

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Permasalahan

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi mendorong perkembangan industri pangan dan non pangan. Berdasarkan data dan informasi dari Balai Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), permintaan enzim industri naik 5–6% setiap tahunnya. Saat ini, sebagian besar enzim industri diperoleh dari impor Eropa, Cina, dan India. Oleh karena itu, banyak penelitian mendorong pengembangan teknologi enzim untuk pemenuhan kebutuhan enzim di berbagai industri. Enzim merupakan biokatalisator yang berperan penting dalam industri bioteknologi. Pemenuhan kebutuhan enzim untuk industri semakin tinggi karena enzim memiliki efisiensi dan efektivitas yang tinggi, tanpa menghasilkan produk samping, dan dapat digunakan berulang kali. Enzim dapat meningkatkan kecepatan proses kimia 10^8 hingga 10^{11} kali lebih cepat (Aryani, 2012).

Salah satu enzim yang berperan dalam bioteknologi yakni enzim lipase. Enzim lipase merupakan salah satu enzim hidrolisis yang menarik karena memiliki kestabilan tinggi pada media organik dan suhu tinggi. Enzim lipase mempunyai sifat spesifik memecah ikatan ester menjadi asam lemak dan gliserol serta mengkatalisis reaksi organik pada media air maupun non air (Bharathi *and* Rajalakshmi, 2019). Hal ini mendorong banyak peneliti untuk memproduksi enzim lipase dalam jumlah banyak dan menggunakan biaya ekonomis.

Enzim lipase dapat diperoleh dari berbagai sumber seperti tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme misalnya bakteri, khamir, dan kapang. Penghasil enzim lipase dari kelas fungi yakni *Rizhopus sp.*, *Aspergillus sp.* (Idiawati *et al.*, 2015). Bakteri penghasil lipase seperti *Bacillus sp.* (Tran *et al.*, 2017), dan *Staphylococcus sp.* (Mosbah *et al.*, 2005). Enzim lipase dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang seperti industri tekstil,

biokatalis sintesis senyawa organik, pengolahan limbah dan biodegradasi limbah minyak (Pratama, 2016), industri detergen (Layly dan Wiguna, 2016), industri parfum (Murni *et al.*, 2011), dan industri farmasi (Ramadhani *et al.*, 2015).

Strain bakteri mempunyai potensi lebih besar dalam memproduksi enzim lipase (Ramani *et al.*, 2010). Kemampuan bakteri untuk menghasilkan enzim dan didorong oleh permintaan enzim jumlah besar memungkinkan adanya produksi enzim dari bakteri rekombinan. *Serratia marcescens* LII61 merupakan isolat bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi enzim lipase, mannanase, selulase, amilase, dan protease (Cahyani *et al.*, 2017). Penelitian sebelumnya berhasil melakukan subkloning gen penyandi lipase dari *Serratia marcescens* ke dalam inang *Escherichia coli* BL21 (DE3) menggunakan plasmid pET28b(+) (Sumarsih *et al.*, 2022). Penelitian selanjutnya, dilakukan produksi enzim lipase rekombinan dari *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-SmLip dengan memvariasikan induser laktosa dan IPTG diperoleh hasil bahwa penggunaan induser IPTG lebih baik daripada laktosa (Pramesti, 2021).

Hasil produksi enzim perlu untuk dimurnikan dengan tujuan memisahkan dan mengisolasi enzim dari lisat sel sehingga diperoleh enzim dengan aktivitas spesifik tinggi. Pengembangan teknik purifikasi enzim dari bakteri rekombinan dilakukan untuk menghasilkan kemurnian produk enzim yang tinggi. Salah satu teknik purifikasi enzim rekombinan adalah *poly-Histidine* Tag merupakan salah satu teknik purifikasi enzim rekombinan melalui pengikatan spesifik penanda histidin protein dengan metal-kelat resin Ni-NTA (Tallet *et al.*, 2001). Enzim lipase rekombinan dari *E. coli* BL21 (DE3)-pET28b-SmLip memiliki penanda histidin sehingga dapat dilakukan purifikasi menggunakan *Histidine* tag. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan produksi enzim lipase rekombinan dari bakteri *E. coli* BL21 (DE3)-pET28b-SmLip dengan induser IPTG, purifikasi enzim menggunakan teknik *poly-Histidine* tag, dan karakterisasi enzim lipase rekombinan.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat diperoleh rumusan masalah sebagai berikut:

1. Berapakah aktivitas enzim lipase rekombinan hasil produksi dari bakteri *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-*SmLip* menggunakan induser *isoprophyl- β -D-thiogalactoside* (IPTG)?
2. Apakah enzim lipase rekombinan dapat dipurifikasi dengan metode satu tahap kit purifikasi *his-tagged protein*?
3. Bagaimana karakter enzim lipase rekombinan yang telah dipurifikasi menggunakan kit purifikasi *his-tagged protein*?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, tujuan penelitian ini adalah:

1. Menentukan aktivitas enzim lipase rekombinan hasil produksi dari bakteri *Escherichia coli* BL21 (DE3)-pET28b-*SmLip* menggunakan induser *isoprophyl- β -D-thiogalactoside* (IPTG).
2. Melakukan purifikasi satu tahap kit purifikasi *his-tagged protein* hasil produksi enzim lipase rekombinan dari *E. coli* BL21 (DE3)-pET28b-*SmLip*.
3. Menentukan karakter enzim lipase rekombinan yang telah dipurifikasi menggunakan kit purifikasi *his-tagged protein*.

1.4. Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai karakter enzim lipase rekombinan dan pengetahuan mengenai purifikasi enzim rekombinan menggunakan kit purifikasi *his-tagged protein* yang dapat dikembangkan lebih luas.