

**SKRIPSI**

**PENENTUAN EFEKTIVITAS PENGGUNAAN BERULANG ENZIM PAPAIN  
TERIMOBILISASI KOVALEN MENGGUNAKAN MATRIKS ZEOLIT DAN  
BATU APUNG PADA PRODUKSI *VIRGIN COCONUT OIL***

**KHAERUNNISA  
G031 19 1038**



**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN  
DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**PENENTUAN EFEKTIVITAS PENGGUNAAN BERULANG ENZIM PAPAIN TERIMOBILISASI  
KOVALEN MENGGUNAKAN MATRIKS ZEOLIT DAN BATU APUNG PADA PRODUKSI  
VIRGIN COCONUT OIL (VCO)**

*Determination of the Effectiveness of Repeated Use of Covalently Immobilized Papain  
Enzyme Using Zeolite and Pumice in Virgin Coconut Oil (VCO) Production*

**KHAERUNNISA  
G031 19 1038**



Skripsi  
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Teknologi Pertanian  
Pada  
Departemen Ilmu dan Teknologi Pertanian  
Fakultas Pertanian  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN  
DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

## LEMBAR PENGESAHAN

### PENENTUAN EFEKTIVITAS PENGGUNAAN BERULANG ENZIM PAPAN TERIMOBILISASI KOVALEN MENGGUNAKAN MATRIKS ZEOLIT DAN BATU APUNG PADA PRODUKSI VIRGIN COCONUT OIL (VCO)

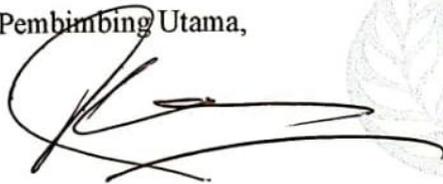
Disusun dan diajukan oleh

**Khaerunnisa**  
G031 19 1038

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin pada tanggal 26 September 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



**Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS**  
NIP. 19621231 198803 1 020

Pembimbing Pendamping,



**Prof. Dr. Ir. Jalil Genisa, MS**  
NIP. 19500112 198003 1 003



Kenia Program Studi  
**Dr. Februadi Bastian, S.TP., M.Si**  
NIP. 19820205 200604 1 002

Tanggal lulus: September 2023

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Khaerunnisa  
NIM : G031191038  
Program Studi : Ilmu dan Teknologi Pangan  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

**“Penentuan Efektivitas Penggunaan Berulang Enzim Papain  
Terimobilisasi Kovalen Menggunakan Matriks Zeolit dan Batu Apung  
pada Produksi *Virgin Coconut Oil* (VCO)”**

Benar adalah karya tulisan saya sendiri dengan arahan tim pembimbing, belum pernah diajukan atau tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. Saya menyatakan bahwa semua sumber informasi yang digunakan telah disebutkan di dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan saya tersebut.

Makassar, September 2023



Khaerunnisa  
G031191038

## ABSTRAK

KHAERUNNISA (NIM. G031191038). Penentuan Efektivitas Penggunaan Berulang Enzim Papain Terimobilisasi Kovalen Menggunakan Matriks Zeolit dan Batu Apung pada Produksi *Virgin Coconut Oil* (VCO). Dibimbing oleh AMRAN LAGA dan JALIL GENISA.

**Latar Belakang:** Produksi *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat dilakukan dengan metode enzimatis, salah satunya dengan menggunakan enzim papain. Enzim umumnya rentan mengalami autolisis sehingga perlu dilakukan proses imobilisasi, salah satunya melalui ikatan kovalen. Proses imobilisasi kovalen juga memungkinkan enzim papain dapat digunakan berulang sehingga dapat meminimalkan biaya produksi. Pada proses produksi waktu inkubasi akan mempengaruhi kualitas VCO yang dihasilkan. **Tujuan:** untuk menentukan lama waktu inkubasi terbaik dalam produksi VCO dan untuk mengetahui efektivitas penggunaan berulang enzim papain terimobilisasi kovalen pada produksi VCO. **Metode:** Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap satu faktor yang terdiri dari dua tahap. Tahap pertama yaitu produksi VCO yang dilakukan pada waktu inkubasi 2, 4, 6, 8, dan 10 jam. Hasil terbaik pada tahap pertama akan digunakan pada tahap kedua dengan penggunaan berulang enzim imobilisasi sebanyak 8 kali pada produksi VCO. **Hasil:** Waktu inkubasi terbaik pada tahap pertama dihasilkan pada inkubasi 4 jam dengan rendemen sebesar 36,54%, derajat kejernihan 95,45%, asam lemak bebas 0,06%, bilangan peroksida 0,5 mg ek/kg, bilangan iod 6,98 g iod/100 g, bilangan penyabunan 251,33 mg KOH/g minyak, serta kadar air 0,18%. Pada tahap kedua penggunaan berulang ke-5 masih menghasilkan rendemen yang tinggi yaitu 29,69%, derajat kejernihan 94,70%, asam lemak bebas 0,02%, dan bilangan peroksida 0,4 mg ek/kg, serta aktivitas mampu dipertahankan sebesar 71,58%. **Kesimpulan:** waktu inkubasi terbaik diperoleh pada waktu inkubasi 4 jam dan efektivitas penggunaan enzim papain imobilisasi kovalen dapat digunakan hingga penggunaan ke-5 dengan rendemen yang tinggi serta kualitas yang baik.

**Kata kunci:** Enzim papain, imobilisasi kovalen, produksi *virgin coconut oil*

## ABSTRACT

KHAERUNNISA (NIM. G031191038). Determination of the Effectiveness of Repeated Use of Covalently Immobilized Papain Enzyme Using Zeolite Matrix and Pumice in Virgin Coconut Oil (VCO) Production. Supervised by AMRAN LAGA and JALIL GENISA.

**Background:** Production of Virgin Coconut Oil (VCO) can be done by enzymatic methods, one of which is using the natural papain enzyme. Enzymes are generally susceptible to autolysis, so an immobilization process is necessary, one of which is covalently immobilized. The immobilization process also allows the enzyme to be used repeatedly to minimize production costs. In the production process, the incubation time will affect the quality of the VCO produced.

**Aim:** to determine the best incubation time for VCO production and the effectiveness of repeated use of covalently immobilized papain enzymes for VCO production. **Method:** This study used a one-factor Completely Randomized Design which consisted of two stages. The first stage was the VCO production, carried out at incubation times of 2, 4, 6, 8 and 10 hours. The best results in the first stage will be used in the second stage with repeated use of the immobilized enzyme 8 times in VCO production. **Result:** The best incubation time in the first stage was obtained at 4 hours of incubation with a yield of 36.54%, 95.45% degree of clarity, 0.06% free fatty acids, 0.5 mg of peroxide per kg, iodine number of 6.98 g iodine/100 g, saponification number 251.33 mg KOH/g oil, and 0.18% water content. In the second stage, the 5th repeated use still produced a high yield of 29.69%, a degree of clarity of 94.70%, free fatty acids 0.02%, and a peroxide number of 0.4 mg ek/kg, and activity was maintained at 71.58%. **Conclusion:** This study concluded that the best incubation time was obtained at 4 hours and the effectiveness of using the covalent immobilization papain enzyme can be used up to the 5th use with high yields and good quality.

