

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Lignoselulosa adalah komponen utama pada tumbuhan yang mengandung selulosa, hemiselulosa, serta lignin (M Soleman dkk., 2022). Limbah lignoselulosa dapat dimanfaatkan dalam produksi glukosa yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai hal (Rifa'i dkk., 2022). Salah satu limbah lignoselulosa yang dapat digunakan untuk produksi bioetanol adalah limbah tandan kosong kelapa sawit (TKKS). Lignoselulosa yang akan digunakan untuk produksi bioetanol harus melalui proses delignifikasi untuk menghilangkan komponen lignin sehingga mempermudah proses hidrolisis selulosa (Nenci, 2012). Akan tetapi, selulosa sulit didegradasi sehingga membutuhkan bantuan biokatalis berupa enzim selulase untuk mempercepat proses degradasi (Li dkk., 2021).

Enzim selulase merupakan salah satu jenis enzim kompleks yang berperan sebagai biokatalis dalam reaksi hidrolisis selulosa menjadi gula sederhana seperti glukosa dengan cara memutus ikatan β -1,4-glikosidik pada selulosa (Lazuardi Budi dkk., 2018). Enzim yang digunakan dalam penelitian ini ialah enzim selulase dengan merek Cellic Ctec2 dari Novozyme. Perusahaan ini memproduksi enzim selulase dari bakteri selulolitik dan mengandung selulase, β -glukosidase, serta hemiselulase. Aktivitas spesifik minimal yang dihasilkan enzim ini adalah 1000 U/g.

Pada umumnya enzim perdagangan dengan kemurnian tinggi dijual dengan harga yang mahal, namun enzim hanya dapat digunakan untuk satu kali reaksi karena membutuhkan proses yang rumit untuk memisahkan enzim dari produk

akhir reaksi yang masih aktif (Cahyaningrum dkk., 2009). Oleh karena itu, diperlukan alternatif untuk mengatasi kelemahan tersebut salah satunya yaitu dengan teknologi amobilisasi enzim (Fitriana Angsari & Agustini, 2020). Enzim yang amobilisasi dapat digunakan untuk beberapa kali reaksi.

Amobilisasi enzim adalah metode yang membatasi pergerakan molekul enzim secara fisik dalam ruang reaksi yang dikatalisisnya. Ada berbagai jenis metode amobilisasi enzim diantaranya adsorpsi, enkapsulasi, *entrapment*, *cross-linking*, dan *covalent binding* (Turah dkk., 2017). *Entrapment* adalah metode amobilisasi ireversibel dimana selulase diamobilisasi dengan cara diperangkap atau dijebak di dalam kisi matriks berpori tanpa membentuk ikatan kimia dengan matriks (Ainiyah, 2017). Metode yang umum digunakan adalah metode *entrapment* menggunakan kalsium alginat. Alginat merupakan suatu biopolimer anionik yang dapat membentuk gel dengan kation multivalent seperti kalsium dalam media *aqueous*. Gel alginat atau *beads* alginat dianggap lebih efisien, *nontoxic*, dan bersifat *biocompatible* sehingga sangat dipertimbangkan dalam amobilisasi enzim (D.K. Bedade, 2019).

Kelebihan metode ini yaitu menghasilkan enzim teramobilisasi yang lebih stabil dalam lingkungan mikro matriks serta melindungi enzim dari kontaminasi mikroba (Hartati dkk., 2012). Kekurangan dari metode ini yaitu kemungkinan pori-pori yang besar dari *beads* alginat dapat menyebabkan kebocoran enzim sehingga menghasilkan amobilisasi yang rendah (K. Saha, 2019). Penelitian sebelumnya melakukan amobilisasi enzim selulase menggunakan kalsium alginat dapat digunakan untuk 8 kali reaksi dengan nilai *residual activity* terakhir sebesar

20,3% (Quoc Viet dkk., 2013). Nawaz dkk. (2015) melakukan penelitian yang mengamobilisasi enzim maltase menggunakan kalsium alginat menunjukkan *residual activity* sebesar 17% setelah digunakan untuk 6 kali reaksi. Poin penting dalam penelitian ini adalah menggunakan selulase teramobil dalam hidrolisis substrat Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) yang sudah dilakukan *pre treatment* atau dekignifikasi untuk menghasilkan glukosa yang dalam digunakan dalam produksi bioetanol.

Dalam penelitian ini amobilisasi enzim dioptimalisasi pada konsentrasi enzim-alginat, volume enzim alginat, dan waktu perendaman gel enzim-alginat dalam larutan CaCl_2 . Tahap selanjutnya dilakukan karakterisasi berdasarkan waktu inkubasi, pH, suhu inkubasi, serta *reusability* enzim teramobilisasi. Dilakukan juga pengukuran K_M dan $V_{\max}$ untuk mengetahui kinetika substrat. Enzim selulase teramobilisasi digunakan untuk menghidrolisis biomassa Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) dan dibandingkan dengan enzim selulase bebas.

I.2. Tujuan

1. Melakukan amobilisasi enzim selulase dan memperoleh data aktivitas enzim selulase bebas dan teramobilisasi menggunakan kalsium alginat.
2. Melakukan optimalisasi enzim selulase teramobilisasi berupa konsentrasi enzim-alginat, volume enzim-alginat, dan waktu perendaman gel enzim-alginat dalam larutan CaCl_2 .
3. Melakukan karakterisasi enzim selulase bebas dan teramobilisasi berupa waktu inkubasi, pH, suhu inkubasi, dan *reusability* untuk enzim teramobilisasi.

4. Memperoleh data kinetika enzim berupa K_m dan V_{max} pada enzim bebas dan teramobilisasi.
5. Melakukan hidrolisis Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) menggunakan enzim selulase bebas dan teramobilisasi.