

**PENGARUH PENAMBAHAN SENYAWA POLIOL SORBITOL DAN
XYLITOL TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI
BAKTERI ISOLAT LOKAL *Lysinibacillus*
boronitolerans LKM G1**

(Skripsi)

Oleh

**NI LUH INDRYA KUSUMA DEWI
2117011010**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

PENGARUH PENAMBAHAN SENYAWA POLIOL SORBITOL DAN XYLITOL TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI BAKTERI ISOLAT LOKAL *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1

Oleh

Ni Luh Indrya Kusuma Dewi

Enzim lipase merupakan enzim penting yang banyak dimanfaatkan dalam industri karena kemampuannya menghidrolisis lemak serta bekerja pada kondisi pH dan suhu ekstrem. Sumber enzim lipase diperoleh dari bakteri *L.boronitolerans* LKM G1.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan senyawa polioli sorbitol dan xylitol terhadap aktivitas dan kestabilan enzim lipase. Produksi enzim dilakukan melalui tahap peremajaan, produksi, fermentasi, dilanjutkan dengan pemurnian secara parsial menggunakan fraksinasi ammonium sulfat (20–80%), dialisis dan uji aktivitas dengan metode spektrofotometri. Penambahan sorbitol dan xylitol dilakukan pada konsentrasi 0,5 M, 1 M, dan 1,5 M.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas spesifik tertinggi enzim diperoleh setelah dialisis, yaitu sebesar 3484,35 U/mg, meningkat 2,3 kali lipat dari ekstrak kasarnya yaitu sebesar 1474,82 U/mg. Penambahan sorbitol dan xylitol mampu merubah pH dari pH 6,0 menjadi pH 7,0, dengan aktivitas tertinggi masing-masing sebesar 354,08 U/mL pada sorbitol konsentrasi 1M dan 358,00 U/mL pada xylitol konsentrasi 1,5M. Suhu optimum tetap berada pada 40°C, namun aktivitas meningkat setelah penambahan sorbitol dan xylitol. Stabilitas termal enzim juga meningkat secara signifikan, aktivitas sisa enzim mencapai 92% dengan penambahan sorbitol konsentrasi 1M dan 95% dengan penambahan xylitol konsentrasi 1,5M pada menit ke-90.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sorbitol dan xylitol berperan sebagai agen pelindung enzim terhadap denaturasi, melalui stabilisasi struktur protein. Penambahan senyawa polioli terbukti efektif meningkatkan aktivitas dan kestabilan enzim lipase.

Kata kunci: enzim lipase, *L.boronitolerans* LKM G1, sorbitol, stabilitas enzim, xylitol

ABSTRACT

PENGARUH PENAMBAHAN SENYAWA POLIOL SORBITOL DAN XYLITOL TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI BAKTERI ISOLAT LOKAL *Lysinibacillus* *boronitolerans* LKM G1

Oleh

Ni Luh Indrya Kusuma Dewi

Lipase Lipase is an important enzyme widely utilized in the industry due to its ability to hydrolyze fats and function under extreme pH and temperature conditions. The lipase enzyme source in this study was obtained from the bacterium *L.boronitolerans* LKM G1. This research aimed to determine the effect of adding polyol compounds, specifically sorbitol and xylitol, on the activity and stability of lipase. Enzyme production was carried out through several stages: rejuvenation, production, fermentation, followed by partial purification using ammonium sulfate fractionation (20–80%), dialysis, and activity assay via spectrophotometric methods. Sorbitol and xylitol were added at concentrations of 0.5 M, 1 M, and 1.5 M. The results showed that the highest specific enzyme activity was obtained after dialysis, reaching 3484.35 U/mg, which is a 2.3-fold increase compared to the crude extract (1474.82 U/mg). The addition of sorbitol and xylitol shifted the enzyme's optimal pH from 6.0 to 7.0, with the highest activities of 354.08 U/mL for sorbitol 1M and 358.00 U/mL for xylitol 1,5 M. The optimum temperature remained at 40°C, but enzyme activity increased following the addition of sorbitol and xylitol. Thermal stability of the enzyme also improved significantly, with residual enzyme activity reaching 92% with sorbitol 1 M and 95% with xylitol 1,5 M after 90 minutes. These results indicate that sorbitol and xylitol act as protective agents against enzyme denaturation by stabilizing the protein structure. The addition of polyol compounds has proven to be effective in enhancing both the activity and stability of lipase.

Keywords: lipase enzyme, *L.boronitolerans* LKM G1, sorbitol, enzyme stability, xylitol

**PENGARUH PENAMBAHAN SENYAWA POLIOL SORBITOL DAN
XYLITOL TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE DARI
BAKTERI ISOLAT LOKAL *Lysinibacillus*
boronitolerans LKM G1**

Oleh

NI LUH INDRYA KUSUMA DEWI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

**: PENGARUH PENAMBAHAN SENYAWA
POLIOL SORBITOL DAN XYLITOL
TERHADAP AKTIVITAS ENZIM LIPASE
DARI BAKTERI ISOLAT LOKAL
Lysinibacillus boronitolerans LKM G1**

Nama Mahasiswa

: Ni Luh Indrya Kusuma Dewi

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2117011010

Jurusan

: Kimia

Fakultas

: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Nurhasanah. S.Si., M.Si.
NIP. 197412111998022001

Dr. Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.
NIP. 197308252000031001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila

Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032000

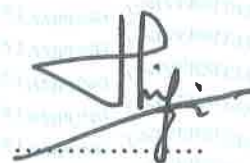
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.**



Sekretaris : **Dr. Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.**



Anggota : **Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **31 Juli 2025**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ni Luh Indrya Kusuma Dewi
Npm : 2117011010
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul
**“Pengaruh Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol dan Xylitol terhadap
Aktivitas Enzim Lipase dari Isolat Lokal *Lysinibacillus boronitolerans* LKM
G1”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya.
Kemudian, saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi
tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi,
selama nama saya disebutkan publikasi tersebut atas kesepakatan bersama.

Bandar Lampung, 13 Agustus 2025

Menyatakan,



Ni Luh Indrya Kusuma Dewi
NPM. 2117011010

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Ni Luh Indrya Kusuma Dewi, lahir di Bandar Lampung pada tanggal 24 Juli 2003. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, putri dari pasangan Bapak I Gede Pasek Subrayha dan Ibu Ni Ketut Supartini. Penulis menempuh pendidikan Sekolah Dasar di

SD Negeri 1 Labuhan Dalam pada tahun 2009-2015. Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 20 Bandar Lampung pada tahun 2015-2018. Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 13 Bandar Lampung yang di selesaikan pada tahun 2018-2021. Pada tahun 2021, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menempuh studi di Program Studi Kimia FMIPA Universitas Lampung, penulis aktif dalam Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Hindu Universitas Lampung, khususnya di bidang Organisasi dan Kaderisasi (Orkad), pada periode 2021–2022 dan 2022–2023. Selain itu, penulis juga pernah menjadi anggota Perhimpunan Pemuda Hindu Indonesia (Peradah) Kota Bandar Lampung pada periode 2022–2023. Penulis juga pernah mengikuti kegiatan pengabdian kepada masyarakat “UKM Hindu *Goes to Village*” di Desa Sidoharjo, Lampung Selatan,

pada tahun 2022. Pada tahun 2023, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di UPST Bantar Gebang pada tanggal 14 Agustus hingga 8 Desember 2023. Selanjutnya, pada tahun 2024 penulis mengikuti kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Desa Batu Menyan, Pesawaran. Pada tahun 2025, penulis juga berperan sebagai asisten dosen dalam kegiatan praktikum Biokimia di Jurusan Kimia dan Biologi.

MOTTO

“Tuhan ada di dalam hati, Dia mengamati, mengatur, dan memberi arah
pada jiwa”

(Shvetashvatara Upanishad VI.XI)

"Ānanyam vidyāyāḥ"

"Pengetahuan itu tak ada ujungnya."

(Taittirīya Upanishad)

"Belajarlah seperti engkau akan hidup selamanya, hiduplah seperti engkau akan
mati besok."

(Mahabharata Anushasana Parva 33.1)

“Apapun yang dianugerahkan Tuhan kepadaku, baik atau buruk, adalah demi
kebaikanku”

(Śivapurāṇa 2.2.23.32)

“Tidak peduli seaneh apapun keadaanmu, yang paling penting pulang dengan
gelar sarjana dan semua untuk Bapak dan Mama”

(anonim)

“Rezeki kadang datang bukan dari usaha semata, tapi dari hati yang ikhlas
menerima tanpa membalas. Tetap tenang, tetap melangkah, tetap mendoakan
yang baik”

(Ni Luh Indrya Kusuma Dewi)

PERSEMBAHAN

Puji syukur penulis panjatkan ke hadapan Ida Sang Hyang Widhi Wasa, dengan penuh rasa syukur dan dengan segala kerendahan hati penulis mempersembahkan skripsi ini kepada :

Bapak dan Mama Tercinta

Karya ini kupersembahkan kepada Bapak dan Mama, orang hebat yang selalu menjadi penyemangat, yang tidak henti-hentinya memberikan kasih sayang. Terima kasih untuk segala pengorbanan, semua doa, dan dukungan Mama dan Bapak aku bisa berada di titik ini. Sehat selalu tolong hiduplah lebih lama lagi.

Ni Made Cahaya Kusuma Sari

Terima kasih karena selalu memberi semangat, dukungan, dan keyakinan bahwa semua bisa terlewati.

Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.

