

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ficus (*Moraceae*) merupakan salah satu kelompok tumbuhan tropis dengan keanekaragaman spesies yang tinggi, dengan estimasi jumlah spesies berkisar antara 735 hingga 800 secara global (Huang *et al.*, 2022; Xia *et al.*, 2022). Kemajuan dalam taksonomi dan analisis molekuler telah memperjelas hubungan filogenetik antarspesies, sekaligus memperkuat pemahaman mengenai peran ekologis *Ficus*, terutama sebagai sumber pakan utama bagi fauna frugivora dan agen penting dalam penyebaran biji (Cottee-Jones *et al.*, 2016; El-Demerdash *et al.*, 2024). Di Indonesia, keanekaragaman *Ficus* spp. tercatat cukup tinggi, terutama di wilayah Sumatera yang merupakan pusat keanekaragaman hayati. Survei di Hutan Konservasi Prof. Soemitro Djojohadikusumo mengidentifikasi 20 spesies *Ficus* (Dewi *et al.*, 2023), sementara studi lain menunjukkan bahwa sekitar 63% spesies memiliki potensi sebagai tanaman obat. Menariknya, aspek ekologis ini juga tercermin dalam aspek kultural, sebagaimana terlihat pada penamaan Padang Aro sebagai ibukota Kabupaten Solok Selatan di Sumatera Barat, yang menunjukkan keterkaitan historis dan ekologis antara keberadaan tumbuhan *Ficus* (ara) dengan identitas lokal. Hal ini mengindikasikan bahwa *Ficus* spp. telah lama dikenal dan berpotensi memiliki nilai penting, tidak hanya dalam aspek ekologis, tetapi juga kultural dan ekonomis.

Ficus spp. sebagai salah satu sumber enzim protease alami selain dari bromelin dari buah nenas dan papain dari buah pepaya, kedua tanaman ini adalah tanaman hortikultura. Enzim protease yang diekstrak dari buah nenas dan pepaya dapat disubstitusi oleh enzim fisin yang berasal dari *Ficus* sehingga fungsinya sebagai tanaman hortikultura tidak terganggu.

Tumbuhan *Ficus* ini dapat juga digunakan untuk mendukung pertanian berkelanjutan. Pertanian berkelanjutan ini tidak hanya fokus pada peningkatan produktivitas, tetapi juga pada konservasi sumber daya alam, khususnya lahan. Salah satu pendekatan yang potensial adalah pemanfaatan tanaman lokal yang adaptif dan memiliki fungsi ekologis tinggi. Spesies *Ficus* lokal merupakan contoh tanaman yang menjanjikan dalam konteks ini. Dengan sistem perakaran yang kuat

dan dalam, *Ficus spp.* mampu mencegah erosi tanah dan merehabilitasi lahan marginal yang kurang produktif. Karakteristik ini menjadikan *Ficus* sebagai pilihan ideal untuk dimasukkan dalam sistem agroforestri tropis, sekaligus berperan dalam pelestarian lingkungan pertanian. Oleh karena itu, penelitian ini diarahkan untuk mengeksplorasi lebih jauh potensi spesies *Ficus* lokal sebagai tanaman konservasi lahan dalam mendukung sistem pertanian yang berkelanjutan.

Salah satu potensi bioteknologi paling penting dari *Ficus spp.* terletak pada kandungan lateksnya yang mengandung enzim proteolitik fisin. Fisin termasuk dalam golongan protease sistein, yang ditandai dengan keberadaan gugus aktif sulfhidril ($-SH$) (Fatinee Yusree *et al.*, 2021). Fisin tersusun atas 210 asam amino dengan residu katalitik utama berupa sistein (Cys-25) dan histidin (His-159) (Homaei & Qeshmi, 2022). Enzim ini menunjukkan aktivitas proteolitik yang tinggi, yang menegaskan potensi penggunaannya dalam berbagai industri (Zarei *et al.*, 2023). Protease, termasuk fisin, berperan penting dalam mengkatalisis hidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino, dengan kontribusi sekitar 60% dari total pasar enzim global (Gul *et al.*, 2022), dan digunakan luas dalam industri pangan, farmasi, tekstil, kulit, dan deterjen (Yu *et al.*, 2020).

Dalam industri pangan, protease berperan penting dalam proses produksi keju, pengempukan daging, fermentasi kedelai, pembuatan roti, dan bir (Sisa *et al.*, 2023). Sumber protease komersial sangat bervariasi, meliputi tanaman, mikroorganisme, hewan, alga, dan virus, dengan tanaman menyumbang proporsi signifikan dalam pasar global (Brito *et al.*, 2021).

