

**PENGARUH PH, SUHU, DAN WAKTU INKUBASI TERHADAP  
AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM LIPASE  
DARI BUAH SAWIT *OVERRIPE***

**(SKRIPSI)**

**Oleh**

**SALSABILLA AISYAH WIJAYA  
2014051010**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

## **ABSTRACT**

### **EFFECT OF PH, TEMPERATURE, AND INCUBATION TIME ON THE ACTIVITY OF CRUDE LIPASE FROM OVERRIPE PALM FRUIT**

**By**

**SALSABILLA AISYAH WIJAYA**

Lipase enzyme (triacylglycerol hydrolases, E.C. 3.1.1.3) have significant roles in biotechnology, particularly in the hydrolysis of triglycerides into free fatty acids and glycerol, as well as catalyzing esterification and transesterification reactions for biodiesel production. Lipase enzyme can be found in plants, one of which is in overripe palm fruit. Overripe palm fruit has a high free fatty acid (FFA) content, making it no longer suitable for use as a raw material for Crude Palm Oil (CPO). Overripe palm fruit can be maximized for its utilization by isolating the lipase enzyme. Several factors must be considered in enzyme production to achieve high activity, including pH, temperature, and incubation time. This study aimed to determine the effect and optimum conditions of pH, temperature, and incubation time on the activity of crude lipase from overripe palm fruit. This research was conducted using Response Surface Methodology (RSM) through Central Composite Design (CCD), consisting of 3 independent variables that resulted in 20 experimental units. The independent variables used were pH of 5,3; 6; 7; 8; and 8,7, temperatures of 26,6°C; 30°C; 35°C; 40°C; and 43,4°C, and incubation times of 19,8 minutes; 30 minutes; 45 minutes; 60 minutes; and 70,2 minutes. The results showed that pH, temperature, and incubation time affected the activity of the crude lipase from overripe palm fruit. The optimum condition was obtained at pH 5,3 with a temperature of 43,4°C, and an incubation time of 19,8 minutes which resulted in the highest crude lipase activity of 6,87 U/mL.

**Keywords:** activity of crude lipase, overripe palm fruit, biocatalysts

## ABSTRAK

### PENGARUH PH, SUHU, DAN WAKTU INKUBASI TERHADAP AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM LIPASE DARI BUAH SAWIT *OVERRIPE*

Oleh

SALSABILLA AISYAH WIJAYA

Enzim lipase (*triacylglycerol hydrolases*, E.C. 3.1.1.3) memiliki peran penting dalam perkembangan bioteknologi karena mampu menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol, serta mengkatalisis reaksi esterifikasi dan transesterifikasi pada pembuatan biodiesel. Enzim lipase dapat ditemukan pada tanaman, salah satunya terdapat dalam buah sawit *overripe*. Buah sawit *overripe* memiliki kadar asam lemak bebas (ALB) yang tinggi sehingga tidak dapat lagi digunakan sebagai bahan baku *Crude Palm Oil* (CPO). Buah sawit *overripe* dapat dimaksimalkan pemanfaatannya menjadi biokatalis dengan mengisolasi enzim lipase yang terdapat di dalamnya. Beberapa faktor yang harus diperhatikan dalam memproduksi enzim untuk menghasilkan aktivitas yang tinggi diantaranya yaitu pH, suhu, dan waktu inkubasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan kondisi optimum pH, suhu, dan waktu inkubasi terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe*. Penelitian ini dilakukan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) melalui rancangan *Central Composite Design* (CCD) yang terdiri dari 3 variabel bebas yang menghasilkan 20 satuan percobaan. Variabel bebas yang digunakan yaitu pH 5,3; 6; 7; 8; dan 8,7, suhu sebesar 26,6°C; 30°C; 35°C; 40°C; dan 43,4°C, serta waktu inkubasi selama 19,8 menit; 30 menit; 45 menit; 60 menit; dan 70,2 menit. Hasil penelitian menunjukkan variabel pH, suhu, dan waktu inkubasi berpengaruh terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe*. Kondisi optimum diperoleh pada kondisi pH 5,3 dengan suhu sebesar 43,4°C, dan waktu inkubasi selama 19,8 menit yang menghasilkan aktivitas ekstrak kasar enzim lipase tertinggi sebesar 6,87 U/mL.

**Kata kunci:** aktivitas ekstrak kasar enzim lipase, buah sawit *overripe*, biokatalis

**PENGARUH PH, SUHU, DAN WAKTU INKUBASI TERHADAP  
AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM LIPASE  
DARI BUAH SAWIT *OVERRIPE***

Oleh

**SALSABILLA AISYAH WIJAYA**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian  
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2024**

Judul Skripsi : **PENGARUH PH, SUHU, DAN WAKTU  
INKUBASI TERHADAP AKTIVITAS  
EKSTRAK KASAR ENZIM LIPASE  
DARI BUAH SAWIT *OVERRIPE***

Nama : **Salsabilla Aisyah Wijaya**

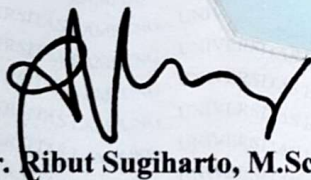
Nomor Pokok Mahasiswa : 2014051010

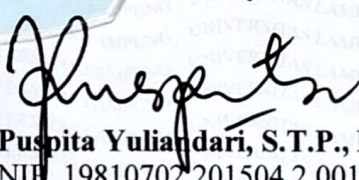
Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas : Pertanian

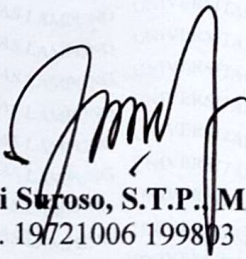


1. Komisi Pembimbing

  
**Dr. Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc.**  
NIP. 19660314 199003 1 009

  
**Puspita Yulian dari, S.T.P., M.Si.**  
NIP. 19810702 201504 2 001

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

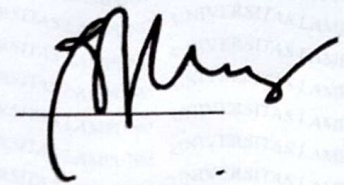
  
**Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., C.EIA.**  
NIP. 19721006 199803 1 005



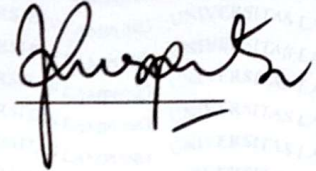
**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

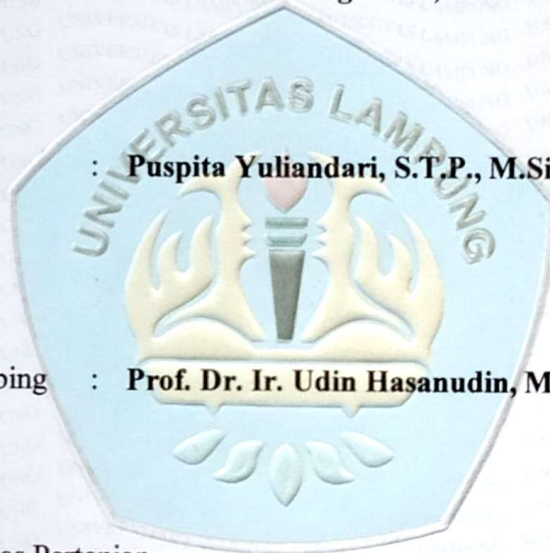
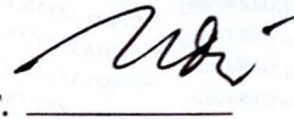
Ketua : **Dr. Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc.**



Sekretaris : **Puspita Yuliandari, S.T.P., M.Si.**



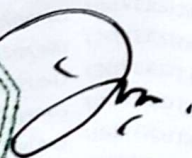
Penguji  
Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Ir. Udin Hasanudin, M.T.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



**Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P.**  
NIP. 19641118 198902 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **20 Desember 2024**

## PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Salsabilla Aisyah Wijaya

NPM : 2014051010

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain dari plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat saya pertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 20 Desember 2024

Pembuat pernyataan



**Salsabilla Aisyah Wijaya**

NPM. 2014051010

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 09 Juli 2002 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Wahyudi Wijaya dan Ibu Wiwik Sriwilujeng, S.P. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 1 Langkapura pada tahun 2014, kemudian melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Negeri 1 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2017. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 9 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2020.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2020 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Tahun 2023, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Bandar Agung, Kecamatan Bandar Negeri Suoh, Kabupaten Lampung Barat. Pada tahun yang sama penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PTPN VIII Kebun Malabar Unit Kertamanah, Kecamatan Pangalengan, Kabupaten Bandung, Provinsi Jawa Barat dengan judul “Mempelajari Proses Produksi Teh Hitam secara *Orthodox* di PTPN VIII Kebun Malabar Unit Kertamanah, Pangalengan, Jawa Barat”

Selama menjadi mahasiswa, penulis menjadi ketua peraih pendanaan pada Program Kreativitas Mahasiswa berjudul “Veggie Sausage: Inovasi Sosis Nabati Berbasis Jantung Pisang dan Tempe sebagai Upaya Meningkatkan Produksi ASI pada Ibu Menyusui” oleh Direktorat Pembelajaran dan Kemahasiswaan. Penulis aktif di Forum Komunikasi Bidikmisi sebagai anggota divisi sosial masyarakat pada tahun 2022. Selain itu, penulis juga pernah menjadi Asisten Praktikum mata kuliah Biologi dan Teknologi Sereal dan Palawija tahun ajaran 2023/2024.



## SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji dan syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Pengaruh pH, Suhu, dan Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari Buah Sawit *Overripe*" dengan baik. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah kepada Baginda Rasulullah Muhammad Shallallahu'alaihi Wasallam. Selama pelaksanaan dan penulisan skripsi, penulis mendapatkan banyak bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis hendak mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Kuswanta Futas Hidayat, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., C.EIA., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
3. Bapak Dr. Ir. Ribut Sugiharto, M.Sc., selaku dosen pembimbing akademik sekaligus dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan banyak bantuan, bimbingan, arahan, saran, nasihat, dan motivasi selama perkuliahan, pelaksanaan, dan penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Puspita Yuliandari S.T.P., M.Si., selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, bantuan, dan motivasi kepada penulis selama pelaksanaan dan penyusunan skripsi.
5. Bapak Prof. Dr. Ir. Udin Hasanudin, M.T., selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran, masukan, arahan, dan evaluasi kepada penulis dalam penyusunan skripsi sehingga skripsi ini dapat lebih baik.

6. Bapak dan Ibu dosen pengajar atas ilmu yang telah diberikan selama perkuliahan, staf administrasi, serta pranata Laboratorium THP atas bantuannya selama penulis melaksanakan penelitian dan perkuliahan.
7. Kedua orang tua tercinta yaitu Ayahanda Wahyudi Wijaya dan Ibunda Wiwik Sriwilujeng, S.P., yang telah merawat dan membesarkan penulis dengan penuh kasih sayang, serta selalu berjuang mengusahakan yang terbaik untuk kehidupan penulis sehingga penulis hingga akhirnya dapat tumbuh dewasa dan berada pada posisi saat ini. Skripsi ini penulis persembahkan untuk ayah dan ibu. Terima kasih karena selalu menjaga penulis dalam doa-doa ayah dan ibu serta membiarkan penulis mengejar impian.
8. Kedua adik tersayang Seisha Rahma Nathaniella Wijaya dan Arfan Hasyif Wijaya yang telah memberikan doa dan kasih sayang kepada penulis.
9. Teman bertukar cerita dan keluh kesah, Deraspeckta Dewangga yang senantiasa menemani penulis dalam proses pelaksanaan dan penyusunan skripsi. Terima kasih selalu ada untuk menguatkan penulis, memberikan banyak bantuan dan dorongan untuk menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
10. Sahabat-sahabat baik penulis Farhah Bintang, Rahma Auliatunnisa, Rina Raffiani, Dewi Harsyah Putri, Alya Nabila, Tania Putri, dan Alif Kurnia yang telah memberikan bantuan dan motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan perkuliahan dan penelitian.
11. Tim penelitian Arum, Victor, Rika, Ade, dan Diah yang berjuang bersama selama pelaksanaan penelitian, memberikan banyak bantuan, dan saling memotivasi untuk tetap menyelesaikan proses yang tidak mudah ini.
12. Seluruh teman-teman dan kakak-kakak THP khususnya seperbimbingan Mba Yesi, Mba Mona, Mba Iga, Mba Hani, Bang Hafiz dan Bang Mukhlis yang telah memberikan saran dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan perkuliahan dan skripsi.
13. *Last but not least*, penulis berterima kasih kepada diri sendiri yang telah bertahan dan berjuang mencapai titik akhir dari segala kesulitan selama fase perkuliahan dan penulisan skripsi. Terima kasih atas kesabaran dan selalu berusaha maju untuk membanggakan orang tua serta orang-orang terdekat.