Bapak Dr. Syaiful Bahri, S.Si., M.Si dan Bapak Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.

Atas bimbingan, ilmu, saran, dukungan selama penelitian dan penulisan tugas akhir. Terimakasih telah memberikan yang terbaik.

Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia

Atas segala ilmu dan motivasi yang diberikan selama masa perkuliahan.

Sahabat-sahabat Tercinta

Terima kasih telah menjadi tempat berbagi cerita, suka maupun duka dan menjadi bagian terindah dalam perjalanan ini.

SANWACANA

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan ke hadapan Ida Sang Hyang Widhi Wasa yang telah melimpahkan rahmat, kebijaksanaan dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul “Pengaruh Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol dan Xylitol terhadap Aktivitas Enzim Lipase dari Bakteri Isolat Lokal *Lysinibacillus boronitolerans* LKM G1” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini, untuk itu saran dan kritik yang membangun dari semua pihak sangat diharapkan untuk pengembangan dan kesempurnaan skripsi ini. Penyusunan skripsi ini tentunya tidak lepas dari dukungan, bimbingan, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing I, sosok yang sangat hangat. Terimakasih atas segala bimbingan serta ilmu yang Ibu berikan dalam penyelesaian skripsi ini. Dengan sepuh hati, saya doakan semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas semua kebaikan Ibu dengan keberkahan, kesehatan, dan kebahagiaan yang melimpah.

5. Bapak Dr. Syaiful Bahri, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II, terima kasih yang tak terhingga saya sampaikan atas segala bimbingan, arahan, dan kesabaran dalam membimbing saya menyelesaikan skripsi penulis.
6. Bapak Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Dosen Penguji yang memberikan saran, arahan, kritik dan motivasi terkait penyelesaian skripsi penulis.
7. Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran, arahan, kritik dan motivasi dalam pelaksanaan studi.
8. Bapak dan Ibu Dosen di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu kepada penulis.
9. Teman-teman kimia angkatan'21 terutama kelas B, terima kasih atas kebersamaan yang diberikan selama masa perkuliahan.
10. Rekan sepenelitianku Nurhasanah *Research*'21 Rani Rasmani, Adelia Renta Marito Tampubolon, Siti Nurkholisoh, Debora Luciana Manik dan Alif Zidane Nugraha, terima kasih atas kebersamaan, dukungan, dan kerja sama yang terjalin selama proses penelitian ini. Semoga persahabatan dan silaturahmi yang telah terbangun dapat terus terjaga di masa mendatang. Terkhusus Cewe BNH'21 semoga apapun yang menjadi harapan kita lekas tercapai dan dimanapun kalian berada, kalian selalu dikelili oleh cinta dan kasih, svaha.
11. Rita Ana Pristiani teman pertama di perkuliahan hingga saat ini, terima kasih atas bantuan, dukungan, dan semangat yang selalu diberikan selama perkuliahan sampai saat ini. Kehadiranmu menjadi bagian berharga yang membuat perjalanan ini terasa lebih ringan dan menyenangkan. Semoga apapun mimpi itu akan cepat terwujud.
12. Para pengejar Immortal, Dadang Febianto dan Dandi Prayoga Putra Pratama, terima kasih telah menjadi teman seperjuangan dalam menghabiskan waktu, begadang, dan berbagi hiburan serta kebersamaan sejak awal kuliah. Kehadiran kalian menjadi warna tersendiri yang membuat masa perkuliahan ini lebih hidup dan penuh kenangan.

13. Dwaeji, Ni Putu Dwika Adinia Putri dan Nyoman Gita Gayatri, sahabat sejak masa SMA yang selalu menjadi tempat berbagi cerita, tawa, dan dukungan tanpa henti. Terima kasih telah mewarnai perjalanan hidup ini dengan kebersamaan yang penuh makna. Semoga persahabatan kita tetap terjalin erat dan indah sampai kapan pun, di mana pun langkah kita berada.
14. Nyoman Yogi Sukarya, S.H. seseorang yang selalu ada untuk penulis, terima kasih telah sabar menemani setiap proses yang penulis lalui selama ini, memberikan dukungan tanpa henti, memberi semangat, dan selalu meyakinkan bahwa penulis bisa mencapai impian-impian penulis. Semoga Ida Sang Hyang Widhi Wasa selalu memberi keberkahan dalam segala hal yang kita lalui.
15. Ni Made Cahaya Kusuma Sari, terimakasih kepada adik tercinta yang selalu usil dan jahil, terima kasih telah menghadirkan tawa, candaan, dan warna dalam setiap hari. Semoga kita selalu saling mendukung dan menjaga, apa pun jalan yang kita tempuh ke depannya.
16. Teristimewa penulis mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua tercinta Bapak I Gede Pasek Subrayha dan Ibu Ni Ketut Supartini. Beliau memang tidak sempat merasakan pendidikan bangku perkuliahan, namun mereka senantiasa memberikan yang terbaik, tak kenal lelah mendoakan serta memberikan perhatian dan dukungan hingga penulis mampu menyelesaikan studinya sampai meraih gelar sarjana. Semoga Bapak dan Mama sehat, panjang umur dan bahagia.
17. Seluruh pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini dari awal sampai dengan skripsi ini terselesaikan.

Bandar Lampung, 13 Agustus 2025

Penulis,

Ni Luh Indrya Kusuma Dewi

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	xviii
---------------------------	--------------

DAFTAR GAMBAR	xix
----------------------------	------------

I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Enzim	5
2.2 Sifat Katalitik Enzim.....	6
2.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim.....	7
2.4 Isolasi dan Pemurnian Enzim.....	8
2.5 Enzim Lipase	8
2.6 Stabilitas Enzim.....	9
2.7 Poliols	10
2.8 Sorbitol	10
2.9 Xylitol	12
III. METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat.....	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Prosedur Penelitian.....	15
3.3.1 Tahap Persiapan	15
3.3.2 Pembuatan Media.....	15
3.3.3 Peremajaan Bakteri <i>L.boronitolerans</i> LKM G1.....	16
3.3.4 Produksi Enzim	16

3.3.5 Pemurnian Enzim	16
3.3.6 Uji Aktivitas Enzim Lipase	17
3.3.7 Penentuan Kadar Protein Enzim Lipase	19
3.3.8 Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol dan Xylitol pada Lipase .	19
3.3.9 Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol dan Xilitol terhadap Aktivitas Lipase dari Bakteri <i>L.boronitolerans</i> LKM G1	20
3.4 Skema Alur Penelitian	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Peremajaan Isolat <i>L.boronitolerans</i> LKM G1	23
4.2 Ekstrak Kasar Enzim Lipase	24
4.3 Hasil Pemurnian Enzim Lipase	25
4.4 Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol dan Xylitol terhadap Aktivitas Lipase dari Bakteri <i>L.boronitolerans</i> LKM G1	28
4.4.1 Aktivitas Enzim pada Berbagai Variasi pH.....	28
4.4.1.1 Pengaruh Variasi pH terhadap Aktivitas Enzim Hasil Pemurnian dan Penambahan Sorbitol berbagai Konsentrasi	28
4.4.1.2 Pengaruh Variasi pH terhadap Aktivitas Enzim Hasil Pemurnian dan Penambahan Xylitol berbagai Konsentrasi .	30
4.4.2 Aktivitas Enzim pada Berbagai Variasi Suhu	31
4.4.2.1 Pengaruh Variasi Suhu terhadap Aktivitas Enzim Hasil Pemurnian dan Penambahan Sorbitol berbagai Konsentrasi	32
4.4.2.2 Pengaruh Variasi Suhu terhadap Aktivitas Enzim Hasil Pemurnian dan Penambahan Xylitol berbagai Konsentrasi .	33
4.4.3 Stabilitas Termal Enzim	35
4.4.3.1 Kestabilan Termal Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Sorbitol	35
4.4.3.2 Kestabilan Termal Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Xylitol.....	37
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	47
Lampiran 1. Pembuatan Larutan <i>Buffer</i> Fosfat 0,25 pH 7	48
Lampiran 2. Pembuatan Larutan <i>Buffer</i> Tris-HCl 50 mM pH 8	50
Lampiran 3. Kurva Standar <i>p</i> -Nitrofenol	51
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Protein Enzim	52
Lampiran 5. Perhitungan Aktivitas Enzim	53
Lampiran 6. Perhitungan Konsentrasi Poliol	54

