

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bekicot⁽¹⁾

Bekicot merupakan hewan lunak (moluska) dari kelas Gastropoda, ordo Pulmonata dan famili Achatinidae. Dari famili ini ada dua jenis bekicot yang terdapat di Indonesia yaitu *Achatina fulica* dan *Achatina variegata*. Perbedaan kedua jenis bekicot tersebut dapat dilihat secara mudah dari bentuk cangkang dan pola garis cangkang. *Achatina fulica* bercangkang lebih ramping (runcing) dan pola garis pada cangkangnya tidak terlalu nyata (halus). Sedangkan *Achatina variegata* berpenampilan lebih bulat (gemuk) dan pola garis cangkangnya lebih tegas berwarna coklat berkelok-kelok.

Bagian tubuh bekicot terdiri atas rumah (cangkang), daging atau kaki dan isi perut. Rumah bekicot berfungsi untuk mempertahankan diri dari musuh dan untuk memperkecil penguapan tubuhnya. Cangkang bekicot sebagian besar tersusun atas zat kapur. Komposisi cangkang adalah protein 28%, serat kasar 1%, kalsium 25%, fosfor 0,14%.

Daging bekicot merupakan bagian yang bisa dikonsumsi. Isi perut bekicot meliputi seluruh saluran pencernaan. Kandungan kalsium seluruh bagian yang lunak dari bekicot berkisar antara 1 - 8%, sedangkan kandungan fosfor hanya sekitar 1%. Bekicot sangat kaya akan protein, tetapi kandungan lemaknya sangat rendah. Kadar protein berkisar antara 50-60%, sedangkan kadar lemaknya hanya berkisar antara 3-5%.

Daging bekicot mengandung asam amino lebih banyak dibanding dengan telur, terutama asam amino essensial. Kandungan asam amino pada bekicot dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel II.1. Komposisi Asam Amino Daging Bekicot

Jenis asam amino	Komposisi asam amino (gram/100 gram daging bekicot kering)
Asam amino essensial	
Isoleusin	2,64
Leusin	4,62
Lisin	4,35
Metionin	1,00
Arginin	4,88
Fenilalanin	2,62
Histidin	1,43
Treonin	2,76
Triptofan	-
Valin	3,07
Asam amino non essensial	
Sistein	0,60
Tirosin	2,44
Alanin	3,31
Asam aspartat	5,98
Asam glutamat	8,16
Glisin	3,82
Prolin	2,79

2.2. Enzim Selulase

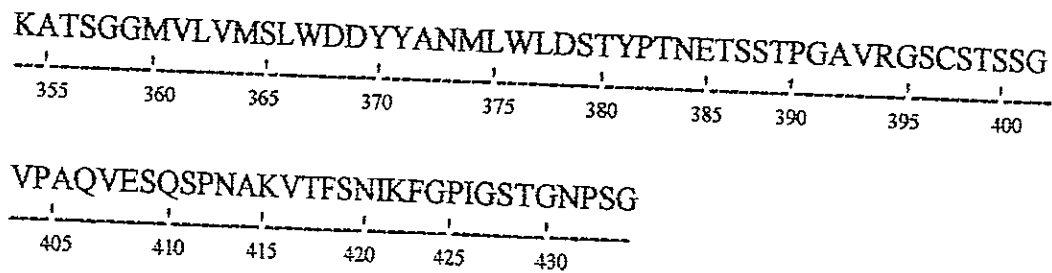
Enzim selulase adalah termasuk enzim hidrolase yang bekerja mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan β -1,4-glikosidik pada molekul selulosa. Enzim selulase dapat dihasilkan oleh sejumlah mikroorganisme selulolitik baik oleh sel prokariot maupun eukariot, di samping itu juga dihasilkan oleh moluska seperti bekicot, ketam dan rayap.^(2,3)

Enzim selulase adalah suatu protein yang terdiri dari 434 residu asam amino. Enzim ini memiliki beberapa sisi aktif yang terletak pada :