Penulis sangat menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, namun semua ini dapat dijadikan suatu pengalaman dan proses pembelajaran bagi penulis untuk menjadi lebih baik. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan bagi penulis maupun pembaca.

Bandar Lampung, 20 Desember 2024

Penulis,

**Salsabilla Aisyah Wijaya**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2. Tujuan Penelitian .....	3
1.3. Kerangka Pemikiran .....	3
1.4. Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1. Tanaman Sawit dan Buah Sawit .....	6
2.2. Minyak Sawit .....	8
2.3. Enzim.....	9
2.4. Mekanisme Kerja Enzim .....	11
2.5. Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Enzim.....	12
2.5.1. pH.....	12
2.5.2. Suhu Inkubasi .....	13
2.5.3. Waktu Inkubasi .....	13
2.5.4. Konsentrasi Enzim dan Substrat .....	13
2.5.5. Aktivator dan Inhibitor .....	14
2.6. Enzim Lipase .....	14
2.7. Pemanfaatan Enzim Lipase.....	15
2.8. Aktivitas Enzim Lipase .....	18
2.8.1. Metode Titrimetri.....	18
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>19</b>
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	19
3.2. Bahan dan Alat Penelitian .....	19



3.3. Metode Penelitian.....	19
3.4. Pelaksanaan Penelitian .....	22
3.4.1. Penelitian Pendahuluan .....	22
3.4.2. Penelitian Utama .....	23
3.5. Variabel Pengamatan.....	25
3.5.1. Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase.....	25
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>27</b>
4.1. Penelitian Pendahuluan .....	27
4.2. Penelitian Utama .....	30
4.2.1. Uji Normalitas .....	31
4.2.2. Analisis Sidik Ragam (ANOVA) .....	33
4.2.3. <i>Contour Plot</i> dan <i>Response Surface</i> .....	37
4.2.4. Penentuan Kondisi Optimal .....	47
<b>V. KESIMPULAN .....</b>	<b>50</b>
5.1. Kesimpulan .....	50
5.2. Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>59</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Fraksi tingkat kematangan buah sawit .....	8
2. Komposisi asam lemak pada minyak goreng sawit .....	9
3. Hasil desain <i>response surface</i> .....	20
4. Variabel dan taraf variabel RSM secara faktorial $2^3$ .....	20
5. Rancangan percobaan RSM secara faktorial $2^3$ dengan 3 variabel bebas.....	21
6. Karakteristik minyak goreng sawit .....	27
7. Data hasil analisis aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit <i>overripe</i> .....	30
8. Hasil ANOVA model kuadratik respon aktivitas ekstrak kasar enzim lipase buah sawit <i>overripe</i> .....	33
9. Parameter kondisi optimal pada respon aktivitas enzim .....	48
10. Kondisi optimal aktivitas enzim .....	48

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. (a) buah sawit, (b) penampakan buah sawit .....	7
2. Diagram skematik enzim sederhana tanpa kofaktor .....	9
3. Diagram skematik peran kofaktor dalam reaksi enzimatik .....	10
4. Ilustrasi teori <i>lock and key</i> dan <i>induced fit</i> .....	12
5. Persamaan reaksi hidrolisis dengan enzim lipase .....	15
6. Persamaan reaksi dan mekanisme esterifikasi .....	16
7. Persamaan reaksi transesterifikasi dan mekanisme sintesis biodiesel .	17
8. Diagram alir isolasi ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit <i>overripe</i> .....	24
9. Diagram alir penentuan pH, suhu, dan waktu inkubasi optimum.....	25
10. <i>Normal probability plot</i> residual.....	32
11. Diagram pareto dari efek terstandarisasi.....	35
12. Plot probabilitas normal dari efek terstandarisasi.....	36
13. <i>Contour plot</i> aktivitas enzim sebagai fungsi dari pH dan suhu inkubasi .....	38
14. <i>Response surface</i> aktivitas enzim sebagai fungsi dari pH dan suhu inkubasi .....	38
15. <i>Contour plot</i> aktivitas enzim sebagai fungsi dari pH dan waktu inkubasi .....	41
16. <i>Response surface</i> aktivitas enzim sebagai fungsi dari pH dan waktu inkubasi .....	42
17. <i>Contour plot</i> aktivitas enzim sebagai fungsi dari suhu dan waktu inkubasi .....	44
18. <i>Response surface</i> aktivitas enzim sebagai fungsi dari suhu dan waktu inkubasi .....	45
19. Grafik aktivitas enzim maksimal .....	48
20. Karakterisasi kadar air minyak goreng sawit .....	60

21. Karakterisasi kadar ALB minyak goreng sawit.....	60
22. Penghalusan buah sawit <i>overripe</i> .....	60
23. Penimbangan buah sawit <i>overripe</i> .....	60
24. Pencampuran dengan <i>buffer</i> fosfat.....	61
25. Diamkan 30 menit.....	61
26. Penyaringan .....	61
27. Pemisahan dengan <i>centrifuge</i> .....	61
28. Pencampuran enzim, <i>buffer</i> fosfat, dan minyak goreng sawit.....	62
29. Pencampuran enzim, <i>buffer</i> fosfat, dan minyak goreng sawit.....	62
30. Proses inkubasi .....	62
31. Proses inkubasi .....	62
32. Proses penghentian reaksi .....	63
33. Pengujian aktivitas ekstrak kasar enzim lipase.....	63
34. Hasil uji aktivitas ekstrak kasar enzim lipase .....	63
35. Hasil uji aktivitas ekstrak kasar enzim lipase.....	63



## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang dan Masalah

Kelapa sawit (*Elaeis guineensis*) merupakan salah satu tanaman perkebunan penghasil minyak nabati yang menjadi komoditas pertanian utama dan unggulan di Indonesia. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2024), produksi kelapa sawit di Indonesia mencapai 46,98 juta ton pada tahun 2023. Kelapa sawit yang dimanfaatkan sebagai bahan baku utama dalam produksi *Crude Palm Oil* (CPO) biasanya menggunakan buah yang telah mencapai tingkat kematangan optimal. Hal tersebut karena proses pematangan menyebabkan buah kelapa sawit mengalami perubahan fisik dan kimia yang memengaruhi komposisi dan kualitas minyak yang dihasilkan. Menurut Hudori (2018), semakin tinggi tingkat kematangan buah kelapa sawit, maka semakin tinggi rendemen minyaknya, namun kadar asam lemak bebas (ALB) juga semakin tinggi sehingga dapat menurunkan kualitas minyak sawit. Hal tersebut menyebabkan buah kelapa sawit yang lewat matang (*overripe*) belum banyak dimanfaatkan.

Buah kelapa sawit *overripe* adalah buah yang telah melewati tahap kematangan optimal dan berada dalam kondisi yang terlalu matang. Buah kelapa sawit *overripe* memiliki kandungan ALB yang tinggi. Salah satu faktor penyebab kenaikan ALB adalah akibat peranan dari enzim lipase yang terdapat pada mesokarp buah kelapa sawit (Hudori, 2015). Menurut Sirait *et al.* (2023), enzim lipase terdapat di luar sel penahan minyak pada mesokarp buah kelapa sawit. Apabila terjadi pemecahan sel, maka akan terjadi kontak antara minyak sawit dan enzim lipase sehingga berlangsung proses hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol. Buah sawit *overripe* dengan ketersediaan yang berlimpah dapat dioptimalkan pemanfaatannya dengan mengisolasi enzim lipase yang

terdapat di dalamnya. Penggunaan buah sawit *overripe* dapat membantu mengurangi limbah, mendukung keberlanjutan industri sawit, dan meningkatkan nilai tambah dari buah sawit yang kualitasnya menurun (Bayu *et al.*, 2023).

Enzim lipase (*triacylglycerol hydrolases*, E.C. 3.1.1.3) adalah enzim golongan hidrolase yang mengkatalisis proses hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Supriyatna *et al.*, 2015). Enzim lipase berfungsi sebagai biokatalis yang dimanfaatkan secara luas dalam bidang industri khususnya industri pengolahan lemak dan minyak, oleokimia, pangan, dan farmasi. Enzim ini juga berfungsi sebagai biokatalis dalam reaksi esterifikasi dan transesterifikasi dalam pembuatan biodiesel. Bahan baku yang memiliki kadar asam lemak bebas tinggi seperti *Crude Palm Oil* (CPO) dan *used cooking oil* dapat dimanfaatkan dalam produksi biodiesel dengan reaksi esterifikasi, yang merupakan reaksi antara asam lemak bebas dan metanol dengan bantuan katalis enzim lipase sehingga menghasilkan metil ester (biodiesel) dengan produk samping berupa air (Jayaraman *et al.*, 2020). Biodiesel juga dapat diproduksi melalui reaksi antara trigliserida dan metanol dengan katalis enzim lipase sehingga menghasilkan metil ester (biodiesel) dan gliserol (Nopiani, 2015). Enzim lipase sebagai biokatalis dalam reaksi esterifikasi dan transesterifikasi mampu mempercepat reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasi. Pemanfaatan enzim lipase sebagai biokatalis dalam produksi biodiesel memiliki kelebihan diantaranya mampu bekerja secara spesifik sehingga meminimalkan pembentukan produk samping, dan lebih hemat energi karena bekerja pada kondisi ringan (*mild*) atau tidak memerlukan suhu dan tekanan tinggi (Sholeha dan Agustini, 2021).

Enzim ini mampu bekerja secara efektif saat dalam kondisi yang optimal. Beberapa faktor yang memengaruhi aktivitas enzim diantaranya adalah pH, suhu, dan waktu inkubasi (Nugroho *et al.*, 2022). Enzim lipase bekerja dengan baik pada pH optimum karena muatan gugus samping asam amino berada pada keadaan yang sesuai. Menurut Hutasoit *et al.* (2016), kondisi pH yang tidak sesuai menyebabkan inaktivasi enzim karena rusaknya struktur protein. Enzim lipase juga memerlukan kondisi suhu dan waktu inkubasi yang tepat agar memiliki

aktivitas tinggi dan dapat menghasilkan produk secara optimal (Sholeha dan Agustini, 2021). Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan denaturasi protein, sedangkan semakin lama waktu inkubasi maka semakin tinggi aktivitas enzim lipase, namun jika telah mencapai waktu optimal maka aktivitas enzim lipase akan menurun (Hutasoit *et al.*, 2016). Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pH, suhu, dan waktu inkubasi berpengaruh terhadap aktivitas enzim lipase. Namun, dari penelitian-penelitian tersebut belum terdapat penelitian yang menyatakan besarnya pH, suhu, dan waktu inkubasi yang dapat mengoptimalkan aktivitas enzim lipase. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum pH, suhu dan waktu inkubasi terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase yang bersumber dari buah sawit *overripe* dengan substrat yang digunakan adalah minyak goreng sawit.

## **1.2. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh pH, suhu, dan waktu inkubasi terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe*
2. Mengetahui kondisi optimum pH, suhu, dan waktu inkubasi terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe*.

## **1.3. Kerangka Pemikiran**

Enzim lipase merupakan enzim yang memiliki peran penting dalam perkembangan bioteknologi. Menurut Supriyatna *et al.* (2015), enzim lipase merupakan enzim yang menghidrolisis lemak dan minyak menjadi asam lemak dan gliserol. Enzim lipase juga mampu mengkatalisis reaksi esterifikasi dan transesterifikasi (Aljawish *et al.*, 2019). Enzim lipase secara luas dapat ditemukan pada hewan, tanaman, dan mikroorganisme, salah satunya terdapat dalam buah sawit (Rawi *et al.*, 2004; Maulida *et al.*, 2017). Buah sawit *overripe* merupakan buah yang tidak lagi digunakan sebagai bahan baku *Crude Palm Oil* (CPO) karena telah melewati tingkat kematangan optimal sehingga memiliki kadar asam lemak

bebas (ALB) tinggi yang mampu merusak kualitas CPO (Sofiana dan Yahya, 2015). Kadar ALB yang tinggi disebabkan karena terdapatnya enzim lipase pada buah sawit *overripe*. Dengan demikian, untuk memaksimalkan pemanfaatannya, enzim lipase yang terdapat pada buah sawit *overripe* dapat diisolasi sehingga digunakan sebagai biokatalis.