Lampiran 7. Penentuan pH Optimum Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol.....	55
Lampiran 8. Penentuan Suhu Optimum Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol dan Xylitol	56
Lampiran 9. Penentuan Aktivitas Sisa Enzim Hasil Pemurnian dengan Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol dan Xylitol	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rangkuman hasil pemurnian enzim lipase dari bakteri <i>L.boronitolerans</i> LKM G1.....	27
2. Hasil pengukuran absorbansi <i>p</i> -Nitrofenol pada pembuatan kuva standar..	51
3. Hasil pengukuran absorbansi BSA pada pembuatan kuva standar.....	52
4. Data Aktivitas Unit Enzim Lipase terhadap Variasi pH dengan Penambahan Sorbitol.....	55
5. Data Aktivitas Unit Enzim Lipase terhadap Variasi pH dengan Penambahan Xylitol.....	55
6. Data Aktivitas Unit Enzim Lipase terhadap Variasi Suhu dengan Penambahan Sorbitol.....	56
7. Data Aktivitas Unit Enzim Lipase terhadap Variasi Suhu dengan Penambahan Xylitol.....	56
8. Data Stabilitas Termal Enzim Lipase dengan Penambahan Sorbitol pada Variasi Waktu.....	57
9. Data Stabilitas Termal Enzim Lipase dengan Penambahan Xylitol pada Variasi Waktu.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kimia Sorbitol.....	11
2. Struktur xylitol.....	13
3. Skema Alur Penelitian.....	22
4. Isolat <i>L.boronitolerans</i> LKM G1.....	24
5. Perbandingan aktivitas spesifik lipase antara ekstrak kasar enzim, fraksinasi dan dialisis.....	26
6. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim pemurnian dan penambahan sorbitol berbagai konsentrasi.....	29
7. Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim pemurnian dan penambahan xylitol berbagai konsentrasi.....	31
8. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim pemurnian dan penambahan sorbitol berbagai konsentrasi.....	33
9. Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim pemurnian dan penambahan xylitol berbagai konsentrasi.....	34
10. Stabilitas termal enzim hasil pemurnian dengan penambahan sorbitol konsentrasi 1,0 M.....	36
11. Stabilitas termal enzim hasil pemurnian dengan penambahan xylitol konsentrasi 1,5 M.....	37
12. Kurva standar <i>p</i> -Nitrofenol (<i>p</i> -NP).....	51
13. Kurva standar <i>Bovine Serum Albumine</i> (BSA).....	52

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Enzim adalah protein kompleks yang diproduksi oleh organisme hidup untuk menghasilkan reaksi biokimia spesifik yang diperlukan untuk mengembangkan dan mempertahankan kehidupan. Enzim yang dihasilkan oleh sel hidup dapat diekstraksi dari organisme dan dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi di bidang industri, farmasi, dan bioteknologi.. Jika dibandingkan dengan katalis kimia klasik, penggunaan enzim menawarkan berbagai keuntungan, karena: (i) secara khusus mengarahkan jalannya reaksi menuju produk yang telah ditentukan sebelumnya, sehingga mengurangi risiko reaksi samping; (ii) bekerja dalam kondisi suhu dan pH yang ringan; (iii) menghindari produksi produk akhir yang beracun (Borrelli *and* Trono, 2015).

Sebagian besar (lebih dari 75%) enzim yang saat ini digunakan dalam proses industri bersifat hidrolitik. Lipase dan fosfolipase yaitu enzim yang digunakan untuk modifikasi lipid. Lipase merupakan enzim ketiga yang paling banyak dikomersialkan, setelah protease dan karbohidrase, dan produksinya terus meningkat, sehingga sekarang mencakup lebih dari seperlima pasar enzim global. Saat ini bidang industri membutuhkan enzim lipase yang memiliki kestabilan yang baik untuk memperkecil biaya produksi, sedangkan kestabilan lipase sendiri dipengaruhi oleh suhu, pH, lama penyimpanan, dan adanya pelarut organik (Borrelli *and* Trono, 2015). Kestabilan enzim lipase dalam pelarut organik sangat penting karena pada sebagian industri digunakan senyawa-senyawa non polar, senyawa non polar yang akan digunakan adalah senyawa non polar yang mudah larut dalam pelarut organik. Namun, lipase sering tidak ideal untuk aplikasi

tertentu seperti stabilitas pada kondisi ekstrem atau spesifitas substrat yang rendah. Sehingga diperlukan modifikasi untuk meningkatkan stabilitas dan kinerjanya dalam berbagai aplikasi industri (Wu *et al.*, 2017). Sejumlah penelitian melaporkan bahwa penambahan berbagai senyawa (surfaktan, pelarut organik, ion logam, poliol, dll) ke dalam larutan enzim meningkatkan aktivitas dan stabilitas katalitiknya. Senyawa-senyawa ini membentuk banyak ikatan hidrogen atau jembatan garam dengan residu asam amino enzim yang mencegah inaktivasi termal enzim (Panja *et al.*, 2020).

Modifikasi enzim merupakan strategi yang umum digunakan untuk meningkatkan stabilitas enzim agar sesuai dengan kebutuhan aplikasi tertentu. Salah satu pendekatan yang menarik adalah penggunaan senyawa kimia untuk memodifikasi struktur enzim dan meningkatkan kinerjanya. Senyawa - senyawa poliol sorbitol dan xylitol telah menunjukkan potensi sebagai agen modifikasi untuk meningkatkan stabilitas dan aktivitas enzim (Gangadhara *et al.*, 2009). Sorbitol dijadikan sebagai pengganti gula dalam makanan dan minuman dan xylitol merupakan alkohol gula (*sugar alcohol*) yang sering digunakan sebagai pemanis rendah kalori dalam produk makanan dan minuman. Penggunaan poliol seperti sorbitol dan xylitol dipilih karena sifat-sifatnya yang unik seperti kestabilan termal dan kemampuannya untuk membentuk ikatan hidrogen dengan gugus-gugus hidroksil pada enzim. Sehingga dapat memberikan perlindungan tambahan terhadap faktor-faktor seperti suhu, pH ekstrem, atau kehadiran senyawa-senyawa yang dapat menginaktivasi enzim (Castillo *et al.*, 2003).

Modifikasi enzim lipase dengan menggunakan poliol seperti sorbitol dan xylitol melibatkan proses kimia, poliol tersebut berinteraksi dengan enzim lipase. Interaksi ini menghasilkan perubahan dalam struktur dan sifat enzim, seperti peningkatan aktivitas katalitik dan stabilitas enzim terhadap kondisi ekstrem seperti suhu tinggi atau pH yang ekstrem. Pada tingkat molekuler, poliol seperti sorbitol dan xylitol dapat berinteraksi dengan gugus fungsional pada enzim lipase, mengubah konformasi molekuler enzim tersebut. Perubahan ini dapat menghasilkan efek yang diinginkan, seperti peningkatan kapasitas enzim untuk

mengkatalisis reaksi tertentu atau meningkatkan daya tahan enzim terhadap lingkungan yang keras (Sukohidayat *et al.*, 2018).

Efek penambahan poliol pada stabilitas termal lipase telah dikaji. Lipase, dengan atau tanpa poliol, dipanaskan pada suhu 75°C selama periode waktu yang berbeda. Pada penambahan D-sorbitol, D-fruktosa, manitol, dan maltosa perubahan konformasi lipase setelah perlakuan panas dipelajari dengan uji spektrum fluoresensi dan uji spektrum ultraviolet. Aktivitas residu ultraviolet (berasal dari nilai ultraviolet) mencerminkan aktivitas residu dari data eksperimen secara akurat (Fu and Lu, 2013). Pengaruh poliol sorbitol terhadap lipase *Rhizopus cinensis* (RCL) diteliti pada tekanan tinggi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan poliol secara efektif menstabilkan konformasi lipase termasuk yang bersifat hidrofobik dalam kondisi yang tidak biasa (Chen *et al.*, 2019).

Bakteri *L.boronitolerans* LKM G1 merupakan bakteri isolat lokal yang diperoleh dari fase mesofilik proses pengomposan limbah domestik dengan suhu pengomposan 37°C. Studi pendahuluan telah dilakukan terhadap bakteri *L.boronitolerans* LKM G1 terhadap ketahanannya terhadap pelarut organik, yaitu metanol, benzena, dan n-heksana. Hasil dari pengujian tersebut menunjukkan bahwa isolat tersebut relatif tahan terhadap pelarut organik n-heksana (Nurhasanah *et al.*, 2023). Namun untuk aktivitas dan kestabilan enzim lipase setelah penambahan senyawa poliol xylitol dan sorbitol belum dipelajari lebih lanjut. Berdasarkan uraian diatas, pada penelitian ini akan dilakukan penambahan senyawa poliol sorbitol dan xylitol pada enzim lipase dari bakteri isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas enzim lipase yang dihasilkan dari bakteri isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1 pada hasil ekstrak kasar dan hasil pemurnian.
2. Mempelajari kestabilan enzim lipase hasil pemurnian setelah penambahan sorbitol dan xylitol pada berbagai kondisi pH dan suhu.
3. Menentukan efektivitas sorbitol dan xylitol sebagai agen stabilisasi yang mampu meningkatkan ketahanan termal dan aktivitas enzim lipase dari bakteri *L.boronitolerans* LKM G1.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi informasi tentang pengaruh penambahan senyawa poliol sorbitol dan xylitol terhadap aktivitas enzim lipase dari bakteri isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Enzim

Enzim adalah protein yang bertindak sebagai biokatalisator dalam sistem metabolisme. Keberadaan enzim memungkinkan proses metabolisme dalam tubuh berlangsung secara cepat (Prihatini *et al.*, 2021). Enzim seperti halnya protein lain, disintesis oleh jaringan tubuh untuk memenuhi kebutuhan metabolik. Enzim dengan spesifisitas, afinitas, dan katalitik efisiensi yang tinggi sangat diperlukan dalam berbagai proses kimia untuk menopang kehidupan dan mempercepat reaksi kimia (Nyoman, 2018).

Secara umum, enzim menghasilkan kecepatan, spesifikasi, dan pengaturan terhadap reaksi dalam tubuh. Enzim berfungsi sebagai katalisator, yaitu senyawa yang meningkatkan kecepatan reaksi kimia (Marks, 2000). Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat dibandingkan ketika reaksi tersebut tidak menggunakan katalis. Seperti katalis lainnya, enzim juga menurunkan energi aktivasi suatu reaksi kimia (Poedjiadi, 2009). Pada reaksi tersebut enzim mengubah senyawa yang selanjutnya disebut substrat menjadi suatu senyawa baru yaitu produk, namun enzim tidak ikut berubah dalam reaksi tersebut (Palmer, 1991). Enzim tidak akan mempengaruhi hasil reaksi dan dapat digunakan kembali pada reaksi-reaksi berikutnya. Sebagai katalis, enzim memiliki beberapa kelebihan diantaranya memiliki aktivitas tertinggi meskipun pada konsentrasi rendah (Christy and Kavitha, 2014).