**Keywords:** Papain enzyme, covalent immobilization, virgin coconut oil production.

## PERSANTUNAN

*Bismillahirrahmanirrahim.* Segala puji bagi *Allah Subhanahu Wa Ta'ala*, Tuhan semesta alam. Saya bersaksi bahwa tiada Tuhan yang berhak disembah selain-Nya dan tidak ada sekutu bagi-Nya. Barangsiapa diberi petunjuk oleh-Nya maka tidak ada yang dapat menyesatkannya. Shalawat dan salam kepada *Nabi Muhammad Shallallahu'alaihi Wa Sallam*, keluarga, sahabat, serta ummatnya yang senantiasa meneladani beliau hingga akhir zaman. *Alhamdulillah* atas segala nikmat dan kasih sayang Allah, sehingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian pada Program Strata satu (S1). Selama proses penyusunan skripsi ini, tentunya tidak lepas dari motivasi dan bantuan dari berbagai pihak. Sehingga pada kesempatan ini dengan rasa hormat penulis menyampaikan penghargaan tertinggi dan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua tercinta dan tersayang. **Bapak Wawing (Alm)** dan **Ibu Rustina** yang telah membesarkan, mendidik, mendoakan, dan selalu mendukung penulis dalam keadaan apapun, serta selalu mengaharapkan keberhasilan dan kebahagiaan penulis, juga kepada kedua kakak tercinta **Akbar Wawing** dan **Nurmaidah** yang telah banyak berkorban selama ini dan tidak henti-hentinya memberikan perhatian serta dukungan demi kelancaran studi penulis.
2. **Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS.**, selaku dosen pembimbing pertama yang tidak henti-hentinya memberikan dukungan kepada penulis mulai dari mengingatkan, memberikan arahan, memotivasi, mendampingi, memberikan dukungan materil, serta sarana yang sangat menunjang keberhasilan penelitian penulis.
3. **Prof. Dr. Ir. Jalil Genisa, MS.**, selaku dosen pembimbing kedua yang juga tidak henti-hentinya memberikan dukungan kepada penulis mulai dari mengingatkan, memotivasi, memberikan arahan, masukan, serta kelapangan waktu untuk berdiskusi dengan penulis.
4. Dosen Penguji **Muspirah Djalal, S.TP., M.Sc** dan **Dr. Februadi Bastian, S.TP., M.Si** atas masukannya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
5. **Bapak/Ibu Dosen Ilmu dan Teknologi Pangan** yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu atas segala bentuk dedikasinya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian atas bekal ilmu yang didapatkan selama perkuliahan.
6. **Laboran, Staff, dan Karyawan ITP** atas bantuannya selama proses penelitian di laboratorium dan pengurusan administrasi yang memberikan kemudahan dan kelancaran hingga diperoleh gelar sarjana.
7. **Sahabat tercinta (Aowkaowk): Azz, Asia, Elok, Insan, dan Uswah** atas segala suka duka yang telah dilewati bersama, terutama selama penelitian penulis telah membantu mengumpulkan pepaya dan menemani penulis selama menginap di lab. **Kak Musdalifa** dan **Kak Lulu Andriani** atas dukungannya selama ini telah banyak meluangkan waktu untuk membantu, mendengarkan keluh kesah penulis selama penelitian, serta selalu menguatkan secara spritual bahwa "Selalu andalkan Allah!". Teman-teman seperjuangan "**VCO Squad 2019: Gita, Suho, dan Wahyudi** atas segala bentuk kerja samanya selama penelitian. Juga kepada Teaching Squad, **Ibu Ni Luh S3, Kak Rixon, adik-adik 2021 (Hayat, Irham, Rafika, dan Syifa)** atas bantuannya selama penelitian penulis. **Kak Miranti S2 Hukum** selaku kakak tetangga kos di Pondok Kintamani yang selalu setia mendengarkan keluh kesah penulis setiap pulang lab, selalu menguatkan, menghibur, dan mensupport dalam bentuk

apapun, termasuk memberi masakannya kepada penulis saat pulang lab, Serta **Teman-teman ITP 2019** atas segala bentuk kerja sama dan dukungannya sejak 2019 hingga sekarang.

Penulis ucapkan *jazaakumullahu khayran* atas segala kebaikannya. Semoga Allah senantiasa membalas dan meridhoi langkah-langkah kita dalam kebaikan.

Makassar, September 2023

Khaerunnisa

## RIWAYAT HIDUP



Khaerunnisa atau yang biasa dipanggil Nisa, Nisnis, ataupun Icha lahir di Gellengge, tanggal 10 Agustus 2001 merupakan anak ketiga dari pasangan Wawing dan Rustina.

Pendidikan formal yang pernah dijalani adalah:

1. SDN 19 Gellengge (2007-2013)
2. SMPN 1 Ma'rang (2013-2016)
3. SMAN 11 Pangkep (2016-2019)

Tahun 2019 penulis diterima dengan jalur SBMPTN di Perguruan Tinggi Negeri Universitas Hasanuddin Program Starata Satu (S1) dan tercatat sebagai mahasiswa program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin Makassar. Selama menempuh pendidikan di jenjang S1, penulis termasuk dalam organisasi kemahasiswaan yakni Lembaga Dakwah Fakultas Surau Firdaus Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin (LDF Surau Firdaus Faperta UNHAS) periode 2020-2021 dan 2021-2022, serta anggota Unit Kegiatan Mahasiswa Keilmuan Penalaran Ilmiah (UKM KPI) tahun 2020-2021. Selain itu, penulis aktif di organisasi luar kampus yaitu Bumi Scholar tahun 2021-2022 dan Harmoni Perempuan tahun 2020-2021.

Selama menempuh pendidikan di jenjang S1, penulis aktif mengikuti beberapa perlombaan yaitu menjadi finalis *Business Plan* Universitas Negeri Padang tahun 2020 dan menerima hibah pendanaan pada Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) bidang Riset Eksakta pada tahun 2021 dan 2022, mengikuti Program Merdeka Belajar yaitu Kampus Mengajar Angkatan 2 pada tahun 2021, mengikuti program Mengajar Dari Rumah (MDR) Permadanidiksi Nasional tahun 2020, serta menjadi salah satu Duta Edukasi Perubahan Perilaku (DEPP) di Kabupaten Maros selama pandemi Covid-19 yaitu pada tahun 2021.

Penulis juga menjadi asisten praktikum yaitu pada Praktikum Bioteknologi Pangan dan Praktikum Teknologi Enzim Tahun Ajaran 2022, Asisten Praktikum Teknologi Pengolahan Pati dan Gula dan Praktikum Analisa Sensori Tahun Ajaran 2023, serta menjadi Asisten Penelitian yaitu pada tahun 2022 dan tahun 2023. Pada tahun 2022, penulis melakukan kegiatan magang di UPT Pengujian Mutu Produk Peternakan (UPT PMPP) Makassar.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN .....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
PERSANTUNAN .....	vii
RIWAYAT HIDUP .....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Kelapa ( <i>Cocos nucifera</i> L.).....	4
2.2 Virgin Coconut Oil (VCO) .....	6
2.3 Produksi VCO dengan Metode Enzimatis .....	9
2.4 Enzim Papain .....	10
2.5 Imobilisasi Enzim .....	11
2.6 Zeolit.....	13
2.7 Batu Apung.....	14
3. METODOLOGI PENELITIAN .....	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
3.2 Alat dan Bahan .....	15
3.3 Prosedur Penelitian .....	15
3.3.1 Ekstraksi Enzim Papain Kasar .....	15
3.3.2 Aktivasi Matriks Zeolit dan Batu Apung .....	17
3.3.3 Imobilisasi dengan Metode Ikatan Kovalen .....	17
3.3.4 Penyiapan Santan .....	17
3.3.5 Penentuan Lama Waktu Inkubasi Terbaik dalam Produksi VCO.....	17

3.3.6	Penentuan Penentuan Efektivitas Penggunaan Berulang Enzim Papain Imobilisasi Kovalen dalam Produksi VCO .....	17
3.4	Rancangan Penelitian.....	18
3.5	Parameter Pengujian .....	18
3.5.1	Karakterisasi Enzim Papain Terimobilisasi .....	18
3.5.2	Rendemen.....	18
3.5.3	Derajat Kejernihan .....	19
3.5.4	Asam Lemak Bebas.....	19
3.5.5	Bilangan Peroksida.....	19
3.5.6	Bilangan Iod .....	19
3.5.7	Bilangan Penyabunan .....	19
3.5.8	Kadar Air.....	19
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	21
4.1	Karakterisasi Enzim Papain Terimobilisasi secara Kovalen pada Matriks Zeolit dan Batu Apung.....	21
4.1.1	Aktivitas Enzim.....	21
4.1.2	FT-IR.....	22
4.2	Penentuan Waktu Inkubasi Terbaik dalam Produksi VCO Menggunakan Enzim Papain Terimobilisasi Secara Kovalen .....	24
4.2.1	Rendemen.....	24
4.2.2	Derajat Kejernihan .....	25
4.2.3	Asam Lemak Bebas.....	26
4.2.4	Bilangan Peroksida.....	27
4.2.5	Bilangan Iod .....	28
4.2.6	Bilangan Penyabunan .....	29
4.2.7	Kadar Air.....	30
4.3	Penentuan Efektivitas Penggunaan Berulang Enzim Papain Terimobilisasi Secara Kovalen dalam Produksi VCO .....	31
5.	PENUTUP .....	35
5.1	Kesimpulan.....	35
5.2	Saran .....	35
	DAFTAR PUSTAKA .....	36
	LAMPIRAN.....	41

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Perbandingan Kualitas VCO yang Dihasilkan Menggunakan Metode Enzimatis dan Fermentasi.....	7
Tabel 2. Standar Mutu VCO berdasarkan SNI 7381:2008 .....	8
Tabel 3. Standar Mutu berdasarkan ICC 2023.....	9
Tabel 4. Hasil Analisa FT-IR pada Matriks Murni, Matriks Fungsional, Enzim Papain Bebas, dan Enzim Papain Imobilisasi.....	23
Tabel 5. Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim Terimobilisasi Terhadap Kualitas VCO dan Aktivitas Enzim (% <i>Initial Activity</i> ) .....	31