Faktor-faktor penting yang harus diperhatikan dalam memproduksi enzim untuk menghasilkan aktivitas tinggi diantaranya yaitu kondisi pertumbuhan, cara isolasi, serta jenis substrat yang digunakan. Kondisi pertumbuhan yang menunjang produksi enzim lipase secara maksimal adalah pH, suhu inkubasi, waktu inkubasi (Assegaf, 2017). Menurut Sumarlin *et al.* (2013), penggunaan pH optimum enzim akan membuat muatan gugus samping asam amino berada pada keadaan yang sesuai sehingga enzim sangat efisien dalam mempercepat reaksi. Enzim lipase umumnya tidak aktif pada pH yang ekstrem, hal tersebut karena pH yang ekstrem dapat merusak protein yang merupakan komponen penyusun enzim (Rahman *et al.*, 2004). Sumarlin *et al.* (2013), dalam penelitiannya menguji aktivitas enzim lipase dan selulase dari sampah kulit buah hasil fermentasi dengan substrat minyak goreng sawit yang memvariasikan pH 6 hingga 8, dengan suhu inkubasi 30°C selama 60 menit didapatkan hasil bahwa aktivitas enzim lipase optimum pada pH 7 yaitu sebesar 1,36 U/mL.

Enzim memiliki kondisi optimal dengan adanya perubahan suhu. Laju reaksi akan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu sampai pada batas optimalnya, kemudian aktivitas akan menurun setelah melewati kondisi tersebut karena enzim akan mengalami denaturasi. Menurut Sholeha dan Agustini (2021), suhu yang terlalu rendah akan menyebabkan aktivitas enzim lipase kurang baik, namun suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi pada struktur sekunder protein. Hal tersebut sesuai berdasarkan penelitian Nasution *et al.* (2013), yaitu pengujian aktivitas enzim lipase kasar dari kecambah biji karet (*Hevea brasiliensis*) terhadap substrat *Palm Kernel Oil* (PKO) menggunakan suhu 30°C, 35°C, 40°C, 45°C, 50°C, pH 7 selama 60 menit didapatkan hasil suhu optimum ialah sebesar 40°C dengan aktivitas enzim sebesar 2,432 U/mL. Suhu



yang semakin tinggi yaitu 45°C dan 50°C menyebabkan penurunan aktivitas enzim menjadi 1,520 U/mL dan 0,608 U/mL.

Faktor lainnya yang memengaruhi aktivitas enzim yaitu waktu inkubasi. Menurut Malelak *et al.* (2014), semakin lama waktu inkubasi, maka semakin tinggi aktivitas enzim lipase yang dihasilkan hingga titik optimalnya. Pomeistia dan Bayani (2020) menguji aktivitas enzim lipase dari biji ketapang dan biji rambutan terhadap substrat *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan pH 7,5 suhu 37°C selama 45 menit menunjukkan hasil aktivitas lipase yang cukup tinggi dari biji ketapang dan biji rambutan berturut-turut 2,533 U/mL dan 2,056 U/mL. Penelitian lain oleh Djarkasi *et al.* (2017), menguji aktivitas enzim lipase dari biji kenari *Canarium indicum* terhadap substrat *olive oil* dengan pH 7, suhu 45,73°C selama 30 menit menghasilkan aktivitas enzim lipase yang lebih rendah yaitu 0,328 U/mL.

Penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pH, suhu, dan waktu inkubasi berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan. Namun, penelitian tersebut belum mendapatkan kondisi optimum mengenai pH, suhu, dan waktu inkubasi ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe* dengan substrat minyak goreng sawit. Oleh karena itu, penelitian yang telah dilakukan sebelumnya dijadikan acuan dalam penelitian ini agar dapat diketahui pH, suhu, dan waktu inkubasi optimum dalam peningkatan aktivitas enzim lipase.

#### **1.4. Hipotesis**

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Terdapat pengaruh pH, suhu, dan waktu inkubasi terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe*.
2. Terdapat kondisi optimum pH, suhu, dan waktu inkubasi terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe*.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

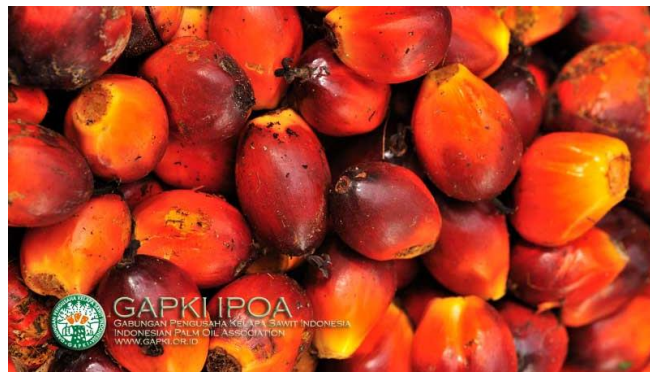
### 2.1. Tanaman Sawit dan Buah Sawit

Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) adalah tanaman monokotil yang tergolong dalam famili palmae. Tanaman kelapa sawit merupakan salah satu komoditi perkebunan yang memiliki nilai jual cukup tinggi dan menjadi penyumbang devisa terbesar bagi negara Indonesia jika dibandingkan dengan komoditi perkebunan lainnya. Kelapa sawit dapat tumbuh baik pada daerah beriklim tropis (15° LU-15° LS) dengan suhu berkisar antara 24°C - 32°C dan kelembaban udara yang tinggi yaitu sebesar 80 - 90% (Lubis, 1992). Menurut Harahap *et al.* (2021), tanaman kelapa sawit dapat tumbuh optimal pada lahan dengan curah hujan yang cukup 1750-3000 mm/tahun dengan penyebaran hujan yang merata sepanjang tahun. Beberapa sifat fisik tanah yang baik untuk tanaman kelapa sawit diantaranya yaitu memiliki struktur tanah kuat dengan ketebalan sebesar 80 cm, mengandung unsur hara yang tinggi, dan bertekstur lempung berpasir (Sunarko, 2009). Setiap tanaman memiliki morfologi yang berbeda-beda sesuai dengan fungsinya masing-masing. Menurut Sunarko (2008), tanaman kelapa sawit terdiri dari dua komponen morfologi utama, yaitu bagian vegetatif (akar, batang, dan daun) dan bagian generatif (bunga dan buah).

Buah sawit merupakan sumber bahan dasar minyak nabati yaitu *Crude Palm Oil* (CPO). Menurut Woittiez *et al.* (2017), dalam satu tandan terdapat lebih dari 2000 buah sawit. Ukuran buah sawit memiliki panjang 2 – 3 cm, berbentuk lonjong membulat dengan massa rata-rata buahnya 13 – 20 gram. Empat lapisan buah kelapa sawit adalah sebagai berikut: eksokarp, yaitu kulit buah yang berlapis lilin dan warnanya bervariasi tergantung pada varietas dan umur buah; mesokarp, yaitu bagian buah yang berserat dan memiliki kandungan minyak paling tinggi;

endokarp, yaitu cangkang pelindung buah di sekitar inti buah; dan kernel (inti buah), yaitu bagian dalam buah kelapa sawit yang mengandung minyak (Pamuji, 2013).

Buah sawit akan mengalami perubahan volume dan massa setiap pertambahan waktu, hal ini menunjukkan adanya peningkatan kandungan kimia serta perkembangan dari struktur buah sawit. Tingkat kematangan buah sawit dapat ditentukan secara visual dari keadaan tandan buah sawit, seperti warna dan jumlah brondolan yang jatuh pada pohon sawit. Tingkat kematangan buah sawit juga dapat ditentukan secara kimia berdasarkan jumlah asam lemak bebas (ALB) yang terkandung. Gambar dan penampakan buah sawit dapat dilihat pada Gambar 1. Fraksi tingkat kematangan buah sawit berdasarkan warna, jumlah brondolan, dan kadar ALB disajikan dalam Tabel 1.



(a)



(b)

Gambar 1. (a) buah sawit, (b) penampakan buah sawit  
Sumber: (Gapki, 2024)

Tabel 1. Fraksi tingkatan kematangan buah sawit

Fraksi	Kategori	Warna Buah Sawit	Warna Mesokarp Buah Sawit	Jumlah Brondolan (%)	Rata-rata Kadar ALB (%)
0	Mentah	Hitam	Kuning	1-12,5 buah luar membrondol	2,349
1	Kurang Matang	Hitam kejinggaan	Kuning	12,5-25 buah luar membrondol	2,672
2	Matang I	Merah kejinggaan	Kuning kejinggaan	25-50 buah luar membrondol	3,097
3	Matang II	Merah kejinggaan	Kuning kejinggaan	50-75 buah luar membrondol	3,323
4	Lewat Matang	Jingga	Kuning kejinggaan	75-100 buah luar membrondol	4,004
5	Buah Busuk	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman	Buah dalam membrondol	4,051

Sumber: (Sari *et al.*, 2019; Sirait *et al.*, 2017; Yanuardi *et al.*, 2023).

## 2.2. Minyak Sawit

Minyak sawit merupakan minyak yang berasal dari ekstraksi mesokarp buah kelapa sawit yang kemudian melalui tahap pemurnian (Yustinah dan Rahayu, 2014), Minyak sawit banyak digunakan karena harganya yang relatif lebih murah, ketersediaannya melimpah, dan memiliki stabilitas terhadap oksidasi yang cukup tinggi (Taufik dan Seftiono, 2018). Penelitian ini menggunakan minyak sawit sebagai substrat. Minyak atau lemak terdiri dari dua komponen utama, yaitu asam lemak dan gliserol. Komposisi asam lemak pada tiap jenis minyak umumnya berbeda-beda. Berdasarkan penelitian Taufik dan Seftiono (2018), minyak sawit memiliki tiga asam lemak dominan, yaitu asam palmitat (C16:0), oleat (C18:1) dan linoleat (C18:2). Komposisi asam lemak pada minyak sawit dapat dilihat pada Tabel 2.

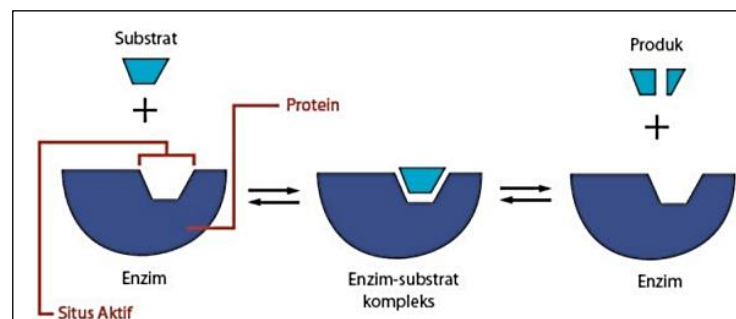
Tabel 2. Komposisi asam lemak pada minyak sawit

No	Jenis Asam Lemak	Konsentrasi Asam Lemak (g/100g)
1.	Asam lemak jenuh	
	• Kaprilat (C8:0)	0,02
	• Laurat (C12:0)	0,17
	• Miristat (C14:0)	0,92
	• Palmitat (C16:0)	37,71
	• Stearat (C18:0)	3,76
	• Arakidat (C20:0)	0,31
2.	Asam lemak tidak jenuh	
	• Palmitoleinat (C16:1)	0,14
	• Oleat (C18:1)	42,56
	• Linoleat (C18:2)	13,59
	• $\alpha$ -linolenat (C18:3)	0,27
	• Eikosenat (C20:1)	0,00

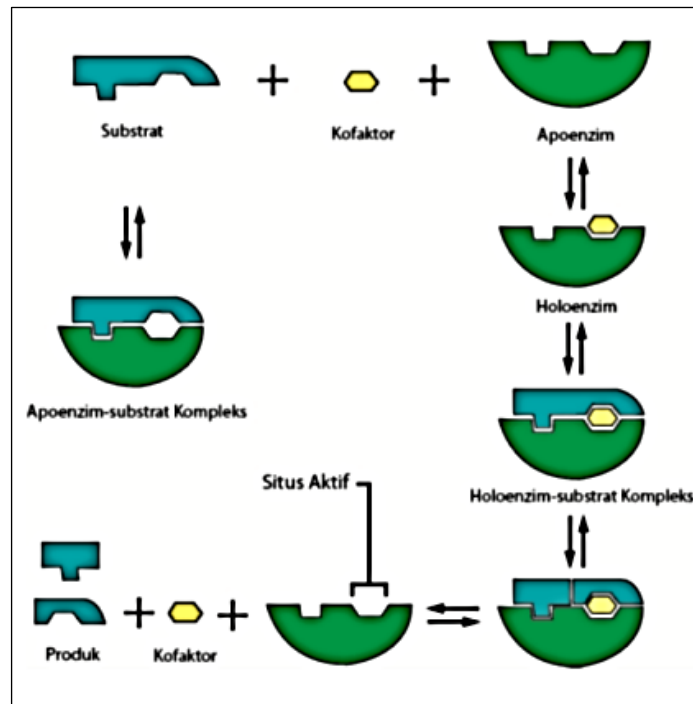
Sumber: (Taufik dan Seftiono, 2018)

### 2.3. Enzim

Enzim merupakan protein yang berfungsi sebagai katalis untuk mempercepat reaksi kimia. Menurut Sutrisno (2017), analisis kristalografi sinar X membuktikan bahwa enzim tersusun atas protein. Protein enzim tersebut dapat tersusun dari protein saja, maupun dari protein kompleks, kombinasi antara protein (apoprotein) dengan kofaktor. Diagram skematik enzim sederhana dan enzim dengan kofaktor dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.