2.2 Sifat Katalitik Enzim

Sifat katalitik enzim, sebagai biokatalisator, mencakup kemampuan untuk mempercepat reaksi kimia, spesifitas, tidak terpengaruh oleh reaksi, dan hanya dibutuhkan dalam jumlah kecil. Enzim mempercepat laju reaksi hingga ribuan kali lipat, namun tidak ikut bereaksi dan tetap tidak berubah setelah reaksi selesai. Menurut Nelson *and* Cox (2017) Sifat-sifat katalitik dari enzim adalah sebagai berikut:

- a. Enzim meningkatkan laju reaksi kimia tanpa mengubah keseimbangan reaksi. Mereka bekerja dengan menurunkan energi aktivasi reaksi, sehingga reaksi dapat terjadi lebih cepat.
- b. Enzim memiliki spesifitas yang tinggi terhadap substrat dan produk reaksi tertentu. Ini berarti satu jenis enzim biasanya hanya mengkatalisis satu jenis reaksi atau substrat yang spesifik.
- c. Enzim tidak habis atau berubah secara permanen selama reaksi. Mereka tetap aktif dan dapat digunakan berulang kali untuk mengkatalisis reaksi yang sama.
- d. Enzim hanya dibutuhkan dalam jumlah yang sangat kecil untuk mengkatalisis reaksi dalam jumlah besar. Ini karena enzim bekerja dengan cara yang efisien, meningkatkan laju reaksi tanpa ikut bereaksi.
- e. Enzim bekerja melalui mekanisme yang kompleks, yang melibatkan interaksi antara enzim dan substrat di daerah spesifik yang disebut sisi aktif. Di sini, enzim mengubah bentuk dan lingkungan substrat, memfasilitasi reaksi kimia.
- f. Beberapa enzim membutuhkan kofaktor (senyawa non-protein) untuk beraktivitas. Kofaktor ini membantu enzim dalam proses katalisis.

2.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim

Dalam melaksanakan fungsinya sebagai katalis, kinerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain:

a. Suhu

Suhu memiliki pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas enzim. Pada suhu rendah, reaksi yang dipicu oleh enzim berlangsung dengan lambat, sedangkan peningkatan suhu dapat mempercepat reaksi hingga mencapai suhu optimum, di mana aktivitas enzimatis mencapai maksimum. Namun, jika suhu meningkat terlalu tinggi dan melebihi titik optimum, hal ini dapat menyebabkan denaturasi enzim, yaitu kerusakan pada struktur enzim.

b. pH

Aktivitas katalitik enzim akan maksimum jika enzim bekerja pada pH optimum. Setiap enzim memiliki pH optimum yang spesifik, yaitu pH di mana aktivitasnya mencapai maksimum. pH optimum enzim tidak selalu sama dengan pH lingkungan normalnya dan dapat berada sedikit di atas atau di bawah nilai pH optimum. Perubahan pH akan menyebabkan protein penyusun enzim terdenaturasi.

c. Konsentrasi Enzim dan Substrat

Kecepatan reaksi yang melibatkan enzim tergantung pada konsentrasi enzim yang digunakan. Pada konsentrasi substrat tertentu, laju reaksi akan meningkat.

d. Inhibitor

Inhibitor menghambat kerja enzim dengan mencegah terbentuknya kompleks enzim-substrat. Inhibitor dapat bersaing dengan substrat pada sisi aktif (kompetitif), atau berikatan di luar sisi aktif dan mengubah struktur enzim (non-kompetitif). Jika inhibitor berikatan permanen (tidak reversibel), enzim kehilangan fungsinya. Kehadiran inhibitor akan menurunkan laju reaksi enzimatik (Megiandari, 2009).

2.4 Isolasi dan Pemurnian Enzim

Isolasi dan pemurnian enzim terdiri dari beberapa metode yaitu:

a. Fraksinasi Amonium Sulfat

Fraksinasi ammonium sulfat merupakan salah satu dari teknik pemurnian enzim yang banyak digunakan. Fraksinasi didasarkan oleh pengendapan protein karena interaksi antara gugus polar dengan molekul air, molekul protein dengan garam dan gaya tolak-menolak antar protein yang muatan sama. Pada tahap *salting in* yaitu peningkatan kelarutan protein dan *salting out* yaitu penurunan kelarutan protein yang diakibatkan oleh penambahan garam dengan konsentrasi tertentu (Arafah, 2016).

b. Dialisis

Dialisis adalah metode yang digunakan untuk meningkatkan kemurnian suatu enzim setelah dilakukannya proses fraksinasi garam. Pada proses dialisis, membran semi permeable digunakan untuk memisahkan molekul besar dan molekul kecil. Peningkatan kemurnian enzim setelah proses dialisis dengan pengendapan garam ammonium sulfat pada saturasi 70% memiliki tingkat kemurnian 4,70 kali dibandingkan dengan supernatan selulase, kemudian dilakukan dialisis untuk kemurnian meningkat menjadi 21,25 kali dibandingkan dengan supernatan (Ratnayani *et al.*, 2021).

2.5 Enzim Lipase

Lipase merupakan enzim yang berperan sebagai biokatalis untuk reaksi hidrolisis, esterifikasi, amidasi, tioesterifikasi, alkoholisis, asidolisis, dan aminolisis serta reaksi interesterifikasi. Enzim lipase dapat menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas, gliserida parsial dan gliserol. Trigliserida sebagai substrat terdiri dari asam lemak rantai panjang yang tidak larut dalam air (Wahyu *et al.*, 2011.). Enzim lipase digunakan secara luas pada sektor industri sebagai katalis dalam pembuatan deterjen serta pembuatan polimer dan zat pengemulsi (Indah dan Musafira, 2017).

Lipase merupakan jenis enzim yang sifatnya bergantung pada substrat dan sumbernya. Aktivitas lipase juga dipengaruhi oleh beberapa faktor lain seperti pH, suhu dan waktu berlangsungnya reaksi. Kondisi dimana derajat keasaman (pH) lipase jauh dari optimum dapat mengganggu kestabilan enzim dan menyebabkan inaktivasi karena terjadi kerusakan struktur enzim. Faktor lain yang mempengaruhi kondisi optimum enzim yaitu suhu. Laju reaksi akan meningkat sejalan dengan kenaikan suhu sampai pada batas optimalnya. Kemudian aktivitas akan menurun setelah melewati enzim tersebut dan menyebabkan enzim mengalami denaturasi (Sholeha dan Agustini, 2021).

Enzim lipase dapat diperoleh dari tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Enzim lipase yang berasal dari mikroorganisme telah diproduksi ditingkat industri serta paling banyak digunakan dalam aplikasi bioteknologi dan kimia organik karena aktivitas katalitik yang lebih tinggi, waktu produksi yang dapat dikontrol, manipulasi genetik yang mudah untuk karakteristik yang diinginkan, dapat produksi dalam jumlah besar serta penggunaan media kultur pertumbuhan yang lebih murah. Enzim lipase yang berasal dari mikroorganisme dapat dihasilkan dari golongan bakteri dan jamur (Marliani *et al.*, 2015.). Keanekaragaman sumber daya mikroba serta kemampuannya untuk beradaptasi dalam lingkungan yang tidak ramah, seperti laut mati, antartika, mata air panas, ventilasi vulkanik dan tanah yang terkontaminasi menjadi potensi yang luar biasa untuk produksi enzim (Fatimah, 2021).

2.6 Stabilitas Enzim

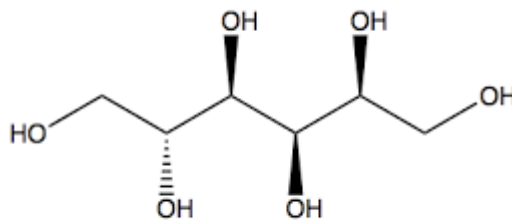
Stabilitas enzim dapat diartikan sebagai kestabilan aktivitas enzim selama penyimpanan dan penggunaan enzim, serta terhadap senyawa yang bersifat merusak seperti pelarut tertentu (asam atau basa), oleh pengaruh suhu dan kondisi-kondisi non fisiologis lainnya (Kazan *et al.*, 1997). Stabilitas enzim merupakan sifat penting yang harus dimiliki enzim sebagai biokatalis. Banyak faktor yang mempengaruhi stabilitas enzim, seperti pH, suhu, kofaktor dan kehadiran surfaktan (Eijsink *et al.*, 2005).

