

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Fenomena tingginya impor terhadap pasokan enzim luar negeri masih menjadi tantangan besar hingga saat ini. Berdasarkan laporan strategis Kementerian Perindustrian Republik Indonesia (2021), ketergantungan impor enzim nasional mencapai 99%. Hal ini berkontradiksi dengan terjadi ekspansi masif pada pasar biokatalis di tingkat global. Berdasarkan proyeksi Grand View Research (2023), tingginya nilai pasar enzim industri dunia diestimasi akan menembus angka USD 13,3 miliar pada tahun 2030, didorong oleh laju pertumbuhan tahunan majemuk *Compound Annual Growth Rate* (CAGR) sebesar 6,5% dalam periode 2023 hingga 2030. Di antara berbagai jenis enzim industri yang diimpor tersebut, Enzim lipase (E.C. 3.1.1.3) menduduki posisi krusial sebagai biokatalis utama dalam reaksi hidrolisis lemak yang merupakan enzim dengan aktivitas biokatalitik yang beragam, termasuk hidrolisis, esterifikasi, transesterifikasi, aminolisis, serta interesterifikasi. Berbeda dengan katalis kimia yang seringkali bersifat korosif, lipase menawarkan efisiensi tinggi melalui spesifisitas substrat yang tajam dan operasional pada kondisi suhu serta pH yang moderat. Fleksibilitas ini menjadikan lipase komponen vital dalam berbagai aplikasi strategis, mulai dari produksi bahan bakar terbarukan melalui transesterifikasi biodiesel, pengolahan produk pangan, hingga sintesis molekul kompleks pada industri farmasi. Transformasi industri menuju proses yang lebih berkelanjutan (*green industry*) pun turut memacu

lonjakan kebutuhan terhadap sediaan lipase yang memiliki performa stabil. (Haryati *et al.*, 2024).

Secara biologis, sumber lipase yang paling potensial berasal dari kelompok bakteri lipolitik. Bakteri jenis ini memiliki kemampuan metabolisme yang unik untuk menghidrolisis molekul lipid rantai panjang menggunakan enzim ekstraseluler yang mereka sekresikan ke lingkungan. Mekanisme ini memungkinkan bakteri untuk memecah trigliserida menjadi unit-unit yang lebih sederhana sebagai sumber karbon dan energi. Di dunia mikrobiologi, genus seperti *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, dan *Acinetobacter* seringkali diidentifikasi sebagai produsen lipase yang tangguh karena fleksibilitas metabolisme yang tinggi. Memahami karakteristik fisiologis bakteri lipolitik menjadi kunci dalam merencanakan kondisi fermentasi guna memaksimalkan rendemen enzim yang dihasilkan. (Komesli *et al.*, 2023). Menjawab kebutuhan industri tersebut, pencarian sumber lipase yang memiliki ketahanan tinggi menjadi prioritas dalam riset bioprospeksi. Indonesia, dengan kekayaan biodiversitas mikrobanya, menawarkan potensi besar melalui isolat bakteri lipolitik A3 dan C4. Kedua isolat ini memiliki nilai keunggulan karena sampel ditemukan pada minyak jelantah, sebuah habitat ekstrem yang memaksa mikroba untuk beradaptasi dengan memproduksi enzim lipase ekstraseluler yang tangguh. Pemanfaatan tipe lipase ekstraseluler ini juga dinilai lebih efisien secara teknis karena mempermudah proses pemanenan enzim dari media fermentasi tanpa melibatkan tahapan lisis sel yang rumit.

Meskipun potensinya besar, pemanfaatan lipase dari Isolat A3 dan C4 menghadapi kendala pada tahapan purifikasi. Kandungan protein pengganggu dan sisa nutrisi dalam media pertumbuhan dapat menghambat aktivitas katalitik enzim. Sayangnya, teknik purifikasi konvensional seringkali menjadi dilemma, penggunaan kromatografi memerlukan biaya yang sangat tinggi, sementara metode pengendapan garam seperti Amonium Sulfat dapat memicu denaturasi protein jika konsentrasinya tidak terkendali. Penggunaan garam anorganik dalam konsentrasi tinggi pada proses pemisahan protein dapat meningkatkan interaksi hidrofobik dan menurunkan kelarutan protein. Namun, pada konsentrasi tertentu, kondisi ini justru menyebabkan penurunan efisiensi ekstraksi protein. Selain itu, mekanisme pemisahan yang hanya mengandalkan efek salting-out cenderung kurang selektif sehingga memungkinkan terjadinya ko-presipitasi dengan protein lain, yang berdampak pada rendahnya tingkat kemurnian enzim. Oleh sebab itu, diperlukan sebuah sistem pemurnian yang tidak hanya efektif dalam memisahkan kontaminan, tetapi juga mampu memproteksi integritas struktur enzim. (Fathi *et al.*, 2021)