Gambar 2. Diagram skematik enzim sederhana tanpa kofaktor  
Sumber: (Sutrisno, 2017)



Gambar 3. Diagram skematik peran kofaktor dalam reaksi enzimatik  
 Sumber: (Sutrisno, 2017)

Menurut Robinson (2015), enzim sebagai biokatalis memiliki tiga karakteristik utama yaitu mampu mempercepat reaksi, bekerja secara selektif dan dalam kondisi yang sedang (tidak ekstrem), serta bersifat *biodegradable* (dapat terurai secara biologis) sehingga lebih ramah lingkungan. Kecepatan reaksi dapat dipercepat dengan enzim hingga  $10^8 - 10^{11}$  jika dibandingkan dengan reaksi tanpa melibatkan enzim (Sutrisno, 2017). Enzim memiliki kemampuan untuk menurunkan energi aktivasi, yaitu jumlah energi yang dibutuhkan untuk membawa proses kimia ke keadaan transisi, atau keadaan dengan tingkat energi tertinggi. Reaksi yang dikatalisis oleh enzim membutuhkan lebih sedikit energi karena memiliki energi aktivasi yang lebih rendah. Untuk dapat bekerja secara efektif, enzim harus berada dalam keadaan pH dan suhu tertentu.

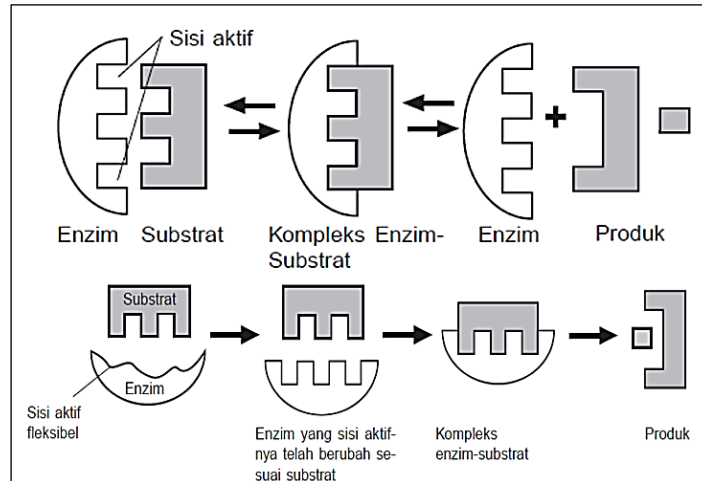
Enzim telah dimanfaatkan secara luas pada berbagai industri diantaranya pertanian, kimia, dan obat-obatan. Pemanfaatan enzim juga banyak diaplikasikan dalam industri makanan, deterjen, penyamakan kulit, kosmetik, dan lain-lain (Moon dan Parulekar, 1993). Enzim dapat dimanfaatkan secara langsung

menggunakan enzim hasil isolasi maupun dengan memanfaatkan mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim yang dibutuhkan. Enzim dapat diperoleh dari makhluk hidup seperti hewan, tumbuhan dan mikroorganisme (Pomeistia dan Bayani, 2021).

#### **2.4. Mekanisme Kerja Enzim**

Mekanisme kerja enzim dalam suatu reaksi yaitu melalui pembentukan kompleks enzim-substrat (Putri, 2012). Substrat yang terikat pada sisi aktif enzim menyebabkan berubahnya keadaan substrat sehingga berada dalam keadaan transisi dan akibatnya mengalami perubahan konformasi transisi yang diperlukan agar dapat diubah menjadi produk. Bentuk sisi aktif enzim dan kespesifikan substrat memiliki dampak yang signifikan terhadap pembentukan molekul kompleks enzim substrat. Menurut Apriyanto (2021), terdapat dua teori yang mendukung penjelasan pembentukan kompleks enzim substrat. Teori yang pertama adalah teori *lock and key* (gembok-kunci) dan teori yang kedua yaitu *induced fit* (kecocokan terinduksi).

Teori pertama yang diajukan oleh Emil Fisher yaitu teori *lock and key* menjelaskan bahwa adanya kespesifikan enzim terhadap substrat tertentu yang bentuknya sesuai dengan sisi aktif enzim. Menurut Sutrisno (2017), enzim berinteraksi dengan substrat membentuk kompleks enzim-substrat seperti interaksi kunci (substrat) yang masuk ke dalam gembok (enzim). Interaksi tersebut menyebabkan terjadinya proses katalisis, residu-residu asam amino pada sisi aktif bekerja untuk menghasilkan produk. Produk yang dihasilkan akan dilepaskan dan enzim dapat mengikat substrat berikutnya. Teori kedua adalah teori yang diajukan oleh Koshland yaitu teori *induced fit* yang menjelaskan bahwa sisi aktif enzim bersifat tidak kaku/fleksibel dan substrat akan menginduksi suatu perubahan bentuk sisi aktif enzim sehingga dapat dengan mudah berikatan untuk membentuk kompleks enzim-substrat (Sutrisno, 2017). Ilustrasi teori *lock and key* dan *induced fit* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Ilustrasi teori *lock and key* dan *induced fit*  
 Sumber: (Putri *et al.*, 2023)

## 2.5. Faktor yang Memengaruhi Aktivitas Enzim

Kemampuan enzim dalam mengkatalisis reaksi kimia dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kondisi lingkungan yang meliputi pH, suhu, waktu inkubasi, konsentrasi enzim dan substrat, serta aktivator dan inhibitor.

### 2.5.1. pH

Pada reaksi enzimatik, derajat keasaman (pH) adalah salah satu variabel yang paling penting untuk diperhatikan karena enzim hanya dapat berfungsi pada tingkat pH tertentu. pH yang ideal adalah pH yang memungkinkan enzim berfungsi pada tingkat aktivitas maksimumnya. Enzim menjadi tidak aktif atau bahkan mengalami kerusakan pada pH tertentu. Hal ini dikarenakan enzim tersusun dari molekul protein. Enzim dengan pH amfolitik biasanya memiliki konstanta disosiasi pada gugus asam dan basa, terutama pada gugus residu terminal karboksil dan gugus terminal amino (Sutisna, 2014). Perubahan aktivitas enzim dengan adanya perubahan pH disebabkan oleh perubahan ionisasi enzim, substrat atau kompleks enzim-substrat. Struktur tiga dimensi protein akan terganggu dengan perubahan pH yang ekstrem dan menyebabkan denaturasi protein (Whitaker, 1996).



### **2.5.2. Suhu Inkubasi**

Suhu berpengaruh terhadap reaksi enzimatik. Peningkatan suhu secara umum akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia, namun laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim akan mulai melambat dan berhenti pada suhu tertentu. Suhu optimum didefinisikan sebagai suhu dimana enzim dapat menunjukkan aktivitas maksimumnya. Suhu tinggi mampu merusak enzim sehingga aktivitasnya menurun. Hal ini dikarenakan terjadinya denaturasi atau kerusakan struktur enzim yang dapat menyebabkan kerusakan enzim baik secara keseluruhan maupun sebagian terutama pada sisi aktifnya (Edison *et al.*, 2024).

### **2.5.3. Waktu Inkubasi**

Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh waktu inkubasi yaitu semakin lama enzim diinkubasi, semakin banyak produk yang dihasilkan, akan tetapi, laju pembentukan produk tidak selalu berbanding lurus dengan waktu inkubasi. Hal ini disebabkan karena protein secara bertahap kehilangan fungsi katalitiknya. Enzim akan mencapai kondisi optimal dimana semua sisi aktifnya telah berinteraksi dengan substrat dan menghasilkan aktivitas paling tinggi. Setelah mencapai titik optimum, waktu inkubasi yang semakin lama dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim akibat denaturasi atau inaktivasi enzim (Malelak *et al.*, 2014).

### **2.5.4. Konsentrasi Enzim dan Substrat**

Mekanisme enzim dalam suatu reaksi yaitu melalui pembentukan kompleks enzim-substrat. Enzim lipase termasuk dalam enzim induktif yang sangat dipengaruhi oleh adanya konsentrasi minyak atau lemak di dalam substrat (Nopiani, 2015). Laju reaksi enzimatik secara langsung dipengaruhi oleh konsentrasi enzim yaitu dengan meningkatnya konsentrasi enzim, maka laju reaksi juga meningkat (Nurhaeni, 2015). Terdapat hubungan yang menunjukkan bahwa kecepatan reaksi akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat, namun pada konsentrasi substrat yang tinggi, laju reaksi dapat berhenti.

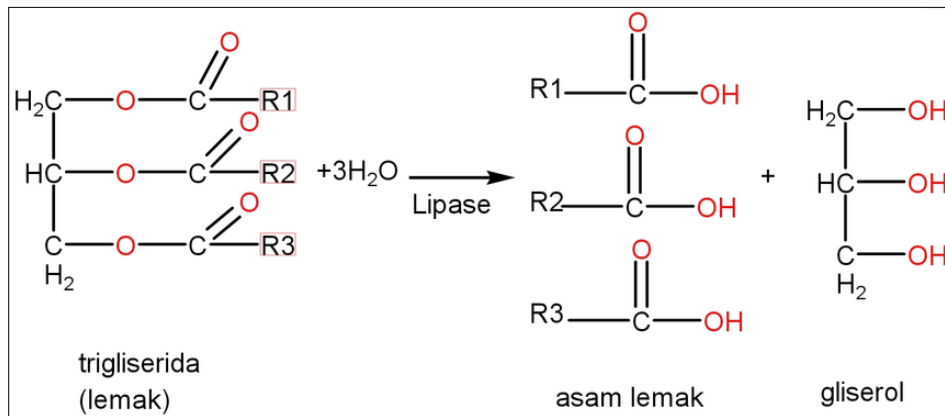
Hal ini disebut sebagai kecepatan maksimal ( $V_{max}$ ) karena konsentrasi substrat mencapai kejenuhan dan kecepatan reaksi mencapai titik maksimal (Fathimah *et al.*, 2014).

### 2.5.5. Aktivator dan Inhibitor

Proses enzimatik dapat dipercepat oleh senyawa atau ion yang dikenal sebagai aktivator. Aktivator pada umumnya ialah ion-ion logam yang dapat terikat atau mudah terlepas dari enzim seperti  $K^+$ ,  $Mn^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Cu^{++}$ , atau  $Zn^{++}$  (Putri, 2012). Ion logam mampu mendukung efisiensi katalitik enzim dengan cara mengikat substrat pada sisi pemotongan. Beberapa ion logam juga dapat mengikat enzim secara langsung untuk menstabilkan konformasi aktifnya atau menginduksi formasi sisi aktif enzim (Sulistiyowati *et al.*, 2016). Inhibitor adalah senyawa kimia yang memiliki kemampuan untuk mencegah kerja enzim. Inhibitor bekerja dengan menyerang sisi aktif enzim sehingga mencegahnya berikatan dengan substrat dan merusak aktivitas katalitiknya. (Putri, 2012).