- Glu 212
- Asp 214
- Glu 217
- His 228
- Glu 295

Adapun komposisi asam amino penyusun enzim selulase tersebut dapat dilihat pada gambar di bawah ini :⁽⁴⁾





Gambar II.1. Komposisi asam amino penyusun enzim selulase

Keterangan gambar :

∇ = sisi aktif enzim	L = Leusin
A = Alanin	M = Metionin
C = Sistein	N = Asparagin
D = Aspartat	P = Prolin
E = Glutamat	Q = Glutamin
F = Fenilalanin	R = Arginin
G = Glisin	S = Serin
H = Histidin	T = Treonin
I = Isoleusin	V = Valin
K = Lisin	W = Triptofan
	Y = Tirosin

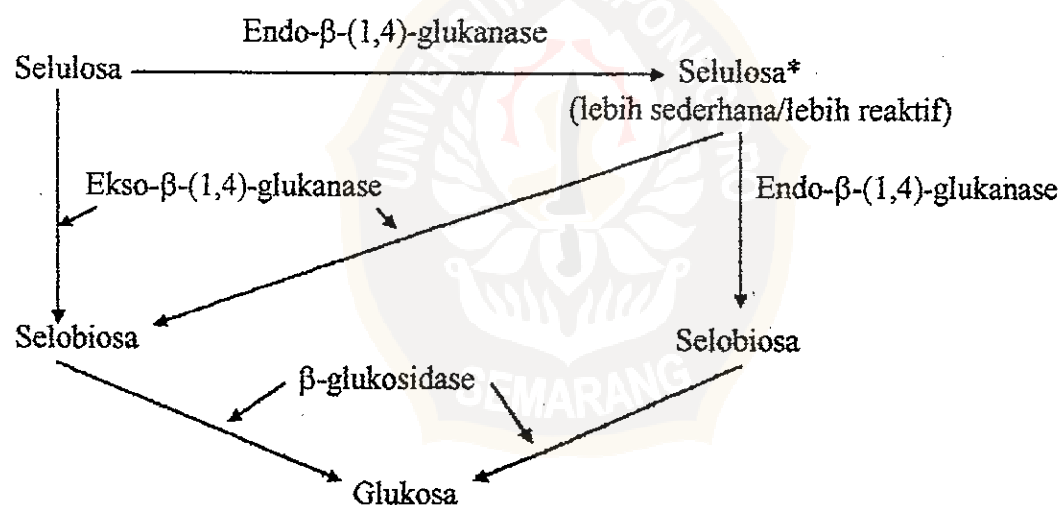
Enzim selulase merupakan enzim multi kompleks yang terdiri atas tiga komponen, yaitu :^(3,5)

1. Enzim C1 (ekso- β -1,4-glukanase)
2. Enzim Cx (endo- β -1,4-glukanase)
3. Enzim β -glukosidase atau selobiase

Menurut Wood dan Sogar (1995), enzim Cx menghidrolisa selulosa amorf menjadi selobiosa, sedangkan enzim β -glukosidase menghidrolisa selobiosa menjadi glukosa. Enzim C1 berperan dalam menghidrolisa bagian kristal rantai selulosa dan β -glukosidase merupakan unit enzim yang penting untuk menghasilkan produk glukosa dari pemecahan selobiosa.

Menurut Streamer et al (1975), enzim ekso- β -1,4-glukanase dan endo- β -1,4-glukanase bekerja secara sinergistik dalam mendegradasi selulosa alami. Unit enzim Cx merupakan unit enzim pemula yang memecah bagian amorf kemudian dilanjutkan oleh enzim C1 yang memecah bagian kristal dari rantai selulosa.⁽⁶⁾

Adapun urutan reaksinya adalah sebagai berikut :⁽⁷⁾



Gambar II.2. Reaksi hidrolisa selulosa oleh enzim selulase

Umumnya enzim selulase diproduksi secara induktif, yaitu sebagai respon terhadap substrat yang berada di sekelilingnya. Enzim tersebut diproduksi oleh mikrobia untuk menghidrolisis substrat selulosa menjadi gula-gula yang lebih sederhana sehingga dapat digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan

sel . Mikrobial selulolitik minimum memproduksi dua unit selulase, yaitu enzim endo- β -1,4-glukanase dan enzim ekso- β -1,4-glukanase.