Fisin sebagai protease nabati telah menunjukkan aplikasi yang luas di berbagai sektor, baik dalam industri pangan maupun non-pangan. Dalam bidang pangan, fisin digunakan untuk pengempukan daging (Desalegn *et al.*, 2021), penggumpalan susu, produksi keju (Kumar *et al.*, 2019), serta dalam ekstraksi minyak kelapa murni (VCO). Dalam bidang medis, fisin berpotensi digunakan untuk terapi penyakit seperti asam urat, deteksi antibodi, pemantauan glukosa, dan identifikasi senyawa biothiol (Chandrawanshi *et al.*, 2022). Seiring meningkatnya permintaan industri terhadap protease, kebutuhan akan metode produksi dan purifikasi enzim yang efisien menjadi semakin penting untuk keberlanjutan industri.

Three Phase Partitioning (TPP) merupakan teknik pemurnian yang mengintegrasikan beberapa metode, termasuk *salting out* (penggaraman), presipitasi isoionik, dan presipitasi *co-solvent*, untuk mengisolasi protein target (Abdoulaye *et al.*, 2023). TPP dikenal efisien dan sederhana untuk proses ekstraksi dan pemurnian enzim dari jaringan maupun sumber seluler (Chen *et al.*, 2020). Metode ini melibatkan penambahan amonium sulfat dan t-butanol yang memisahkan protein target ke dalam fase tengah, sehingga menawarkan pendekatan yang lebih sederhana dibandingkan metode pemurnian konvensional yang cenderung kompleks dan memakan waktu (Gul *et al.*, 2022).

Prinsip metode TPP yaitu pembentukan tiga fase yaitu atas (*upper phase*), tengah (*interface phase*), dan bawah (*aqueous phase*) pada ekstrak enzim dengan pelarut organik (tert-Butanol) dan garam (amonium sulfat). Proses pemisahan ditentukan oleh kemampuan garam membentuk fase atas atau organik dan fase bawah (Gagaoua & Hafid, 2016). Pada metode TPP protein target berada pada fase tengah (*interface phase*). Optimasi purifikasi enzim dengan metode TPP untuk menghasilkan tingkat kemurnian dan *recovery* yang maksimal dilakukan dengan mengetahui perbandingan amonium sulfat, ekstrak kasar enzim dan tert-Butanol, pH dan suhu.

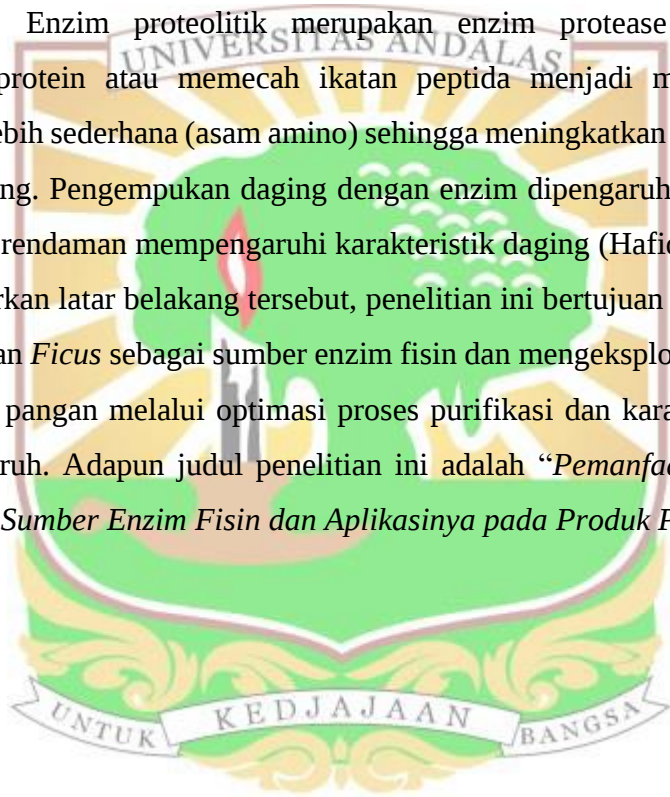
Karakterisasi enzim merupakan tahap yang penting dilakukan untuk menentukan sifat-sifat tertentu dari suatu enzim, sehingga diketahui ketahanannya terhadap kondisi lingkungan tertentu di sekitar enzim tersebut. Dengan menentukan karakter atau sifat enzim, maka dapat mempermudah penggunaan enzim dalam bentuk aplikasi produk. Penentuan karakter atau sifat enzim berhubungan erat dengan berbagai faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim itu sendiri. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, aktivator dan inhibitor (Kuddus, 2019).