## 2.6. Enzim Lipase

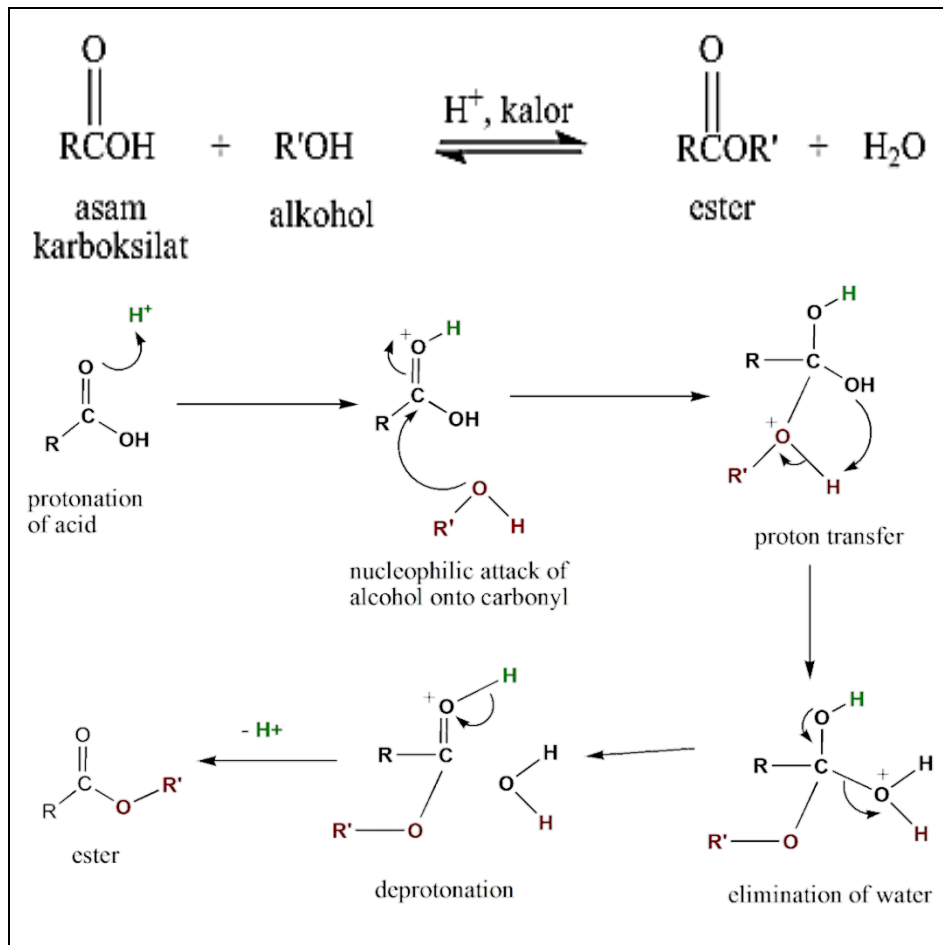
Enzim lipase atau *triacylglycerol hydrolases* (E.C 3.1.1.3) merupakan enzim yang dapat menghidrolisis rantai panjang trigliserida (Sholeha dan Agustini, 2021). Keterangan dari kode enzim ini yaitu sebagai berikut: 3 *Hydrolases*, 1 *Acting on ester bonds*, 1 *Carboxylic-ester hydrolases*, 3 *triacylglycerol lipase* (Bornscheuer, 1995). Enzim lipase merupakan enzim hidrolase yang berperan sebagai biokatalis dalam menghidrolisis lemak mono-, di-, dan trigliserida untuk menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol. Menurut Hutasoit *et al.* (2016), enzim ini memiliki sifat khusus yaitu memecahkan ikatan ester pada lemak dan gliserol. Persamaan reaksi hidrolisis dapat dilihat lebih jelas pada Gambar 5.



Gambar 5. Persamaan reaksi hidrolisis dengan enzim lipase  
Sumber: (Sholeha dan Agustini, 2021)

## 2.7. Pemanfaatan Enzim Lipase

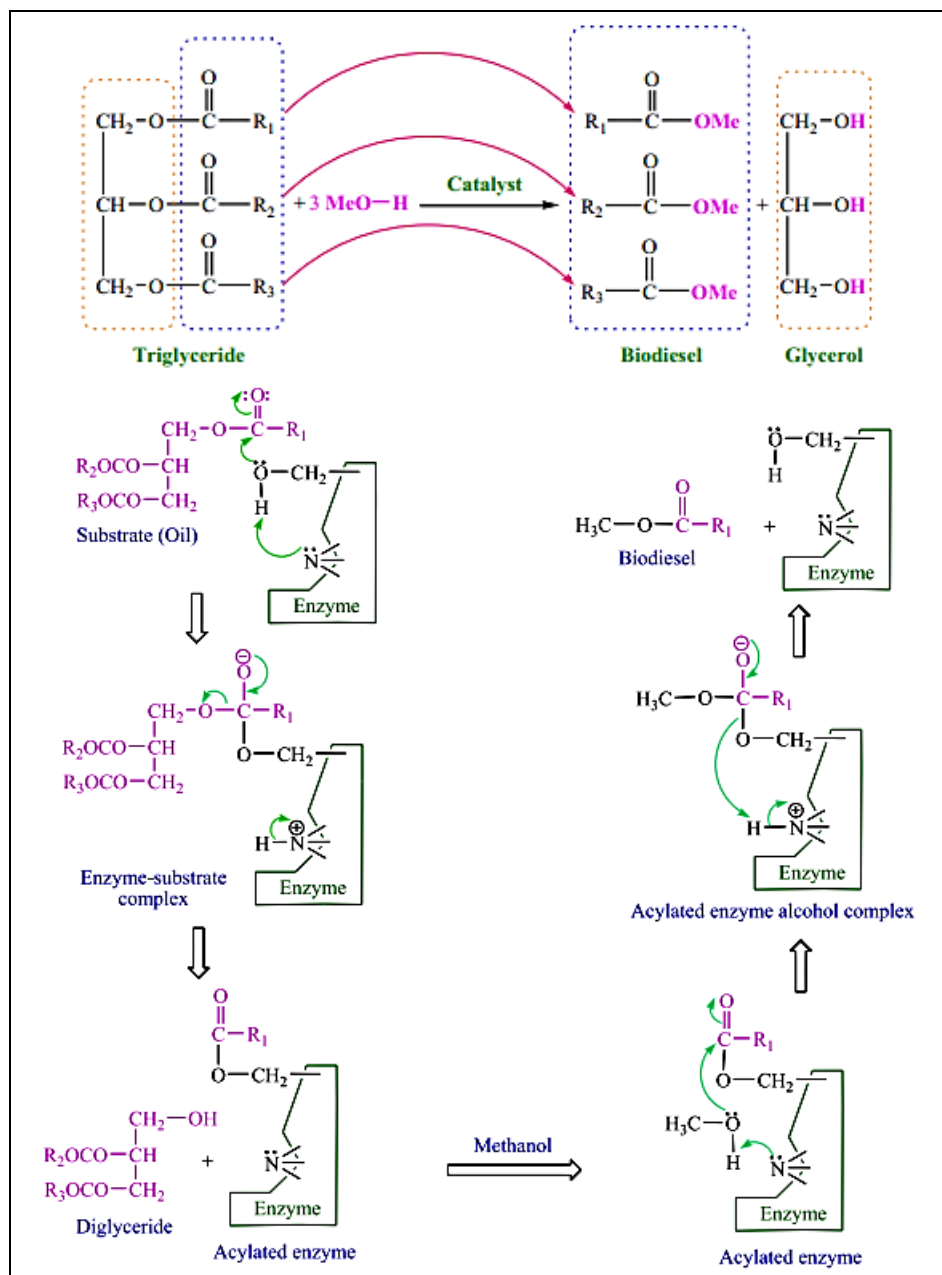
Menurut Sholeha dan Agustini (2021), lipase adalah protein kompleks yang berfungsi sebagai biokatalisator. Fungsi enzim sebagai biokatalisator yaitu dengan mempercepat reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasi, sehingga reaksi akan berlangsung lebih cepat jika dibandingkan dengan keadaan normal. Lipase mampu mengkatalisis reaksi esterifikasi, dan transesterifikasi (Sholeha dan Agustini, 2021). Reaksi esterifikasi merupakan reaksi antara asam lemak bebas dan metanol dengan katalis enzim sehingga menghasilkan metil ester (biodiesel) dan air (Jayaraman *et al.*, 2020). Mekanisme reaksi esterifikasi diawali dengan terjadinya transfer proton dari katalis enzim ke atom oksigen karbonil, sehingga meningkatkan elektrofilitas dari atom karbon karbonil. Atom karbon karbonil kemudian diserang oleh elektron atom oksigen dari gugus alkohol yang bersifat nukleofilik sehingga terbentuk ion oksonium, lalu terjadi pelepasan proton dari gugus hidroksil alkohol menghasilkan kompleks teraktivasi. Sebuah ester terbentuk ketika salah satu gugus hidroksil terprotonasi dan molekul air dilepaskan (Canacki dan Gerpen, 1999). Persamaan reaksi dan mekanisme esterifikasi dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Persamaan reaksi dan mekanisme esterifikasi  
(Sumber: Canacki dan Gerpen, 1999).

Reaksi transesterifikasi adalah reaksi antara trigliserida dengan alkohol rantai pendek seperti metanol atau etanol menghasilkan metil ester (biodiesel) dan gliserol sebagai produk samping (Arita *et al.*, 2020). Jenis katalis yang umum digunakan yaitu katalis basa dan katalis enzim, namun katalis enzim memiliki keunggulan dibandingkan katalis basa diantaranya dapat bereaksi pada suhu yang rendah, rasio metanol terhadap minyak lebih sedikit, dan lebih ramah lingkungan. Pembentukan biodiesel diawali dengan interaksi antara substrat (minyak) dengan enzim membentuk kompleks enzim-substrat, kemudian enzim terasilasi dan melepaskan satu molekul digliserida. Enzim terasilasi berinteraksi dengan molekul metanol sehingga menghasilkan kompleks alkohol-enzim terasilasi dan metanol berperan sebagai donor gugus metil untuk pembentukan biodiesel. Kompleks alkohol-enzim terasilasi menghasilkan satu molekul biodiesel (metil

ester) dan mengembalikan enzim ke bentuk awalnya (regenerasi enzim). Enzim yang telah diregenerasi kembali berinteraksi dengan digliserida, memulai siklus yang sama seperti tahap sebelumnya untuk menghasilkan biodiesel. Proses ini terus berlangsung hingga semua substrat terkonversi menjadi biodiesel (Kalita *et al.*, 2022). Persamaan reaksi transesterifikasi dan mekanisme sintesis biodiesel yang dikatalisis dengan katalis enzim disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Persamaan reaksi transesterifikasi dan mekanisme sintesis biodiesel  
Sumber: (Kalita *et al.*, 2022)

## 2.8. Aktivitas Enzim Lipase

Aktivitas enzim merupakan besarnya kemampuan enzim dalam mengkatalisis reaksi (Sholeha dan Agustini, 2021). Aktivitas enzim dinyatakan dengan unit/mL. Unit enzim (U) dinyatakan sebagai jumlah enzim yang melakukan katalisis sehingga terjadi perubahan satu mikromol ( $1 \times 10^6$  mol) substrat per menit. Cara penentuan aktivitas enzim lipase diantaranya dapat menggunakan metode titrimetri. Penelitian ini menggunakan metode titrimetri dalam menentukan aktivitas enzim lipase.

### 2.8.1. Metode Titrimetri

Aktivitas enzim lipase dapat ditentukan dengan mengukur pembentukan produk (asam lemak bebas) menggunakan titrasi dengan larutan basa dan mengasumsikan bahwa jumlah basa titrasi sama dengan jumlah asam lemak bebas yang terhidrolisis oleh lipase (Nopiani, 2015). Batas akhir titrasi ditandai dengan penambahan indikator fenolftalein (PP) yang akan memberikan perubahan warna dari tidak berwarna menjadi warna merah muda. Nilai aktivitas lipase dihitung berdasarkan selisih volume titran sampel dengan blanko (standar). Titrasi dilakukan setelah campuran enzim dan substrat diinkubasi dan dihentikan reaksinya dengan penambahan larutan campuran aseton dan etanol (1:1). Larutan campuran ini berfungsi untuk menghidrolisis protein enzim lipase sehingga reaksi enzim akan berhenti disebabkan rusaknya protein (Pereira *et al.*, 2001). Metode ini banyak digunakan karena kemudahan dan keakuratannya.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Analisis Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung pada bulan Juli sampai dengan September 2024.