2.7 Poliol

Poliol adalah sekelompok senyawa organik yang memiliki dua atau lebih gugus hidroksil (-OH) dalam molekulnya, yang membuatnya larut dalam air dan memberikan sifat higroskopis (menarik air). Poliol sering disebut juga sebagai alkohol gula (*sugar alcohols*) karena memiliki rasa manis dan digunakan sebagai pemanis rendah kalori dalam berbagai produk makanan dan minuman (Rice *et al.*, 2020). Beberapa contoh poliol yang umum adalah xylitol (dari xilosa), sorbitol (diproduksi dari glukosa), mannitol (dari manosa), maltitol (dari maltosa), laktitol (dari laktosa) dan erythritol (dari eritosa) (Lenhart *and* Chey, 2017). Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan secara alami dalam buah-buahan dan sayuran atau diproduksi secara industri melalui hidrogenasi gula atau sirup glukosa menggunakan katalis logam seperti nikel. Poliol memiliki indeks glikemik rendah sehingga tidak menyebabkan lonjakan kadar gula darah yang signifikan, menjadikannya pilihan yang baik bagi penderita diabetes (Sudradjat *et al.*, 2010). Selain itu, poliol tidak menyebabkan kerusakan gigi, sehingga sering digunakan dalam permen karet dan produk makanan lainnya yang bersifat non-kariogenik. Meski begitu, konsumsi poliol dalam jumlah besar dapat menyebabkan efek laksatif karena tidak sepenuhnya diserap di usus kecil. Poliol pada industri dimanfaatkan tidak hanya sebagai pemanis, tetapi juga sebagai pelembap, stabilizer, dan bahan tambahan dalam produk farmasi, kosmetik, dan perawatan kesehatan (Livesey, 2003).

2.8 Sorbitol

Sorbitol merupakan senyawa monosakarida polihidroksi alkohol. Nama kimia lain dari sorbitol adalah hexitol atau glusitol dengan rumus kimia $C_6H_{14}O_6$. Adapun struktur molekulnya mirip dengan struktur molekul glukosa dimana yang berbeda adalah gugus aldehid pada glukosa diganti menjadi gugus alkohol. Struktur kimia sorbitol disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Sorbitol (Parkinson *and* Rosenthal, 2008)

Sorbitol pertama kali ditemukan dari *juice ash berry* (*Sorbusauncuparia L.*) pada tahun 1872. Setelah itu, sorbitol banyak ditemukan pada buah-buahan seperti apel, plums, cherry, kurma, peach, dan aprikot. Zat ini berupa bubuk kristal berwarna putih yang higroskopis, tidak berbau dan berasa manis. Sorbitol larut dalam air, gliserol, propilena glikol, serta sedikit larut dalam metanol, etanol, asam asetat, phenol, dan acetamida, namun tidak larut hampir dalam semua pelarut organik (Soesilo *et al.*, 2005).

Bahan pemanis ini dikenal sebagai D-sorbitol, D-glucitol, L-gulitol, sorbit atau sorbol adalah monosakarida poliol mempunyai berat molekul 182,17. Kemanisannya hanya 0,5 kali gula tebu. Sorbitol larut dalam pelarut polar seperti air dan alkohol. Sorbitol secara komersial dibuat dari glukosa dengan hidrogenasi dalam tekanan tinggi maupun reduksi elektrolit. Sorbitol berupa senyawa yang berbentuk granul atau kristal dan berwarna putih dengan titik leleh berkisar antara 89-101°C, higroskopis dan berasa manis. Penggunaannya pada suhu tinggi tidak ikut berperan dalam reaksi pencoklatan. Kristal sorbitol mengandung 0,5 atau 1 molekul H-O. Kandungan kalorinya 3,994 Kkal. Kalori setiap gram sama dengan kalori gula tebu, yaitu 3,940 Kkal. Tujuh puluh persen dari jumlah sorbitol yang masuk kedalam tubuh akan diubah menjadi CO₂, tanpa menunjukkan adanya kenaikan glukosa dalam darah sehingga sangat baik untuk penderita diabetes (Sitompul, 2010).

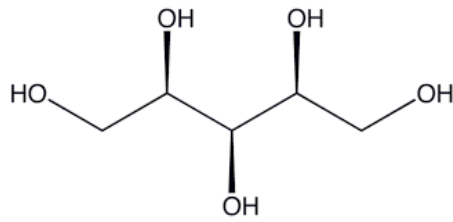
Penelitian oleh Suhardi dkk. (2006) menunjukkan bahwa lipase dari getah pepaya (*Carica papaya*), *Candida rugosa*, dan *Rhizopus arrhizus* efektif mengkatalisis

esterifikasi antara sorbitol dan asam oleat untuk menghasilkan ester sorbitol oleat. Dengan optimasi suhu 45 °C, waktu reaksi 52-62 jam, dan konsentrasi enzim 37-75 unit, yield molar konversi mencapai antara 58-62%. Penelitian ini memperlihatkan bahwa penambahan poliol sorbitol sebagai substrat sangat kompatibel dengan lipase dan dapat meningkatkan efisiensi sintesis ester di bawah kondisi optimal.

2.9 Xylitol

Xylitol adalah golongan gula alkohol yang terdiri dari 5 rantai karbon yang banyak ditemukan pada beberapa tanaman, buah-buahan dan diproduksi dalam jumlah kecil di dalam tubuh manusia. Seorang ahli kimia dari Jerman bernama Fischer adalah orang yang pertama kali menemukan jenis gula ini pada tanaman odorless putih. Sejak tahun 1960an xylitol mulai dikenal luas sebagai terapi cairan pada pasien post operative, luka bakar, shock, diet terapi pada pasien diabetes millitus dan akhir-akhir ini diperkenalkan sebagai pemanis dalam beberapa produk yang dapat meningkatkan kesehatan rongga mulut, seperti dalam pasta gigi dan obat kumur (Tedjosongko dan Suhariadji, 2014).

Xylitol adalah nama populer senyawa kimia alkohol gula $C_5H_{12}O_5$, Sehari-hari dikenal sebagai gula kayu atau gula birch yang digunakan untuk pemanis, seperti mannitol sorbitol, erythritol, maltitol, dan laktito. Xylitol merupakan pemanis alami non-kariogenik yang dapat ditemukan pada buah-buahan dan sayuran. Xylitol memiliki rasa manis semanis gula tebu (sukrosa). Tetapi kandungan kalornya 40% lebih rendah dan lebih lambat diserap oleh tubuh. Xylitol memiliki manfaat menekan jumlah bakteri *Streptococcus mutans* sebagai salah satu kuman penyebab karies gigi, menghambat pertumbuhan plak, mencegah keasaman plak gigi, dan mempercepat proses pembentukan kembali mineral gigi (Shiddiek *et al.*, 2018). Struktur kimia xylitol disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur xylitol (Tedjosasongko *and* Suhariadji, 2014)

Penelitian oleh Amid dkk. (2015) menunjukkan bahwa penggunaan sistem aqueous two-phase (ATPS) yang mengandung xilitol dapat meningkatkan efisiensi pemurnian lipase dari biji labu (*Cucurbita moschata*). Komposisi 24 % Triton X-100 dan 20 % xilitol, didapatkan faktor pemurnian sebesar 16,4 dan hasil pemulihan lipase mencapai 97,4 %. Hal ini menunjukkan bahwa xilitol tidak hanya berperan sebagai fase pemisah, tetapi juga membantu menstabilkan struktur lipase selama proses, sehingga meningkatkan aktivitas dan kualitas enzim yang dihasilkan.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Januari s.d April 2025 di Laboratorium Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas (kaca arloji, gelas kimia 1000 mL, gelas ukur 1000 mL, labu ukur 10 mL, erlenmayer 250 mL, Erlenmayer 500 mL, corong gelas, batang pengaduk, tabung reaksi, cawan petri), *hot plate*, neraca analitik, bunsen, termometer 100 °C, jarum ose, pH meter, *ice box*, *baskom plastik*, *waterbath incubator*, *oven*, *shaker*, *micropipette*, *tip*, *magnetic stirrer*, *autoclave*, sentrifuga, tabung sentrifuga, *laminar air flow* (LAF), dan spektrofotometer UV-Visible Agilent.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini, meliputi bakteri isolat lokal *L.boronitolerans* LKM G1 *collection culture* dari laboratorium biokimia. *Nutrient Broth* (NB), *Nutrient Agar* (NA), minyak zaitun, *gum arab*, *p*-nitrofenol (*p*-NP), *p*-nitrofenil palmitat (*p*-NPP), *buffer* fosfat pH 6 sampai pH 8, tris HCl, NaOH, HCl, Na₂CO₂, CuSO₄, akuades, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄, metanol, butanol, kapas, kertas saring, *aluminium foil*, kasa, plastik *wrap*, spirtus, sorbitol dan xylitol.

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur yang dilakukan pada penelitian ini diantaranya persiapan, pembuatan media, peremajaan bakteri *L.boronitolerans* LKM G1 penghasil lipase, produksi lipase, pemurnian lipase, uji aktivitas dan kestabilan enzim lipase terhadap pengaruh penambahan senyawa poliol sorbitol dan xylitol.

3.3.1 Tahap Persiapan

a. Persiapan Alat

Peralatan gelas yang digunakan dicuci bersih, dikeringkan dan disterilkan agar alat-alat terhindar dari kontaminasi mikroba yang tidak diinginkan. Sterilisasi alat dilakukan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15.

3.3.2 Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media padat agar miring dan media cair. Pembuatan media dapat dilakukan dengan cara berikut:

a. Pembuatan Media Padat/ Media Agar Miring

Media padat yang digunakan untuk meremajakan isolat bakteri adalah NA. Media padat dibuat dengan cara ditimbang 2 gram NA, lalu ditambahkan kedalam akuades 100 mL pada Erlenmeyer dan dipanaskan hingga larut. Media yang telah larut dituang kedalam tabung reaksi steril sebanyak 4,5 mL, lalu ditutup dengan sumbat dan disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu media disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah disterilisasi, media disimpan dalam posisi miring hingga mengeras (Rait dkk., 2022).

b. Pembuatan Media Cair

Media cair yang digunakan sebagai media *starter* dan media fermentasi adalah Nutrient Broth (NB). Media dibuat dengan menimbang 8 gram NB, dilarutkan dalam 1000 mL akuades. Media disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit, kemudian media didinginkan di suhu ruang (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.3 Peremajaan Bakteri *L.boronitolerans* LKM G1

Sebanyak satu ose isolat bakteri *L.boronitolerans* LKM G1 diinokulasikan secara zig-zag pada permukaan media NA miring kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C (Rait dkk., 2022).