Proses penggumpalan susu, yang dikenal dengan istilah *milk clotting*, memainkan peran penting dalam produksi keju dan pengolahan produk olahan susu (Priyashantha *et al.*, 2019). Penggumpalan ini dapat diinduksi melalui aksi enzim protease yang berasal dari berbagai sumber, termasuk hewan, tumbuhan, dan fungi. Secara tradisional, enzim penggumpal susu yang paling umum digunakan adalah rennet, yang diperoleh dari lambung anak sapi atau kambing muda dan

mengandung enzim kimosin (Islam *et al.*, 2022). Enzim protease utama yang terlibat dalam proses penggumpalan susu diklasifikasikan ke dalam tiga kategori utama, yaitu: protease aspartat, protease sistein, dan protease serin.

Efektivitas proses penggumpalan susu dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti pH, suhu, dan keberadaan ion kalsium (Teter *et al.*, 2020). Selain itu, penggunaan protease yang berasal dari tumbuhan semakin mendapatkan perhatian sebagai alternatif potensial pengganti rennet hewani, seiring dengan meningkatnya permintaan terhadap produk keju vegetarian dan halal (Daris *et al.*, 2024; Sukmana *et al.*, 2020). Enzim protease juga dimanfaatkan sebagai pengempuk daging (*meat tenderization*). Enzim proteolitik merupakan enzim protease yang mampu medegradasi protein atau memecah ikatan peptida menjadi molekul-molekul protein yang lebih sederhana (asam amino) sehingga meningkatkan keempukan dan kesan jus daging. Pengempukan daging dengan enzim dipengaruhi oleh pH, suhu dan metode perendaman mempengaruhi karakteristik daging (Hafid *et al.*, 2020).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi tanaman *Ficus* sebagai sumber enzim fisin dan mengeksplorasi aplikasinya dalam produk pangan melalui optimasi proses purifikasi dan karakterisasi enzim yang menyeluruh. Adapun judul penelitian ini adalah “Pemanfaatan Tumbuhan *Ficus* sebagai Sumber Enzim Fisin dan Aplikasinya pada Produk Pangan”.



1.2. Rumusan Masalah

Penelitian terhadap enzim proteolitik dari tanaman, khususnya fisin, telah banyak dilakukan pada spesies *Ficus* tertentu, namun informasi mengenai karakteristik fisin dari berbagai spesies *Ficus spp.* yang tumbuh di Indonesia masih sangat terbatas. Belum diketahui apakah terdapat variasi aktivitas dan sifat biokimia antar spesies tersebut yang dapat berimplikasi pada aplikasi industri.

Metode pemurnian enzim fisin yang efisien dan ramah lingkungan juga masih menjadi tantangan. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah *Three Phase Partitioning* (TPP), namun kondisi optimum metode ini untuk pemurnian fisin dari *Ficus spp.* belum diketahui secara rinci. Selain itu, karakteristik enzim fisin murni yaitu kinetika, stabilitas terhadap suhu dan pH, serta sensitivitas terhadap aktivator dan inhibitor masih perlu dikaji lebih lanjut agar dapat digunakan secara aplikatif.

Lebih jauh, meskipun enzim fisin diketahui memiliki potensi sebagai pengempuk daging dan koagulan susu, data empiris mengenai efektivitasnya dalam dua aplikasi tersebut, terutama dari sumber *Ficus spp.*, masih minim. Hal ini memunculkan pertanyaan-pertanyaan ilmiah yang menjadi dasar penelitian ini, yaitu:

- 1) Apakah terdapat perbedaan karakteristik aktivitas dan sifat biokimia dari enzim fisin kasar yang diperoleh dari *Ficus spp.*?
- 2) Bagaimana kondisi optimum proses *Three Phase Partitioning* (TPP) untuk memperoleh enzim fisin murni dengan aktivitas dan tingkat pemurnian yang tinggi?
- 3) Apa saja karakteristik biokimia dan kinetika enzim fisin murni yang diperoleh, termasuk pengaruh pH, suhu, kofaktor, inhibitor, dan substrat terhadap aktivitasnya?
- 4) Sejauh mana enzim fisin berperan dalam proses pelunakan daging, serta bagaimana suhu dan konsentrasi enzim memengaruhi tingkat keempukan daging?
- 5) Seberapa efektif enzim fisin dari *Ficus spp.* dalam mengkoagulasi susu, dan bagaimana pengaruh suhu terhadap efisiensi proses tersebut?

1.3. Tujuan Penelitian

- 1) Mengidentifikasi dan mengkarakterisasi enzim fisin kasar yang diekstrak dari *Ficus spp.*, untuk mengetahui perbedaan karakteristik biokimia dan aktivitas proteolitik antar spesies.
- 2) Memurnikan enzim fisin dari *Ficus spp.* menggunakan metode *Three Phase Partitioning* (TPP) serta menentukan kondisi optimum pemurnian, meliputi rasio amonium sulfat, rasio volume ekstrak enzim kasar terhadap pelarut organik (tert-butanol), pH, dan suhu.
- 3) Mengkaji karakteristik biokimia dan kinetika enzim fisin murni, termasuk pengaruh pH, suhu, kofaktor, aktivator, inhibitor, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, termostabilitas, serta penentuan berat molekul.
- 4) Mengaplikasikan enzim fisin sebagai pengempuk daging (*meat tenderizer*) serta mengevaluasi pengaruh suhu perendaman dan konsentrasi enzim terhadap efektivitas pelunakan daging.
- 5) Mengaplikasikan enzim fisin sebagai koagulan dalam proses penggumpalan susu (*milk-clotting*) dan menentukan suhu pemanasan yang optimum untuk menghasilkan koagulasi yang efisien.