#### 3.2. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah buah sawit *overripe* dan minyak goreng sawit. Bahan-bahan lainnya adalah larutan *buffer* fosfat pH (5,3, 6, 7, 8, dan 8,7), aseton, etanol, NaOH, indikator phenolpetalien (PP), dan aquades. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas beaker 50 mL; 100 mL; 500 mL, gelas ukur 50 mL; 100 mL, labu Erlenmeyer 250 mL, labu volume, *overhead stirrer*, mortal dan alu, timbangan analitik, oven, desikator, cawan porselen, pipet tetes, pipet gondok, termometer, pH meter, kertas saring, corong gelas, buret, *aluminium foil*, *centrifuge*, *waterbath*, statif, dan klem.

#### 3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode respon permukaan (*Response Surface Methodology*) dengan rancangan *Central Composite Design*. Penggunaan metode respon permukaan ini bertujuan untuk mengetahui nilai optimum (pH, suhu, dan waktu inkubasi) terhadap aktivitas enzim lipase dari buah sawit *overripe*. *Response Surface Methodology* (RSM) adalah metode desain eksperimen yang mengkombinasikan metode statistik dan analisa terhadap grafik/plot untuk memperoleh titik optimal dari faktor-faktor yang diujikan

terhadap respon yang dihasilkan (Widarsaputra *et al.*, 2022). Cara yang digunakan pada metode ini yaitu dengan mencari tempuhan titik tengah dan tempuhan lengan bintang (*star arm runs*). *Response Surface Methodology* (RSM) berfungsi untuk mengembangkan, meningkatkan, dan mengoptimalkan proses (Prabudi *et al.*, 2018). Penelitian ini dilakukan menggunakan tiga variabel bebas yaitu pH, suhu dan waktu inkubasi ekstrak kasar enzim lipase pada 5 level ( $-\alpha$ , -1, 0, +1,  $+\alpha$ ). *Central Composite Design* akan menghasilkan 20 satuan percobaan dengan 14 *non center points* ( $2^3$  *factorial points* dan 6 *axial points*) serta 6 *center points* (Tabel 3). Variabel dan taraf variabel pada RSM disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 3. Hasil desain *response surface*

<i>Central Composite Design</i>	<i>Total</i>	<i>Total</i>
<i>Factors</i>	3	<i>Replicate</i> 1
<i>Base Runs</i>	20	<i>Total runs</i> 20
<i>Blocks</i>	1	<i>Total bloks</i> 1
<b><i>Poin Types</i></b>		
<i>Cube points</i>	8	
<i>Center points in cube</i>	6	
<i>Axial points</i>	6	
<i>Center points in axial</i>	0	
<b><math>\alpha = 1,682</math></b>		

Keterangan:

$$\alpha = \sqrt[4]{2^k}$$

k = jumlah faktor atau variabel bebas

sehingga,  $\alpha = \sqrt[4]{2^3} = 1,682$

Tabel 4. Variabel dan taraf variabel RSM secara faktorial  $2^3$

No	Variabel	Taraf Variabel				
		$-\alpha$ -1,682	Rendah -1	Tengah 0	Tinggi +1	$+\alpha$ +1,682
1	pH	5,3	6	7	8	8,7
2	Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ )	26,6	30	35	40	43,4
3	Waktu (menit)	19,8	30	45	60	70,2

Keterangan:

$$\pm 1,682 = \frac{X - \text{Nilai Tengah}}{\text{Selisih Taraf}}$$



Faktor perlakuan pH yang digunakan yaitu 5,3, 6, 7, 8, dan 8,7. Suhu inkubasi yang digunakan yaitu 26,6°C, 30°C, 35°C, 40°C dan 43,4°C. Waktu inkubasi yang digunakan yaitu 19,8 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit, dan 70,2 menit (Tabel 4). Variabel respon pada penelitian ini yakni aktivitas enzim lipase. Data variabel respon yang diperoleh akan dilakukan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengevaluasi signifikansi statistik dan menguji *Lack of fit*. Setelah itu, dilakukan optimasi untuk mengetahui respon terbaik dengan program Minitab 19 (Anderson dan Whitcomb, 2017). Rancangan percobaan yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Rancangan percobaan RSM secara faktorial  $2^3$  dengan 3 variabel bebas

Run	Taraf Variabel			Variabel			Kode Sampel
	P	S	W	P	S (°C)	W (min)	
1	-1	-1	-1	6	30	30	P1
2	+1	-1	-1	8	30	30	P2
3	-1	+1	-1	6	40	30	P3
4	+1	+1	-1	8	40	30	P4
5	-1	-1	+1	6	30	60	P5
6	+1	-1	+1	8	30	60	P6
7	-1	+1	+1	6	40	60	P7
8	+1	+1	+1	8	40	60	P8
9	-1,682	0	0	5,3	35	45	P9
10	+1,682	0	0	8,7	35	45	P10
11	0	-1,682	0	7	26,6	45	P11
12	0	+1,682	0	7	43,4	45	P12
13	0	0	-1,682	7	35	19,8	P13
14	0	0	+1,682	7	35	70,2	P14
15	0	0	0	7	35	45	P15
16	0	0	0	7	35	45	P16
17	0	0	0	7	35	45	P17
18	0	0	0	7	35	45	P18
19	0	0	0	7	35	45	P19
20	0	0	0	7	35	45	P20

Keterangan:

P = pH

S = Suhu (°C)

W = Waktu (menit)

### 3.4. Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan yang dilakukan pada penelitian ini berupa karakterisasi substrat yang digunakan yaitu minyak sawit. Karakterisasi meliputi analisis kadar air dan kadar asam lemak bebas pada minyak sawit.

##### 1. Analisis kadar air minyak sawit

Analisis kadar air dilakukan mengikuti penelitian Lembang *et al.* (2016), menggunakan metode oven dengan prinsip kehilangan bobot dengan pemanasan pada suhu 105°C dianggap sebagai kadar air yang terdapat dalam sampel. Prosedur kerja diawali dengan dipanaskan cawan porselen di dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, kemudian didinginkan dalam desikator selama 20 menit dan ditimbang. Selanjutnya, sampel minyak goreng sawit sebanyak 2-5 g dimasukkan pada cawan dan ditimbang. Sampel dipanaskan pada oven suhu 105°C selama 3 jam. Jika sudah selesai, dinginkan dalam desikator selama 20 menit dan ditimbang. Prosedur diulang hingga diperoleh bobot tetap. Perhitungan kadar air menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar Air} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan:

W0 = Bobot cawan kosong (g)

W1 = Bobot cawan + sampel sebelum dikeringkan (g)

W2 = Bobot cawan + sampel setelah dikeringkan (g)

##### 2. Analisis kadar asam lemak bebas minyak sawit

Analisis kadar asam lemak bebas dilakukan mengikuti SNI-7709-2019 dengan proses titrimetri. Prinsip analisis kadar asam lemak bebas yaitu pelarutan

sampel dalam pelarut organik. Prosedur kerja diawali dengan ditimbang sebanyak 28-56 g minyak goreng sawit, dimasukkan ke labu Erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan 50 mL etanol 95% hangat. Kemudian, ditambahkan 5 tetes indikator fenolftalein dan dilakukan titrasi menggunakan larutan titar (KOH 0,1 N) dengan cara mengoyangkan labu Erlenmeyer hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda yang stabil minimal 30 detik. Dicatat volume larutan KOH yang diperlukan. Perhitungan kadar asam lemak bebas dilakukan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar Asam Lemak Bebas} = \frac{25,6 \times N \times V}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

25,6 = Konstanta untuk menghitung kadar ALB sebagai asam palmitat

N = Normalitas KOH

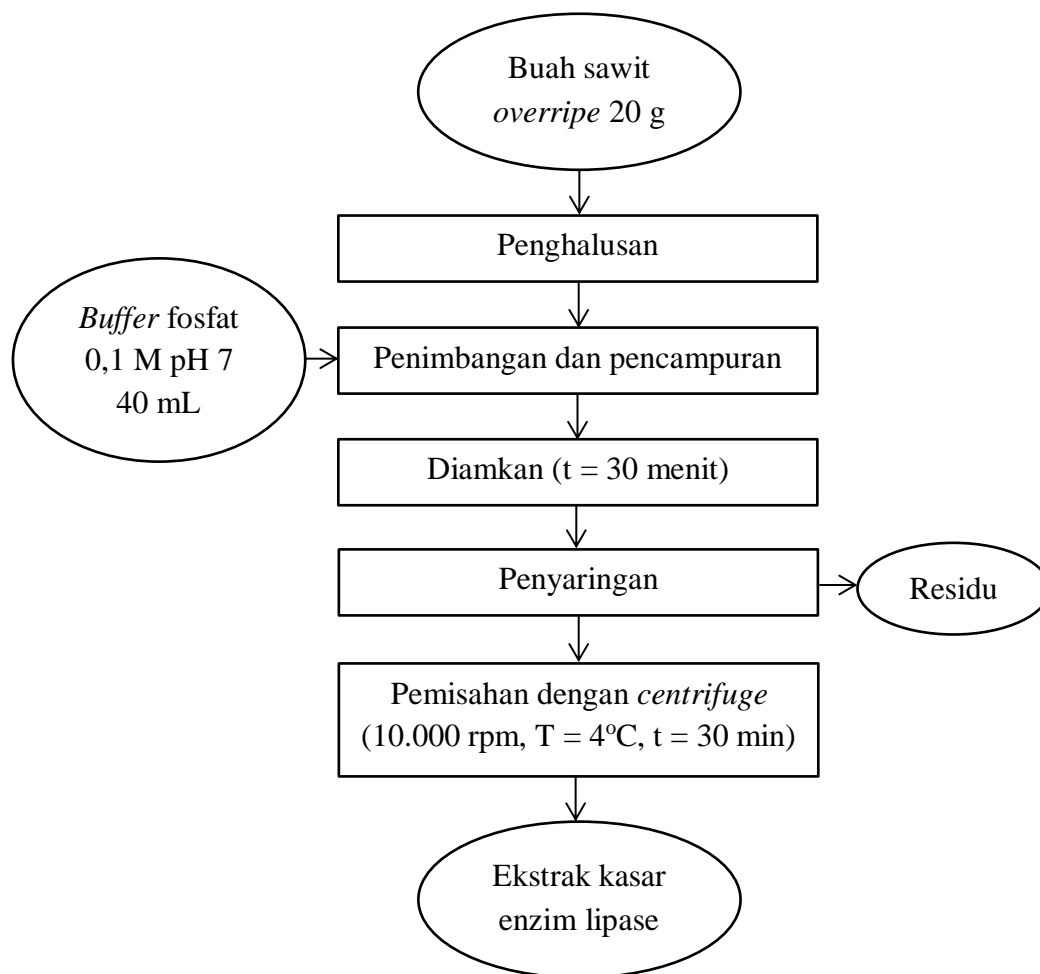
V = Volume KOH (mL)

W = Bobot sampel (g)

### 3.4.2. Penelitian Utama

#### 1. Isolasi ekstrak kasar enzim lipase

Proses isolasi ekstrak kasar enzim lipase buah sawit dilakukan berdasarkan penelitian Kimtun *et al.* (2015) yang dimodifikasi. Persiapan isolasi ekstrak kasar enzim lipase buah sawit dilakukan dengan tahap awal ditimbang buah sawit *overripe* sebanyak 20 g, dihaluskan, dan dicampurkan *buffer fosfat* 0,1 M pH 7 sebanyak 40 mL, kemudian didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan residu, dan dilakukan proses pemisahan menggunakan *centrifuge* dengan kecepatan 10.000 rpm dengan suhu 4°C selama 30 menit sehingga dihasilkan ekstrak kasar enzim lipase. Prosedur kerja dapat dilihat pada Gambar 8.