3.3.4 Produksi Enzim

Bakteri *L.boronitolerans* LKM G1 yang telah diremajakan diambil sebanyak tiga ose dan diinokulasi ke dalam 20 mL media *starter* lalu diinkubasi pada shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 24jam. Sebanyak 2% media starter dipindahkan ke media fermentasi 1000 mL, kemudian ditambahkan 3% n-heksana, 2% tween 80, dan 2% minyak zaitun, lalu dishaker dengan kecepatan 150 rpm selama 48jam. Media fermentasi yang berisi isolat bakteri *L.boronitolerans* LKM G1 disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 15 menit. Ekstrak kasar enzim lipase yang diperoleh kemudian ditentukan aktivitas dan kadar protein enzim (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.5 Pemurnian Enzim

Ekstrak kasar enzim lipase yang telah diproduksi kemudian dimurnikan secara parsial dengan cara fraksinasi amonium sulfat dan dialisis. Pemurnian enzim lipase dilakukan dengan tahapan berikut:

a. Fraksinasi Amonium Sulfat

Proses pemurnian ekstrak kasar enzim lipase diawali dengan fraksinasi bertingkat menggunakan garam amonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 20-80%.

Fraksinasi dengan amonium sulfat dilakukan dengan cara menambahkan amonium sulfat perlahan-lahan kedalam larutan ekstrak kasar enzim dalam gelas beaker sambil diaduk dengan *magnetic stiter*. Pengadukan diusahakan sedemikian rupa sehingga tidak menimbulkan busa selama pengadukan kurang lebih 20 menit. Setiap endapan protein enzim yang didapat lalu dipisahkan dari filtratnya dengan sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit, kemudian endapan dibilas dengan *buffer* fosfat pH 7,0 dengan konsentrasi 0,25 M. Enzim fraksinasi yang diperoleh kemudian ditentukan aktivitas dan kadar protein enzim (Nurhasanah *et al.*, 2023).

b. Dialisis

Enzim yang telah dimurnikan dengan fraksinasi ammonium sulfat dimasukan ke dalam kantong selofan, lalu kantong selofan tersebut dimasukan kedalam wadah yang berisi *buffer* fosfat pH 7,0 0,01 M dan diletakkan diatas *magnetic stirer*.

Proses dialisis dilakukan selama 24 jam pada suhu rendah 4°C agar enzim tidak mengalami denaturasi. Pada saat dialisis dilakukan pergantian *buffer* fosfat setiap 4-6 jam agar konsentrasi ion-ion dalam kantong dialisis dapat dikurangi. Proses ini dilakukan secara berulang terus sampai ion-ion dalam kantong dialisis dapat diabaikan. Enzim yang telah dimurnikan ditentukan aktivitas dan kadar proteinnya (Nurhasanah *et al.*, 2023).

3.3.6 Uji Aktivitas Enzim Lipase

a. Kurva Standar *p*-nitrofenol (*p*-NP)

Kurva *p*-nitrofenol (*p*-NP) 0,01 M dibuat dengan ditimbang 14 mg *p*-NP dan dilarutkan dalam 10 mL akuades. Larutan *p*-NP merupakan larutan stok untuk pembuatan larutan dengan konsentrasi yang lebih kecil. Pada penelitian ini,

digunakan deret konsentrasi standar 100 μM , 300 μM , 500 μM , 700 μM , 900 μM , 1100 μM 1300 μM (Nurhasanah *et al*, 2023).

b. Uji Aktivitas Lipase

Penentuan aktivitas hidrolisis enzim lipase ditentukan menggunakan substrat *p*-nitrofenol palmitat (*p*-NPP) berdasarkan metode spektrofotometri. Larutan A dibuat dengan cara 15 mg *p*-NPP dilarutkan dalam 5 mL isopropanol, kemudian dibuat larutan B dengan cara ditimbang 0,05 gram *gum arabic* dan 0,2 mL Triton X-100 dilarutkan ke dalam *buffer* Tris-HCl 50 mM pH 8,0. Larutan A dan larutan B dicampurkan lalu dihomogenkan hingga volume akhir 50 mL (Ertugrul *et al*, 2007).

Aktivitas enzim lipase ditentukan dengan cara sebanyak 1,8 mL substrat *p*-nitrofenol palmitat (*p*-NPP) dicampurkan dengan 0,2 mL enzim lipase, kemudian diinkubasi selama 15 menit, lalu ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol (1:1). Larutan kontrol negatif dibuat dengan inkubasi 0,2 mL enzim selama 15 menit, kemudian ditambahkan 1,8 mL larutan substrat, lalu diinkubasi kembali selama 15 menit, dan ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol (1:1). Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 410 nm (Husna, 2022). Aktivitas lipase dihitung berdasarkan persamaan berikut (Gupta *et al.*, 2002):

$$\text{Aktivitas lipase} = \frac{\mu\text{mol } p\text{-NP}}{t(\text{waktu})} \times \text{FP}$$

$$\text{Konsentrasi } p\text{-NP} = \frac{\text{Abs} - b}{a}$$

Keterangan:

$\mu\text{mol } p\text{-NP}$	: Konsentrasi <i>p</i> -NP
t	: Waktu reaksi
FP	: Faktor Pengenceran
Situs aktivitas enzim	: $\frac{\mu\text{mol}/\text{menit}}{\text{mL}}$

- a : *Slope*
 b : *intersep*

3.3.7 Penentuan Kadar Protein Enzim Lipase

Penentuan kadar protein enzim dilakukan berdasarkan metode Lowry (Lowry *et al*, 1951). Adapun pereaksi yang digunakan sebagai berikut:

- Pereaksi A : 2 gram Na_2CO_3 dilarutkan dalam 100 mL NaOH 0,1 N
 Pereaksi B : 5 mL larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% ditambahkan 5 mL larutan Na(K)- tartat 1%.
 Pereaksi C : 2 mL pereaksi B ditambahkan 100 mL pereaksi A
 Pereaksi D : Reagen Folin-ciocalteu diencerkan dengan akuades 1:1.
 Larutan standar : Larutan *Bovine Serum Albumin* (BSA)

Pengukuran kadar protein enzim lipase ditentukan menggunakan metode Lowry. Sebanyak 0,1 mL enzim lipase ditambahkan dengan 0,9 mL akuades dan direaksikan dengan 5 mL pereaksi C. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 10 menit pada suhu kamar. Setelah itu ditambahkan 0,5 mL pereaksi D, dihomogenkan, dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Kadar protein diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Sebagai kontrol 0,1 mL enzim diganti dengan 0,1 mL akuades dengan perlakuan yang sama seperti sampel. Dalam penentuan kadar protein enzim digunakan kurva standar *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan deret konsentrasi BSA 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm.

3.3.8 Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol dan Xylitol pada Lipase

Larutan sorbitol dan xylitol dengan konsentrasi 0,5; 1; dan 1,5 M masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan enzim hasil pemurnian dengan perbandingan 1:1 (enzim : sorbitol, xylitol), menghasilkan enzim hasil

pemurnian dan sorbitol, xylitol 0,5 M; enzim hasil pemurnian dan sorbitol, xylitol 1M; dan enzim hasil pemurnian dan sorbitol, xylitol 1,5M (Pratiwi, 2023). Setelah dilakukan penambahan, enzim hasil penambahan diuji aktivitasnya dengan beberapa tahapan.

3.3.9 Penambahan Senyawa Poliol Sorbitol dan Xilitol terhadap Aktivitas Lipase dari Bakteri *L.boronitolerans* LKM G1

a. Uji Stabilitas Enzim pada Variasi pH

Uji stabilitas enzim pada variasi pH dilakukan dengan cara dicampurkan larutan substrat sebanyak 1,8 mL dengan 0,2 mL larutan (0,1 mL enzim + 0,1 mL sorbitol/xylitol) lalu ditambahkan buffer fosfat 0,1 M dengan variasi pH antara lain: 5,5; 6,0; 6,5; 7,0; 7,5; dan 8,0. Setelah itu ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol. Selanjutnya aktivitas enzim diukur dengan metode spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 410 (Gupta *et al.*, 2002).

b. Uji Stabilitas Enzim pada Variasi Suhu

Uji stabilitas enzim pada variasi suhu dilakukan dengan menggunakan suhu optimum yang telah didapatkan kemudian dilakukan pengukuran aktivitas enzim lipase dengan cara dicampurkan larutan substrat sebanyak 1,8 mL dengan 0,2 mL larutan (0,1 mL enzim + 0,1 mL sorbitol/xylitol) dengan memvariasikan suhu saat inkubasi variasi suhu 30; 35; 40; 45; dan 50°C. Setelah itu ditambahkan 0,2 mL aseton:etanol. Selanjutnya aktivitas enzim diukur dengan metode spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 410 nm (Gupta *et al.*, 2007).

