

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sedimen

Sedimen adalah hasil produk disintegrasi dan dekomposisi dari batuan. Proses dimana batuan yang rusak/pecah menjadi butiran-butiran kecil tanpa perubahan substansi kimiawi disebut disintegrasi. Sedangkan proses dekomposisi merupakan proses pemecahan komponen mineral batuan oleh reaksi kimia. Dalam proses dekomposisi terjadi reaksi kimia berupa karbonasi, hidrasi, oksidasi dan solusi. Karakteristik dari sedimen dapat dibedakan berdasarkan pada ukuran (*size*), bentuk (*shape*), berat volume (*specific weight*), berat jenis (*specific gravity*) dan kecepatan jatuh/endap (*fall velocity*) (Hambali dan Yayuk, 2016).

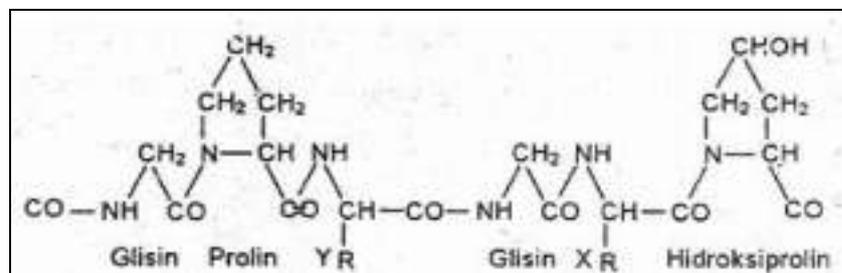
Menurut Supangat dan Umi (2003), terdapat berbagai sumber yang berbeda dapat mempengaruhi endapan materi yang terjadi di laut. Terdapat tiga komponen utama yang sering terdapat di dalam sedimen laut, yaitu: kalsium karbonat, silica, dan mineral lempung. Berbagai komponen sedimen tersebut berasal dari jaringan tubuh tumbuhan dan hewan laut yang terdiri dari bahan organik serta kalsium karbonat atau silika. Akan tetapi sangat sedikit bahan organik yang dapat hidup di dasar laut, sehingga akan dikonsumsi oleh dekomposer untuk didaur ulang. Sedangkan materi berupa kalsium karbonat yang berasal dari tulang-tulang hewan akan terakumulasi di dalam sedimen laut.

2.2 Gelatin

2.2.1 Pengertian Gelatin

Menurut Minah, *et al.* (2016), gelatin merupakan jenis polipeptida yang dapat diperoleh melalui proses hidrolisis termal dari kolagen. Gelatin itu sendiri dapat larut dalam air, asam asetat dan pelarut alkohol seperti gliserol, propilen

glikol, sorbitol dan manitol, akan tetapi gelatin tidak dapat larut dalam aseton, karbon tetraklorida, benzen, dan petroleum eter. Kekuatan gel gelatin pada umumnya memiliki rentangan sekitar 110 – 290 bloom sedangkan untuk kekuatan gelatin ikan sekitar 200 bloom. Kemudian gelatin ikan memiliki titik leleh 25 – 33 °C. Gelatin memiliki nilai pH berkisar 4,2 – 6,5. Sifat dari gelatin yaitu dapat berubah secara *reversible* dari bentuk *sol* menjadi gel, membengkak atau mengembang dalam air dingin, dapat mempengaruhi viskositas suatu bahan, dapat membentuk film, serta dapat melindungi sistem *koloid*. Adapun bentuk struktur molekul dari gelatin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Molekul Gelatin (Minah, *et al.*, 2016)

Sebanyak 33% dari komponen asam amino selalu terdiri dari glisin, dan sebanyak 22% yaitu terdiri dari prolin dan hidroksiprolin. Posisi X dari kolagen dan gelatin selalu diisi oleh prolin, sedangkan hidrokisi prolin selalu berada pada posisi Y. Prolin tidak selalu berada pada posisi X tetapi dapat juga berada pada posisi Y tergantung dari jenis muatan elektrostatis dan sterik yang dimiliki dari asam amino tersebut (Schrieber dan Herbert, 2007).

