

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Protein Kulit Kambing

Pada dasarnya struktur histologis kulit kambing segar hampir sama dengan kulit sapi atau domba, demikian pula dengan kandungan proteinnya. Adapun yang membedakan adalah struktur serabut protein yang terdapat pada lapisan korium. Pada kulit kambing, struktur protein pada lapisan ini lebih kompak dibandingkan kulit sapi atau domba (Roddy, 1978).

Menurut Sharphouse (1971), susunan kimia kulit segar terdiri atas 60% air, 33% protein, 2% lemak, 0,2% dan 0,8% substansi lain. Lebih lanjut Sharphouse (1971) mengatakan bahwa dari 33% protein yang terkandung di dalam kulit terdiri atas 29% kolagen, 0,3% elastin, 1% albumin dan globulin serta 0,7% mucin dan mukoid.

Berdasarkan strukturnya, protein dalam kulit dibedakan menjadi dua yaitu protein serabut dan protein globular. Protein globular larut dalam larutan garam, larutan asam dan larutan basa sedangkan protein serabut tidak larut. Protein serabut terdiri atas kolagen, elastin, retikulin dan keratin sedangkan protein globular terdiri atas albumin, globulin, mucin dan mukoid (Highberger, 1978 dan Sharphouse, 1971).

1. Kolagen

Protein yang sangat besar pengaruhnya terhadap kulit adalah kolagen karena kolagen terdapat 90% dari total protein kulit dan bentuk

serabutnya menentukan fisik (Kanagy, 1978). Semakin besar ukuran binatang maka semakin besar pula jumlah kolagen yang dikandungnya (Lehninger, 1978).

Susunan asam amino penyusun kolagen pada spesies yang berbeda juga menunjukkan perbedaan. Susunan kimia kolagen terdiri atas asam amino prolin, hidroksiprolin dan glisin dalam jumlah besar serta asam amino aromatik dalam jumlah kecil (Highberger, 1978).

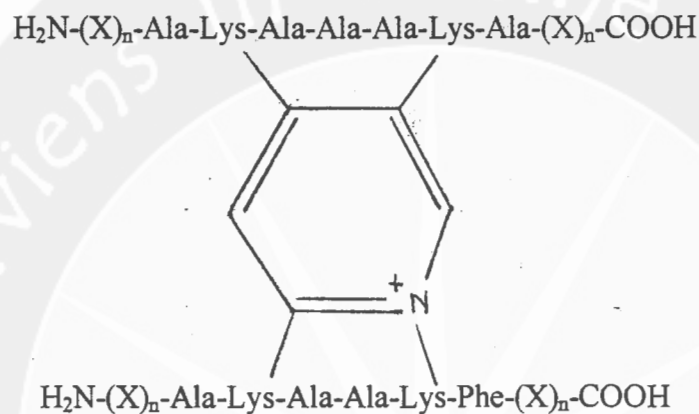
Menurut Lehninger (1978), asam amino penyusun kolagen terdiri dari 35% glisin dan 11% alanin, sedangkan yang membedakan kolagen dengan protein serabut yang lain adalah bahwa kolagen mengandung lebih banyak asam amino prolin dan hidroksiprolin yaitu masing-masing sebesar 12% dan 9%.

Struktur serabut kolagen adalah tripel heliks yang dikuatkan oleh ikatan hidrogen dan elektrostatik. Masing-masing rantai polipeptida penyusun tripel heliks tersebut memutar ke kiri pada setiap tiga residu heliks yang kemudian digabungkan oleh ikatan hidrogen. Struktur tripel heliks serabut kolagen ini tidak dijumpai pada protein yang lain. Susunan asam amino penyusun serabut kolagen secara lengkap belum diketahui, tetapi susunan -Gly-X-Pro-, -Gly-Hyp-X- dan -Gly-X-Hyp- paling banyak dijumpai (Lehninger, 1978).

2. Elastin

Elastin merupakan protein serabut yang mengandung 90% gugus non-polar pada rantai sampingnya (Reed, 1975). Struktur molekuler

elastin sangat unik, yaitu terdiri dari rantai polipeptida yang dihubungkan oleh ikatan kovalen silang (gambar 1) dan tidak larut dalam air. Elastin lebih resisten terhadap pemanasan, asam dan basa dibandingkan dengan kolagen (Highberger, 1978).