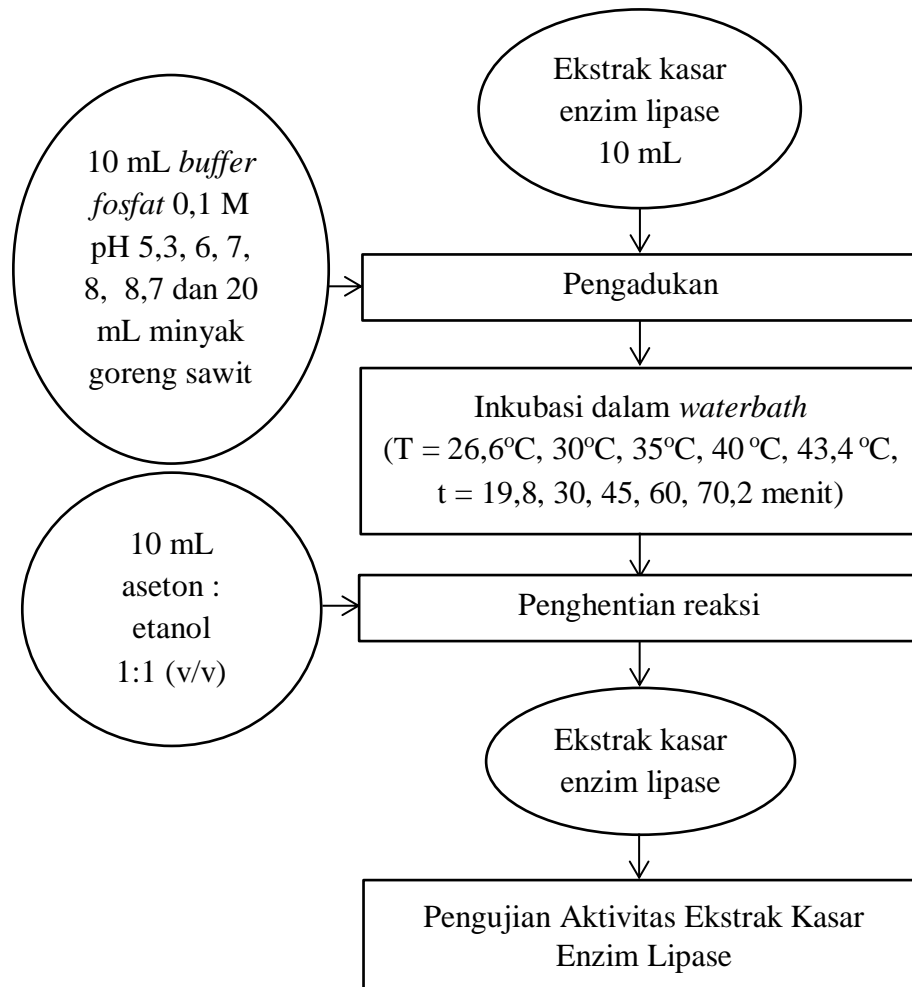


Gambar 8. Diagram alir isolasi ekstrak kasar enzim lipase buah sawit *overripe*  
Sumber: (Kimtun *et al.*, 2015) yang dimodifikasi

## 2. Penentuan pH, suhu, dan waktu inkubasi optimum

Penelitian utama dilakukan untuk menentukan pH, suhu, dan waktu inkubasi optimum. Prosedur kerja diawali dengan disiapkan ekstrak kasar enzim lipase 10 mL yang dimasukkan kedalam Erlenmeyer, ditambahkan 10 mL *buffer fosfat* 0,1 M pH 5,3, 6, 7, 8, dan 8,7, dan 20 mL minyak goreng sawit kemudian dilakukan pengadukan. Setelah itu, diinkubasi dalam *waterbath* yang disertai pengadukan dengan suhu 26,6°C, 30°C, 35°C, 40°C, 43,4°C selama 19,8 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit dan 70,2 menit. Setelah proses selesai, dilakukan penghentian reaksi dengan ditambahkan 10 mL aseton dan etanol perbandingan 1:1 (v/v). Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas

ekstrak kasar enzim lipase. Diagram alir penentuan pH, suhu, dan waktu inkubasi optimum dari ekstrak kasar enzim lipase buah sawit *overripe* dapat dilihat jelas pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram alir penentuan pH, suhu, dan waktu inkubasi optimum  
Sumber: (Nopiani, 2015) yang dimodifikasi

### 3.5. Variabel Pengamatan

#### 3.5.1. Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase

Aktivitas lipase menyatakan jumlah enzim yang mampu menghidrolisis jumlah lemak dan minyak dalam satuan waktu. Setiap 1 ml NaOH 0,05 M setara dengan 100 unit aktivitas lipase. Uji aktivitas lipase dilakukan dengan metode titrimetri

(titrasi asam basa) menurut penelitian Nopiani (2015). Sampel hasil hidrolisis tambahkan 5 tetes indikator PP 1% dan titrasi dengan larutan standar NaOH 0,05 M. Titrasi dihentikan pada saat terjadi perubahan warna larutan menjadi merah muda. Untuk penentuan blanko dilakukan dengan komposisi larutan yang sama, tetapi saat dimasukkan larutan enzim dengan segera ditambahkan campuran aseton : etanol (1:1) sebanyak 10 mL, lalu titrasi dengan prosedur yang sama dengan analisis sampel. Aktivitas ekstrak kasar enzim lipase buah sawit dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{(V \text{ sampel} - V \text{ blanko}) \times N \times 1000}{V \text{ enzim} \times t}$$

Keterangan:

V sampel = Volume NaOH sampel (mL)

V blanko = Volume NaOH blanko (mL)

N = Normalitas NaOH

V enzim = Volume enzim (mL)

t = Waktu inkubasi (menit)

1000 = Nilai konversi dari mmol kedalam satuan  $\mu\text{mol}$

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, kesimpulan yang diperoleh adalah sebagai berikut:

1. Variabel pH, suhu, dan waktu inkubasi secara linear dan kuadratik berpengaruh nyata terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe*. Variabel pH, suhu, dan waktu inkubasi secara interaksi tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe*
2. Aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe* tertinggi sebesar 6,87 U/mL dapat dihasilkan dengan pH 5,3, pada suhu 43,4°C, dan waktu 19,8 menit.

### 5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh konsentrasi enzim dan substrat terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari buah sawit *overripe*. Selain itu, pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pemurnian terhadap ekstrak kasar enzim lipase untuk mendapatkan aktivitas enzim yang lebih tinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A. 2015. Pemberian mikoriza dan pupuk p terhadap pertumbuhan bibit kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) pada tahap *prenursery*. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim. Riau.
- Aljawish, A., Heuson, E., Bigan, M., dan Froidevaux, R. 2019. Lipase catalyzed esterification of formic acid in solvent and solvent-free systems. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 20.
- Anderson, M. J., dan Whitcomb, P. J. 2017. *RSM Simplified*. CRC Press. Boca Raton
- Apriyanto, M. 2021. *Buku Ajar Kimia Pangan*. Nusa Media. Yogyakarta.
- Arianing, I. F., dan Hanum, G. R. 2018. Pengaruh lama penggunaan minyak goreng kelapa sawit terhadap karakterisasi trigliserida dan crude glycerol. *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*. 1(1): 27-35.
- Arita, S., Rifqi, M., Nugroho, T., Agustina, T. E., Hadiyah, F. 2020. Pembuatan biodiesel dari limbah cair kelapa sawit dengan variasi katalis asam sulfat pada proses esterifikasi. *Jurnal Teknik Kimia*. 26(1): 1-11.
- Assegaf, S. 2017. Peningkatan kestabilan enzim  $\alpha$ -Amilase dari *Rhizopus oligosporus* dengan penambahan polietilen flikol (PEG) 6000. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Badan Standarisasi Nasional. 2019. *Minyak Goreng Sawit SNI-7709-2019*. BSN. Jakarta.
- Bayu, D., Priyambada., dan Supriyanto, D. 2023. Analisis rendemen minyak kelapa sawit (CPO) berdasarkan tingkat kematangan buah di PT. Bumitama Gunajaya Agro (Karya Bakti Agro Sejahtera). *Agroforetech*. 1(3): 2051-2060.
- Bhardwaj, K. A., Raju, dan Rajasekharan, R. 2001. Identification, purification, and characterization of a thermally stable lipase from rice bran: a new member of the (phospho) lipase family. *J. Plant Physiol.*127: 1728-1738.



- Bornscheuer, U. T. 1995. Lipase-catalyzed synthesis of monoacylglycerols. *Enzyme and Microbial Technology*. 17: 578-586.
- BPS. 2024. *Produksi Tanaman Perkebunan (Ribu Ton)*. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Canacki, M., dan Gerpen, V. J. 1999. Biodiesel production via acid catalysis. *Trans ASAE*. 42 (5): 1203-121.
- Cooper, G. M., dan Hausman, R. E. 2020. Effect of incubation time and temperature on enzyme activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 35(4): 321-328. <https://doi.org/10.1080/14756366.2020.1715743>
- Djakarsi, G. S. S., Raharjo, S., dan Noor, Z. 2017. Isolasi dan aktivitas spesifik enzim lipase indigenous biji kenari. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 8(1): 28-35.
- Dukhande, M. S., dan Pawar, A. C. 2014. Effect of various physio-chemical parameters on production of lipase by *Staphylococcus pasteurii*. *Biosci Biotechnol Res Asia*. 11(3):1521-1524.
- Edison, Diharmi, A., Ilza, M., Karnila, R., dan Tumangger, F. 2024. Pengaruh suhu berbeda terhadap aktifitas enzim kolagenase dari usus ikan cunang (*Congresax talabon*). *Agrointek*. 18(1): 33-39.
- Enríquez, J. P., dan Archila-Godinez, J. C. 2022. Social and cultural influences of food choices: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 63(13): 3698-3704
- Fadila, S. 2023. Evaluasi sifat kimia tanah pada sebaran perakaran tanaman kelapa sawit umur 6 tahun di lahan rawa. *Skripsi*. Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Fathimah, A. N., dan Wardani, A. K. 2014. Ekstraksi dan karakterisasi enzim protease dari daun kelor (*Moringa oliefera* Lamk.). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 15(3): 191-200.
- Gao, J. 2023. R-squared ( $R^2$ ) – how much variation is explained?. *Sage Journal*. 5(4):104-109.
- Gapki. 2024. *Publikasi*. Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia. Jakarta.
- Gupta, R., Gupta, N., dan Rathi, P. 2024. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 64(6): 763-781.

- Harahap, F. S., Purba, J., dan Rauf, A. 2021. Hubungan curah hujan dengan pola ketersediaan air tanah terhadap produksi kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) di dataran tinggi. *Agrikultura*. 32(1): 37.
- Hariyadi, P. 2014. *Mengenal Minyak Sawit dengan Beberapa Karakteristik Unggulnya*. Tim Gapki (Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia). Jakarta.
- Hudori, M. 2015. Quality engineering of crude palm oil (CPO): using multiple linear regression to estimate free fatty acid. *Proceeding 8th International Seminar of Industrial Engineering and Management (ISIEM)*. 26-3.
- Hudori, M. 2018. Pengukuran kinerja kualitas tandan buah segar (TBS) kelapa sawit sebagai bahan baku pabrik kelapa sawit (PKS). *Industrial Engineering Journal*. 7(2): 4-10.
- Hutasoit, N., Ina, P. T., dan Permana, I. D. G. M. 2016. Pptimasi pH dan suhu pada aktivitas enzim lipase dari biji kakao (*Theobroma cacao* L.) berkapang. *Jurnal Ilmu Teknologi Pangan (ITEPA)*. 5(2): 95-102.
- Jayaraman, J., Alagu, K., Appavu, P., Joy, N., Jayaram, P., dan Mariadoss, A. 2020. Enzymatic production of biodiesel using lipase catalyst and testing of an unmodified compression ignition engine using its blend with diesel. *Renewable Energy*. 145: 399-407.
- Kalita, P., Basumatary, B., Saikia, P., Das, B., dan Basumatary, S. 2022. Biodiesel as renewable biofuel produced via enzyme-based catalyzed transesterification. *Energy Nexus*. 6(100087): 1-17.
- Kimtun, P., Choonut, O., Yunu, T., Paichid, N., Klomkloa, S., Sangkharak, K. 2015. Biodiesel production using lipase from oil palm fruit as a catalyst. *Energy Procedia*. 17: 822-826.
- Komoda, T., dan Matsunaga, T. 2015. Constituents of the human body. *In Biochemistry for Medical Professionals: Academic Press*. 7-24.
- Kwon, D. Y., dan Rhee, J. S. 1986. A simple and rapid colometric method for determination of free fatty acid for lipase assay. *J.A.O.C.S.* 63: 69-92
- Legasari, L., Riandi, R., Febriani, W., dan Pratama, R. A. 2023. Analisis kadar air dan asam lemak bebas pada produk minyak goreng dengan metode gravimetri dan volumetri. *Jurnal Redoks: Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*. 6(2): 51-58.
- Lehninger, A. L. 1995. *Dasar-dasar Biokimia*. Erlangga. Jakarta.
- Lempang, I. R., Fatimawali, dan Pelealu, N. C. 2016. Uji kualitas minyak goreng curah dan minyak goreng kemasan di manado. *Pharmacon*. 5(4): 155-161.