2.2.2 Tipe Gelatin

Menurut Minah, *et al.* (2016), secara umum gelatin dapat dibagi menjadi dua tipe berdasarkan perbedaan proses pengolahannya, yaitu tipe A dan tipe B. Gelatin tipe A atau dikenal sebagai proses asam, hal ini disebabkan karena dalam proses pembuatannya dilakukan dengan cara direndam dalam larutan

asam. Sedangkan pada gelatin tipe B, dilakukan proses perendaman dengan larutan yang bersifat basa sehingga dapat disebut juga sebagai proses basa. Secara ekonomis, proses yang paling sering digunakan dalam pembuatan gelatin adalah proses asam. Hal ini dikarenakan pada proses perendaman dengan menggunakan larutan asam prosesnya relatif lebih cepat dibandingkan dengan menggunakan larutan basa.

Ditambahkan oleh Schrieber dan Herbert (2007), dalam pembuatan gelatin yang menggunakan hewan sudah berumur tua sebaiknya dilakukan proses pengolahan secara basa, sedangkan bila menggunakan hewan yang lebih muda dapat dilakukan proses secara asam dengan periode yang lebih singkat karena kandungan kolagen yang tinggi. Kemudian untuk kulit babi, sebaiknya menggunakan proses secara asam untuk mencegah terjadinya saponifikasi akibat tingginya kadar lemak yang dimiliki oleh babi. Sebenarnya semua bahan baku untuk pembuatan gelatin bisa dilakukan dalam proses asam untuk menghindari pembengkakan dan proses penghilangan bulu selama perlakuan basa.

2.2.3 Pemanfaatan Gelatin

Menurut Schrieber dan Herbert (2007), penggunaan gelatin telah dikenal luas dalam kehidupan sehari-hari. Sebagai contoh foto saat ini dapat dicetak pada kertas berkualitas tinggi yang dilapisi oleh gelatin. Selain itu, gelatin juga dapat dijadikan sebagai bahan pembersih dan peremajaan bangunan dan dokumen lama sehingga terlihat baru kembali. Gelatin juga berguna dalam membantu untuk mendukung tulang dan sendi yang sehat. Selanjutnya, juga berguna industri makanan berupa permen dan gula sebagai penguat busa, penjaga kualitas busa, pengendali kristalisasi, pengemulsi, dan sebagai pembuat gel yang bersifat termoreversibel.

2.3 Enzim

2.3.1 Pengertian Enzim

Menurut Winarno (2010), enzim sebenarnya berasal dari kata *enzyme* dari istilah Yunani yang memiliki arti didalam sel. Selain itu enzim juga dapat didefinisikan sebagai fermen yang memiliki bentuk tidak teratur dan tidak tertentu yang dapat bekerja tanpa adanya bantuan dari mikroorganisme atau dapat bekerja diluar mikroorganisme. Semua definisi tersebut hadir setelah adanya berbagai teori tua lain yang telah diajukan lalu diperdebatkan dan dibantah.

Enzim merupakan sejenis katalis biologis yang dapat meningkatkan atau mempercepat laju reaksi kimia yang terjadi didalam sel makhluk hidup tanpa mengalami perubahan atau kerugian. Setiap enzim hanya dapat bekerja secara spesifik pada masing-masing substratnya (reaktan reaksi yang dikatalisis oleh enzim). Semua jenis enzim termasuk protein dan kerja dari enzim sangat membutuhkan kofaktor yang berupa komponen non-protein. Terdapat dua sisi dari enzim yaitu apoenzim (bagian tidak aktif enzim) dan holoenzim (bagian aktif enzim) (Palmer, 1991).

2.3.2 Klasifikasi Enzim

Menurut Dixon dan Edwin (1978), secara umum enzim dapat diklasifikasikan menjadi 6 kelas antara lain sebagai berikut:

- a) Oksidoreduktase
- b) Transferase
- c) Hidrolase
- d) Liase
- e) Isomerase
- f) Ligase