Menurut Gordon dan Philips (1989), pelarutan selulosa menjadi produk terlarut diketahui sebagai gula pereduksi pada struktur medium. Sedangkan untuk mengetahui aktivitas ekso- β -1,4-glukanase terhadap kristal selulosa digunakan substrat selulosa mikrokristalin (Avicel) dan untuk aktivitas enzim endo- β -1,4-glukanase terhadap selulosa amorf digunakan substrat CMC (Carboxy Methyl Cellulose).⁽³⁾

Aktivitas enzim selulase dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu:^(7,8)

1. Derajat keasaman (pH)

Enzim akan menunjukkan aktivitas maksimum pada suatu kisaran pH yang disebut pH optimum. Di sekitar pH optimum, enzim mempunyai stabilitas yang cukup tinggi.⁽⁹⁾

Enzim selulase pada umumnya memiliki pH optimum antara 4,5 dan 6,5. Harga pH optimum dari enzim yang sama dapat berbeda-beda tergantung dari substrat dan sumber enzim selulase tersebut.

2. Temperatur

Temperatur optimum enzim selulase pada umumnya antara 30 - 65°C. Enzim selulase cukup stabil dengan pemanasan. Kemampuan untuk tidak terdenaturasi, terutama dengan adanya substrat, memungkinkan penggunaan enzim pada temperatur yang cukup tinggi. Kestabilan selulase juga digunakan untuk membedakan reaksinya dari enzim-enzim yang bekerja pada pektin, yang sangat mudah mengalami deaktivasi dengan pemanasan yang pendek.

3. Faktor penghambat

Enzim selulase sangat dihambat aktivitasnya oleh glukonolakton. Hambatan ini lebih besar dengan penggunaan selobiosa dan oligosakarida yang lebih rendah daripada dengan selulosa. Akibatnya, pemutusan awal selulosa lebih sedikit dipengaruhi daripada pemecahan secara lengkap menjadi glukosa. Pengaruh inhibisi oleh adanya logam berat, seperti garam-garam tembaga dan merkuri dapat dinetralkan dengan sistein. Setelah penetralan inhibisi, aktivitas enzim mulai tampak lagi.

Meskipun kemungkinan kelarutan dan sakarifikasi selulosa dalam banyak tanaman berserat sangat sering terjadi, penggunaan selulase dalam industri makanan masih sedikit dilakukan. Alasan utama adalah tidak tersedianya preparasi enzim yang potensial, yang bereaksi dengan cepat pada substrat yang tidak larut. ⁽⁸⁾

2.3. Ekstraksi ⁽¹⁰⁾

Ekstraksi adalah proses mengeluarkan enzim dari sel atau organ seluler. Untuk mengekstrak enzim diperlukan perusakan atau penghancuran dinding sel atau membran sel secara fisik, mekanik atau kimiawi. Sebagian besar enzim yang berasal dari hewan berada dalam jaringan khusus atau dalam urat daging. Organ hewan dapat dipotong-potong secara manual atau digiling untuk mengeluarkan enzim dari dalam organ. Proses ini sebaiknya dilakukan pada temperatur rendah karena dengan kenaikan temperatur akan dapat mengurangi kecepatan pengeluaran enzim dari dalam organ dan dapat merusak enzim.

2.4. Teknik Sentrifugasi ⁽¹¹⁾

Teknik sentrifugasi adalah suatu teknik pemisahan yang dilakukan berdasarkan sifat partikel dalam medan gaya sentrifugal. Partikel yang berbeda dalam berat jenis, ukuran dan bentuk akan mengendap searah dengan gaya sentrifugal dengan kecepatan yang berbeda. Kecepatan pengendapan tergantung dari gaya sentrifugal yang mengenai partikel searah dengan jari-jari radial kearah luar (menjauhi sumbu).