Gambar 1. Struktur molekuler elastin (Bashir, *et al.*, 1984)

3. Retikulin

Secara histologis retikulin membentuk jaringan kolagen. Retikulin membungkus kolagen yang berfungsi untuk memperkuat jaringan serabut kolagen. Susunan protein retikulin mirip dengan kolagen yaitu mengandung hidroksiprolin dalam jumlah besar dan residu asam amino aromatik dalam jumlah kecil. Kandungan alanin, glisin dan prolin lebih rendah daripada kolagen sedangkan kandungan leusin, phenilalanin dan metionin lebih tinggi. Sifat lain dari retikulin adalah tidak larut dalam air (Koppenhofer, 1978).

4. Mucin dan Mukoid

Kurang lebih 1% total berat kering kulit terdiri atas mukoid. Mukoid terdapat di lapisan papilare dalam jumlah besar dan juga terdapat di antara serabut kolagen (Pfunmuller, 1978). Mucin dan mukoid di dalam kulit mengandung 2,2% tirosin; 0,9% triptofan dan 0,5% hidroksiprolin (Highberger, 1978)

5. Albumin dan Globulin

Albumin bersifat larut dalam air, menggumpal dalam pemanasan dan biasanya kurang mengandung glisin (Salam, dkk., 1992). Albumin mengandung asam amino lisin dan arginin dalam jumlah besar yaitu 6% dan 13% dari total asam amino penyusunnya (Sharphouse, 1980).

Globulin bersifat tidak larut dalam air, larut dalam larutan garam alkali dan asam encer serta menggumpal dalam pemanasan (Salam, dkk., 1992).

Stabilitas struktur protein serabut terutama disebabkan oleh ikatan hidrogen dan gaya elektrostatis antara rantai polipeptida yang satu dengan yang lainnya. Di dalam air, jika protein serabut terhidrolisa maka ikatan hidrogen antara rantai-rantai polipeptidanya akan pecah dan molekul-molekul air akan masuk ke dalam kulit (Thorstensen, 1978).

B. Proses *Bating* Pada Penyamakan Kulit

1. Proses-Proses Sebelum *Bating*

Kulit (*leather*) merupakan produk yang dibuat dengan cara menstabilkan protein kulit binatang melalui proses penyamakan (*tanning*) (O'flaherty, 1978). Kulit binatang yang merupakan hasil sampingan dari industri pemotongan ternak besar manfaatnya bagi manusia yaitu sebagai bahan dasar garmen, sepatu, tas bahkan digunakan dalam industri kesenian.

Proses penyamakan kulit terdiri atas beberapa tahap. Tahap-tahap proses penyamakan kulit tersebut dapat dilihat pada diagram alir gambar 1 lampiran. Salah satu tahap proses penyamakan kulit yang memegang peranan penting adalah proses *bating* karena keberhasilan pada proses ini akan menghasilkan produk kulit tersamak yang berkualitas tinggi. Proses *bating* yang sempurna akan menghasilkan kulit tersamak yang halus, lembut dan rajah kulit yang baik.

Proses awal penyamakan kulit sebelum proses *bating* juga mempengaruhi keberhasilan pada proses *bating*. Proses awal sebelum *bating* tersebut adalah : perendaman (*soaking*), buang rambut (*unhairing*), pengapuran (*liming*) dan buang kapur (*deliming*).

a. Perendaman (*Soaking*)

Perendaman dilakukan untuk mengembalikan kadar air kulit yang mengalami dehidrasi akibat adanya pengawetan dan penyimpanan. Disamping itu juga untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada

kulit dan turut membantu melarutkan protein globular (Goetz, 1978 dan Olivannan, 1989).

b. Buang Rambut (*unhairing*)

Morris (1978) menyatakan bahwa proses buang rambut bertujuan untuk menghilangkan rambut dan lapisan epidermis kulit. Struktur serabut kulit harus dibuka agar protein yang tidak diharapkan dalam proses penyamakan dapat dihilangkan sehingga bahan penyamak dapat bereaksi dengan protein kolagen kulit. Bahan yang digunakan dalam proses ini mengandung sulfida dan berlangsung pada pH basa. Menurut Olivannan (1989), sulfida yang digunakan sebagai bahan utama dalam proses *unhairing* berfungsi untuk menyerang ikatan disulfida yang terdapat pada protein rambut. Kombinasi antara penggunaan bahan yang mengandung sulfida dan suasana basa akan mempercepat rusaknya ikatan disulfida.

c. Pengapuran (*liming*)