Enzim oksidoreduktase merupakan enzim yang dapat mempercepat reaksi oksidasi atau reduksi suatu bahan, yang mana dalam enzim jenis ini dibagi lagi

menjadi dua golongan yaitu: oksidase dan dehidrogenase. Enzim transferase adalah suatu enzim yang dapat membantu reaksi pemindahan (*transfer*) suatu radikal atau gugus. Kemudian enzim hidrolase adalah suatu enzim yang berperan penting dalam pengolahan pangan dengan cara mempercepat reaksi hidrolisis atau memecah suatu substrat dengan bantuan molekul air. Sedangkan enzim liase merupakan kebalikan dari enzim hidrolase dimana dalam pemecahan ikatan C-O dan ikatan C-C tidak membutuhkan bantuan dari molekul air. Kemudian enzim isomerase merupakan enzim yang mempercepat reaksi perubahan suatu molekul dengan cara menyusun kembali atom-atom dalam molekul substrat. Dan yang terakhir enzim ligase merupakan enzim yang berperan dalam proses pembentukan ikatan-ikatan tertentu, seperti dalam pembentukan C-N saat melakukan sintesis glutamin (Winarno, 2010).

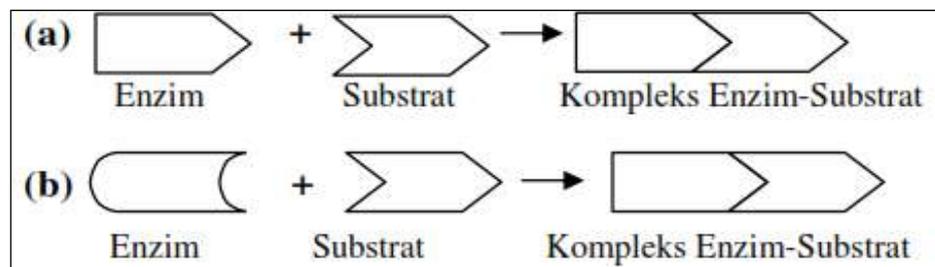
2.3.3 Faktor yang Penghambat Aktivitas Enzim

Menurut Winarno (2010), terdapat beberapa jenis molekul kecil dan ion-ion penting yang dapat menghambat kerja dari enzim. Secara umum faktor yang dapat menghambat (inhibitor) aktivitas enzim dapat dibagi menjadi 2 yaitu: penghambat *reversible* (tidak stabil) dan penghambat *irreversible* (stabil). Penghambat *reversible* dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu: penghambat kompetitif dan penghambat nonkompetitif. Penghambat kompetitif adalah senyawa yang mirip dengan substrat dan dapat terikat pada lokasi aktif enzim, sehingga inhibitor dapat menghalangi masuknya substrat menuju sisi aktif enzim. Sedangkan penghambat nonkompetitif, merupakan senyawa penghambat enzim yang tidak mirip dengan substratnya, sehingga sisi aktif tidak dapat terisi dengan substratnya karena terdapat inhibitor yang menempel pada sisi lain dari enzim. Lalu penghambat *irreversible* adalah terdapat senyawa penghambat yang terikat secara kovalen pada sisi aktif enzim atau sebagiannya saja, sehingga terjadinya perubahan bentuk dari sisi aktif enzim.

2.3.4 Teori Pembentukan Enzim-Substrat

Menurut Suhara (2009), secara umum terdapat sisi aktif pada enzim yang dapat berikatan dengan substrat, sehingga terjadi proses katalisis antara enzim dengan substrat yang akhirnya membentuk produk. Dan terdapat dua jenis teori yang dapat menjelaskan proses pembentukan enzim-substrat, antara lain sebagai berikut:

- a) Teori model kunci dan anak kunci, pada tahun 1894 Emil Fisher mengusulkan teori baru tentang sisi aktif dari enzim dan substrat akan selalu serasi seperti bentuk anak kunci (gembok) dan kuncinya.
- b) Teori Induced-fit model (model ketepatan induksi), yang diusulkan oleh Daniel E. Koshland pada tahun 1958 bahwa bentuk dari sisi aktif enzim akan selalu menyesuaikan dengan bentuk substratnya sehingga akan terjadi perubahan



Gambar 2. (a) Lock and Key Model, (b) Induced-fit Model (Suhara, 2009) konformasi pada sisi aktif enzim yang akan dijelaskan pada Gambar 2.