Sentrifugasi secara umum dapat dibedakan menjadi dua, yaitu:

1. Sentrifugasi preparatif, digunakan untuk membuat preparat/fraksinasi bagian-bagian sel secara preparatif. Sentrifugasi preparatif ini meliputi 4 jenis, yaitu differensial, rate zonal, isopiknis dan equilibrium isodensity.
2. Sentrifugasi analitis, digunakan untuk keperluan pengujian sifat bahan partikel atau makromolekul yang sudah murni. Dari pengamatan uji pengendapan ini dapat diketahui tingkat kemurnian bahan, BM dan bentuknya.

2.5. Presipitasi

Penambahan suatu reagen atau suatu perubahan kondisi adalah suatu prosedur yang menyebabkan protein mengendap dalam bentuk presipitan. Metode presipitasi enzim dapat berbeda-beda, antara lain dengan penambahan garam netral, perubahan pH, pengaruh ion-ion logam dan reagen-reagen organik. Dalam reaksi presipitasi dikenal istilah "Salting-out" yang menggambarkan suatu proses

pengendapan protein dengan menggunakan larutan garam netral pada konsentrasi tertentu. ⁽¹²⁾

Kelarutan protein pertama kali naik dan kemudian turun dengan adanya kenaikan konsentrasi garam. Hal ini disebabkan karena hidrasi sejumlah besar ion-ion garam yang membutuhkan sejumlah pelarut dan akibatnya menginduksi protein untuk mengendap. Konsentrasi garam yang dibutuhkan adalah spesifik untuk tiap-tiap protein. ⁽¹³⁾

Reagen-reagen yang biasa digunakan adalah amonium sulfat dan natrium sulfat. Amonium sulfat bersifat menguntungkan karena harganya murah dan kelarutannya tinggi, meskipun di bawah temperatur kamar. ⁽¹²⁾

Selain itu juga karena reaksinya netral dan tidak mengganggu fungsi dan bentuk enzim. ⁽¹⁴⁾