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Lapisan Buah Kelapa. Sumber: Patil & Benjakul, (2018) .....	4
Gambar 2. Mekanisme Pemisahan Minyak dari Sistem Emulsi. (A) Emulsi Stabil; (B) Emulsi yang Tidak Stabil. Sumber: Patil & Benjakul, (2018). .....	5
Gambar 3. Struktur Tiga Dimensi pada Enzim Papain.....	10
Gambar 4. Mekanisme Imobilisasi Enzim Secara Kovalen Menggunakan Reagen Glutaraldehyd. Sumber: Zhang <i>et al.</i> , (2021) .....	13
Gambar 5. Prosedur Penelitian.....	16
Gambar 6. Aktivitas Enzim (U/g Enzim) pada Enzim Papain Bebas, Enzim Papain Imobilisasi, dan Enzim Imobilisasi Setelah Penggunaan Ke-8.....	21
Gambar 7. Hasil Analisa FT-IR pada Matriks Murni, Matriks Fungsional, Enzim Papain ...	22
Gambar 8. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Rendemen (%) VCO .....	24
Gambar 9. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Derajat Kejernihan (%) VCO.....	25
Gambar 10. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Asam Lemak Bebas (%) VCO .....	26
Gambar 11. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Bilangan Peroksida (mg ek/kg) VCO .....	27
Gambar 12. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Bilangan Iod (g iod/100 g) VCO ....	28
Gambar 13. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Bilangan Penyabunan (mg KOH/g).....	29
Gambar 14. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Kadar Air (%) VCO .....	30
Gambar 15. Pengaruh Penggunaan Berulang Terhadap Rendemen (%) VCO dan Aktivitas Enzim (% <i>initial activity</i> ).....	32
Gambar 16. Pengaruh Penggunaan Berulang Terhadap Derajat Kejernihan (%) dan Asam Lemak Bebas (%)VCO .....	34

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Rendemen (%) VCO .....	41
Lampiran 1b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Rendemen (%) VCO .....	41
Lampiran 1c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Rendemen (%) VCO .....	41
Lampiran 2a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Derajat Kejernihan (%) VCO .....	41
Lampiran 2b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Derajat Kejernihan (%) VCO .....	42
Lampiran 3a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Asam Lemak Bebas (%) VCO .....	42
Lampiran 3b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Asam Lemak Bebas (%) VCO .....	42
Lampiran 3c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Asam Lemak Bebas (%) VCO .....	42
Lampiran 4a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Bilangan Peroksida (mg ek/kg) VCO .....	42
Lampiran 4b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Bilangan Peroksida (mg ek/kg) VCO .....	43
Lampiran 4c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Bilangan Peroksida (mg ek/kg) VCO .....	43
Lampiran 5a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Bilangan Iod (g iod/100g) VCO .....	43
Lampiran 5b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Bilangan Iod (g iod/100g) VCO .....	43
Lampiran 6a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Bilangan Penyabunan (mg KOH/g minyak) VCO .....	43
Lampiran 6b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Bilangan Penyabunan (mg KOH/g minyak) VCO .....	44
Lampiran 7a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Kadar Air (%) VCO .....	44
Lampiran 7b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Kadar Air (%) VCO .....	44
Lampiran 7c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Lama Inkubasi Terhadap Nilai Kadar Air (%) VCO .....	44
Lampiran 8a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Rendemen (%) VCO .....	45
Lampiran 8b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Rendemen (%) VCO .....	45
Lampiran 8c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Rendemen (%) VCO .....	45
Lampiran 9a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap <i>Initial Activity</i> (%) Enzim .....	45

Lampiran 9b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap <i>Initial Activity</i> (%) Enzim .....	46
Lampiran 9c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap <i>Initial Activity</i> (%) Enzim .....	46
Lampiran 10a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Derajat Kejernihan (%) VCO.....	46
Lampiran 10b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Derajat Kejernihan (%) VCO.....	46
Lampiran 10c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Derajat Kejernihan (%) VCO.....	47
Lampiran 11a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Nilai Asam Lemak Bebas (%) VCO .....	47
Lampiran 11b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Nilai Asam Lemak Bebas (%) VCO .....	47
Lampiran 11c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Nilai Asam Lemak Bebas (%) VCO .....	48
Lampiran 12a. Tabel Hasil Pengujian Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Nilai Bilangan Peroksida (mg ek/kg)VCO .....	48
Lampiran 12b. Hasil Uji ANOVA Pengaruh Penggunaan Berulang Enzim yang Terimobilisasi Secara Kovalen Terhadap Nilai Bilangan Peroksida (mg ek/kg) VCO .....	48
Lampiran 13a. Tabel Hasil Pengujian Aktivitas Enzim (U/g enzim) pada Enzim Papain Bebas, Enzim Papain Imobilisasi, dan Enzim Papain Penggunaan Ke-8 ...	48
Lampiran 13b. Hasil Perhitungan Aktivitas Enzim (U/g enzim) pada Enzim Papain Bebas, Enzim Papain Imobilisasi, dan Enzim Papain Imobilisasi Penggunaan Ke-8 .....	49
Lampiran 14. Hasil Analisa FT-IR .....	51
Lampiran 15. Dokumentasi Penelitian.....	55

## 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Beberapa tahun terakhir terjadi peningkatan permintaan VCO (*Virgin Coconut Oil*) di pasar global. Peningkatan yang sangat signifikan terutama terjadi selama pandemi COVID-19 (Research and Market, 2022). Berdasarkan data Research and Market menunjukkan bahwa pemasaran VCO secara global pada tahun 2020 mencapai 2,11 Miliar USD atau meningkat sebesar 7,71% dibandingkan pada tahun 2017–2019. Tingginya tingkat konsumsi VCO selama pandemi disebabkan karena VCO dinilai memiliki kemampuan dalam meningkatkan imunitas tubuh. Selain itu, VCO memiliki kemampuan sebagai antibakteri, antiviral, serta sebagai antioksidan (Yuniarti *et al.*, 2021). VCO dikenal sebagai “*The healthiest oil in the world*” karena profil asam lemak utamanya berupa asam lemak rantai sedang atau *medium chain fatty acid* (MCFA) terutama asam laurat yaitu sebesar 48-53%. MCFA sangat mudah dihidrolisis dan diserap oleh tubuh karena memiliki bobot molekul yang rendah, sehingga tidak tertimbun sebagai lemak di dalam tubuh (Agarwal & SJD, 2017; Oseni *et al.*, 2017). Selain dalam bidang kesehatan, VCO juga digunakan dalam industri kosmetik, serta pangan (Mohammed *et al.*, 2021; Yuniarti *et al.*, 2021). Luasnya pemanfaatan VCO dalam berbagai bidang sehingga diprediksikan permintaannya akan terus meningkat hingga tahun 2028 yaitu sebesar 7,35% (Research and Market, 2022). Oleh karena itu, untuk memenuhi tingginya permintaan VCO tersebut maka diperlukan optimalisasi produksi agar mampu menghasilkan VCO dengan rendemen yang tinggi serta kualitas yang mampu memenuhi standar mutu di pasar global.

Prinsip ekstraksi pada produksi VCO yaitu demulsifikasi emulsi santan (emulsi minyak dalam air yang diselubungi oleh protein), sehingga terjadi pemisahan antara air, minyak, dan protein (Soo *et al.*, 2020). Produksi VCO dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode yaitu pemanasan, pendinginan, fermentasi, dan enzimatik (Rohman *et al.*, 2019; Yulirohyamii *et al.*, 2022). Metode yang digunakan dalam proses produksi tersebut akan mempengaruhi kualitas VCO yang dihasilkan. Misalnya, metode ekstraksi melalui pendinginan cenderung menghasilkan rendemen yang rendah karena kurang mampu memecah emulsi pada santan (Rohman *et al.*, 2019). Metode ekstraksi dengan pemanasan meskipun menghasilkan rendemen yang lebih tinggi, tetapi kualitas VCO yang dihasilkan rendah. Sementara itu, metode fermentasi meskipun mampu menghasilkan rendemen yang tinggi, tetapi membutuhkan waktu yang lebih lama (48 jam), menghasilkan minyak yang berwarna kekuningan, berbau khas hasil fermentasi, serta memiliki risiko adanya kontaminasi mikroorganisme yang tidak diinginkan pada minyak yang dihasilkan (Agarwal & SJD, 2017). Adapun metode enzimatik merupakan metode yang menjanjikan karena mampu menghasilkan VCO dengan rendemen yang tinggi dengan waktu produksi yang lebih singkat (Mohammed *et al.*, 2021; Prapun *et al.*, 2016). Akan tetapi, meskipun mampu menghasilkan rendemen yang tinggi, metode enzimatik cenderung membutuhkan biaya produksi yang tinggi, sehingga diperlukan alternatif sumber enzim yang lebih ekonomis seperti enzim protease yang dapat dihasilkan dari tanaman, salah satunya papain (Soo *et al.*, 2020). Mekanisme kerja enzim protease dalam produksi VCO yaitu dengan cara memecah ikatan peptida pada protein, sehingga minyak akan terlepas dari sistem emulsi (Yulirohyamii *et al.*, 2022).

