

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim merupakan salah satu produk bioteknologi yang sangat membantu kegiatan perindustrian, peternakan, dan kesehatan. Di Indonesia, kebutuhan akan enzim sendiri juga meningkat dari tahun ke tahun (Jannah, 2021). Badan Riset dan Inovasi Nasional (2017) menyatakan kebutuhan enzim cenderung meningkat setiap tahunnya, dan di Indonesia sendiri diperkirakan mencapai 2.500 ton dengan nilai impor sekitar 200 Miliar Rupiah pada tahun 2017, dengan laju pertumbuhan volume rata-rata 5-7% per tahun. Tetapi, hingga saat ini belum ada produsen enzim berskala industri di Indonesia dan hampir 99% kebutuhan enzim industri di dalam negeri dipenuhi oleh beberapa perusahaan pemasok luar negeri baik oleh beberapa distributor lokal maupun diimpor langsung dari industri pemakainya (Simamora dkk, 2018). Data yang dikeluarkan oleh PT. Citra Cendekia Indonesia (2017), Indonesia mengimpor enzim sebesar 5.707 ton pada tahun 2016 dengan pertumbuhan impor sebanyak 11,05% dari tahun 2012 dan importir terbesar dari Tiongkok.

Enzim banyak digunakan sebagai biokatalis karena spesifik kerjanya, ekonomis, dan tidak menimbulkan efek buruk ke lingkungan (Berhanu dan Amare, 2012). Oleh karena itu enzim banyak digunakan untuk keperluan penelitian, pabrik kosmetik, diagnostik medis, terapi, analisis kimia, dan pengkatalis di industri untuk mensintesis senyawa (Sharma, 2001). Dari banyaknya enzim yang terkenal penting, lipase mempunyai karakter unik di mana lipase dapat melakukan reaksi langsung antara media air dan media minyak (Berhanu dan Amare, 2012). Purnamasari (2013) mengatakan bahwa enzim lipase banyak digunakan dalam bidang bioteknologi seperti industri makanan, pengolahan limbah, produksi pestisida, detergen, biosensor, industri kulit, proses pembuatan kertas, dan industri oleokimia. Enzim lipase juga berperan dalam produksi *biodiesel*, yang di mana membantu berbagai permasalahan iklim dan kelangkaan bahan bakar (Chandra dkk, 2020).

Lipase dapat diperoleh dari berbagai macam organisme yang berada pada kingdom hewan, kingdom tumbuhan, dan komunitas mikroba. Ketika kita membandingkan enzim mikroba dengan enzim yang berasal dari tumbuhan atau hewan, enzim mikroba memiliki berbagai aktivitas katalitik, kapasitas produksi yang tinggi dalam waktu singkat, kemudahan untuk manipulasi genetik, dan diproduksi (Wiseman, 1995). Enzim lipase dari mikroorganisme memiliki stabilitas, selektivitas, dan spesifisitas substrat yang luas, sehingga mendapat perhatian khusus dalam industri (Zheng, 2018).

Banyaknya manfaat lipase dari mikroba dibandingkan lipase dari hewan dan tumbuhan, memotivasi pertumbuhan pasar enzim lipase dari mikroba. Permintaan lipase dari mikroba diproyeksikan akan mengalami pertumbuhan yang signifikan dalam waktu dekat, karena berbagai aplikasi pengolahan makanan pada industri (Adrio dan Demain, 2014). *Bacillus* merupakan salah satu bakteri penghasil enzim lipase dan *Bacillus* menunjukkan karakteristik yang menarik untuk pengembangan bioteknologi, karena *Bacillus* telah beradaptasi pada keadaan yang ekstrem sehingga enzim lipase yang dihasilkan *Bacillus* telah berkembang dan menunjukkan sifat luar biasa (Gancheva dan Zhiryakova, 2011). *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus stearothermophilus*, dan *Bacillus alcalophilus* adalah contoh bakteri penghasil lipase yang paling sering uji (Treichel, 2010).

Kemampuan enzim lipase atau aktivitas enzim lipase dipengaruhi oleh berbagai faktor fisikokimia, seperti suhu, pH, dan ion-ion logam (Rosenau dan Jaeger, 2000; Zheng, 2018). Semua faktor lingkungan ini memengaruhi kestabilan dan keaktifan enzim sehingga bisa disebut sebagai karakteristik enzim. Enzim hanya dapat bekerja maksimal dengan kondisi optimumnya masing-masing. Untuk menguji karakteristik dan menghitung berat molekul lipase perlu dilakukan purifikasi terlebih dahulu. Hasil aktivitas enzim dan berat molekul enzim akan lebih tepat nilainya jika dipurifikasi terlebih dahulu (Mazhar dkk, 2016). Pemurnian enzim sangat penting untuk memperoleh pengetahuan tentang sifat struktural dan fungsional dan untuk mengetahui aplikasinya (Bajpai, 2014).

Tingkat kemurnian enzim dapat ditentukan berdasarkan nilai purifikasi (*fold*) enzim.