c. Uji Stabilitas Termal Enzim

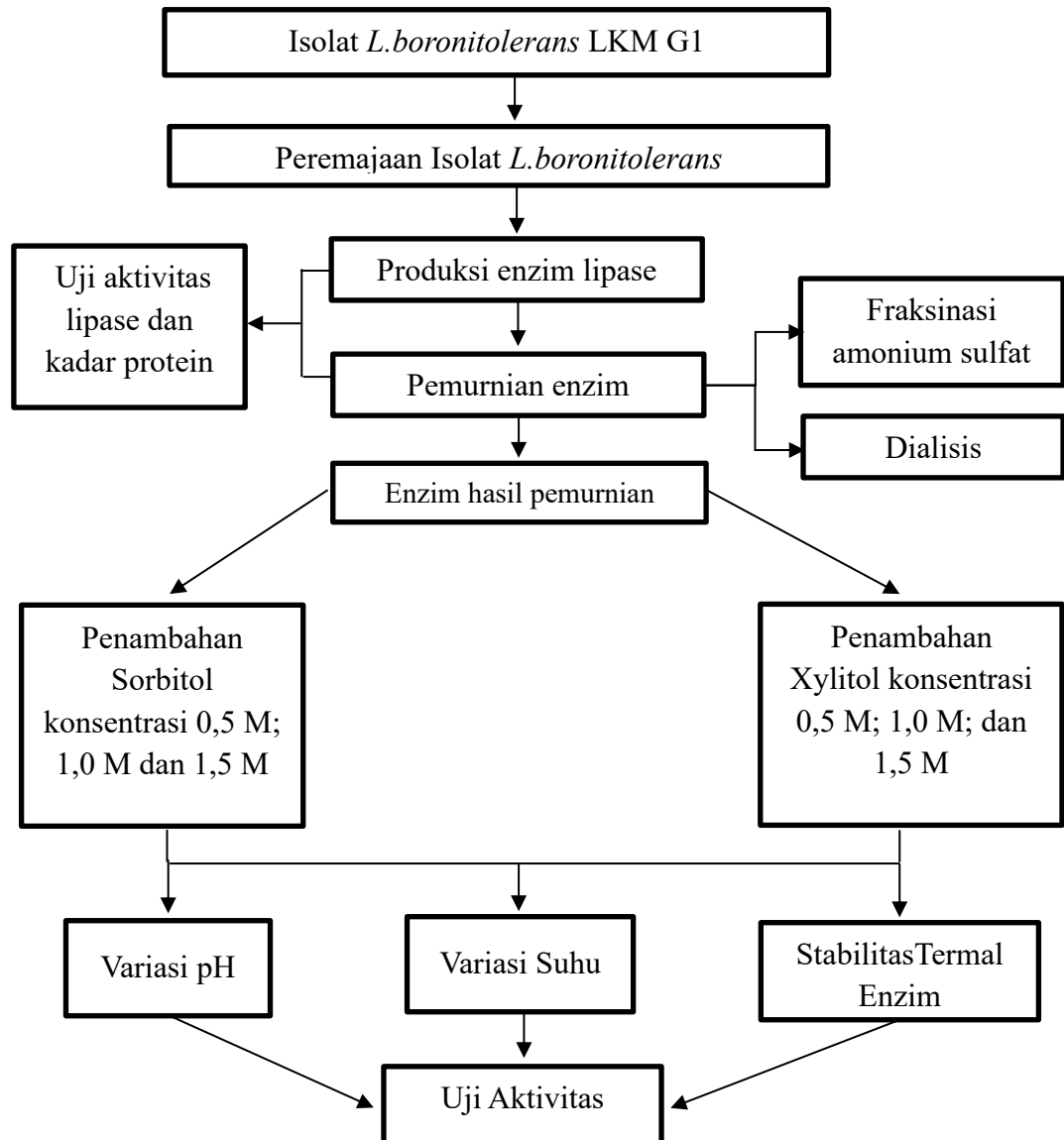
Uji stabilitas termal enzim lipase hasil pemurnian sebelum dan setelah penambahan poliol dapat ditentukan dengan memvariasikan waktu inkubasi. Waktu inkubasi dibutuhkan oleh enzim untuk bereaksi dengan substrat secara

optimal. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran aktivitas enzim lipase sebelum dan setelah penambahan poliol diinkubasi selama periode 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 menit pada suhu dan pH optimum. Caranya adalah dengan mengukur aktivitas enzim setelah proses pemanasan setiap interval waktu 10 menit. Aktivitas awal enzim diberi nilai 100% sehingga aktivitas sisa enzim dapat ditentukan dengan persamaan berikut:

$$\text{Aktivitas sisa} = \frac{\text{Aktivitas enzim setelah perlakuan}}{\text{Aktivitas enzim awal (tanpa perlakuan)}} \times 100\%$$

3.4 Skema Alur Penelitian

Tahap-tahap yang akan dilakukan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Skema Alur Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil pembahasan dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Aktivitas spesifik enzim lipase hasil pemurnian sebesar 3.484,35 U/mg, meningkat 2,3 kali dibandingkan ekstrak kasar enzim dengan aktivitas spesifik sebesar 1.474,82 U/mg.
2. Penambahan sorbitol dan xylitol merubah pH optimum enzim hasil pemurnian dari pH 6,0 menjadi 7,0, dan meningkatkan aktivitas spesifik enzim pemurnian dari 331,66 U/mL menjadi 354,08 U/mL pada penambahan sorbitol dengan konsentrasi 1,0 M dan 358 U/mL pada penambahan xylitol konsentrasi 1,5 M.
3. Suhu optimum aktivitas enzim lipase setelah penambahan poliol tetap berada pada suhu 40°C. Meskipun demikian, penambahan poliol memberikan pengaruh terhadap aktivitas enzim tersebut. Aktivitas enzim meningkat dari 372,25 U/mL pada enzim hasil pemurnian menjadi 361,75 U/mL setelah penambahan sorbitol konsentrasi 1,0 M, dan 352,08 U/mL setelah penambahan xylitol konsentarsi 1,5 M.
4. Penambahan sorbitol dan xylitol mampu meningkatkan stabilitas termal enzim hingga menit ke-90, dengan nilai aktivitas sisa sebesar 92% pada penambahan sorbitol dengan konsentrasi 1,0 M dan 95% pada penambahan xylitol konsentrasi 1,5 M.

4.2 Saran

Penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan senyawa poliol seperti sorbitol dan xylitol dapat meningkatkan aktivitas dan stabilitas enzim lipase dari bakteri *L.boronitolerans* LKM G1. Pada penelitian selanjutnya, disarankan untuk menggunakan variasi poliol lain dan dapat mengembangkan metode pemurnian enzim yang lebih spesifik, seperti menggunakan metode kromatografi, untuk mendapatkan enzim lipase dengan kemurnian yang lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amid, M., Manap, M. Y., Hussin, M., and Mustafa, S. 2015. A Novel Aqueous two-phase System Composed of Surfactant and Xylitol for the Purification of Lipase from *Cucurbita moschata* Seeds. *Molecules*. 20(6): 11184-11201.
- Arafah, R. A. 2016. *Isolasi, Pemurnian, dan Karakterisasi Enzim α -Amilase dari Bakteri Termofil Sumber Air Panas Lejja Sulawesi Aelatan dan Aplikasi dalam Hidrolisis Pati Sagu Menjadi Maltodesktrim*. Disertasi. Universitas Hasanudin.
- Bankeeree, W., Lotrakul, P., Prasongsuk, S., Chaiareekij, S., Eveleigh, D. E., Kim, S. W., and Punnapayak, H. 2014. *Effect of polyols on thermostability of xylanase from a tropical isolate of *Aureobasidium pullulans* and its application in prebleaching of rice straw Pulp*. SpringerPlus. 3:37.
- Borrelli, G. M., and Trono, D. 2015. Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications. In *International Journal of Molecular Sciences*. 16(9): 20774-20840.
- Castillo, E., Pezzotti, F., Navarro, A., and López-Munguía, A. 2003. Lipase-catalyzed synthesis of xylitol monoesters: Solvent engineering approach. *Journal of Biotechnology*. 102(3): 251-259.
- Chen, G., Zhang, Q., Lu, Q., and Feng, B. 2019. Protection effect of polyols on *Rhizopus chinensis* lipase counteracting the deactivation from high pressure and high temperature treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*. 127: 555-562.
- Christy, B. P., and Kavitha, S. 2014. Role of Enzyme. *International Journal of Recent Scientific Research*. 5: 1181-1183.
- Eijssink, V. G. H., Gaseidnes, S., Borchert, T. V., and Van, D. B. 2005. Directed evolution of enzyme stability. In *Biomolecular Engineering*. 22: 1-3.