Beberapa penelitian sebelumnya menggunakan metode enzimatik pada produksi VCO telah dilaporkan yaitu oleh Yuniarti *et al.*, (2021) menggunakan enzim papain dari ekstrak daun

pepaya dengan waktu inkubasi 24 jam menghasilkan rendemen sebesar 13,8%, asam lemak bebas 0,13%, dan bilangan peroksida 1,16 mg ek/kg. Yulirohyamii *et al.*, (2022) melaporkan bahwa penggunaan enzim papain komersial dalam produksi VCO dengan waktu inkubasi 24 jam menghasilkan rendemen sebesar 20%, asam lemak bebas 0,3%, dan bilangan peroksida sebesar 0,2 mg ek/kg. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Rukman *et al.*, (2018) menghasilkan rendemen sebesar 29,8% dan asam lemak bebas 0,22% dengan menggunakan getah pepaya dengan waktu inkubasi 24 jam. Adapun Amran *et al.*, (2023) menggunakan enzim papain kasar melaporkan rendemen tertinggi diperoleh pada waktu inkubasi 24 jam yaitu sebesar 24,35% dengan asam lemak bebas dan bilangan peroksida yang dihasilkan berturut-turut sebesar 0,84% dan 2,05 mg ek/kg. Hasil yang diperoleh tersebut menunjukkan dengan waktu inkubasi 24 jam VCO yang dihasilkan masih memiliki kualitas yang rendah yaitu asam lemak bebas dan bilangan peroksida relatif tinggi serta rendemen yang cukup rendah. Oleh karena itu, masih perlu dilakukan modifikasi pada metode enzimatik agar waktu inkubasi dapat lebih dipersingkat sehingga kualitas VCO dapat ditingkatkan. Modifikasi yang dapat dilakukan yaitu dengan *pretreatment* pada emulsi santan dengan cara pengadukan. Proses pengadukan akan mempercepat terjadinya pemisahan minyak dengan cara melemahkan tegangan permukaan selubung protein yang melapisi emulsi sehingga mempercepat kerusakannya. Adanya enzim yang juga bekerja akan membantu proses pemutusan ikatan peptida. Kerusakan protein menyebabkan terjadinya proses koagulasi sehingga minyak akan terpisah dari sistem emulsi (Jiang *et al.*, 2016; Patil & Benjakul, 2018).

Metode enzimatik dengan penggunaan enzim sekali pakai akan membutuhkan biaya produksi yang lebih tinggi. Selain itu, enzim juga umumnya bersifat kurang stabil (rentan mengalami autolisis) pada saat digunakan dalam kondisi yang beragam. Proses imobilisasi dapat dilakukan untuk meningkatkan kestabilan dari enzim dan memungkinkan enzim dapat digunakan secara berulang sehingga akan mengurangi biaya produksi, terutama pada skala industri (Tacias-Pascacio *et al.*, 2021; Zucca & Sanjust, 2014). Selain itu, proses imobilisasi juga akan memudahkan proses pemisahan enzim dari produk setelah proses produksi berakhir (Cahyaningrum *et al.*, 2013). Imobilisasi enzim merupakan suatu metode yang memungkinkan enzim akan terperangkap pada permukaan suatu matriks tidak larut yang biasa disebut sebagai *carrier* atau *material support* (Baidamshina *et al.*, 2021; H. Zhang *et al.*, 2021). Proses imobilisasi pada enzim dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode yaitu adsorpsi fisik, pengikatan kovalen, *cross linking*, dan enkapsulasi (Smith *et al.*, 2020). Metode adsorpsi fisik dan metode pengikatan kovalen merupakan metode yang cukup sederhana, sehingga secara luas digunakan dalam proses imobilisasi berbagai jenis enzim. Metode adsorpsi fisik memungkinkan enzim terperangkap pada permukaan matriks pendukung melalui ikatan Van der Waals, elektrostatis, hidrofobik, dan ikatan hidrogen (D. H. Zhang *et al.*, 2013). Akan tetapi, kekuatan ikatan yang terbentuk antara matriks dan enzim cukup lemah, serta rentan terhadap kebocoran membran, sehingga dapat menurunkan aktivitasnya (Sun *et al.*, 2012). Adapun metode imobilisasi dengan ikatan kovalen memungkinkan interaksi antara matriks dan enzim terbentuk melalui ikatan kovalen yang bersifat lebih kuat, sehingga dapat mencegah kebocoran membran selama reaksi terjadi dan aktivitas enzim dapat dipertahankan (Yavaşer & Karagözler, 2020). Pada proses imobilisasi, untuk menghasilkan enzim imobil yang bersifat stabil maka diperlukan matriks pendukung yang sesuai yaitu mengandung gugus reaktif yang mampu berikatan dengan gugus aktif pada enzim (Zucca & Sanjust, 2014). Selain itu, matriks

pendukung yang digunakan harus bersifat stabil pada proses termal, kimia, ataupun mekanik, memiliki permukaan dengan porositas yang luas, ekonomis, serta dapat dimodifikasi (Santos *et al.*, 2019; Tacias-Pascacio *et al.*, 2021). Matriks pendukung yang mampu memenuhi kriteria tersebut, ekonomis, dan sangat mudah ditemukan diantaranya ialah batu apung dan zeolit. Berdasarkan uraian tersebut maka pada penelitian ini dilakukan imobilisasi secara kovalen pada enzim papain menggunakan matriks batu apung dan zeolit pada produksi VCO dengan perlakuan waktu inkubasi. Perlakuan waktu inkubasi terbaik akan digunakan untuk mengetahui efektivitas penggunaannya secara berulang dalam menghasilkan VCO dengan rendemen yang tinggi dan berkualitas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Waktu inkubasi yang lebih lama cenderung menghasilkan VCO dengan kualitas yang rendah. Sehingga, diperlukan modifikasi pada metode enzimatik agar waktu inkubasi dapat dipersingkat. Modifikasi yang dapat dilakukan yaitu dengan *pretreatment* pada emulsi santan dengan cara pengadukan. Proses pengadukan akan mempercepat kerusakan protein santan dengan cara melemahkan tegangan permukaannya. Adanya enzim yang juga bekerja akan membantu proses pemutusan ikatan peptida sehingga mempercepat terjadinya koagulasi yang menyebabkan minyak akan terpisah dari sistem emulsi. Adapun metode enzimatik dengan penggunaan enzim sekali pakai akan membutuhkan biaya produksi yang lebih tinggi. Selain itu, enzim juga umumnya bersifat kurang stabil (rentan mengalami autolisis) pada saat digunakan dalam kondisi yang beragam. Proses imobilisasi dapat dilakukan untuk meningkatkan kestabilan dari enzim dan memungkinkan enzim dapat digunakan secara berulang sehingga akan mengurangi biaya produksi. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan imobilisasi kovalen pada enzim papain untuk digunakan pada produksi VCO dengan perlakuan waktu inkubasi yang lebih singkat. Perlakuan waktu inkubasi terbaik yang diperoleh akan digunakan untuk mengetahui efektivitas penggunaan secara berulang enzim papain imobilisasi dalam menghasilkan VCO.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum dari penelitian ini yaitu mampu mengoptimalkan proses produksi VCO menggunakan enzim papain imobil melalui penggunaannya secara berulang. Tujuan khusus penelitian ini yaitu:

1. Untuk memperoleh lama waktu inkubasi terbaik enzim papain yang terimobilisasi secara kovalen dalam menghasilkan VCO yang berkualitas.
2. Untuk menentukan efektivitas penggunaan berulang enzim papain yang terimobilisasi secara kovalen pada produksi VCO.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi bagi peneliti, mahasiswa, dan pembaca mengenai efektivitas penggunaan berulang enzim papain terimobilisasi secara kovalen dalam mengoptimalkan produksi VCO.

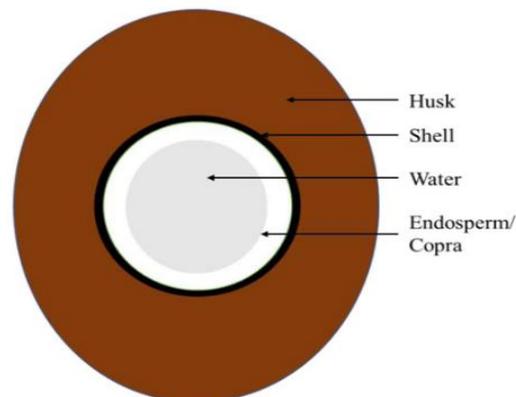
## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kelapa (*Cocos nucifera* L.)

Kelapa merupakan salah satu spesies tanaman palem-paleman (*Aracaceae*) dengan nilai ekonomis yang tinggi. Kelapa banyak ditemukan di Asia Tenggara (Malaysia, Indonesia, dan Filipina), India, dan beberapa negara Pasifik (Lima *et al.*, 2015). Adapun, Indonesia merupakan negara dengan area perkebunan kelapa terluas di dunia yaitu mencapai 3,654,478 hektar atau 30% dari total area perkebunan kelapa di dunia (Rukman *et al.*, 2018). Tingginya potensi perkebunan kelapa di Asia tenggara, khususnya di Indonesia menjadikan kelapa sebagai komoditi yang menjanjikan dalam berbagai sektor industri.

Pohon kelapa sering disebut sebagai *tree of life* karena semua bagian tanamannya baik batang, daun, bunga, dan buahnya dapat dimanfaatkan (Odel *et al.*, 2016). Daun kelapa dapat dibuat atap rumah, wadah dan kemasan makanan tradisional, serta kerajinan tangan. Secara tradisional bunga kelapa dikonsumsi secara langsung. Selain itu, pada tangkai pembungaannya dapat dilakukan penyadapan untuk memperoleh gula yang selanjutnya dapat diolah menjadi cuka atau minuman beralkohol. Sementara itu, batang tanaman kelapa banyak dimanfaatkan dalam bidang konstruksi dan interior (Lima *et al.*, 2015).