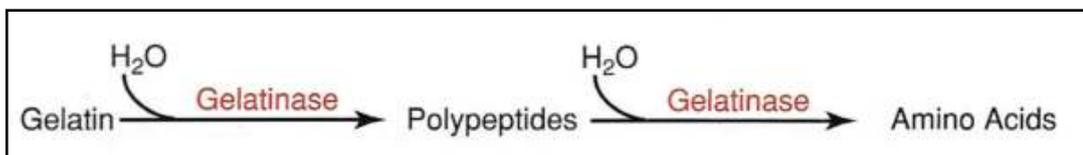
2.4 Enzim Gelatinase

2.4.1 Pengertian Enzim Gelatinase

Menurut Susatyo (2006), gelatinase adalah salah satu jenis enzim yang dapat dihasilkan oleh bakteri yang bermanfaat dalam perombakan senyawa gelatin. Terdapat beberapa sebutan nama untuk enzim gelatinase antara lain adalah matriks metalloproteinase, kolagenase, kolagen metalloproteinase, parapepsin, pepsin B, dan gelatinase A/B. Dalam proses perombakan gelatin, enzim gelatinase memerlukan bantuan dari molekul air untuk merubah gelatin

agar dapat terlarut dalam air sehingga enzim gelatinase dapat diklasifikasikan sebagai enzim hidrolisis.

Sepaham dengan uraian yang diutarakan oleh Dwidjoseputro (1998), enzim gelatinase merupakan suatu jenis enzim yang dapat menguraikan gelatin. Sifat enzim gelatinase yang dapat menguraikan protein (gelatin), sehingga dapat digolongkan sebagai enzim proteinase atau protease. Enzim-enzim pencernaan seperti peptidase dan protease dapat digolongkan sebagai enzim hidrolase, karena pada proses penguraian ikatan-ikatan substratnya secara hidrolisis atau memerlukan air (Kusnawidjaja, 1983). Proses hidrolisis gelatin oleh enzim



Gambar 3. Proses Hidrolisis Gelatin (Dela Cruz dan Jeremy, 2016)

gelatinase dapat dilihat pada Gambar 3.

2.4.2 Sumber Enzim Gelatinase

Terdapat beberapa macam bakteri yang dapat menghasilkan enzim gelatinase seperti *Clostridium*, *Propionibacterium granulosum*, dan *Peptococcus* (Whaley, et al., 1982). Selain itu spesies bakteri seperti *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Chromobacterium violaceum*, dan *Vibrio comma* juga dapat menghasilkan enzim gelatinase (Smith dan Goodner, 1958). Menurut Dwidjoseputro (1998), biasanya bakteri yang dapat mengencerkan gelatin pada media uji gelatin akan memiliki koloni yang berbentuk seperti kawah, seperti mangkuk atau seperti pundi-pundi yang berlapis. Selain itu gelatinase juga bisa diperoleh dari mensekresi sel synovial rheumatoid dari manusia atau mamalia (Okada, et al., 1990).

2.4.3 Aplikasi Enzim Gelatinase

Fungsi utama dari enzim gelatinase yang dapat menghidrolisis ikatan membuat pengaplikasian enzim gelatinase pada saat ini, menjadi sangat luas sebagai contoh enzim gelatinase mampu mencerna gelatin, fibronektin, laminin, kolagen tipe V dan beberapa kolagen tipe IV seperti proteoglikan kartilago dan elastin dari jaringan kulit (Okada, *et al.*, 1990). Enzim gelatinase juga berguna dalam terapi pengobatan osteoarthritis (Denkovskij, *et al.*, 2017). Selain itu gelatinase juga dapat diaplikasikan sebagai pendeteksi dini adanya cedera ginjal akut dan prediksi mortalitas pada pasien yang terkena luka bakar parah (Chun, *et al.*, 2017).

2.5 Hidrolisat Gelatin

Secara umum hidrolisat dapat didefinisikan dengan suatu proses masuknya air (H_2O) ke dalam suatu senyawa, dan pada proses hidrolisat gelatin air akan menyerang ikatan asam amino pada kolagen sehingga terbentuk hidrolisat gelatin. Pada proses pembuatan hidrolisat gelatin, biasanya akan berbagai enzim atau katalisator dari hidrokarbon sehingga dapat mempercepat reaksi pemutusan rantai amino tetapi penggunaan energi yang digunakan untuk mengaktivasi reaksi tersebut lebih rendah. Suhu yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat gelatin antara 60 hingga 90 °C. Sedangkan kisaran pH yang digunakan dalam pembuatannya tergantung pada jenis tipe gelatin yang akan dihasilkan, seperti pada tipe A optimum pada kisaran 4,8 sampai 5 dan untuk tipe B optimum pada kisaran 7 sampai 9 (Retno, 2012). Dan pada dasarnya terdapat tiga tahapan yang terjadi saat pemecahan kolagen menjadi gelatin, antara lain yaitu proses hidrolisis lateral, lalu pemutusan ikatan rantai peptida dan diakhiri dengan proses pemutusan struktur helik pada senyawa kolagen (Suryati, *et al.*, 2015).

