

BAB 1

PENDAHULUAN

I. 1 Latar Belakang

Enzim amilase merupakan enzim hidrolitik yang berperan dalam pemecahan pati menjadi gula sederhana seperti maltosa dan glukosa melalui pemutusan ikatan glikosidik α -1,4 (Risnoyatiningsih, 2011). Sumber enzim amilase yang potensial salah satunya berasal dari bakteri endofit. Bakteri endofit merupakan bakteri yang menyebar dan berkembang pada jaringan inangnya secara simbiosis mutualisme. Penelitian oleh Yaumayansuri (2025) menunjukkan bahwa enzim amilase dari bakteri endofit *Staphylococcus warneri* WR yang telah dimurnikan memiliki aktivitas enzim sebesar 2,649 U/mL, suhu optimum 30 °C, pH optimum 6, serta nilai K_m sebesar 0,397% (b/v) dan V_{maks} sebesar 2,716 μ mol/menit. Karakteristik tersebut menunjukkan bahwa enzim memiliki afinitas substrat yang baik dan aktivitas katalitik yang tinggi, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai biokatalis.

Enzim amilase banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang industri, antara lain industri pangan, fermentasi, tekstil, kertas, dan bioetanol (de Souza & de Oliveira Magalhães, 2010). Seiring meningkatnya pemanfaatan enzim amilase, diperlukan enzim dengan aktivitas katalitik tinggi, stabilitas yang baik, serta efisiensi penggunaan yang optimal. Penggunaan enzim dalam bentuk bebas (*free enzyme*) masih memiliki keterbatasan, terutama karena enzim larut dalam medium air sehingga sulit dipisahkan dari produk dan tidak dapat digunakan kembali secara efektif. Enzim bebas memiliki stabilitas yang rendah terhadap perubahan kondisi

lingkungan seperti pH dan suhu, sehingga menurunkan efisiensi proses dan meningkatkan biaya operasional (Maghraby dkk., 2023). Kondisi ini menunjukkan adanya kebutuhan untuk meningkatkan stabilitas dan efisiensi penggunaan enzim melalui pendekatan yang lebih tepat.

Salah satu pendekatan yang dapat dilakukan adalah imobilisasi enzim, yaitu teknik pengikatan atau penjeratan enzim pada suatu matriks penyangga sehingga enzim tidak berada dalam fase larutan bebas dan lebih mudah dipisahkan serta digunakan kembali. Teknik ini diketahui mampu meningkatkan stabilitas enzim, mempermudah pemisahan dari sistem reaksi, serta memungkinkan penggunaan enzim secara berulang tanpa penurunan aktivitas yang signifikan (Datta dkk., 2013). Keberhasilan imobilisasi enzim sangat dipengaruhi oleh jenis matriks yang digunakan.

Kitosan merupakan salah satu matriks alami yang banyak digunakan dalam imobilisasi enzim karena memiliki sifat biokompatibel, biodegradable, tidak toksik, dan memiliki gugus fungsi yang reaktif untuk berinteraksi dengan protein (Verma dkk., 2019). Sifat hidrofilik, porositas yang baik, serta keberadaan gugus amino dan hidroksil pada kitosan juga mendukung pengikatan enzim dan memudahkan difusi substrat menuju sisi aktif enzim (Bindu & Mohanan, 2020). Kitosan memiliki kelemahan karena larut dalam suasana asam dan secara mekanik masih relatif kurang stabil, sehingga pada penggunaan tertentu enzim dapat lebih mudah terlepas dari matriks bila tidak dimodifikasi lebih lanjut (Birdal dkk., 2026). Untuk meningkatkan kestabilannya, kitosan sering dimodifikasi dengan agen pengikat silang seperti glutaraldehid. Glutaraldehid dikenal sebagai salah satu agen

crosslinker protein yang sangat reaktif terhadap gugus amina dan mampu membentuk ikatan kovalen yang kuat serta stabil (Datta dkk., 2013). Berdasarkan penelitian oleh Birdal dkk. (2026), imobilisasi α -amilase pada matriks chitosan–glutaraldehida berhasil meningkatkan stabilitas enzim dengan *immobilization yield* 90% dan pH optimum bergeser dari 6,5 menjadi 8. Enzim terimobilisasi masih mempertahankan 85% aktivitas setelah penyimpanan selama 3 minggu, sementara enzim bebas hanya tersisa 70% aktivitasnya. Enzim juga masih mempertahankan 45–55% aktivitas setelah 15 kali penggunaan ulang, sehingga lebih potensial untuk aplikasi industri.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan memproduksi dan memurnikan enzim amilase dari bakteri endofit *Staphylococcus warneri* WR, mengimobilisasi enzim amilase WR menggunakan matriks kitosan–glutaraldehida, mengoptimasi imobilisasi dengan variasi kitosan, glutaraldehida dan waktu perendaman, melakukan karakterisasi enzim amilase WR terimobilisasi meliputi pH dan suhu optimum, menguji stabilitas penyimpanan dan kemampuan penggunaan ulang, serta menentukan kinetika enzim amilase WR terimobilisasi berupa nilai $K_{m_{App}}$ dan $V_{maks_{App}}$. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai metode imobilisasi yang paling efektif dalam meningkatkan performa enzim amilase sebagai biokatalis yang stabil dan efisien.

I. 2 Tujuan Penelitian

1. Melakukan produksi dan pemurnian enzim amilase asal bakteri endofit *Staphylococcus warneri* WR.
2. Melakukan imobilisasi enzim amilase WR dan optimasi kondisi yang meliputi variasi konsentrasi kitosan dan glutaraldehida serta waktu perendaman enzim.
3. Melakukan karakterisasi enzim amilase terimobilisasi yang meliputi pH dan suhu optimum, penggunaan berulang serta stabilitas penyimpanan
4. Menentukan parameter kinetika enzim amilase WR terimobilisasi berupa nilai $K_{m_{App}}$ dan $V_{maks_{App}}$.