Adapun buah kelapa juga dimanfaatkan secara luas dalam berbagai bidang. Buah kelapa terdiri dari beberapa lapisan yaitu kulit luar (*epicarp*), sabut kelapa (*mesocarp*), tempurung kelapa (*endocarp*), daging kelapa (*endosperm*), dan air kelapa (Henrietta *et al.*, 2022; Lima *et al.*, 2015). Struktur buah kelapa dapat dilihat pada Gambar 1.

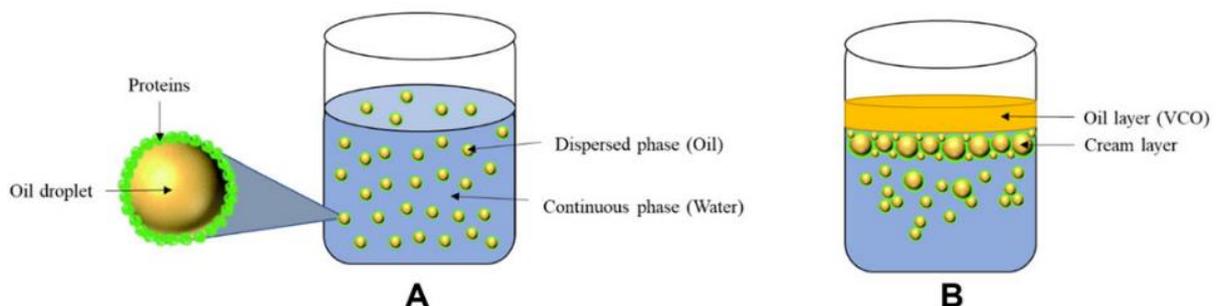


Gambar 1. Lapisan Buah Kelapa. Sumber: Patil & Benjakul, (2018)

Bagian *epicarp* merupakan bagian terluar buah kelapa berupa kulit dengan permukaan yang licin. Umumnya, bagian ini akan berwarna hijau apabila kelapa masih muda dan akan berubah warna menjadi kecoklatan apabila kelapa telah menua dan mengering. Bagian ini terhubung langsung dengan bagian *mesocarp* yaitu bagian yang berupa serabut-serabut kasar yang lebat. Bagian ini biasa disebut sebagai sabut kelapa dan banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang, seperti pembuatan berbagai jenis kerajinan tangan, keset, karpet, media tanam, penyaring, dan sebagai sumber serat yang banyak dimanfaatkan dalam industri konstruksi/bangunan (Lima *et al.*, 2015). Adapun bagian *endocarp* atau biasa disebut tempurung kelapa merupakan bagian kelapa yang memiliki tekstur yang sangat keras. Tempurung kelapa ini banyak dimanfaatkan dalam pembuatan kerajinan tangan, alat musik, arang aktif, dan sebagai mata uang. Pada bagian dalam *endocarp*, terdapat lapisan berwarna putih yang disebut sebagai lapisan *endosperm* (daging kelapa). Lapisan ini memiliki tingkat

ketebalan yang berbeda-beda tergantung pada usia buah kelapa. Selain daging kelapa, pada bagian dalam *endocarp* juga terdapat cairan bening yang memiliki rasa manis sedikit asam dan agak kental. Cairan ini biasanya disebut sebagai air kelapa. Air kelapa sering dijadikan sebagai minuman isotonik karena mengandung berbagai mineral seperti magnesium, seleneium, dan fosfor, serta berbagai jenis vitamin seperti vitamin E, C, dan B kompleks. Selain itu, air kelapa juga digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan nata de coco (Henrietta *et al.*, 2022). Adapun lapisan endosperm yang biasa dikenal dengan daging kelapa umumnya memiliki konsistensi yang menyerupai *custard* dan memiliki flavor khas, serta rasa yang manis pada buah yang masih muda. Namun, apabila buah telah menua, maka tekstur daging kelapa akan semakin keras. Daging kelapa yang telah menua tersebut nantinya dapat diolah menjadi kopra (daging kelapa kering) yang selanjutnya akan dipres untuk memperoleh minyak kelapa. Selain itu, pada buah kelapa tua dapat diperoleh cairan berwarna putih yaitu *coconut milk* (santan) dan *coconut cream* (krim santan), yang keduanya banyak dimanfaatkan dalam pembuatan berbagai jenis makanan (Prapun *et al.*, 2016).

Santan kelapa merupakan emulsi minyak dalam air yang diselubungi oleh membran protein berupa globulin, albumin, dan fosfolipid (Prapun *et al.*, 2016). Santan kelapa (*coconut milk*) dapat diperoleh melalui proses ekstraksi dengan cara memeras buah kelapa tua yang telah diparut dan ditambahkan sejumlah air. Apabila didiamkan dalam beberapa saat, krim santan akan terpisah pada bagian atas (Emojewwe, 2013). Santan kelapa dapat dibuat minyak kelapa murni (*virgin coconut oil/VCO*) yaitu minyak kelapa yang diproduksi tanpa melalui proses RBD (*refined-bleached-deodorized*), sehingga diperoleh minyak kelapa yang memiliki aroma dan rasa yang lebih disukai, serta memiliki kandungan asam lemak yang baik bagi tubuh (Rohman *et al.*, 2019). Agar dapat memisahkan minyak dari emulsi santan, maka diperlukan destabilisasi emulsi dengan merusak lapisan atau selubung protein yang melindungi emulsi (Prapun *et al.*, 2016). Destabilisasi dapat terjadi dalam tiga tahapan yaitu pembentukan krim, flokulasi, dan koagulasi. Pemisahan krim terjadi dengan bantuan gravitasi oleh adanya perbedaan massa jenis membentuk lapisan krim pada bagian atas dan air pada bagian bawah (Agarwal & SJD, 2017). Selanjutnya pada tahap flokulasi, terjadi proses agregasi antar globula akibat adanya gaya tarik menarik antar minyak sehingga saling mendekat tetapi globula minyak tersebut masih mempertahankan strukturnya masing-masing. Pada tahap koagulasi, globula minyak yang saling mendekat semakin lama akan mengganggu kestabilan lapisan protein pada permukaannya, sehingga antar gelembung minyak saling menyatu membentuk gelembung yang lebih besar yang kemudian terpisah menjadi fase minyak (Patil & Benjakul, 2018). Mekanisme pemisahan minyak dari sistem emulsi santan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme Pemisahan Minyak dari Sistem Emulsi. (A) Emulsi Stabil; (B) Emulsi yang Tidak Stabil. Sumber: Patil & Benjakul, (2018).

## 2.2 Virgin Coconut Oil (VCO)

*Virgin coconut oil* (VCO) atau minyak kelapa murni merupakan minyak kelapa yang diperoleh melalui proses pengolahan santan kelapa dengan atau tanpa proses pemanasan (suhu terkontrol), tanpa menggunakan bahan kimia, serta tidak melalui proses *refining*, *bleaching*, dan *deodorizing* (RBD) sehingga diperoleh minyak kelapa dengan kemurnian yang tinggi (Rohman *et al.*, 2019). Dibandingkan dengan minyak kelapa yang diperoleh dari proses pengolahan secara tradisional yaitu dengan menggunakan metode ekstraksi kering (pengepresan kopra) yang melalui proses RBD, VCO dinilai memiliki kualitas yang lebih baik karena tidak berwarna (jernih), tidak memiliki rasa dan flavor yang tengik, memiliki rasa yang agak manis, serta mengandung asam lemak rantai sedang yang tinggi (Mohammed *et al.*, 2021; Prapun *et al.*, 2016). VCO dikenal sebagai “*The healthiest oil in the world*” karena asam lemak utama yang terkandung dalam VCO berupa asam lemak rantai sedang (*medium chain fatty acid*) terutama asam laurat yaitu sebesar 48-53%, yang bersifat lebih mudah dihidrolisis dan diserap oleh tubuh karena memiliki bobot molekul yang rendah, sehingga tidak tertimbun sebagai lemak di dalam tubuh (Agarwal & SJD, 2017; Oseni *et al.*, 2017). Konsumsi VCO mampu menurunkan total kolesterol dalam tubuh, menurunkan LDL (*low density lipoprotein*), meningkatkan HDL (*high density lipoprotein*), menurunkan berat badan, mengurangi risiko inflamasi, serta kandungan senyawa fenoliknya mampu berperan dalam mencegah oksidasi LDL dalam tubuh (Rohman *et al.*, 2019). Selain dalam bidang kesehatan, VCO juga secara luas digunakan dalam industri kosmetik dan industri pangan. Pada industri kosmetik, VCO digunakan dalam mempercepat pertumbuhan rambut dan melembutkan serta melembabkan kulit, sedangkan dalam industri pangan digunakan sebagai bahan tambahan dalam produk *bakery*, pembentukan emulsi, serta pembuatan pangan fungsional (Mohammed *et al.*, 2021; Yuniarti *et al.*, 2021). Luasnya penggunaan VCO menyebabkan dalam beberapa tahun terakhir permintaan VCO di pasar global mengalami peningkatan.