Kemudian menurut Schrieber dan Herbert (2007), bahan yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat gelatin adalah sama seperti pada pembuatan gelatin umumnya. Akan tetapi biasanya pada proses pembuatan hidrolisat gelatin akan ditambahkan enzim yang dapat mencerna atau memutus dari ikatan senyawa kolagen sehingga dapat dihasilkan gelatin (gelatinase). Dan biasanya pada industri pembuatan hidrolisat gelatin akan dilakukan penggabungan metode dengan menggunakan enzim dan air sehingga hasil yang didapatkan akan lebih banyak dengan waktu yang relatif lebih cepat. Beberapa enzim lain yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat gelatin yaitu neutrase, alkalase, bromealin, papain dan pepsin.

2.6 Matrix Metalloproteinase

Sejarahnya Matriks Metalloproteinase (MMP) ditemukan pada tahun 1962 oleh Jerome Gross dan Charles M. Lapiere. MMP tanpa sengaja ditemukan saat mereka melakukan penelitian pada ekor kecebong tentang degradasi *triple-helix* kolagen, yang ternyata kolagen pada ekor kecebong dibelah oleh enzim kolagenase interstisial. Enzim tersebut baru ditemukan pada tahun 1968 dengan mengisolasi kulit manusia yang menghasilkan bentuk tidak aktif dari MMP (proMMP). Setelah itu, barulah dapat ditemukan MMP pada tumbuhan dan invertebrata. Terdapat kesamaan sekitar 40% berdasarkan struktur utama dari anggota semua keluarga MMP. Hingga akhirnya dapat diklasifikasikan sekitar dua puluhan MMP berdasarkan daerah pra-sintesisnya pada kromosom dan berbagai kekhususan substratnya. Macam - macam klasifikasi dari MMP tersebut, telah diberikan nama dari MMP-1 hingga MMP-28 dapat dilihat pada Lampiran 1 (Zitka, *et al.*, 2010).

Menurut Lee dan Gillian (2004), Matriks Metalloproteinase (MMP)

merupakan salah satu jenis proteinase yang berperan penting pada jaringan tubuh dalam menanggapi rangsangan sel. Untuk memudahkan proses perubahan bentuk sel, migrasi sel dan lain-lain, MMP juga dapat berperan sebagai pengatur komponen matriks ekstraseluler. Fungsi lain dari MMP yang tidak kalah pentingnya adalah sebagai penerus efektor sel atau pelepas faktor pertumbuhan pada sel yang sudah tidak dibutuhkan.

2.7 Identifikasi Mikroorganisme

2.7.1 Isolasi Mikroorganisme

Isolasi bakteri atau mikroorganisme adalah suatu upaya pengambilan atau memindahkan mikroba dari lingkungannya di alam untuk dibiakkan dan ditumbuhkan didalam media buatan. Tujuan dilakukan dari pemurnian isolat adalah untuk mendapatkan biakan yang benar-benar murni, sehingga terkadang perlu dilakukan pemurnian isolat sebanyak dua kali agar diperoleh isolat yang murni. Sehingga dapat dikatakan bahwa isolat dapat dikatakan murni bila hanya mengandung satu jenis bakteri (Fitri dan Yekki, 2011).

2.7.2 Teknik Molekuler 16S rDNA

16S rDNA atau 16S RNA ribosom merupakan suatu komponen terkecil dari 30S pada ribosom prokariot. Biasanya sekuen yang digunakan untuk merekonstruksi filogeni pada 16S rDNA mencapai 1500bp. Fungsi yang dimiliki oleh 16S rDNA antara lain yaitu: untuk menerjemahkan posisi protein dari ribosom, membantu dalam pengikatan dua subunit ribosom yaitu unit 50S dan 30S dengan melakukan interaksi pada subunit 23S, dan dapat menstabilkan pasangan kodon-antikodon dengan membentuk ikatan hidrogen antara atom NI dari adenine dengan OH pada mRNA (Sukartiningrum, 2012).