Penelitian ini mengajukan penggunaan *Deep Eutectic Solvent* (DESs) sebagai terobosan pelarut organik hijau untuk mengoptimalkan proses pemurnian. Penggunaan Amonium Sulfat dalam tahapan purifikasi parsial bertujuan untuk mengonsentrasi enzim secara awal, yang kemudian disinergikan dengan sistem DESs untuk meningkatkan faktor kemurnian tanpa mengorbankan stabilitas fungsional lipase. Dalam sistem kombinasi ini, DESs berperan ganda sebagai medium ekstraksi sekaligus agen penstabil. Jaringan ikatan hidrogen di dalam

DESs bekerja secara molekuler untuk melindungi konformasi tiga dimensi lipase melalui pembentukan lapisan pelindung di sekitar protein. Eksperimen ini menguji berbagai variasi DESs berbasis Kolin Klorida dengan donor seperti urea, gliserol, dan etilena glikol untuk mengidentifikasi interaksi yang paling optimal bagi stabilitas lipase. (Taklimi *et al.*, 2023).

Fokus utama pada tahap akhir riset ini adalah melakukan karakterisasi untuk memverifikasi reliabilitas dan prospek pemanfaatan enzim. Keberhasilan proses pemurnian parsial dengan integrasi Amonium Sulfat dan *Deep Eutectic Solvent* (DESs) dibuktikan melalui profil fisikokimia lipase yang dihasilkan. Di samping menentukan parameter suhu dan derajat keasaman (pH) terbaik, karakterisasi juga difungsikan untuk memetakan substrat yang spesifik. (Hasnaoui *et al.*, 2022). Hal tersebut sangat menentukan performa enzim, sebab aplikasi di sektor industri sering melibatkan proses dalam medium organik atau sistem pembersihan yang ekstrem.

1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu:

1. Berapakah variasi tingkatan fraksinasi amoniumsulfat terbaik untuk presipitasi enzim lipase ekstraseluler dari isolat
2. Bagaimana pengaruh kombinasi metode fraksinasi amonium sulfat dan penambahan *Deep Eutectic Solvent* (DESs) terhadap aktivitas katalitik enzim lipase ekstraseluler dari isolat A3 dan C4?

3. Berapakah variasi konsentrasi DESs yang paling optimal pada proses presipitasi tersebut untuk mendapatkan nilai aktivitas enzim lipase tertinggi?
4. Bagaimana karakteristik fisikokimia dari enzim lipase yang telah dipurifikasi apabila diuji berdasarkan spesifisitas substrat, suhu optimum, pH optimum, dan stabilitasnya di dalam medium pelarut organik?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, diketahui tujuan membuat proposal ini, yaitu:

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai potensi bakteri lipolitik dari minyak jelantah sebagai sumber enzim lipase ekstraseluler.
2. Menyediakan data variasi fraksiasi amonium sulfat dan konsentrasi penambahan DESs pada produksi lipase yang dapat diaplikasikan dalam inovasi proses preparasi biokatalis yang lebih efisien, ramah lingkungan, dan mampu menjaga kestabilan kinerja enzim untuk berbagai proses industrial.
3. Memberikan alternatif inovasi prosedur preparasi biokatalis yang lebih efisien, ramah lingkungan, dan terbukti mampu menjaga kestabilan kinerja enzim untuk berbagai proses industrial.

1.4. Manfaat Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini mempunyai manfaat dan kegunaan sebagai berikut:

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai potensi bakteri lipolitik dari minyak jelantah sebagai sumber enzim lipase ekstraseluler.

2. Menyediakan data variasi fraksinasi amonium sulfat dan konsentrasi penambahan DESs pada produksi lipase yang dapat diaplikasikan dalam inovasi proses preparasi biokatalis yang lebih efisien, ramah lingkungan, dan mampu menjaga kestabilan kinerja enzim untuk berbagai proses industrial.
3. Memberikan alternatif inovasi prosedur preparasi biokatalis yang lebih efisien, ramah lingkungan, dan terbukti mampu menjaga kestabilan kinerja enzim untuk berbagai proses industrial.