Prinsip ekstraksi pada proses produksi VCO yaitu proses demulsifikasi pada emulsi santan (emulsi minyak dalam air yang diselubungi oleh protein), sehingga terjadi pemisahan antara air, minyak, dan protein (Soo *et al.*, 2020). Proses produksi VCO dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode ekstraksi yaitu pemanasan, pendinginan, fermentasi, dan enzimatis (Rohman *et al.*, 2019; Yulirohyamii *et al.*, 2022). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa metode yang digunakan dalam proses produksi VCO akan mempengaruhi kualitas VCO yang dihasilkan (Mohammed *et al.*, 2021). Metode ekstraksi melalui pendinginan cenderung menghasilkan rendemen yang rendah karena kurang mampu memecah emulsi pada santan (Rohman *et al.*, 2019). Metode ekstraksi dengan pemanasan meskipun menghasilkan rendemen yang lebih tinggi, tetapi kualitas VCO yang dihasilkan rendah. Sementara itu, metode fermentasi meskipun mampu menghasilkan rendemen yang tinggi, tetapi membutuhkan waktu yang lebih lama (24-48 jam), menghasilkan minyak yang berwarna kekuningan, berbau khas hasil fermentasi, serta memiliki risiko adanya kontaminasi mikroorganisme yang tidak diinginkan pada minyak yang dihasilkan (Agarwal & SJD, 2017). Adapun metode enzimatis dapat mengurangi waktu produksi, dapat menghasilkan VCO dengan rendemen yang tinggi, serta kualitas yang baik, tetapi membutuhkan biaya produksi yang lebih tinggi (Mohammed *et al.*, 2021; Prapun *et al.*, 2016). Sehingga diperlukan alternatif sumber enzim yang lebih ekonomis seperti enzim protease yang dapat dihasilkan dari tanaman, salah satunya papain (Soo *et al.*, 2020). Penelitian sebelumnya oleh Yulirohyamii *et al.*, (2022)

melaporkan bahwa produksi VCO menggunakan enzim papain dan getah pepaya pada konsentrasi yang sama menghasilkan rendemen yang lebih tinggi yaitu 20% dan 15% dibandingkan dengan menggunakan enzim bromelain dan fermentasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yaitu masing-masing sebesar 12,1% dan 12,4%.

Perbandingan antara beberapa hasil penelitian sebelumnya yang menggunakan metode enzimatik dan fermentasi dalam produksi VCO dapat dilihat pada Tabel 1. Penelitian sebelumnya, baik yang menggunakan metode enzimatik dan fermentasi menunjukkan dengan waktu inkubasi yang cukup lama yaitu 22 hingga 24 jam cenderung menghasilkan asam lemak bebas dan bilangan peroksida yang cenderung tinggi dibandingkan dengan standar mutu VCO berdasarkan SNI 7381:2008 dan ICC 2023. Selain itu, rendemen yang dihasilkan masih relatif rendah yaitu berkisar antara 13,6-29,8%. Sehingga diperlukan metode ekstraksi yang dapat menghasilkan rendemen yang tinggi menggunakan waktu inkubasi yang singkat sehingga kualitas VCO yang dihasilkan lebih baik. Harmami *et al.*, (2021) melaporkan kombinasi pengadukan selama 20 menit dan fermentasi 24 jam menghasilkan rendemen 26,64% dan asam lemak bebas sebesar 0,06%. Proses pengadukan akan mempercepat terjadinya pemisahan krim dan dapat mengganggu atau melemahkan tegangan permukaan selubung protein yang melapisi emulsi sehingga mempercepat kerusakannya. Kerusakan protein menyebabkan terjadinya proses koagulasi sehingga minyak terpisah membentuk lapisan minyak (Jiang *et al.*, 2016; Patil & Benjakul, 2018).

Tabel 1. Perbandingan Kualitas VCO yang Dihasilkan Menggunakan Metode Enzimatis dan Fermentasi

Metode	Waktu Inkubasi (Jam)	Rendemen (%)	Asam Lemak Bebas (%)	Bilangan Peroksida (mg ek/kg)	Sumber
Enzimatis	24	20	0,3	0,2	(Yulirohyamii <i>et al.</i> , 2022)
Enzimatis	24	13,8	0,13	1,16	(Yuniarti <i>et al.</i> , 2021)
Enzimatis	24	29,8	0,22	-	(Rukman <i>et al.</i> , 2018)
Enzimatis	24	24,25	0,84	2,05	(Amran <i>et al.</i> , 2023)
Fermentasi	22	15	0,36	-	(Prayitno, 2014)
Fermentasi	24	13,6	0,17	1,3	(Purba <i>et al.</i> , 2020)
Fermentasi	24	12,4	0,4	-	(Rohyami <i>et al.</i> , 2017)

Standar kualitas VCO secara nasional diatur dalam SNI 7381:2008. Sedangkan dalam skala internasional diatur dalam ICC (*International Coconut Community*) tahun 2023. Hal ini disajikan pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2. Standar Mutu VCO berdasarkan SNI 7381:2008

Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
Keadaan:		
Bau		Khas kelapa segar, tidak tengik
Rasa		Normal khas minyak kelapa
Warna		Tidak berwarna hingga kuning pucat
Air dan senyawa volatil	%	Maks. 0,2
Bilangan iod	g iod/100g	4,1 – 11,0
Asam lemak bebas	%	Maks. 0,2
Bilangan peroksida	mg ek/kg	Maks. 2,0
Asam lemak		
Asam kaproat	%	ND – 0,7
Asam kaprilat	%	4,6 – 10,0
Asam kaprat	%	5,0 – 8,0
Asam laurat	%	45,1 – 53,2
Asam miristat	%	16,8 – 21
Asam palmitat	%	7,5 – 10,2
Asam stearate	%	2,0 – 4,0
Asam oleat	%	5,0 – 10,0
Asam linoleat	%	1,0 – 2,5
Asam linolenat	%	ND – 0,2
Cemaran mikroba		
Angka Lempeng Toal	Koloni/ml	Maks. 10
Cemaran logam		
Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0,1
Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks. 0,4
Besi (Fe)	mg/kg	Maks. 5,0
Cadmium (Cd)	mg/kg	Maks. 0,1
Cemaran arsen	mg/kg	Maks. 0,1
ND : <i>No Detection</i> (tidak terdeteksi)		

Tabel 3 . Standar Mutu berdasarkan ICC 2023

Parameter	Satuan	Persyaratan
Kadar air dan kotoran	%	Maks. 0,1
Senyawa volatil pada suhu 120°C (%)	%	Maks.0,2
Asam lemak bebas	%	Maks. 0,2
Bilangan peroksida	(meq/kg)	Maks.2,0
Kepadatan/densitas relatif		0,915-0,920
Indeks bias (T = 40°C)		1,448-1,449
Kotoran yang tidak larut (%) massa	%	Maks. 0,05
Nilai saponifikasi	(mg KOH/g)	250-260
Nilai iodin	(g iod/kg)	4,1-11
Materi yang tidak tersaponifikasi	%	0,2-0,5
Berat jenis pada 30 deg/30°C		0,915-0,920
Nilai polenske		13
Total plate count	Koloni/mL	< 0,5
Warna		Jernih
Aroma dan rasa		Aroma kelapa segar alami, bebas endapan, bebas bau dan rasa tengik
Zat besi (Fe)	(mg/kg)	Maks. 5
Tembaga (Cu)	(mg/kg)	Maks. 0,4
Timbal (Pb)	(mg/kg)	Maks. 0,1
Arsenik (As)	(mg/kg)	Maks. 0,1

### 2.3 Produksi VCO dengan Metode Enzimatis

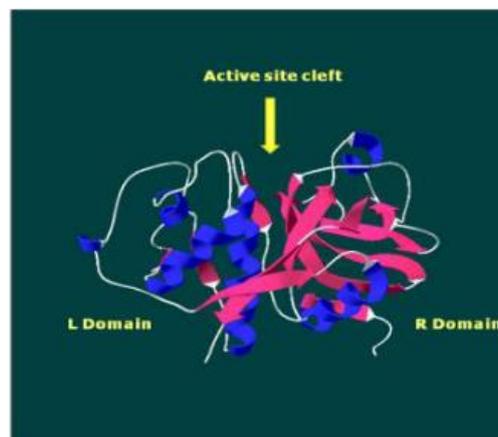
VCO dapat diproduksi secara tradisional melalui proses pemanasan. Akan tetapi, proses produksi dengan menggunakan metode enzimatis memiliki beberapa kelebihan diantaranya bersifat non toksik, dapat bekerja pada konsentrasi yang rendah, dan ramah lingkungan (Harimurti *et al.*, 2022; Yuniarti *et al.*, 2021). Selain itu, proses enzimatis dapat mengurangi waktu produksi, mengurangi penggunaan pelarut, dapat menghasilkan VCO dengan rendemen yang tinggi, serta kualitas yang baik (Prapun *et al.*, 2016).