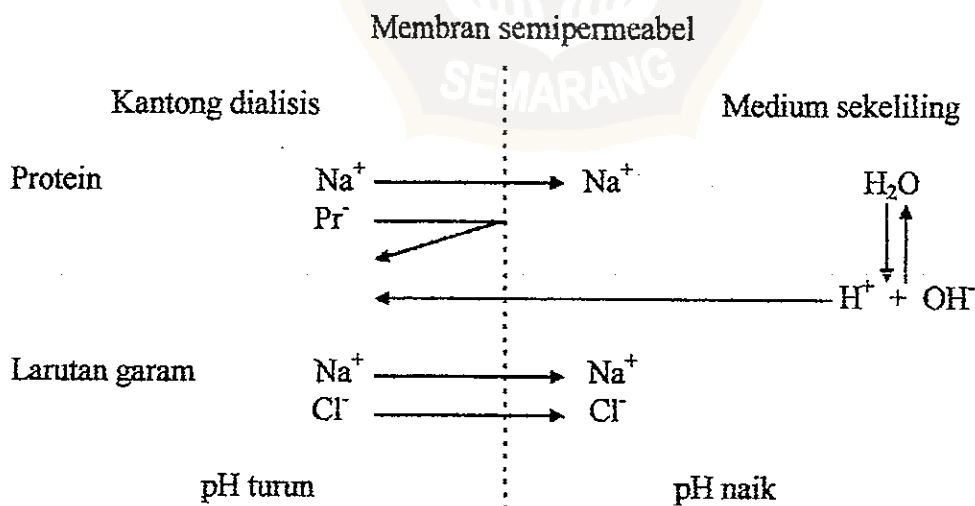
2.6. Dialisis ⁽¹¹⁾

Dialisis digunakan untuk memisahkan molekul besar dan kecil menggunakan membran semipermeabel yang dapat dilewati molekul yang kecil, tetapi menahan molekul yang besar. Dalam praktek, suatu campuran molekul besar dan kecil ditempatkan dalam sebuah kantong dialisis yang dicelupkan dalam sejumlah besar pelarut, yang biasanya digunakan air atau buffer. Molekul kecil dapat melewati membran menuju cairan di luarnya hingga kesetimbangan tercapai. Campuran dapat dibebaskan dari molekul yang kecil dengan proses dialisis yang sebenarnya terjadi melalui aliran air atau dengan pertukaran pelarut.

Kecepatan dialisis tergantung pada beberapa faktor, yaitu :

1. Membran
2. Preparasi
3. Permeabilitas
4. Pelarut
5. Larutan makromolekul
6. Kondisi fisik.

Jika larutan makromolekul seperti protein dipisahkan dari larutan garam dengan membran semipermeabel, protein tidak dapat melewati membran, tetapi konterion yang kecil dapat melakukannya. Hal ini akan menyebabkan terjadinya distribusi ion dan perbedaan potensial listrik antara membran. Semua ini terjadi berdasarkan efek Donnan. Jika dialisis dilakukan dengan air distilasi maka akan terjadi perubahan pH. Untuk menghindari terjadinya perubahan pH, dialisis dilakukan dengan larutan buffer yang disesuaikan konsentrasinya.



Gambar II.3. Efek Donnan yang terjadi saat dilakukan dialisis larutan protein yang mengandung garam dengan menggunakan pelarut air distilasi.

2.7. Spektrofotometri UV-Vis

Pada umumnya konsentrasi suatu enzim hasil isolasi cukup rendah, sehingga pengukuran berdasarkan pada absorbansi (A) atau fluoresensi (F).⁽¹⁵⁾

Hukum yang digunakan untuk mengukur serapan atau absorbansi suatu cuplikan adalah hukum Bougner-Lambert-Beer, yaitu :

$$-\log T = A = a.b.c$$

di mana : T = transmitansi

A = absorbansi

a = koefisien absorbsivitas

b = tebal cuvet

c = konsentrasi

Jika a dan b diketahui, penentuan absorbansi atau transmitansi dapat dilakukan untuk menghitung konsentrasi yang belum diketahui.⁽¹⁶⁾

Satuan aktivitas unit enzim (U) yang paling umum dipakai adalah jumlah mikromol substrat yang diubah menjadi produk tiap menit atau jumlah mikromol produk yang terbentuk tiap menit pada kondisi tertentu. Kadar enzim dinyatakan dalam satuan unit aktivitas enzim tiap satuan volume (U/volume).

Sedangkan aktivitas spesifik enzim yaitu unit aktivitas per kadar protein enzim.⁽¹⁷⁾

2.8. Eceng gondok

Eceng gondok adalah jenis tanaman air yang berbunga dan sangat mengganggu habitat di sekelilingnya, terutama mengganggu keberadaan dan fungsi rawa. Eceng gondok dapat menyebabkan pendangkalan rawa karena

sebagian permukaan rawa ditumbuhi eceng gondok yang membawa lumpur pada akarnya. Eceng gondok adalah jenis tanaman yang berkembang biak secara generatif (dengan biji) dan secara vegetatif (dengan tunas anakan).

Klasifikasi eceng gondok adalah sebagai berikut :

Divisio : Embryophytasi phonogama

Sub divisio : Angiospermae

Klas : Monocotyledone

Ordo : Pontederiaceae

Familia : Farinosae

Genus : Eichhornia

Spesies : Eichhornia crassipes

Berdasarkan penelitian Dinas Perindustrian diketahui bahwa eceng gondok mengandung 45 - 50% selulosa, 10% lignin dan kandungan mineralnya, terutama natrium, besi dan kalium sangat tinggi. ⁽¹⁸⁾