: A synthetic alternative to horseshoe crab blood for endotoxin detection. *PLoS Biol* Vol. 16 (10): 1-10
- Mat Zauki NA, Satyanarayana B, Fozi NF, Nelson BR, Martin MB, John BA, Chowdhury AJK. 2019a. Citizen science frontiers horseshoe crab population regain at their spawning beach in East Peninsular Malaysia. *Journal of Environmental Management* Vol. 232: 1012-1020
- Mat Zauki NA, Satyanarayana B, Fozi NF, Nelson BR, Martin MB, John BA, Chowdhury AJK. 2019b. Horseshoe crab bio-ecological data from Balok, East Coast Peninsular Malaysia. *Data Brief* Vol. 22: 458–463
- Meilana L. 2015. Kajian morfologi dan genetik belangkas (*xiphosura, limulidae*) sebagai dasar konservasi dan pengelolaan di Pulau Jawa [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Mizumura H, Ogura N, Aketagawa J, Aizawa M, Kobayashi Y, Kawabata S, Oda T. 2017. Genetic engineering approach to develop next-generation reagents for endotoxin quantification. *Innate Immunity* Vol. 23 (2): 136-146
- Monica M, Ediyanto H, Jahidin JP. 2016. Pengembangan usaha pembesaran belangkas di Kampung Laut Tanjung Jabung Timur. *Pengabdian pada Masyarakat* Vol. 31 (2): 48-56
- Mulya MB. 2014. Pelestarian, pemanfaatan sumberdaya genetika belangkas ranti (*Carcinoscorpius rotundicauda*, L) dan belangkas bulan (*Tachypleus gigas*, M) [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Nelson BR, Satyanarayana B, Moh JHZ, Ikhwanuddin M, Chatterji A, Shaharom F. 2016. The final spawning ground of *Tachypleus gigas* (Muller, 1785) on the east Peninsular Malaysia is at risk: a call for action. *Peer J* Vol. 4: 1-32

- Ostronoff CS, Lourenco FR. 2015. Measurement uncertainty of chromogenic LAL assays: reaction time and proportion of endotoxin and LAL reagent affect release of p-Nitroaniline. *Journal of AOAC International* Vol. 98 (1): 51-55
- Putra AR, Lestari E, Kurniasih D, Karyadi K, Sarmini E, Aries A. 2019. Applicability of bacterial endotoxin test (BET) for some radiopharmaceutical sterile kits by the use of tachypleus amebocyte lysate (TAL). *Farmasi Sains dan Komunitas* Vol. 16 (1): 20-28
- Romadhon, Suharto S, Sumardianto. 2018. Karakteristik darah belangkas (*Limulus* sp.) sebagai pendeteksi bakteri kontaminan penghasil endotoksin pada produk perikanan. *Buletin Oseanografi Marina* Vol. 7 (1): 9-14
- Sandle T. 2014. Variability and test error with the LAL assay. *American Pharmaceutical Review* Juli 2014 : 8-11.
<https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/167404-Variability-and-Test-Error-with-the-LAL-Assay/>.
 [11 Agustus 2021]
- Sari NP, Gulo N, Najah M, Fauziyah. 2020. Influence of environmental variability on the body condition of the mangrove horseshoe crab *Carcinoscorpius rotundicauda* from Banyuasin Estuarine, South Sumatra, Indonesia. *Ecologica Montenegrina* Vol. 30: 37-46
- Sekiguchi K dan Shuster CN. 2009. Limits on the Global Distribution of Horseshoe Crabs (Limulacea): Lessons Learned from Two Lifetimes of Observations: Asia and America. Di dalam: Tanacredi JT, Botton ML, Smith D, editor. *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs*. Edisi 1. New York : Springer US. hlm 5-24
- Sharma S, Mittal BR, Vatsa R, Singh B. 2011. Gel clot bacterial endotoxin test of FDG: Indian scenario. *Indian Journal of Nuclear Medicine* Vol. 26 (3): 149-152
- Sugiyono. 2012. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Suharyadi, Purwanto. 2009. *Statistika Untuk Ekonomi Dan Keuangan Modern Edisi 2 Buku 2*. Jakarta: Salemba Empat.
- Sushruta M, Anubha K. 2011. An overview of Limulus Ambebocyte Lysate (LAL) test. *International Research Journal of Pharmacy* Vol. 2 (4): 67-71
- Syuhaida NI, Rozihan M, John A, Akmal MS, Joni HD. 2019. Allometry relationship of mangrove horseshoe crab, *Carcinoscorpius rotundicauda* from the West Coastal of Peninsular Malaysia. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* Vol. 7 (2): 223-228

- Wada T, Mitsushio T, Inoue S, Koike H, Kawabe R. 2016. Movement patterns and residency of the critically endangered horseshoe crab *Tachypleus tridentatus* in a semi-closed bay determined using acoustic telemetry. *PLoS ONE* Vol 11 (2): 1-15
- Watson WH, Schaller SY, Chabot CC. 2009. The Relationship Between Small-and Large-Scale Movements of Horseshoe Crabs in the Great Bay Estuary and *Limulus* Behavior in the Laboratory. Di dalam: Tanacredi JT, Botton ML, Smith D, editor. *Biology and Conservation of Horseshoe Crabs*. Edisi 1. New York : Springer US. hlm 5-24
- Wong J, Davies N, Jeraj H, Vilar E, Vilijoen A, Farrington K. 2016. A comparative study of blood endotoxin detection in haemodialysis patients. *Journal of Inflammation* Vol. 13 (24): 1-9
- Zhang D, Wan W, Kong T, Zhang M, Aweya JJ, Gong Y, Li S. 2018. A clip domain serine protease regulates the expression of proPO and hemolymph clotting in mud crab, *Scylla paramamosain*. *Fish and Shellfish Immunology* Vol. 79: 52-64