Penelitian sebelumnya terkait penggunaan enzim dalam proses produksi VCO telah dilaporkan dalam Soo *et al.*, (2020) bahwa penggunaan enzim protease pada suhu 50°C dapat menghasilkan rendemen tertinggi sebesar 77,7% dibandingkan dengan metode lainnya yaitu metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dan UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*). Adapun Agarwal & SJD (2017) melaporkan bahwa produksi VCO menggunakan campuran beberapa enzim yaitu selulase, endoamilase, dan alkalase mampu menghasilkan rendemen sebesar 83% dan penggunaan kombinasi enzim  $\alpha$ -amilase, poligalakturonase, dan protease menghasilkan rendemen sebesar 80%. Akan tetapi, meskipun mampu menghasilkan rendemen yang tinggi, metode enzimatis tersebut memiliki kekurangan yaitu biaya produksi yang tinggi, sehingga diperlukan alternatif sumber enzim yang lebih ekonomis seperti enzim protease yang dapat dihasilkan dari tanaman, misalnya papain dan bromelain (Soo *et al.*, 2020). Adapun mekanisme kerja enzim protease dalam produksi VCO yaitu dengan cara memecah ikatan peptida pada protein, sehingga minyak terlepas dari sistem emulsi (Yulirohyamii *et al.*, 2022).

Penelitian sebelumnya oleh Mohammed *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa dari beberapa metode ekstraksi yang digunakan, penggunaan enzim protease menghasilkan VCO dengan rendemen tertinggi, serta mengandung asam lemak tidak jenuh dengan komposisi terbaik.

## 2.4 Enzim Papain

Papain (EC: 3.4.22.2) merupakan enzim protease sistein yang diperoleh dari tanaman pepaya (*Carica papaya* L.) (Yuniarti *et al.*, 2021). Papain tergolong dalam enzim endopeptidase yang terusun atas rantai tunggal polipeptida dengan jumlah asam amino sebanyak 212, memiliki bobot molekul sebesar 23 kDa, serta ukuran partikel sebesar 3–5 nm (He *et al.*, 2014; Jain, 2020). Papain memiliki struktur tiga dimensi yang tersusun atas tiga ikatan disulfida yang memiliki dua domain dengan struktur yang berbeda dan terdapat celah diantaranya (Gambar 3). Pada permukaan celah tersebut terdapat sisi aktif enzim yang terdiri dari sistein-25, histidin-159, dan arginin-175 (Biswajit *et al.*, 2013; He *et al.*, 2014). Sisi aktif enzim tersebut yang akan menyerang gugus karbon karbonil pada rantai peptida menyebabkan terlepasnya asam amino terminal pada substrat (Hullikere *et al.*, 2014).



Gambar 3. Struktur Tiga Dimensi pada Enzim Papain (Biswajit *et al.*, 2013)

Enzim papain memiliki kestabilan yang baik pada kondisi yang beragam yaitu mampu bekerja pada suhu tinggi hingga 80°C dengan rentang pH 5–8. Adapun konsisi optimumnya yaitu pada suhu 40-50°C dengan pH 7 (Alpay & Uygun, 2014; Hullikere *et al.*, 2014). Pada tanaman pepaya, papain dapat diperoleh dari getah buah ataupun batangnya, serta dari ekstrak buah dan daunnya. Wening & Herdyastuti, (2021) melaporkan bahwa aktivitas proteolitik papain dari buah pepaya lebih tinggi yaitu sebesar 400 unit/gram dibandingkan dengan papain yang diperoleh dari batang dan daunnya yaitu sebesar 200 unit/gram. Sementara itu, Esti *et al.*, (2013) melaporkan bahwa aktivitas enzim papain dari getah pepaya lebih tinggi dibandingkan dari ekstrak buah dan enzim bromelain dari buah nanas. Papain yang bersifat aktif dapat diperoleh dari getah buah papaya yang masih muda yaitu berusia 2-3 bulan (Hullikere *et al.*, 2014; Urgessa *et al.*, 2019).

Enzim papain yang diperoleh dari penyadapan getah pepaya tanpa proses pemurnian merupakan enzim papain kasar (*crude enzyme*). Pemurnian enzim papain dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode seperti metode pengendapan menggunakan ammonium sulfat, sodium klorida, maupun alkohol, metode *aquous two-phase* (ATPS), dan metode *three phase partitioning* (TPP). Akan tetapi, meskipun mampu menghasilkan enzim papain dengan kemurnian yang tinggi, proses pemurnian mampu menurunkan aktivitas dari enzim yang

dimurnikan (Jain, 2020). Hal ini sesuai dengan penelitian Urgessa *et al.*, (2019) yang menunjukkan bahwa aktivitas proteolitik enzim papain kasar lebih tinggi yaitu  $11,88 \times 10^{-2}$  U/mL dibandingkan dengan enzim hasil pemurnian menggunakan metode TPP baik pada fase atas maupun pada fase bawah yaitu hanya sebesar  $7,56-11,14 \times 10^{-2}$  U/mL. Hal ini disebabkan karena proses pemurnian berpotensi merusak sisi aktif dari enzim. Penggunaan t-butanol yang berlebih pada proses pemurnian TPP menjadi inhibitor dan menurunkan aktivitas dari enzim papain. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Hafid *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa aktivitas proteolitik dari enzim papain kasar dan enzim hasil pemurnian tidak berbeda jauh yaitu masing-masing sebesar 52,1 dan 69,57 U/mL. Hal ini menunjukkan bahwa enzim papain kasar juga berpotensi digunakan dalam industri dengan biaya produksi yang lebih rendah.

Papain banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang baik di industri pangan, farmasi/kesehatan, kosmetik, dan tekstil. Pada bidang industri pangan, enzim papain digunakan dalam produksi sirup glukosa, pengempukan daging, stabilizer pada pembuatan bir, serta sebagai koagulan pada produksi keju (Ningrum *et al.*, 2017). Pada industri farmasi, papain digunakan sebagai obat alergi, penetral racun, antibakteri, antidiare, anti inflamasi homorbid, serta sebagai obat sakit perut dan batuk (Jain, 2020). Adapun pada industri tekstil digunakan dalam penyamakan kulit, pembuatan kertas, dan antikoagulan (Baidamshina *et al.*, 2021). Selain itu, enzim papain juga dapat dimanfaatkan dalam pembuatan VCO. Enzim papain sebagai enzim protease akan menghidrolisis ikatan peptida pada sistem emulsi santan yang menyebabkan terjadinya ketidakstabilan sistem emulsi sehingga minyak terlepas dari sistem (Prapun *et al.*, 2016; Yuniarti *et al.*, 2021). Yulirohyamii *et al.*, (2022) melaporkan bahwa penggunaan enzim papain dari getah pepaya pada konsentrasi yang sama mampu menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan enzim protease lainnya yaitu bromelain. Selain itu, dalam penelitian yang dilakukan oleh Rukman *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa penggunaan enzim papain dari getah buah pepaya mampu menghasilkan rendemen tertinggi yaitu sebesar 29,8% dibandingkan dengan penelitian Yuniarti *et al.*, (2021) yang menggunakan ekstrak daun pepaya hanya mampu menghasilkan rendemen sebesar 13,8%, serta penelitian Prayitno, (2014) menggunakan enzim bromelain menghasilkan rendemen sebesar 15%.

## 2.5 Imobilisasi Enzim

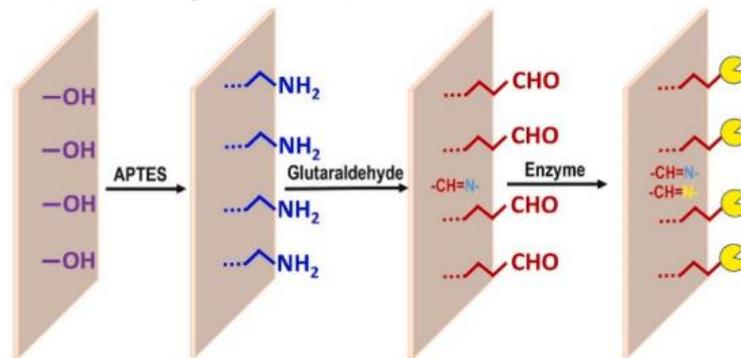
Penggunaan enzim bebas sebagai katalis dalam suatu reaksi biasanya memiliki keterbatasan yaitu bersifat kurang stabil (rentan mengalami autolisis). Salah satu upaya untuk mengatasi hal tersebut ialah dengan melakukan proses imobilisasi yaitu kondisi yang memungkinkan enzim terperangkap pada permukaan suatu matriks tidak larut yang biasa disebut sebagai *carrier* atau *material support* (Baidamshina *et al.*, 2021; H. Zhang *et al.*, 2021). Imobilisasi enzim dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan kestabilan dari enzim sehingga dapat digunakan secara berulang pada proses produksi secara kontinu (Tacias-Pascacio *et al.*, 2021). Penggunaan enzim secara berulang tersebut akan mengurangi biaya produksi, terutama pada produksi skala industri (Zucca & Sanjust, 2014). Selain itu, proses imobilisasi akan memudahkan proses pemisahan enzim dari produk setelah proses produksi berakhir (Cahyaningrum *et al.*, 2013).

