

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Pemanfaatan biomassa lignoselulosa, seperti Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS), kerap dikembangkan sebagai sumber energi terbarukan yang ekonomis dan ramah lingkungan (Himmel dkk., 2007). TKKS merupakan limbah lignoselulosa yang dihasilkan dalam jumlah besar di Indonesia dan memiliki potensi besar untuk dikonversi menjadi berbagai produk bernilai tambah, seperti bioetanol melalui hidrolisis enzimatik maupun biochar melalui proses termokimia (Haitami, 2019). Secara struktural TKKS terdiri dari tiga komponen utama yaitu lignin, selulosa, dan hemiselulosa (Ilmi & Kuswytasari, 2013). Pada pembuatan bioetanol melalui hidrolisis enzimatik, lignin dapat menjadi penghambat utama karena sulit diuraikan, sehingga perlu dilakukan *pretreatment* untuk menghilangkan lignin agar proses hidrolisis enzimatik lebih mudah dilakukan (Sutini dkk., 2019). TKKS yang telah melalui proses *pretreatment* dapat lanjut ke tahap berikutnya, yaitu hidrolisis enzimatik yang dapat dilakukan menggunakan beberapa enzim, salah satunya adalah enzim selulase (Anindyawati, 2010).

Enzim selulase adalah enzim kompleks yang terdiri dari eksoglukanase, endoglukanase, dan β -glukosidase yang berperan dalam memecah selulosa menjadi glukosa (Lin, 2017). Namun, enzim selulase memiliki kemampuan larut dalam air yang sangat baik, sehingga sulit dipisahkan dari produk dan tidak dapat digunakan kembali (Mo, 2020). Hal ini menyebabkan kerugian di beberapa aspek, baik secara

biaya maupun efektivitas, sehingga diperlukan cara untuk menanggulangi permasalahan tersebut, salah satunya yaitu melalui imobilisasi enzim.

Imobilisasi enzim merupakan proses pengikatan enzim ke media padat dengan mempertahankan aktivitas katalitiknya, sehingga dapat digunakan berulang kali. Terdapat beberapa teknik dalam imobilisasi enzim, diantaranya adsorpsi fisik, *entrapment*, enkapsulasi, *cross-linking*, dan *covalent binding* (Sheldon, 2013). Efektivitas teknik imobilisasi tersebut bergantung pada karakteristik material pendukung yang digunakan, di mana karakteristik material pendukung yang ideal, yaitu memiliki ketahanan termal dan mekanis, memiliki kestabilan yang tinggi, harga yang terjangkau dan ramah lingkungan, setelah proses imobilisasi material pendukung harus inert agar tidak menghambat reaksi, serta mampu mengikat enzim dalam jumlah banyak karena memiliki permukaan berpori dan gugus fungsi yang melimpah (Cao, 2006; Hartmann & Kostrov, 2013; Magner, 2013; Tran & Balkus, 2011). Material pendukung yang umum digunakan dalam imobilisasi enzim, yaitu biochar, silika, kitosan, alginat, glutaraldehid, dan lainnya (Sirisha dkk., 2016).

Biochar merupakan produk dari proses dekomposisi termal biomassa dalam kondisi sedikit/tanpa oksigen (Cha dkk., 2016). Biochar dapat digunakan sebagai material pendukung imobilisasi enzim karena kaya akan karbon dan pori dengan gugus fungsi yang berlimpah di permukannya (Liu dkk., 2015). Santos dkk. (2019) melakukan imobilisasi enzim pepsin pada biochar dari palem pupunha melalui teknik adsorpsi fisik menghasilkan *residual activity* sebesar 65% setelah 7 kali siklus reaksi. Pada adsorpsi fisik, interaksi antara biochar dengan enzim relatif lemah, sehingga enzim mudah terlepas dari matriks (Xu dkk., 2023). Peningkatan

efektivitas imobilisasi enzim menggunakan biochar dilakukan oleh Mo dkk. (2020) melalui imobilisasi enzim selulase menggunakan biochar dari ampas tebu yang permukaannya dimodifikasi oleh kitosan 0,4% (w/v) dan glutaraldehid. Modifikasi ini meningkatkan kemampuan *reusability* biochar sebagai material pendukung enzim terimobilisasi, dengan *residual activity* sebesar 69% setelah 10 kali siklus reaksi. Namun, morfologi matriks yang berupa serbuk membuat enzim terimobilisasi sulit dipisahkan dari produk reaksi dengan substrat kompleks. Evans dkk. (2024) melakukan modifikasi morfologi biochar dari ampas tebu menjadi *beads* dengan bantuan kitosan dan glutaraldehid untuk imobilisasi enzim selulase. Hasil menunjukkan *residual activity* sebesar 74,2% setelah 5 kali siklus reaksi. Namun, pada penelitian ini pengujian penggunaan kembali hanya menggunakan substrat CMC dan tidak diaplikasikan pada substrat yang lebih kompleks seperti TKKS, sehingga masih belum diketahui kemampuan penggunaan kembali enzim terimobilisasi pada substrat yang lebih kompleks.

Penelitian ini dimulai dengan uji pendahuluan untuk membandingkan kemampuan variasi material sebagai matriks pendukung imobilisasi enzim selulase. Variasi tersebut adalah biochar dengan aktivitas 23,951 U/mL, kitosan dengan aktivitas 13,580 U/mL, kitosan/glutaraldehid dengan aktivitas 22,108 U/mL, dan biochar/kitosan/glutaraldehid dengan aktivitas 34,373 U/mL. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas enzim selulase terimobilisasi paling optimum saat diimobilisasi menggunakan matriks berupa biochar/kitosan/glutaraldehid.

Berdasarkan uraian di atas dan uji pendahuluan, maka pada penelitian ini imobilisasi enzim selulase dilakukan menggunakan matriks pendukung berupa

beads biochar dari TKKS yang dikombinasikan dengan kitosan dan glutaraldehid. Optimasi imobilisasi enzim selulase dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi kitosan, konsentrasi glutaraldehid, konsentrasi biochar, perbandingan volume enzim dengan volume *beads* saat perendaman, dan waktu perendaman *beads*. Tahap selanjutnya dilakukan karakterisasi berdasarkan suhu inkubasi, pH, dan waktu inkubasi. Dilakukan juga pengukuran K_m dan V_{max} untuk mengetahui kinetika substrat, serta pengujian reusabilitas enzim menggunakan dua substrat, yaitu CMC untuk pengujian pada skala laboratorium dan Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) melalui proses hidrolisis enzimatik.

I.2. Tujuan

1. Menentukan kondisi optimum imobilisasi kompleks enzim selulase pada matriks biochar/kitosan/glutaraldehid
2. Menentukan kondisi optimum karakterisasi dan pengukuran kinetika enzim selulase terimobilisasi
3. Menentukan kemampuan reusabilitas enzim terimobilisasi pada substrat CMC
4. Menentukan kemampuan reusabilitas enzim terimobilisasi pada substrat Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)