1.4. Manfaat

- 1) Memberikan kontribusi terhadap ilmu pengetahuan di bidang biokimia enzim dan bioteknologi, khususnya mengenai karakterisasi enzim proteolitik dari tumbuhan *Ficus spp.*
- 2) Melengkapi informasi ilmiah mengenai keragaman spesies penghasil enzim fisin, yang sebelumnya terbatas hanya pada beberapa spesies *Ficus*, sehingga memperkaya basis data tumbuhan lokal yang potensial.
- 3) Mengembangkan pendekatan pemurnian enzim menggunakan metode *Three Phase Partitioning* (TPP) yang efisien, selektif, dan ramah lingkungan, serta dapat direplikasi untuk pemurnian enzim lain dari sumber tumbuhan.
- 4) Menyediakan informasi aplikatif tentang penggunaan enzim fisin sebagai agen pengempuk daging alami (*meat tenderizer*) yang dapat digunakan oleh industri pengolahan daging skala kecil maupun menengah.

- 5) Menyediakan dasar ilmiah bagi pemanfaatan enzim fisin dalam industri pangan, khususnya sebagai koagulan (*milk-clotting agent*) yang berbasis tumbuhan dan halal.
- 6) Mendorong eksplorasi dan pemanfaatan sumber daya hayati lokal Indonesia, khususnya *Ficus spp.*, dalam pengembangan produk berbasis bioteknologi yang berkelanjutan.

1.5. Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini mencakup beberapa aspek utama yang saling terkait untuk memperoleh gambaran menyeluruh mengenai keragaman Penelitian ini difokuskan pada eksplorasi, pemurnian, dan karakterisasi enzim fisin dari beberapa spesies *Ficus spp.* yang tumbuh di Indonesia. Pemurnian dilakukan menggunakan metode Three Phase Partitioning (TPP) dengan variasi kondisi pH, suhu, rasio amonium sulfat, dan tert-butanol. Karakterisasi mencakup aktivitas biokimia, kinetika, stabilitas, serta pengaruh aktivator dan inhibitor. Aplikasi enzim fisin dibatasi pada bidang pangan, yaitu sebagai agen pengempuk daging dan koagulan susu, dengan pengujian efektivitas pada skala laboratorium.\\

1.6. Kebaharuan Penelitian

Penelitian ini menghasilkan enzim fisin dengan pendekatan *Three Phase Partitioning* (TPP) yang dioptimasi secara sistematis dan dapat diaplikasikan pada pengolahan pangan. Berdasarkan hasil ini tumbuhan *Ficus* signifikan dalam pertanian berkelanjutan dan bioteknologi, sehingga relevan untuk diterapkan sebagai tanaman konservasi dalam sistem agroforestri tropis guna mendukung pertanian berkelanjutan dan sebagai sumber enzim fisin. Memperluas pengetahuan tentang keanekaragaman hayati Indonesia sebagai sumber enzim proteolitik nabati.

1.7. Hipotesis

1) Hipotesis Umum

Enzim fisin yang diekstrak dari *Ficus spp.* di Indonesia dapat dimurnikan secara efisien menggunakan metode *Three Phase Partitioning* (TPP), memiliki karakteristik biokimia yang khas, serta berpotensi diaplikasikan secara efektif dalam produk pangan sebagai pengempuk daging dan koagulan susu.

2) Hipotesis Khusus

- a. Terdapat perbedaan aktivitas proteolitik dan karakteristik biokimia antara enzim fisin kasar yang diperoleh dari beberapa spesies *Ficus spp.*
- b. Metode TPP mampu menghasilkan enzim fisin dengan tingkat kemurnian dan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasar.
- c. Enzim fisin murni dari *Ficus spp.* menunjukkan sifat biokimia yang stabil terhadap variasi pH, suhu, serta dipengaruhi oleh konsentrasi substrat, aktivator, dan inhibitor tertentu.
- d. Enzim fisin mampu meningkatkan kemampuan daging secara signifikan, dengan efektivitas yang dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dan suhu perendaman.
- e. Enzim fisin dari *Ficus spp.* efektif sebagai koagulan susu, dengan efisiensi koagulasi yang dipengaruhi oleh suhu pemanasan.