Bacillus subtilis penghasil lipase dapat ditemukan pada usus hewan, salah satunya pada usus bekicot (*Achatina fulica*) (Ni'matuzahroh dkk, 2019). Bekicot merupakan hewan yang banyak ditemukan pada limbah kota (Ni'matuzahroh dkk, 2019), sehingga mempunyai sumber bakteri yang banyak. *Bacillus subtilis* yang ditemukan pada usus bekicot diberikan kode ES D4 dan memiliki kemiripan terhadap *Bacillus subtilis* strain EGE.B.26.1 (*Accession number* KU992630.1) sebesar 99,55%, dengan *query cover* 96% (Ni'matuzahroh dkk, 2020).

Kemampuan atau optimasi produksi enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4 telah diketahui sebelumnya (Ni'matuzahroh dkk, 2020), namun karakterisasi, purifikasi, dan berat molekul enzim lipase tersebut masih belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan purifikasi dan mengkarakterisasi enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4 dari usus bekicot (*Achatina fulica*). Selain itu hasil dari data penelitian ini dapat digunakan untuk menunjang dan mendukung penelitian lain terkait karakteristik enzim lipase *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari usus bekicot, karena sangat sedikit jurnal yang membahas kemampuan dan karakteristik enzim lipase *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari usus hewan bekicot (*Achatina fulica*). Mengingat kemampuan enzim lipase banyak membantu berbagai bidang perindustrian dan kebutuhan enzim yang akan terus meningkat, membuat penelitian ini penting untuk dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dikemukakan, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Berapa nilai purifikasi enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4?
2. Bagaimana pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4?
3. Bagaimana pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4?

4. Bagaimana pengaruh variasi ion-ion logam terhadap aktivitas enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dikemukakan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui nilai tingkat kemurnian enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4.
2. Mengetahui pengaruh variasi suhu terhadap aktivitas enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4.
3. Mengetahui pengaruh variasi pH terhadap aktivitas enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4.
4. Mengetahui pengaruh variasi ion-ion logam terhadap aktivitas enzim lipase *Bacillus subtilis* ES D4.

1.4 Asumsi

Purifikasi (*fold*) merupakan nilai yang menunjukkan berapa kali nilai aktivitas spesifik enzim meningkat setelah purifikasi (Westphal, 2021), sehingga dapat diasumsikan bahwa nilai purifikasi (*fold*) lebih besar dari satu 1. Protein hanya stabil pada rentang suhu terbatas (Kintses, 2006). Ketika melewati batas toleransi, protein akan mengalami denaturasi, sehingga tidak dapat melakukan fungsinya lagi. Pernyataan di atas didapatkan asumsi bahwa aktivitas enzim akan bervariasi terhadap suhu.

pH dapat mengubah konformasi protein, sehingga menyebabkan protein pada enzim akan berubah strukturnya membuat kemampuan katalitik enzim akan berkurang (Dennison, 2002). Berdasarkan pernyataan sebelumnya dapat diasumsikan bahwa variasi dari pH akan mempengaruhi aktivitas enzim. Pada struktur enzim terdapat lokasi tempat terikatnya kofaktor dan inhibitor. Ketika kofaktor terikat pada enzim maka reaksi enzim dapat berjalan lebih cepat, sedangkan jika inhibitor terikat pada enzim maka reaksi enzim akan terhambat. Ion-ion logam mempunyai peran sebagai kofaktor dan inhibitor pada enzim dengan cara sebagai pendonor atau penerima elektron (Riordan, 1977). Dari

pernyataan sebelumnya didapatkan asumsi bahwa aktivitas enzim akan bervariasi terhadap masing-masing ion logam.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dibuat, dapat disimpulkan 4 hipotesis.

1. Jika nilai kemurnian enzim meningkat setelah dipurifikasi, maka nilai purifikasi (*fold*) yang akan didapatkan setelah enzim dipurifikasi lebih dari 1 *fold*.
2. Jika enzim lipase direaksikan dengan berbagai macam suhu yang berbeda mempengaruhi pada aktivitas enzim, maka variasi suhu akan berpengaruh terhadap nilai aktivitas enzim lipase.
3. Jika enzim lipase direaksikan dengan berbagai macam pH yang berbeda mempengaruhi pada aktivitas enzim, maka variasi pH akan berpengaruh terhadap nilai aktivitas enzim lipase.
4. Jika enzim lipase direaksikan dengan berbagai ion-ion logam yang berbeda mempengaruhi pada aktivitas enzim, maka variasi ion-ion logam akan berpengaruh terhadap nilai aktivitas enzim lipase.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini ditinjau dari aspek teortif dan aplikatif:

1. Manfaat secara teoritis yaitu dapat menambah khasanah keilmuan tentang tentang uji aktivitas, purifikasi dan karakterisasi enzim lipase dari mikroorganisme yang diisolasi dari pencernaan bekicot (*Achatina fulica*).
2. Manfaat praktis yaitu memberikan informasi mengenai karakteristik/kemampuan enzim lipase dari *Bacillus subtilis* ES D4 sehingga dapat digunakan pada bidang industri serta data yang didapatkan dapat digunakan pada penelitian selanjutnya.