- Ertuğrul, S., Dönmez, G., and Takaç, S. 2007. Isolation of lipase producing *Bacillus* sp. from olive mill wastewater and improving its enzyme activity. *Journal of Hazardous Materials*. 149(3): 720–724.
- Fatimah, E. 2021. Characterization and Role of Lipase Enzyme in the Production of Diacylglycerol (Dag) From Virgin Coconut Oil (Vco). In *UNESA Journal of Chemistry*. 10(3).
- Fauziah, S. N., Herasari, D., dan Laila, A. 2012. Studi Pengaruh Penambahan Gliserol dan Sorbitol terhadap Aktivitas Enzim Protease dari Actinomycetes Anl4 2b-3. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Fu, K., li., and Lu, D. 2013. Polyols' effect on thermal stability of lipase and its application in cotton fabrics' enzymatic treatment. *Journal of the Textile Institute*. 104(11): 1206-1212.
- Gangadhara, R., and Prakash, V. 2009. Stabilizing effects of polyols and sugars on porcine pancreatic lipase. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(8): 773–781.
- Gangadhara, Kumar, R. P., and Prakash, V. 2009. The stabilizing effects of polyols and sugars on porcine pancreatic lipase. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*. 86(8): 773–781.
- Gupta, N., Rathi, P., and Gupta, R. 2002. Simplified para-Nitrophenyl Palmitate Assay for Lipases and Esterases. *Analytical Biochemistry*. 311(1): 98–99.
- Husna, Q. N. 2022. Produksi, Pemurnian dan Karakterisasi Enzim Lipase dari Bakteri Lokal LKM G1 Toleran Pelarut Organik Asal Pengomposan Limbah Domestik. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Indah, dan Musafira. 2017. *Produksi Enzim Lipase dari Aspergillus Niger Isolat Kapang Kopra dengan menggunakan Medium Kelapa*. Kovalen. 3(3): 269–276.
- Kazan, D., Ertan, H., and Erarslan, A. 2016. Stabilization of Escherichia coli penicillin G acylase against thermal inactivation by cross-linking with dextran dialdehyde polymers. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 48(2): 191–197.
- Kong, W., Chen, H., Lyu, S., Ma, F., Yu, H., and Zhang, X. 2016. Characterization of a novel manganese peroxidase from white-rot fungus Echinodontium taxodii 2538, and its use for the degradation of lignin-related compounds. *Process Biochemistry*. 51(11): 1776–1783.

- Lenhart, A., and Chey, W. D. 2017. A Systematic Review of the Effects of Polyols on Gastrointestinal Health and Irritable Bowel Syndrome. *Advances in Nutrition*. 8(4): 587–596.
- Liu, X., Xiao, G., Chen, W., Xu, Y., and Wu, J. 2004. Quantification and Purification of Mulberry Anthocyanins with Macroporous Resins. In *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 5.
- Livesey, G. 2003. Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. *Nutrition Research Reviews*. 16(2): 163–191.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H., and Stahl, D.A. 2015. *Brock Biology of Microorganisms* (14th ed.). Pearson Education. San Francisco.
- Marks, D. B. A dan Smith. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Marliani, N., Astuti, W., dan Kartika, R. 2015. *Bioprospek Kondisi Kerja Optimum Lipase Bakteri Endofit dari Daun Macaranga hullettii King ex Hook.f.* 15 (1): 8-15.
- Megiandari, A. 2009. *Isolasi dan Pencirian Enzim Protease Keratinolitik dari Usus Biawak Air Tesis*. Jurusan Kimia IPB. Bandung.
- Murni, W. S., Kholisoh, D. S., dan Petrissia. 2018. *Produksi, Karakterisasi, dan Isolasi Lipase dari Aspergillus niger*. Lingkar Utara. Yogyakarta.
- Nelson, D. L., and Cox, M. M. 2017. *Lehninger Principles of Biochemistry* (7th ed.). W. H. Freeman and Company. New York.
- Nurhasanah, Laila, A., Satria, H., Juliasih, N. L. G. R., and Husna, Q. N. 2023. Characterization of Organic Solvent Tolerance Lipase from Compost Indigenous Bacteria. *Atlantis Press International BV*. 20-29.
- Nyoman, P. N. 2018. Enzim: Aplikasi Di Bidang Kesehatan Sebagai Agen Terapi. *Jurnal Inovasi Pendidikan Sains*. 9(2).
- Palmer, T. 1991. *Understanding Enzyme Third Edition*. Ellis Horwood Limited.
- Panja, A. S., Maiti, S., and Bandyopadhyay, B. 2020. Protein stability governed by its structural plasticity is inferred by physicochemical factors and salt bridges. *Scientific Reports*. 10(1), 1822.
- Parkinson, J. A., and Rosenthal, S. (2008). Molecular dynamics studies of the conformation of sorbitol. *Journal of Physical Chemistry B*. 112(2): 640-646.

- Poedjiadi, A. 2009. *Dasar-Dasar Biokimia*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Popoola, B. M., and Olateru, C. T. 2021. Purification and Kinetics of Lipase of *Pseudomonas fluorescens* from Vegetable Oil Polluted Soil. *Journal of Biological Science*. 21: 29-37.
- Pratiwi, D. I. 2023. Penambahan Xilitol pada Enzim α -Amilase Hasil Pemurnian dari *Aspergillus fumigatus*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Prihatini, I., Dewi, K. R., dan Rahmatullah, S. A. U. 2021 Kandungan Enzim Papain pada Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Metabolisme Tubuh. *Jurnal Tadris IPA Indonesia*. 1(3): 449–458.
- Raja, S., Murty, V. R., Thivaharan, V., Rajasekar, V., and Ramesh, V. 2010. Aqueous twophase systems for the recovery of lipase: Process integration and optimization. *Journal of Molecular Liquids*. 156(3): 108-112.
- Ratnayani, O., Elvira, P. Y., dan Wirajana, I. N. 2021. Fraksinasi Selulase Mikroba Selulolitik dengan Amonium Sulfat dan Amobilisasi pada Agar-agar Komersial. *Journal of Applied Chemistry*. 1: 9-9.
- Rice, T., Zannini, E., K. Arendt, E., and Coffey, A. 2020. A review of polyols biotechnological production, food applications, regulation, labeling and health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 60(12): 2034-2051.
- Rait, A. S., Nurhasanah., dan Bahri, S. 2023) Pemurnian Parsial Enzim Lipase dari Bakteri Isolat Lokal LKMA3 dan Penentuan Aktivitasnya dengan Metode Spektrofotometri. *Seminar Nasional FMIPA, SN-SMIAP-VI*. 1-5.
- Sathish, H. A., Kumar, P. R., and Prakash, V. 2007. Mechanism of Solvent Induced Thermal Stabilization of Papain. *International Journal of Biological Macromolecules*. 41: 380-390.
- Shiddiek, P. A., dan Utami, N. K. 2018. Perbedaan dalam Penggunaan Pasta Gigi yang Mengandung Xylitol dan Baking Soda untuk Menurunkan Skor Plak pada Siswa Smpn 6 Banjarbaru Differences in the Use of Toothpastes Containing Xylitol and Baking Soda to Decrease Plaque Score on Students of Smpn 6 Banjarbaru. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 5(2).
- Sholeha, R., dan Agustini, R. 2021. Lipase Biji-Bijian Dan Karakteristiknya. *In UNESA Journal of Chemistry*. 10(2).
- Siti, A., Kumar, P., and Bhatnagar, R. 2015. Characterization of a Hyperthermostable Alkaline Lipase from *Bacillus sonorensis* 4R. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 176(4): 1820-1831.

- Sitompul, D. 2010. *Hidrogenasi Glukosa Menjadi Sorbitol*. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- Soesilo, D., Santoso, R. E., Diyatri, D. I., Ppdgs, M., and Oral, B. B. 2005. Peranan sorbitol dalam mempertahankan kestabilan pH saliva pada proses pencegahan karies (The role of sorbitol in maintaining saliva's pH to prevent caries process). *Dental Journal*. 38(1): 25–28.
- Stauffer, C. E. 1989. *Enzyme Assays for Food Scientists*. AVI Publisher.
- Sudradjat, R., Yulita, R. I., dan Setiawan, D. 2010. Pembuatan Polioliol Dari Minyak Jarak Pagar Sebagai Bahan Baku Poliuretan. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 28(3): 231–240.
- Suhardi, S., Tranggono, T., Hastuti, P., dan Muchalal, M. 2006. *Sintesis Ester Sorbitol Oleat Menggunakan Lipase dari Getah Pepaya, Candida rugosa dan Rhizopus arrhizus*. agriTECH, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Sukohidayat, N. H. E., Zarei, M., Baharin, B. S., and Manap, M. Y. 2018. Purification and characterization of lipase produced by *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* ATCC 8293 using an aqueous two-phase system (ATPS) composed of triton x-100 and maltitol. *Journal Molecules*. 23(7).
- Syida, W. S., Kamarudin, W., Abdullah, N., Ismail, N., and Maskat, M. Y. 2018. Optimisation of Enzymatic Hydrolysis Condition of Soybean (Glycine Max (L.) Merr.) Tempeh Protein Hydrolysate Using Response Surface Methodology (RSM). In *International Journal of Engineering & Technology*.
- Tedjosongko, Udijanto, and Suhariadji. 2014. The Additional xylitol in glucose and sucrose on growth of Mutans Streptococci (in vitro). *Dental Journal*. 47(4): 181–185.
- Wanasundara, U.N. and Shahidi, F. 1998. Lipase-Assisted Concentration of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Acylglycerol Form from Marine Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75: 945–951.
- Wirajana, I. N., Sirait, R. R., dan Suarya, P. 2021. Pemurnian Amilase Mikroba Amilolitik Dengan Fraksinasi Amonium Sulfat Dan Amobilisasi Pada Agar-Agar Komersial. *Jurnal Kimia*. 41.
- Wu, G., He, X., and Yan, Y. 2017. Lipase-catalyzed modification of natural *Sapium sebiferum* oil-based polyol for synthesis of polyurethane with improved properties. *RSC Advances*. 7(3): 1504–1512.

- Wuryanti. 2004. Isolasi dan Penentuan Aktivasi Spesifik Enzim Bromelin dari Buah Nanas (*Ananas comosus*). *Artike: JKSA*. 7(3). 83–87.
- Yandri, A. S., & Tati Suhartati. (2018). *Peningkatan Kestabilan Enzim*. CV. Anugrah Utama Raharja.