Pada proses imobilisasi, untuk menghasilkan enzim imobil yang bersifat stabil maka diperlukan matriks pendukung yang sesuai yaitu mengandung gugus reaktif yang mampu berikatan dengan enzim (Zucca & Sanjust, 2014). Selain itu, matriks pendukung yang digunakan sebaiknya tersedia dalam jumlah yang banyak, stabil pada proses termal, kimia, ataupun mekanik, memiliki permukaan yang luas, porositas yang luas, ekonomis, serta tidak mengandung komponen yang dapat menghalangi terjadinya reaksi antara matriks dan enzim (Santos *et al.*, 2019; Tacias-Pascacio *et al.*, 2021). Selain itu, struktur pada permukaan matriks memungkinkan untuk dilakukan modifikasi yang dapat disesuaikan dengan metode imobilisasi yang digunakan. Matriks pendukung yang dapat digunakan pada proses imobilisasi yaitu dapat berupa bahan organik (polisakarida, poliakrilik, dan polivinil) dan bahan anorganik berupa bahan yang tersusun atas silika atau metal oksida sebagai komponen utamanya, contohnya zeolit, batu apung, dan silika (Zucca & Sanjust, 2014). Matriks pendukung yang disarankan pada proses imobilisasi sebaiknya memiliki porositas berukuran mesoporus yaitu berukuran 2-50 nm atau lebih besar dari diameter molekul enzim yang akan diimobilisasi. Hal ini terutama pada proses imobilisasi enzim protease karena cenderung memiliki ukuran molekul yang lebih besar (Baidamshina *et al.*, 2021). Oleh karena itu jenis dan porositas matriks perlu disesuaikan dengan jenis enzim yang akan diimobilisasi. Selain itu pada proses imobilisasi, waktu imobilisasi juga perlu diperhatikan agar reaksi antara enzim dan matriks dapat berlangsung secara maksimal. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Li *et al.*, (2021) bahwa jumlah enzim yang terimobilisasi meningkat secara signifikan seiring semakin lama waktu imobilisasi (4-24 jam) dengan jumlah maksimal diperoleh pada waktu 24 jam.

Proses imobilisasi pada enzim dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode yaitu adsorpsi fisik, pengikatan kovalen, *cross linking*, dan enkapsulasi (Smith *et al.*, 2020). Metode adsorpsi fisik dan metode pengikatan kovalen merupakan metode yang cukup sederhana, sehingga secara luas digunakan dalam proses imobilisasi berbagai jenis enzim. Metode adsorpsi fisik merupakan metode yang memungkinkan enzim terperangkap pada permukaan matriks pendukung melalui ikatan Van der Waals, elektrostatis, hidrofobik, dan ikatan hidrogen (D. H. Zhang *et al.*, 2013). Akan tetapi, kekuatan ikatan yang terbentuk antara matriks dan enzim pada metode ini cukup lemah, serta rentan terhadap kebocoran membran protein pada enzim, sehingga dapat menurunkan aktivitasnya (Sun *et al.*, 2012). Metode imobilisasi dengan ikatan kovalen merupakan metode yang memungkinkan interaksi antara matriks dan enzim terbentuk melalui ikatan kovalen yang bersifat lebih kuat, sehingga dapat mencegah kebocoran membran selama reaksi terjadi dan aktivitas enzim dapat dipertahankan (Yavaşer & Karagözler, 2020). Ikatan kovalen terbentuk jika antara gugus amina (-NH<sub>2</sub>), gugus sulfurhidril (-SH), dan gugus hidroksil (-OH) pada enzim berikatan dengan gugus reaktif pada matriks (H. Zhang *et al.*, 2021). Pada metode ini, penggunaan reagen seperti glutaraldehid akan meningkatkan kemampuan enzim untuk terikat pada matriks. Selama proses imobilisasi akan terbentuk interaksi *Schiff* antara gugus amino dan gugus aldehid yang memungkinkan pembentukan gugus amina sekunder yang lebih stabil dengan kekuatan ionik yang tinggi, sehingga enzim dapat terimobilisasi secara kovalen pada matriks (Santos *et al.*, 2019). Beberapa kelebihan lain dari penggunaan metode ini yaitu kestabilan enzim sangat tinggi selama proses produksi secara enzimatik, terutama pada proses produksi yang menggunakan

proses pemanasan, pelarut organik, dan pH ekstrim, serta stabil pada penyimpanan, sehingga dapat digunakan secara berulang (Zucca & Sanjust, 2014).

Glutaraldehid ( $\text{OHC}-(\text{CH}_2)_3-\text{CHO}$ ) merupakan senyawa bifungsional pada proses imobilisasi yang dapat membentuk ikatan kovalen antara gugus  $-\text{NH}_2$  pada matriks dan enzim (Silva *et al.*, 2014). Penggunaan glutaraldehid lebih ekonomis, sederhana, serta secara luas terbukti efektif digunakan pada proses imobilisasi (Zucca & Sanjust, 2014). Adanya perubahan warna pada matriks mengindikasikan proses aktivasi berlangsung dan tingkat kekuatan aktivasinya yaitu. kuning (lebih lemah), orange (sedang), dan kemerahan (kuat) (Zucca & Sanjust, 2014). Mekanisme imobilisasi enzim secara kovalen menggunakan glutaraldehid dapat dilihat pada Gambar 4. Gugus aldehid akan bereaksi dengan gugus amino pada matrik, lalu gugus aldehid pada sisi lainnya akan bereaksi dengan gugus amino enzim membentuk ikatan kovalen (Yavaşer & Karagözler, 2020).



Gambar 4. Mekanisme Imobilisasi Enzim Secara Kovalen Menggunakan Reagen Glutaraldehid. Sumber: Zhang *et al.*, (2021)

## 2.6 Zeolit

Zeolit merupakan material anorganik berbentuk padatan yang memiliki kristal berpori berukuran mikro (*microsporous*) (Datta *et al.*, 2013). Komponen utama yang menyusun struktur dasar zeolit ialah kristal alumunium silika yang berikatan secara kovalen dengan oksigen membentuk struktur tetrahedron  $\text{TO}_4$  ( $\text{T} = \text{Si}, \text{Al}$ ) (Moentamaria *et al.*, 2018). Zeolit memiliki struktur berpori yang beragam, memiliki massa jenis yang rendah, memiliki permukaan yang luas, stabil pada proses pemanasan, ekonomis, serta ramah lingkungan (Al Qayoudi & Al-Zuhair, 2022). Secara luas zeolit digunakan sebagai bahan pengadsorpsi maupun sebagai *carrier* dalam proses imobilisasi sel ataupun enzim. Pada proses imobilisasi enzim, zeolit memungkinkan penggunaan enzim secara berulang pada reaktor dengan skala industri karena mampu meningkatkan kestabilan enzim seperti kestabilan pada proses termal, pH, serta pada proses penyimpanan (H. Zhang *et al.*, 2021). Penggunaan zeolit sebagai *support* matriks dengan berbagai jenis struktur dan ukuran telah digunakan dalam proses imobilisasi berbagai jenis enzim, yaitu lipase (Al Qayoudi & Al-Zuhair, 2022; Marthala *et al.*, 2015), phytase (Lopes *et al.*, 2021), dan  $\alpha$ -amilase (Yandri *et al.*, 2022).

Imobilisasi enzim secara adsorpsi fisik pada matriks zeolit mampu menghasilkan interaksi non kovalen yang kuat antara matriks dan enzim (Yandri *et al.*, 2022). Hal ini karena struktur mikroporous pada zeolit tersusun atas gugus hidrogen yang lebih banyak sehingga memungkinkan ikatan hidrogen yang terbentuk lebih kuat (Datta *et al.*, 2013). Menurut H. Zhang *et al.*, (2021), sifat fungsional zeolit dapat ditingkatkan dengan menggunakan katalis (misalnya glutaraldehid). Zeolit yang dimodifikasi dalam bentuk *delaminated*, *hierarchical*,

ataupun *hollow* memiliki permukaan yang lebih luas sehingga enzim yang terperangkap akan lebih banyak. Peningkatan porositas zeolit juga dapat dilakukan melalui proses aktivasi baik secara fisik maupun secara kimiawi (Djaeni *et al.*, 2015).

## 2.7 Batu Apung

Batu apung merupakan salah satu jenis geomaterial vulkanik berpori yang memiliki struktur amorf dengan komponen utama penyusunnya ialah SiO<sub>2</sub> (Silika dioksida) (Indah *et al.*, 2019). Batu apung terbentuk ketika gas vulkanik pecah dari gelembung magma yang kental dan tidak terpisah dengan cepat sebelum mengalami pendinginan (Çifçi & Meriç, 2016). Batu apung dapat ditemukan diberbagai negara di dunia dengan total volumenya mencapai 3 milyar m<sup>3</sup>. Batu apung dibedakan atas batu apung yang bersifat asam dan basa, tetapi umumnya dijumpai dalam bentuk batu apung yang bersifat asam (Sahin & Ozmen, 2020).

Secara tradisional, batu apung digunakan dalam bidang konstruksi. Akan tetapi dalam beberapa penelitian menunjukkan bahwa batu apung memiliki kemampuan yang baik sebagai adsorben pada bahan organik/inorganik sehingga dapat digunakan dalam pemurnian air dan limbah (Indah *et al.*, 2019). Batu apung memiliki kekuatan mekanik yang baik, porositas yang tinggi (mencapai 90%), permukaan yang luas, ekonomis, bersifat stabil, serta dapat digunakan secara berulang, sehingga juga sangat ideal digunakan sebagai *matriks support* dalam proses imobilisasi (Halim *et al.*, 2022; Y. Zhang *et al.*, 2022).