2.7.3 Identifikasi Menggunakan Pewarnaan Gram

Salah satu cara untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta dapat

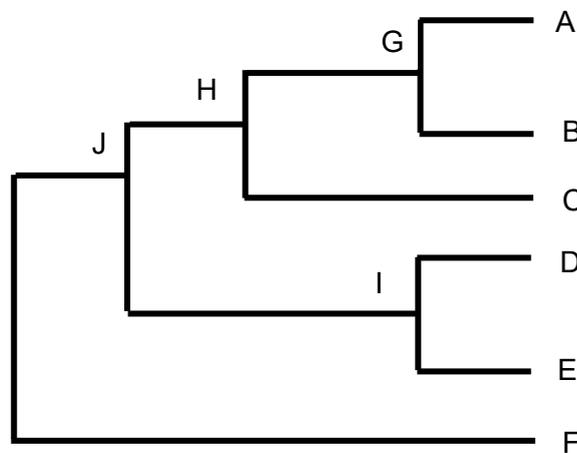
membedakan antara bakteri jenis gram positif dengan gram negatif adalah pewarnaan gram. Perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh kedua jenis bakteri tersebut menyebabkan adanya perbedaan warna berupa warna ungu untuk jenis bakteri gram positif dan warna merah untuk bakteri gram negatif. Pada bakteri jenis gram positif terdapat struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal, berbeda dengan jenis bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel dengan kandungan lemak yang tinggi (Fitri dan Yekki, 2011).

Perbedaan warna pada kedua jenis bakteri karena terbentuk senyawa kompleks kristal violet yodium ribonukleat yang tidak larut dalam larutan pemucat warna pada bakteri Gram positif, sedangkan pada bakteri gram negatif tidak terbentuk senyawa tersebut. Pemberian larutan lugol berguna untuk meningkatkan reaksi pengikatan zat warna oleh bakteri sehingga zat warna dapat terikat lebih kuat pada bakteri. Pada bakteri gram positif saat ditambahkan pewarna safranin tidak akan menyebabkan perubahan warna, tetapi berbeda dengan bakteri gram negatif akan berikatan dengan zat warna safranin tersebut menjadi berwarna merah. Hal ini disebabkan karena senyawa kompleks kristal violet-yodium larut oleh pemberian alkohol dan menyebabkan dinding dapat mengikat zat warna kedua berupa safranin, sehingga fungsi dari zat warna safranin sebenarnya hanya sebagai pembeda (kontras) terhadap zat warna kristal violet yang sudah luruh ketika diberikan alkohol (Hidayat dan Fatri, 2012).

2.7.4 Pohon Filogenik

Pohon filogenetik atau pohon filogenik merupakan suatu diagram yang berbentuk seperti struktur pohon yang digunakan untuk menggambarkan suatu hubungan antara gen dan organisme. Pada daun atau bagian sambungan terluar dari diagram dapat mewakili unit taksa dari organisme (seperti individu, famili dari

organisme atau macam virus) dan hal ini biasanya disebut sebagai unit taksonomi operasional. Sedangkan untuk bagian sambungan yang lebih dalam sering disebut sebagai unit taksonomi hipotetis, yang dapat menunjukkan bahwa unit ini merupakan nenek moyang dari unit taksonomi operasional. Berdasarkan hal tersebut biasanya sekelompok taksa yang berbagi cabang dari asal monofiletik yang sama akan disebut sebagai *cluster*. Contoh gambar dari pohon filogenik dapat dilihat pada Gambar 4. Pada Gambar 4. terlihat bahwa taksa yang bertanda A, B, dan C ternyata membentuk sebuah *cluster* atau memiliki satu nenek moyang yang sama yang bertanda H, sehingga dapat disebut sebagai monofiletik. Sedangkan untuk taksa yang bertanda C, D, dan E yang bukan dari satu *cluster* yang sama tetapi memiliki nenek moyang yang sama yaitu bertanda J, sehingga mereka disebut sebagai parafiletik (Lemey, *et al.*, 2009).



Gambar 4. Pohon Filogenik (Lemey, *et al.*, 2009)