Pengapuran bertujuan untuk menghilangkan lapisan epidermis kulit. Disamping berguna untuk menghilangkan lapisan epidermis juga untuk membantu melarutkan albumin dan globulin yang terdapat di antara serabut kolagen. Roddy dan Lollar (1978) mengatakan bahwa albumin dan globulin di bagian interfibril protein serabut akan menjadi gelatin pada proses pengapuran. Adanya gelatin ini akan menghalangi penetrasi zat penyamak ke serabut kolagen. Lebih

lanjut ia mengatakan bahwa bukan hanya albumin dan globulin yang rusak pada proses pengapuran tetapi juga mucin, mukoid dan retikulin.

d. Buang Kapur (*deliming*)

Kulit yang telah mengalami proses pengapuran mengandung basa bebas dan basa terikat pada serabut kolagen. Untuk mempersiapkan kulit memasuki proses penyamakan (*tanning*), pH kulit harus dinetralkan karena proses penyamakan berlangsung pada pH asam. Penetralkan kulit ini disebut *deliming* (Olivannan, 1989).

Pada akhir proses buang kapur, diperoleh pH kulit $\pm 8,5$ kemudian dilanjutkan ke proses *bating*.

2. *Bating*

Bating merupakan salah satu proses yang penting dalam industri penyamakan kulit. Proses ini merupakan satu-satunya tahap dalam penyamakan kulit yang melibatkan aktivitas enzimatik dan aktivitas enzimatik ini tidak dapat digantikan (disubstitusi) oleh penggunaan bahan kimia (Pfunnmuller, 1978).

Proses *bating* berguna untuk mengikis protein non-kolagen yang tidak hilang pada proses sebelumnya sehingga akan menghasilkan kulit tersamak yang halus dan lembut, kulit kelihatan lemas dan rajah kulit yang baik (berpori). Porositas kulit dapat diketahui dengan adanya gelembung-gelembung udara yang dapat melewati kulit.

Cara yang dilakukan untuk mengetahui porositas kulit adalah dengan uji tekan balon kulit dan uji tekanan ibu jari (*thumb print*).

Porositas kulit yang baik akan ditunjukkan oleh adanya gelembung-gelembung udara yang melalui pori-pori kulit pada uji tekan balon kulit, sedangkan pada uji tekanan ibu jari, kulit akan kembali ke keadaan semula dalam waktu yang lama. Apabila kedua keadaan tersebut telah tercapai berarti proses *bating* telah selesai atau tercapai (Pfunnmuller, 1978 dan Wilson, 1978).

Untuk mencapai porositas yang baik, pada proses *bating* dilakukan pengadukan (*mechanical agitation*) secara teratur agar debris-debris protein atau bahan lain sisa dari proses sebelumnya dapat cepat hilang (Pfunnmuller, 1978).

Saat ini pengikisan atau degradasi protein pada proses *bating* dilakukan oleh enzim proteolitik yang berasal dari ekstraksi kelenjar pankreas, bakteri dan fungi (Purnomo, 1989). Semula, sebelum ditemukan enzim proteolitik untuk proses *bating*, orang menggunakan kotoran anjing yang difermentasikan untuk dapat menghaluskan kulit samaknya, prosesnya disebut *puering* (Wood dan Effront, 1917 dalam Djojowidagdo, 1983). Kemudian orang menggunakan kotoran burung merpati dan ayam untuk menghaluskan kulit samaknya, prosesnya disebut *bating*. Selanjutnya proses-proses serupa yang menggunakan bahan lain juga disebut *bating* (Wood dan Effront, 1917; O'flaherty, 1978 dalam Djojowidagdo, 1983).

Sejak ditemukannya kelenjar pankreas, fungi dan bakteri yang mampu menyediakan bahan-bahan yang berguna untuk proses *bating*,

orang cenderung menggunakan bahan-bahan tersebut untuk proses *bating* dalam penyamakan kulit. Keunggulan dari penggunaan bahan tersebut adalah kulit tersamak yang dihasilkan lebih baik kualitasnya dan penggunaannya dapat dikontrol (Djojowidagdo, 1983).

Enzim yang berasal dari ekstraksi kelenjar *pankreas*, fungi dan bakteri dicampur secara homogen dengan *wood flour* yang berguna sebagai pengikat enzim. Dalam penggunaannya enzim *diaktifkan* oleh garam *calcium* (sisanya dari proses *deliming*) untuk *mendegradasi* protein non-kolagen kulit (Rohm dan Haas, 1978 dalam Djojowidagdo, 1983).