- Lubis, A. U. 1992. *Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq.) di Indonesia*. Pusat Penelitian Perkebunan Marihat Bandar Kuala. Pematang Siantar.
- Malelak, G. A., Wiranjana, I. N., dan Mahardika, I. G. 2014. Pengaruh minyak jelantah dan waktu inkubasi terhadap aktivitas lipase pada tanah hutan mangrove pantai tablolong kupang. *Cakra Kimia Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*. 2(2): 25-31.
- Marliani, N., Astuti, W., dan Kartika, R. 2023. Kondisi kerja optimum lipase bakteri endofit dari daun *Macaranga hullettii* King ex Hook.f. *Bioprospek*. 15 (1): 8-15.
- Maulida, L., ZA, N., dan Nurbaity. 2017. Hidrolisis asam lemak bebas dari buah sawit sisa sortiran. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 6(2): 1-15.
- Moon, S. H., dan Parulekar, S. J. 1993. Some observation on protease producing in continuous suspension cultures of *Bacillus firmus*. *Biotech Bioeng*. 41: 43-54.
- Montgomery, D. C. 2009. *Design and Analysis of Eksperiment*. 7<sup>th</sup> Edition. New York.
- Nasution, R. A., Bulan, R., dan Sebayang, F. 2013. Penentuan pH dan suhu optimum untuk aktivitas ekstrak kasar enzim lipase dari kecambah biji karet (*Hevea brasiliensis*) terhadap hidrolisis PKO (*palm kernel oil*). *Jurnal Saintia Kimia*. 1(2).
- Nenobahan, M., A., Ledo, M. E. S., dan Nitsae, M. 2020. Pembuatan biodiesel minyak jelantah menggunakan biokatalis ekstrak kasar lipase dari biji kesambi (*Schleicheraoleosal*). *Jurnal Saintek Lahan Kering*. 3(1): 20-25.
- Nopiani. 2015. Peningkatan kestabilan enzim lipase dari *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 dengan amobilisasi menggunakan bentonit. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Nugroho, A. D., Sianto, M. E., dan Asrini, L. J. 2017. Optimalisasi faktor-faktor yang berpengaruh pada beban lentur genteng beton dengan metode *response surface*. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*. 16(1): 97-104.
- Nugroho, S. A., Wardana, R., Fatimah, T., Mastuti, L., Novenda, I.L. 2022. Hidrolisis lemak oleh enzim lipase pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*). *Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi*. 7(1):81-89
- Nur, F. 2018. Uji aktivitas enzim amiloglukosidase dari *Aspergillus niger* pada kombinasi pH dan suhu yang bervariasi. *Jurnal Teknosains*. 12(1): 27-38.

- Nurhaeni, 2015. Peningkatan kestabilan enzim protease dari *Bacillus subtilis* ITBCCB148 dengan amobilisasi menggunakan kalsium alginat. *Tesis*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Pahoja, V. M., Dahot, M. U., dan Sethar, M. A. 2001. Characteristic properties of lipase crude extract of *Caesalpinia bonducella* L. seeds. *Journal of Biological Sciences*. 1: 775-778.
- Pamuji, R. 2013. Populasi dan serangan hama ulat kantung metisa plana walker (*lepidoptera: psychidae*) serta parasitoidnya di perkebunan kelapa sawit pt. lestari tani teladan, kabupaten donggala, sulawesi tengah. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Pomeistia, N., dan Bayani, F. 2021. Uji aktivitas enzim lipase dari kecambah biji ketapang, biji rambutan, biji alpukat, palm putri, dan biji durian. *Jurnal Sanitasi dan Lingkungan*. 2(1): 99-103.
- Prabudi, M., Nurtama, B., dan Purnomo, E. H. 2018. Aplikasi response surface methodology (RSM) dengan historical data pada optimasi proses produksi burger. *Jurnal Mutu Pangan*. 5(2): 109-115.
- Pramiadi, D., Yulianti, E., dan Rakhmawati, A. 2014. Isolasi dan uji aktivitas enzim lipase termostabil dari bakteri termofilik pasca erupsi merapi. *J. Sains Dasar*. 3(1): 9-19.
- Puspitaningrum, R., dan Adhiyanto, C. *Enzim dan Pemanfaatannya*. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Putri, D. M., Ristiani, L., dan Hasanah, Q. 2023. Peran enzim dalam proses metabolisme menurut al-quran dan hadist. *ISTISYFA: Journal of Islamic Guidance and Conseling*. 2(1): 194-206.
- Putri, Y. S. 2012. Skrining dan uji aktivitas enzim protease bakteri dari limbah rumah pemotongan hewan. *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Rahman, M., Sen, P. K., Hasan, F. M., Miah, Rahman, H. M. 2004. Purification and characterization of invertase enzyme from sugarcane. *J Biol Sci*. 7(3): 340-345.
- Rawi, D. F. A., Hariyadi, P., dan Budijanto, S. 2004. Kajian hidrolisis enzimatis minyak sawit secara *in situ*. *Forum Pascasarjana*. 27(2): 135-143.
- Roberts, C. A., dan Lee, K. T. 2018. Product inhibition in enzyme kinetics: a detailed review. *Current Opinion in Biotechnology*. 54: 106-112. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.02.004>
- Robinson, P. K. 2015. Enzymes: principles and biotechnological application. *Essay Biochem*. 59: 1-41.

- Sadikin, M. 2002. *Biokimia Enzim*. Widya Medika. Jakarta.
- Salmon, A. M., Ledo, M. E. S., dan Nitsae, M. 2020. Karakterisasi substrat dan suhu ekstrak kasar lipase *Aspergillus Niger* M1407. *Jurnal Saintek Lahan Kering*. 3(1): 13-15.
- Sari, A. K., Astuti, W., dan Pratiwi, D. R. 2020. skrining lipase dari isolat bakteri endofit batang pacing (*Costus speciosus* (j.koenig) sm) dan penentuan kondisi kerja optimumnya. *Jurnal Atomik*. 5(1): 1-5.
- Sari, N., Shiddiq, M., Fitra, R. H., dan Yasmin, N. Z. 2019. Klasifikasi tingkat kematangan tandan buah segar kelapa sawit menggunakan probe optik. *J. Aceh Phys. Soc.* 8(3): 72-77.
- Setiawan, K. 2019. *Buku Ajar Metodologi Penelitian (Anova Satu Arah)*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Setyawati, I. 2006. Produksi dan karakterisasi xilanase mikroba yang diisolasi dari tongkol jagung. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sholeha, R., dan Agustini, R. 2021. Lipase biji-bijian dan karakteristiknya. *UNESA Journal of Chemistry*. 10(2): 168-183.
- Siahaan, B. A. 2022. Respon pertumbuhan vegetatif bibit kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) dengan pemberian abu janjang kosong dan biochar sekam padi dengan komposisi berbeda pada media tanah di fase *prenursery*. *Skripsi*. Universitas Medan Area. Medan.
- Sirait, R. A., Supriyanto, G., dan Priambada. 2023. Pengaruh kematangan buah terhadap FFA dan besarnya kandungan minyak di dalamnya di pabrik kelapa sawit. *Agroforetech*. 1(1): 676-684.
- Smith, A. L., dan Jones, B. P. 2018. Substrate depletion and enzyme stability: factors affecting enzyme activity. *Biochemical Journal*. 475(2): 245-256.
- Sofiana, Y., dan Yahya, S. 2015. Manajemen panen kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) di kebun tambusai kec. tambusai, kabupaten rokan hulu, riau. *Bul Agrohorti*. 2(3): 213-220.
- Su'i, M., Harijono, Yunianta, dan Aulani'am. 2010. *Aktifitas Hidrolisis Enzim Lipase dari Kentos Kelapa terhadap Minyak Kelapa*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Sulaiman, F. 2018. Potential of overripe palm oil fruits for lipase production and biodiesel synthesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 66(34): 8818-8827.

- Sulistiyowati, E., Salirawati, D., dan Amanatie. 2016. Karakterisasi beberapa ion logam terhadap aktivitas enzim tripsin. *Jurnal Penelitian Saintek*. 21(2): 107-119.
- Sumarlin, L. O., Mulyadi, D., Suryatna, dan Asmara, Y. 2013. Identifikasi potensi enzim lipase dan selulase pada sampah kulit buah hasil fermentasi. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 18(3): 159-166.
- Sunarko. 2008. *Petunjuk Praktis Budidaya dan Pengolahan Kelapa Sawit*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Sunarko. 2009. *Budidaya dan Pengolahan Kebun Kelapa Sawit dengan Sistem Kemitraan*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Supriyatna, A., Amalia, D., Jauhari, A. A., dan Holydaziah, D. 2015. Aktivitas enzim amilase, lipase, dan protease dari larva *Hermetia illucens* yang diberi makan jerami padi. *Jurnal Istek*. 9(2): 18-23.
- Sutisna, R. R. 2014. Peningkatan stabilitas enzim selulase dan *bacillus subtilis* ITBCCB148 dengan modifikasi kimia menggunakan asam glioksilat. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Sutrisno, A. 2017. *Teknologi Enzim*. UB PRESS. Malang.
- Sya'bani, N., Astuti, W., Pratiwi, dan Ryn, D. 2017. Isolasi & karakterisasi lipase dari kecambah biji alpukat (*Persea americana mill*). *Jurnal Atomik*. 2(2).
- Taufik, M., dan Seftiono, H. 2018. Karakteristik fisik dan kimia minyak goreng sawit hasil proses penggorengan dengan metode *deep-fat frying*. *Jurnal Teknologi*. 10(2): 123-130.
- Untari, B., Miksusanti, dan Ainna, A. 2020. Penentuan kadar asam lemak bebas dari kandungan jenis asam lemak dalam minyak yang dipanaskan dengan metode titrasi asam basa dan kromatografi gas. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*. 1: 1-10.
- Villeneuve, P. 2003. Plant lipases and their application in oils and fats modification. *Eur J. Lipid Sci. Technology*. 105(6): 308.
- Whitaker, J. R. 1996. *Food Chemistry*. Third Edition. Marcell Dekker, Inc., New York and Basel.
- Wijaya, E., Indriyanti, R., Rinawati, Utami, R. N., Negsih, T. A., Hermawan, E., Deseria, R., Aziza, N., Judijanto, L., dan Mardikawati, B. 2024. *Pengantar Statistika Konsep Dasar untuk Analisis Data*. PT Sonpedia Publishing Indonesia. Jambi.

- Woittiez, L. S., Wijk, M. T., Slingerland, M., Noordwijk, M., dan Giller, K. E. 2017. Yield gaps in oil palm: a quantitative review of contributing factors. *European Journal of Agronomy*. 83: 57-77.
- Yanuardi, D., Saktioto, Syahputra, R. F., Defrianto, dan Soerbakti, Y. 2023. Analisis tingkat kematangan buah sawit dengan injeksi tegangan searah. *Komunikasi Fisika Indonesia*. 20(2): 109-114.
- Yusriah dan Kuswytasari, N. D. 2013. Pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas Protease *Penicillium sp.* *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 2(1).
- Yustinah, Y., dan Rahayu, R. A.N. 2014. Pengaruh lama proses adsorpsi terhadap penurunan kadar asam lemak bebas (FFA) dan bilangan peroksida (PV) pada minyak sawit mentah (CPO) menggunakan bioadsorben dari enceng gondok. *Jurnal Teknologi*. 6(2): 131-136.