Menurut Djojowidagdo (1985), aktivitas enzimatis pada kulit kambing sedikit berbeda dibandingkan dengan kulit lainnya karena kulit kambing mempunyai rambut yang lebat yang akarnya tertanam pada lapisan papilare. Akar rambut (*erector pili*) ini tidak hilang pada proses sebelumnya.

C. *Rhizopus sp*

Rhizopus sp merupakan jamur benang yang biasa digunakan untuk fermentasi tempe di Indonesia. Jamur yang pasti ditemukan dalam isolasi tempe adalah *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* (Sutardi, 1981). *Rhizopus oligosporus* merupakan jenis yang paling penting dalam pembuatan tempe karena *R. oligosporus* ini mempunyai aktivitas protease dan lipase yang paling kuat sehingga paling ideal untuk memecah protein dan lemak yang banyak terdapat pada kedelai. Oleh karena aktivitas proteolitiknya

yang tinggi, jamur ini mampu membebaskan amonia bebas setelah fermentasi selama 48 - 72 jam (Shurtleff dan Aoyogi, 1979 dalam Rahayu, 1985).

Disamping mempunyai aktivitas protease dan lipase, *R. oligosporus* juga mempunyai aktivitas amilase dan fitase. Aktivitas kedua enzim ini dapat diketahui dari hasil isolasi miselia *R. oligosporus* yang dibiakkan pada medium tepung beras (Ellis, dkk, 1974; Sutardi dan Buckle, 1988 dalam Kasmidjo, 1989).

Senyawa-senyawa sumber karbon dan sumber nitrogen diperlukan untuk pertumbuhan *R. oligosporus*, misalnya galaktosa, maltosa, fruktosa sebagai sumber karbon sedangkan garam amonium, asam amino prolin, glisin, leusin dan aspartat sebagai sumber nitrogen (Sorensen dan Hasseltine, 1966 dalam Kasmidjo, 1989). Untuk perkecambahannya diperlukan asam-asam amino prolin dan alanin serta senyawa-senyawa gula glukosa, manosa dan xilosa (Medwid dan Grant, 1984 dalam Kasmidjo, 1989).

Keunggulan inokulum biakan murni jamur *R. oligosporus* adalah memiliki prosentase perkecambahan spora yang tinggi segera setelah diinokulasikan dan sporanya mudah tercampur dalam substratnya (Kasmidjo, 1989).

Frazier (1978) dalam Sutardi (1981) mengelompokkan *Rhizopus* sp dalam tingkatan kategori sebagai berikut:

Divisio : Thallophyta

Subdivisio : Eumycetes (jamur benar)

Klas : Phycomycetes (tidak bersepta)
Subklas : Zygomycetes
Ordo : Mucorales
Genus : Rhizopus

Genus *Rhizopus* mempunyai ciri khas antara lain tidak bersepta, mempunyai stolon dan rhizoid, sporangiospora terletak pada nodus dimana terdapat rhizoid, Sporangia besar dan biasanya berwarna hitam, mempunyai kolumella pada dasar sporangiumnya (Sutardi, 1981).

D. Enzim Protease Jamur

Enzim protease pada mulanya digolongkan berdasarkan sumbernya. Sebagai contoh papain, fisin dan bromelin berasal dari tanaman, tripsin dari pankreas, pepsin dan renin dari lambung. Lebih lanjut Bergman dan Fruton (1941) dalam Rahayu (1985) menggolongkan enzim ini ke dalam eksopeptidase dan endopeptidase. Istilah eksopeptidase digunakan untuk enzim yang memecah asam amino terminal salah satu ujung protein dengan cara menghidrolisis ikatan peptidanya. Enzim eksopeptidase masih dibagi lagi menjadi dua tipe, yaitu karboksipeptidase yang dalam reaksinya memecah ujung protein yang mempunyai gugus karboksil bebas dan aminopeptidase yang memulai reaksinya dari ujung amino bebas. Sedangkan enzim endopeptidase adalah enzim protease yang menyerang ikatan peptida yang terdapat pada protein bagian dalam. Internatinal Union of Biochemistry mengelompokkan enzim protease ke dalam empat golongan berdasarkan

residu asam amino yang terdapat pada sisi aktif enzim, yaitu *serin protease*, *sistein protease*, *aspartic protease* dan *metallo protease*. Residu asam amino pada sisi aktif serin protease adalah Asp¹⁰², Ser¹⁹⁵ dan His⁵⁷, pada *sistein protease* adalah Cys²⁵, His¹⁵⁹ dan Asp¹⁶⁸, pada *aspartic protease* adalah Asp³³ dan Asp²¹³, *metallo protease* adalah Zn, Glu²⁷⁰ dan Tyr²⁴⁸ (Beynon dan Bond, 1989).

Serin protease mencakup semua endopeptidase, sebagai contoh adalah tripsin, kimotripsin dan elastase, sedangkan yang termasuk dalam metallo protease adalah karboksipeptidase (Beynon dan Bond, 1989).

Jamur *R. oligosporus* dikenal sebagai jamur yang biasa digunakan dalam pembuatan tempe dikarenakan jamur ini mempunyai aktivitas proteolitik yang tinggi. Yong dan Wood (1977) dalam Rahayu (1985) memfermentasikan campuran kedelai dan gandum dengan jamur *R. oligosporus*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa aktivitas proteolitik sudah terdeteksi pada awal fermentasi. Aktivitas proteolitik meningkat dengan cepat pada inkubasi 20 - 30 jam dan mencapai maksimum pada 40 - 50 jam.

Menurut Kasmidjo (1989), enzim protease yang dihasilkan oleh jamur *R. oligosporus* termasuk dalam golongan eksopeptidase. Produksi enzim protease yang dilakukan oleh jamur ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, di antaranya adalah :

1. Kadar air substrat

Kadar air substrat sangat berpengaruh pada aktivitas enzim. Pada kadar air rendah terjadi hambatan difusi enzim maupun substrat sehingga hidrolisis enzim hanya terjadi pada bagian-bagian substrat yang langsung berhubungan dengan enzim (Rahayu, 1985).

2. Temperatur

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh temperatur substrat. Sampai pada batas tertentu, semakin tinggi temperatur aktivitas enzim semakin tinggi pula. Bila aktivitas enzim diukur pada berbagai temperatur akan diperoleh grafik hubungan antara aktivitas dan temperatur menyerupai bentuk lonceng. Dari grafik ini dapat ditentukan temperatur optimumnya (Rahayu, 1985). Aktivitas proteolitik yang terjadi pada jamur *R. oligosporus* optimal pada suhu 32°C (Rahayu, 1990) sedangkan untuk pertumbuhan jamur, suhu optimumnya adalah 31°C - 37°C (Sutardi, 1981).

Pada suhu inkubasi, jamur akan tumbuh dengan cepat dan menghasilkan panas yang mampu menaikkan suhu fermentasi. Pada suhu lebih dari 40°C akan merugikan proses fermentasi (Yokotsuka, 1977 dalam Rahayu, 1985).

3. Konsentrasi ion hidrogen (pH)

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh perubahan pH dan diperkirakan perubahan aktivitas ini dikarenakan perubahan ionisasi enzim, substrat atau kompleks enzim-substrat (Reed, 1975). Enzim menunjukkan keaktifannya pada suatu kisaran pH yang disebut pH optimum.

Berdasarkan pH optimum, enzim protease jamur diklasifikasikan ke dalam tiga golongan yaitu protease asam, protease netral dan protease alkali (Yamamoto, 1975).

R. oligosporus yang lebih sering digunakan dalam pembuatan tempe, ternyata tumbuh lebih baik pada pH sedikit asam. Pada pH ini ternyata aktivitas proteolitiknya juga lebih tinggi. Selama proses fermentasi terjadi kenaikan pH karena adanya hidrolisis protein diikuti deaminasi sehingga dihasilkan amonia. Pada pH di atas 7, amonia bebas bisa membunuh jamur sehingga dengan pH fermentasi yang rendah diperoleh keuntungan yang lain yaitu fermentasi dapat berlangsung lebih lama sebelum amonia dibebaskan (Rahayu, 1985).

4. Oksigen

Jamur adalah mikrobia aerob yaitu membutuhkan oksigen untuk proses pertumbuhannya (Frazier, 1977 dalam Rahayu, 1985). Apabila oksigen yang berlebihan terjadi setelah pertumbuhan miselia, jamur akan melakukan metabolisme dengan cepat dan menghasilkan panas yang dapat merugikan pertumbuhan jamur itu sendiri atau sporulasi berlangsung lebih cepat (Wood dan Yong, 1975 dalam Rahayu, 1985).

E. Hipotesis

Pemberian *Rhizopus sp* pada proses *bating* mengakibatkan protein non-kolagen kulit kambing terdegradasi dengan baik.